

Les nématodes entomopathogènes

Une nouvelle piste pour la protection contre les ravageurs souterrains

Pr Abdelmalek BOUTALEB JOUTEI, Pr Said AMIRI, Ing. Youssef BEN SEDDIK - ENA-Meknès

L'utilisation exclusive et surtout non raisonnée de la lutte chimique en protection des cultures, est la source de nombreux problèmes environnementaux, dont le développement de la résistance aux insecticides, la pollution de la nappe phréatique et la concentration des résidus dans la chaîne alimentaire. Il est donc nécessaire de trouver d'autres alternatives à la lutte chimique, entre autres, la lutte biologique.

La protection des cultures contre les ravageurs du sol connaît des difficultés liées à l'efficacité et à l'application, vu que certains insectes nuisibles s'enfoncent en profondeur dans le sol et ne sont de ce fait pas atteints par les insecticides utilisés. En outre, la complexité du sol comme milieu physique, chimique et biologique, incite à trouver des agents mieux adaptés à ce milieu. Dans ce sens, les nématodes entomopathogènes (EPN : Entomopathogenic Nematodes), notamment ceux appartenant aux genres *Steinernema* et *Heterorhabditis*, peuvent jouer un rôle primordial dans la régulation des populations des ravageurs du sol.

Il s'agit de pathogènes obligatoires infectant un grand nombre d'insectes passant une partie plus ou moins importante de leur cycle de vie dans le sol. Ces nématodes sont naturellement et mutuellement associés avec des bactéries des genres *Xenorhabdus* et *Photorhabdus* (symbiose). La seule forme de ces nématodes capable de survivre et persister à l'extérieur de l'hôte est le 3^e stade appelé « larve infestante » qui porte dans son intestin des bactéries symbiotiques. Quand le nématode trouve un hôte convenable, il le pénètre afin d'atteindre l'hémolymphe, à travers les ouvertures naturelles (bouche, anus), les blessures ou à travers

le tégument dans le cas du genre *Heterorhabditis*. Une fois le nématode dans l'hémolymphe de l'hôte, il libère les cellules bactériennes qui provoquent la mort de l'hôte par septicémie après environ 48 heures. Les bactéries libérées produisent des antibiotiques inhibant la colonisation du cadavre de l'hôte par d'autres microorganismes. De plus, les bactéries favorisent la croissance et le développement des nématodes à travers la fourniture des nutriments résultant de la digestion des tissus de l'hôte.

L'isolement des souches indigènes des EPNs, peut être très bénéfique pour l'aire d'origine. Ils sont plus convenables dans les programmes de lutte biologique contre les ravageurs locaux en raison de leur adaptation aux conditions environnementales locales. De plus, les nématodes indigènes présentent moins de risques envers les organismes non ciblés en comparaison avec les souches exotiques de nématodes.

Méthodologie de travail

Afin d'isoler les EPNs à partir du sol, des échantillons du sol ont été prélevés à l'aide d'une tarière entre 5 et 30 cm de profondeur à côté de plusieurs espèces végétales (olivier, blé tendre, jachère, etc.) dans 3 régions: Sais (54 échantillons), Moyen Atlas (6 échantillons) et Gharb (10 échan-

teillons). Chaque échantillon du sol a été mis dans une boîte en plastique contenant 5 chenilles du dernier stade de la grande teigne des ruches *Galleria mellonella* (issues d'un élevage en conditions contrôlées) (Technique *Galleria* Trap). Puis, les boîtes ont été déposées dans une étuve obscure où la température a été fixée à 20 °C.

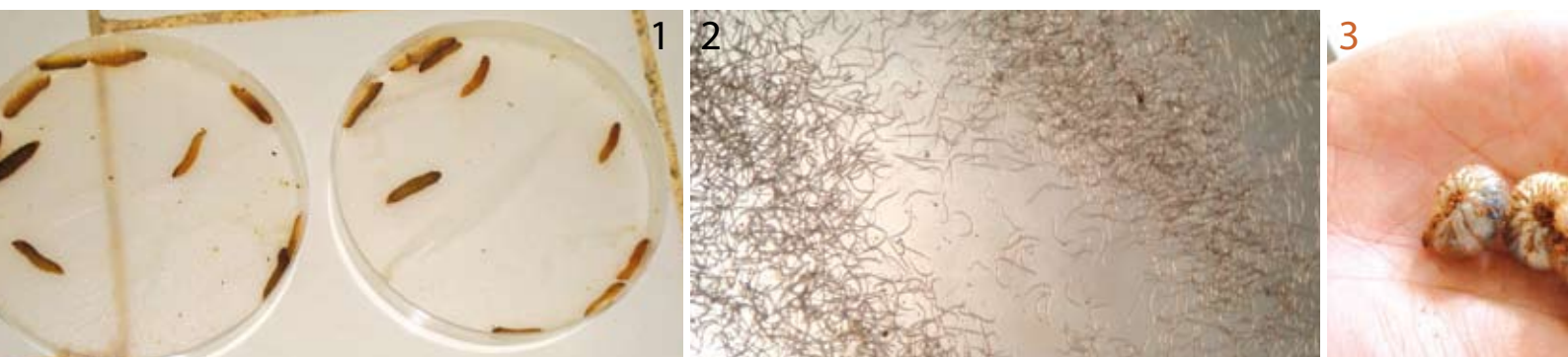
Après 7-8 jours d'incubation, les boîtes ont été ouvertes et les chenilles vivantes et mortes de *G. mellonella* ont été dégagées. Les chenilles noirâtres ont été jetées, alors que les chenilles rouges ou jaunes ont été déposées dans le dispositif de récolte des larves infestantes des EPNs connu par le piège de White. Après environ 2 à 3 semaines, les larves infestantes ont commencé à émigrer vers la solution de Ringer. Ensuite, les EPNs ont été récoltés, lavés plusieurs fois en utilisant des tamis de mailles convenables, puis stockés dans une solution de Ringer.

Les EPNs isolés [5 isolats d'EPN: 3 sont des *Heterorhabditidae* (Isolats 1, 2 et 3) et 2 appartenant aux *Steinernematidae* (isolats 4 et 5)] ont été testés par la suite contre des vers blancs (collectés dans un champ de pastèque dans la région de Meknès) en utilisant différentes concentrations (0, 500, 750, 1000 larves infestantes) dans le but de prévoir leur utilisation en lutte biologique contre certains ravageurs nuisibles passant une partie plus ou moins importante de leur cycle de développement dans le sol.

Sept jours après traitement, les insectes morts ont été rincés complètement avec de l'eau distillée puis écrasées à l'aide d'un scalpel. Le contenu dégagé a été examiné afin de vérifier la présence des nématodes à l'intérieur des insectes. Ainsi, toute larve morte hébergeant des nématodes vivants, a été considérée morte à cause des EPNs. Les mortalités corrigées ont été calculées par la suite.

Résultats

Tous les isolats ont engendré des mortalités croissantes avec l'augmentation de la concentration des larves infestantes. Les mortalités sont particulièrement importantes dans le cas des concentrations 750 et 1000 Larves infestantes (Li). Les tests statistiques, ont révélé que seulement l'isolat 5 (figure 1.) cause des mortalités importantes. Ces résultats peuvent être attribués à des causes diverses.



Concentration des EPNs

Pour la même concentration (500, 750 et 1000), les EPNs isolés génèrent des mortalités différentes variant de 10 à 55% pour les isolats 1, 2, 3 et 4 et jusqu'à 88% pour l'isolat 5. Cela peut être expliqué par la concentration létale (CL_{50}) qui varie selon les espèces des EPNs et les espèces d'insectes utilisés comme hôtes. D'où l'utilité de tester des concentrations supérieures à 1000 LI pour que les 4 isolats (1, 2, 3 et 4) puissent générer des taux de mortalités supérieurs contre les vers blancs.

Résistance des insectes

Selon certains auteurs, l'efficacité d'une espèce d'EPNs dépend parfois de sa capacité à surmonter le système immunitaire de l'insecte. Donc, il se peut que le système immunitaire des larves de vers blancs utilisés dans cet essai, ne parvienne pas à reconnaître les individus de l'isolat 5 comme des corps étrangers, alors qu'il est puissant dans la destruction des autres isolats (1, 2, 3 et 4).

Les espèces d'*Heterorhabditis* sont connues par leur capacité de pénétrer l'hôte à travers la cuticule, dont l'épaisseur peut affecter le processus de pénétration. Cela peut être vrai dans notre essai, car tous les *Heterorhabditidae* sont inefficaces contre les larves de dernier stade de vers blancs, et cela en raison de l'épaisseur maximale que la cuticule atteint durant ce stade.

Température de l'essai

L'efficacité des EPNs peut être également influencée par les conditions environnementales et surtout la température. Ceci a été démontré sur certaines souches utilisées contre des larves de Coléoptères. Donc, il se peut que la température de l'essai (22-23°C), soit meilleure pour l'isolat 5, mais pas pour les quatre autres isolats.

Taille des EPNs

Les petites espèces d'EPN semblent être meilleures et plus rapides dans la pénétration des insectes. L'analyse des mesures morphométriques des larves infestantes des 5 isolats utilisés dans cet essai (longueur, largeur maximale, longueur de la queue et le rapport longueur / longueur de la queue) a montré que l'isolat 5

(le plus efficace des 5) présente la taille la plus petite en comparaison avec les quatre autres isolats. Certains auteurs ont constaté que la taille des EPNs, influence l'infection et la mortalité des insectes avec la présence d'une corrélation négative entre la longueur des EPNs testés et la mortalité des larves utilisées. Il y a également une corrélation négative entre la largeur des nématodes et la mortalité de l'insecte.

Stade de développement de l'insecte

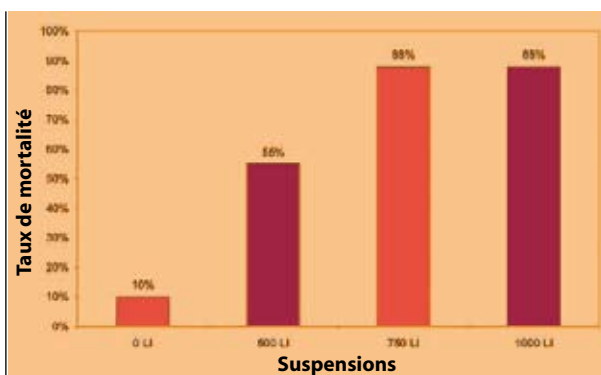
Il est possible que la différence de virulence entre les cinq EPNs isolés (seulement l'isolat 5 est efficace contre les vers blancs testés), dépende de l'âge de l'hôte. Durant l'essai, les biotests ont été réalisés en utilisant des larves du dernier stade de vers blancs. La différence d'efficacité des EPNs contre les insectes selon les stades de développement, a été signalée par plusieurs auteurs. Certains supposent que les larves âgées d'insectes, peuvent attirer plus des EPNs que les jeunes larves, car leurs ouvertures naturelles sont larges, offrant ainsi une invasion efficiente des nématodes. Mais ce constat n'a pas été vérifié dans le cas de notre essai, du fait de l'inefficacité de quatre isolats contre les larves du dernier stade de vers blancs.

Espèces et souches des EPNs

Au sein d'une même espèce des EPNs, l'efficacité varie selon les souches isolées. Donc, il se peut que les souches des trois isolats d'*Heterorhabditidae* et l'isolat 4 (*Steinernematidae*), soient les souches avirulentes contre les larves de vers blancs. Alors qu'il peut exister d'autres souches des mêmes isolats et qui soient virulentes pour les mêmes larves. Cela a été mis en évidence dans certaines études.

Effet de l'élevage en masse des EPNs

Certains auteurs ont trouvé que les souches récemment isolées du champ sont plus efficaces que celles élevées pour plusieurs générations dans le laboratoire. Dans notre cas, nous avons utilisé 2 types



d'isolats:

- les isolats élevés pour une génération sur *G. mellonella* et c'est le cas des trois isolats d'*Heterorhabditidae* et l'isolat 4 (*Steinernematidae*),
- l'isolat 5 le plus récent isolé du champ et qui est le seul avéré efficace contre les larves de vers blancs.

Conclusion

Les nématodes entomopathogènes existent naturellement au Maroc, et cela a été mis en évidence grâce à l'application de la technique de *Galleria*-trap sur les échantillons du sol collectés des régions de Sais, de Moyen Atlas et de Gharb. De ce fait, ces organismes peuvent constituer une alternative à la lutte chimique. L'essai a révélé une différence d'efficacité entre les différents isolats des EPNs, et a montré que l'isolat 5 est le plus performant dans la destruction des larves du dernier stade de vers blancs.

D'autres essais restent à faire, à savoir des essais d'efficacité des EPNs isolés aussi bien au laboratoire qu'au champ contre plusieurs espèces de ravageurs du sol et à différents stades de développement, et notamment les plus nuisibles tels que les taupins, le capnode, l'Otiorrhynque, le carpocapse, la cératite, etc. Il serait également intéressant de réaliser une cartographie des EPNs au Maroc en relation avec les facteurs abiotiques (texture, humidité, pH, lumière, etc.) et l'état des sols (naturels, exploités).

Figure 1 : Taux de mortalité engendrés par les différentes suspensions de l'isolat 5

