

ESSAI DE LUTTE BIOLOGIQUE AVEC LES NEMATODES
NEOAPLECTANIDAE CONTRE LES INSECTES DES CRUCIFERES

P. Jourdeuil, C. Laumond, E. Bonifassi et P. Millot

On connaît de nombreux exemples de parasitisme d'insectes par nématodes. Dans la majorité des cas, ces derniers appartiennent soit à la famille des Mermithidae (ordre Trichosyringida), soit à la famille des Sphaerulariidae (ordre Tylenchida) et il paraît maintenant acquis que ces deux familles prennent une part prépondérante dans la régulation naturelle des populations d'insectes les plus variés. L'ordre des Rhabditida, dont les représentants colonisent des milieux très divers, présentent en réalité très peu de parasites vrais d'insectes. C'est cependant dans ce groupe de nématodes que l'on trouve la famille des Neoaplectanidae et les Neoaplectana sont, dans l'état actuel de nos connaissances, les seuls nématodes susceptibles d'être utilisés d'une façon pratique en lutte biologique contre les insectes ravageurs.

Le genre Neoaplectana fut créé en 1929 avec la découverte de *N. glaseri* sur le hanneton japonais *Popillia japonica*. *N. glaseri* a été élevé et multiplié au laboratoire sur milieu artificiel et expérimenté en plein champ contre son hôte d'origine jusqu'en 1940. Ce n'est cependant qu'avec la découverte, en 1965, de *N. carpocapsae* sur *Carpocapsa pomonella* conjointement aux U. S. A. (DUTKY) et en Tchécoslovaquie (WEISER), que l'on prit réellement conscience de l'apport que ce type de nématode pourrait représenter comme auxiliaire en lutte biologique. Un des aspects les plus originaux de *N. carpocapsae* est son association avec une bactérie entomopathogène: *Achromobacter nematophilus* qui est localisée dans la partie antérieure de l'intestin des stades infestants (larves de 3ème stade) et qui semble spécifique. Les troisièmes stades infestants vivent dans le sol et son ingérés par les insectes dont ils perforent ensuite la paroi intestinale pour passer dans l'hémocoèle. Ils libèrent alors leurs bactéries qui se multiplient et provoquent une septicémie mortelle. Les nématodes deviennent adultes et plusieurs générations se développent dans le cadavre de l'insecte dont ils utilisent les ressources nutritives. Quand celles-ci sont épuisées, les troisièmes stades infestants s'échappent et s'avèrent capables de survivre dans le sol pendant une période plus ou moins longue, même si les conditions sont défavorables. Comme *A. nematophilus* est susceptible de provoquer une septicémie chez de nombreux insectes, le spectre d'hôtes de *N. carpocapsae* est par conséquence très large. En réalité, le seul comportement réellement parasite de *N. carpocapsae* et des Neoaplectana en général est leur faculté d'atteindre l'hémolymphe des insectes en traversant leur paroi intestinale alors que le développement et la multiplication dans la dépouille de l'hôte sont tout à fait semblables à ceux de nombreux Rhabditida qui se nourrissent de matières en décomposition. Cette potentialité des Neoaplectanidae de pouvoir être multipliés sur des milieux assez divers est une des causes de l'intérêt qu'ils suscitèrent dès leur découverte. Comme cela avait déjà été fait pour *N. glaseri*, des tentatives ont été effectuées avec plus ou moins de succès pour élever

N. carpocapsae sur milieu artificiel. Il n'en reste pas moins qu'actuellement, la seule méthode valable, et en fait celle qui est couramment utilisée, est la multiplication dans un insecte-hôte, en l'occurrence *Galleria mellonella* (DUTKY). C'est une variante améliorée de cette technique qui est utilisée depuis six ans à la Station de Recherches sur les Nématodes d'Antibes. Deux souches sont multipliées: la souche DD-136 provenant des U.S.A. et trouvée sur *C. pomonella* et la souche *agriotos* trouvée en U.R.S.S. sur *Agriotes lineatus*. Les troisièmes stades infestants sont stockés dans de l'eau, en chambre froide à la température de 5-6° et peuvent être conservés ainsi de une à plusieurs années sans perdre leur pouvoir infectieux.

On sait que la culture du colza se heurte actuellement à de très graves pullulations d'insectes déprédateurs. Les méthodes chimiques de lutte nécessitent des doses élevées de produits. De multiples interventions sont nécessaires car les attaques sont étalées sur toute la période de végétation. Les équilibres biologiques s'avèrent fortement perturbés et de nouvelles méthodes de lutte doivent être élaborées à plus ou moins long terme. Une évaluation des possibilités d'utilisation de *N. carpocapsae* contre les ravageurs du colza a dont été envisagée, compte tenu du fait que des observations réalisées en 1961 (JOURDHEUIL) avaient permis de mettre en évidence une infestation naturelle de *Ceuthorrhynchus picitarsis* par un *Neoplectanidae* indéterminé. Un certain nombre de points sont d'ailleurs favorables à une expérimentation de ce type. Les coléoptères du colza se nymphosent en effet à une faible profondeur dans le sol, favorisant ainsi leur rencontre avec les nématodes qui sont localisés dans la même zone. Il paraissait également possible, en s'appuyant sur le fait que les larves infestantes de *N. carpocapsae* survivent longtemps dans le sol, d'atteindre successivement les différents ravageurs au fur et à mesure de leur enfouissement en n'effectuant qu'un seul traitement précoce. En revanche, une telle intervention qui ne se situe qu'après que les ravageurs aient commis leurs dégâts, ne peut s'envisager que dans le cadre d'une lutte préventive et généralisée.

Essais préliminaires

Des recherches préliminaires réalisées en 1969 et 1970 sous forme d'expérimentation au laboratoire et de micro-essais en pots dans des conditions aussi voisines que possible de celles du milieu naturel avaient permis d'acquiescer un certain nombre de données concernant les possibilités d'emploi de *N. carpocapsae* contre les ravageurs du colza:

- Les principales espèces de coléoptères phytophages inféodées au colza s'étaient avérées réceptives aux deux souches de *N. carpocapsae*, un échec relatif étant cependant enregistré avec les *Cécidomyies* (*Dasynura brassicae*).
- Les essais en pots avaient montré que les nématodes déposés à la surface du sol pouvaient s'enfoncer de quelques centimètres et étaient susceptibles d'effectuer des migrations horizontales ou verticales en vue d'une recherche active de l'hôte. La survie dans le sol, même en l'ab-

sence d'hôte, semblait également pouvoir être chiffrée à plusieurs mois, même dans des conditions de température et surtout d'humidité défavorables.

- Le seuil thermique minimal d'activité de la souche DD-136 avait été évalué à 13-15°. Cette valeur, assez élevée, risquait de constituer un handicap sérieux pour utilisation en plein champ. C'est une des raisons pour lesquelles l'expérimentation de la souche agriotes paraissait intéressante, puisque cette dernière est théoriquement mieux adaptée aux conditions de température susceptibles d'être rencontrées avec les larves à enfouissement précoce telles les Altises.

Essais dans les conditions naturelles de culture

Les expérimentations ont été élargies et développées en culture normale de colza par des essais parcellaires réalisés dans la vallée du Rhône (département de la Drôme) en 1971, 1972 et 1973.

Les essais parcellaires entrepris pendant ces trois années ont été réalisés selon un même processus. Les nématodes ont été appliqués sur le sol, à l'automne ou au printemps, en suspension dans l'eau, par pulvérisation ou aspersion. Des coffres pièges ont été placés sur les parcelles traitées et témoins après que les larves des divers ravageurs se soient enfouies dans le sol pour se nymphoser. Ces coffres, de 1 m² et 0,30 m de haut, étanches à la lumière, étaient dotés de tubes en plexiglass transparent dans lesquels les insectes adultes émergents étaient recueillis et dénombrés une fois par semaine.

Durant les trois années d'essais, les résultats ont porté essentiellement sur les Altises: *Psylliodes chrysocephala*, les Mélégièthes: *Meligethes* sp. et les charançons des siliques: *Ceuthorrhynchus assimilis*.

Essai 1971

Cet essai a été réalisé sur 30 parcelles de 2 m² chacune, soit:

- 10 parcelles témoins,
- 10 parcelles traitées à l'automne et au printemps - 1 000 000 nématodes/m²,
- 10 parcelles traitées uniquement au printemps - 1 000 000 nématodes/m².

Le traitement automnal avait pour but d'atteindre les jeunes larves d'Altises avant leur pénétration dans la plante. De plus, la petite taille des colzas à l'automne favorisait l'application des nématodes. Enfin, il semblait également intéressant de voir si les *Neoplectana* étaient susceptibles d'atteindre les larves d'Altises pendant la phase libre de leur développement.

Des prélèvements de pieds de colza ont été effectués à intervalles réguliers pendant toute la durée de l'essai pour évaluer les taux d'attaque d'Altises et leur stade évolutif.

Tableau 1:

Insectes		Total des adultes émergents		
		Témoin	traité au- tomne et printemps	Traité printemps
Altises	Total	83	3	18
	Différence Traité - Témoin		-96 %	-78 %
Mélégèthes	Total	128	74	76
	Différence Traité - Témoin		-42 %	-41 %
Caraboidea	Total	122	90	139
	Différence Traité - Témoin		-26 %	+11 %

Les résultats (tableau 1) montrent une excellente efficacité des *Neoaplectana* contre les Altises puisque la baisse de population enregistrée dans les parcelles traitées par rapport aux témoins est de 78 % dans le cas du traitement printemps et de 96 % quand celui-ci a eu lieu à l'automne et au printemps.

En revanche, l'essai s'est avéré moins favorable sur les Mélégèthes car la baisse de population émergente n'a été que de 41 % et 42 % dans les mêmes conditions que précédemment.

Parallèlement, l'action des *Neoaplectana* sur l'entomofaune prédatrice a été évaluée sur les Caraboidea. Les chiffres enregistrés ne permettent pas d'affirmer que les nématodes ont une action limitante sur ces insectes.

Essai 1972

L'essai s'est déroulé selon le même processus qu'en 1971. Les parcelles ont cependant été portées à 4 m² et 2 doses de nématodes ont été utilisées. Enfin, à la lumière des résultats favorables du traitement automne et printemps, un traitement uniquement à l'automne a été effectué pour comparaison avec le traitement printemps. L'essai a donc été réalisé sur 50 parcelles, soit:

- 10 parcelles témoins,
- 10 parcelles traitées automne - 1 000 000 nématodes/m²,
- 10 parcelles traitées automne - 100 000 nématodes/m²,
- 10 parcelles traitées printemps - 1 000 000 nématodes/m²,
- 10 parcelles traitées printemps - 100 000 nématodes/m².

L'évaluation des populations d'adultes émergents a été effectuée comme l'année précédente à l'aide des coffres pièges. Des dissections de pieds de colza ont également été faites pendant la durée de l'essai pour contrôler le taux d'attaque d'Altises ainsi que leur degré d'évolution.

Tableau 2: 1972

Insectes		Total des adultes émergents				
		Témoin	Traité A1	Traité A2	Traité P1	Traité P2
Altises	Total	1 428	1 238	912	686	113
	Différence traité - témoin		- 13 %	- 36 %	- 52 %	- 92 %
Meligèthes	Total	477	535	523	448	165
	Différence traité - témoin		+ 11 %	+ 11 %	- 6 %	- 65 %

A1 = automne 100 000 nématodes/m²
 A2 = automne 1 000 000 nématodes/m²
 P1 = printemps 100 000 nématodes/m²
 P2 = printemps 1 000 000 nématodes/m²

Les résultats (tableau 2) mettent une nouvelle fois en évidence l'efficacité des *Neoaplectana* contre les Altises. La dose de 1 000 000 nématodes/m² au printemps donne très nettement les meilleurs résultats avec une baisse de population de 92 % tandis qu'une dose 10 fois plus faible provoque encore une baisse de population de 52 %. En revanche, les traitements automne n'ont pas donné les résultats escomptés et infirment ceux de l'année précédente. Il semble donc qu'en 1971 les résultats favorables des traitements automne et printemps par rapport aux traitements uniquement printemps aient été surtout dus à un phénomène de cumulation de dose.

Essai 1973

Cette dernière expérimentation visait à mettre en évidence les problèmes posés par le traitement d'une surface de colza nettement plus importante, et ceci tant sur le plan des capacités de production des nématodes au laboratoire que sur celui de la mise au point de la meilleure méthode de traitement en grande surface. A cet effet, l'essai a porté sur environ 4 000 m² dont 2 700 traités, soit:

- 30 parcelles témoins de 45 m²,
- 10 parcelles traitées de 90 m² - 500 000 nématodes/m²,
- 20 parcelles traitées de 90 m² - 1 000 000 nématodes/m².

Les coffres pièges ont été placés au hasard, également à raison de un par parcelle. Afin de recueillir successivement les différents ravageurs présents sur la culture, 10 coffres ont été posés le 9 mai sur les parcelles traitées avec 500 000 nématodes/m² pour piéger essentiellement les Altises. Dans les parcelles traitées avec 1 000 000 nématodes/m², 10 coffres ont été placés le 30 mai pour les Méléigèthes et 10 autres le 19 juin pour les Charançons des siliques.

Tableau 3: 1973 (x dose; 500 000 nématodes/m²; xx total sur 20 coffres)

Insectes		Total des adultes émergents	
		Témoin	Traité
Altises (x)	Total	269	209
	Différence Traité - Témoin		- 22 %
Altises	Total (xx)	281	130
	Différence Traité - Témoin		- 55 %
Méléigèthes	Total (xx)	235	264
	Différence Traité - Témoin		+ 12 %
C. assimilis	Total	267	131
	Différence Traité - Témoin		- 51 %

Les résultats (tableau 3) montrent d'importantes différences par rapport aux deux années précédentes. En ce qui concerne les Altises dans les parcelles 500 000 nématodes/m², la baisse de population n'est que de 22 %. Les Altises recueillies dans les 20 autres parcelles traitées à 1 000 000 nématodes/m² montrent une baisse de 55 %, beaucoup plus faible que celle enregistrée en 1971 et 1972 avec la même dose. Pour les Charançons des siliques, la baisse de population a été de 51 %. Aucune action n'a été constatée sur les Méléigèthes ce qui est très surprenant.

Plusieurs hypothèses peuvent être formulées pour expliquer les mauvais résultats enregistrés durant cet essai. La perte du pouvoir pathogène de la souche utilisée doit être exclue car le test de contrôle effectué au laboratoire au moment de chaque application sur le terrain avait été positif. La méthodologie de l'essai a été la même que les années précédentes, mais avec cependant deux différences portant sur deux points qui pourraient être éventuellement incriminés. D'une part, l'épandage des nématodes a

été effectué à l'arrosoir et le colza ayant déjà subi une croissance végétative importante au moment du traitement, une partie de la dose a pu être perdue par dessèchement sur le feuillage. D'autre part, la date d'application (5/4 et 18/4) a pu être trop précoce. Enfin, compte-tenu de l'éloignement des lieux d'essai par rapport au laboratoire, les contrôles des insectes émergents dans les coffres-pièges ont peut-être été soumis à certains aléas, le personnel qualifié n'ayant pas toujours été sur place pour les effectuer.

Conclusion

Les expérimentations conduites dans les conditions normales de culture de colzas ont montré que *N. carpocapsae* possède une bonne efficacité contre les différents ravageurs, si l'on excepte les résultats de 1973 dans lesquels les nématodes ne semblent pas en cause.

En 1972, le champ sur lequel s'est déroulé l'essai était très fortement parasité et l'importance des attaques a pu être mise en évidence non seulement par le nombre d'émergents de la nouvelle génération, mais aussi par l'évaluation du niveau des populations larvaires au cours de l'hiver et du printemps. Dans ces conditions particulièrement difficiles, le traitement au printemps a conduit à une disparition quasi totale des insectes.

Il s'est cependant avéré que les nématodes sont particulièrement efficaces quand le traitement est effectué juste avant les premiers enfouissements des larves de ravageurs. Or, à cette période, le colza est déjà très avancé et une grande partie des nématodes est perdue sur le feuillage. Il reste donc à déterminer le moment où l'interaction est la plus favorable, compte tenu des capacités de survie des *Neocaplectana* et des impératifs matériels afin que l'épandage soit réalisé dans les meilleures conditions.

La dose de 1 000 000 nématodes/m² a donné les meilleurs résultats mais il est bien évident que la très importante quantité de nématodes nécessaire pour les essais en grande surface pose un problème non encore résolu. Une approche plus précise et plus fondamentale du problème du pouvoir infestant de *N. carpocapsae* et de la virulence de la bactérie associée doit être envisagée. D'autre part, la méthode actuelle de multiplication sur insecte hôte est très onéreuse et ne peut valablement permettre de produire de très grosses quantités de nématodes d'une façon continue. L'objectif principal des travaux consiste d'ores et déjà à mettre au point une méthode de production industrielle sur milieu artificiel, condition indispensable à leur utilisation future de *N. carpocapsae* en lutte biologique.

Resumé

A la suite de recherches préliminaires effectuées au laboratoire et en micro-essais en pots, qui avaient montré une bonne efficacité de *Neocaplectana carpocapsae* (Nematoda - Neocaplectanidae) contre les ravageurs du colza, des essais en plein champ dans les conditions normales de culture

ont été réalisés en 1971, 1972 et 1973.

Les résultats obtenus ont montré que *N. carpocapsae* avait une action positive sur les Altises: *Psylliodes chrysocephala*, les Méléghes: *Meligethes* sp., les Charançons des siliques: *Ceuthorrhynchus assimilis*. Un seul traitement à la dose de 1 000 000 nématodes/m² suffit à détruire la plus grande partie des insectes si le traitement est effectué au printemps avant la migration des larves de ravageurs.