AG 177948
DK 518527
CD-BR 7878
40

LABORATOIRE D'ENTOMOLOGIE
CIRAD/IRAT-REUNION

COMPTE-RENDU D'AVANCEMENT DES TRAVAUX PORTANT SUR LE VER BLANC (*HOPLOCHELUS MARGINALIS*)

(Période du 01.01.89 au 31.12.89)

B. VERCAMBRE

A. RESULTATS COMPLEMENTAIRES SUR LA BIOLOGIE DE *H. MARGINALIS*

1. Etude du vol des adultes de *H. marginalis*

Ce type d'observation n'est plus faite par l'IRAT Réunion qui a transmis sa méthodologie à la F.D.G.D.E.C.

2. Etude de la "perte de vitalité" par mesures de critères morpho-biologiques

Cette étude se poursuit et sera développée afin de préciser les causes de la baisse de virulence progressivement constatée chez le ravageur.

a) Causes "physiologiques" : l'expérimentation de 1988 a été renouvelée en juin 1989, en simplifiant la méthodologie :

- population étudiée : Sainte-Thérèse, Bellemène, Colimaçons
- prélèvement des nymphes et des adultes dans les champs, maintenus en laboratoire de La Bretagne
- marquage des adultes réduit au minimum (uniquement croisement inter-population).

Entre le 31/11 et le 15/12, il a été réalisées 2 séries d'accouplement intra-population des 3 lieux considérés. Dans des cages (bâti en bois, tendu de toile moustiquaire), on place 25 mâles et 25 femelles/série, avec prélèvements tous les soirs (entre 16 h 45 et 20 h 00) pendant 7 jours consécutifs/série des femelles après accouplement et mise en pondoir le lendemain matin. Les premiers résultats apparaissent au tableau 1.

78

CIRAD-DIST
Unité bibliothèque
Lavalette

BR08532

Tableau 1 : Résultats des 2 premières séries

LIEU	TYPE DE CROISEMENT	N° SERIE	NB COUPLES POTENTIELS	NB COUPLES OBTENUS	%	NB D'OEUFS/ ♀ (NON ACCOUPLEES)
STE-THERESE	Ste-Th x Ste-Th	1 2	25 25	0 4	8 %	18,5 27,0
BELLEMENE	Bell. x Bell.	1 2	25 25	18 14 (en cours)	>64 %	34 -
COLIMACONS	Col. x Col.	1 2	25 25	16 3	38 %	30,1 34,3

Conclusion provisoire : Confirmation de la moindre vitalité de la population de Sainte-Thérèse (nombre accouplement, nombre d'oeufs) par rapport aux 2 autres lieux, comparables.

La troisième série d'accouplement intra-population a commencée, ainsi que la première série du croisement (Bellemène x Sainte-Thérèse).

L'observation des pontes issues des femelles accouplées a commencé.

b) Causes maladies : Les études portant sur les bactéries trouvées dans les bourses copulatrices des femelles en 1988 n'ont pas encore été faites (prévues au début 1990). Du matériel biologique supplémentaire a été prélevé et mis en réserve pour observations ultérieures.

c) Causes trophiques : L'élevage en conditions artificielles standard de laboratoire des larves prélevées au stade fin L1 est poursuivi. Les résultats actuels sont présentés au tableau 2.

Tableau 2 : Résultats des élevages en conditions standard de 3 populations de *H. marginalis*

LIEU	NB DE LARVES MISES EN ELEVAGE	NYMPHES			ADULTES					
		NB	% SURVIE	POIDS MOYEN	♂	♀	NB	% SURVIE	POIDS MOYEN	NB D'OEUFS PAR ♀
STE-THERESE	200	78	39	0,67	42	23	65	32,5	0,44	(en cours)
BELLEMENE	193	121	62,7	0,65	59	42	101	52,3	0,42	(en cours)
COLIMACONS	200	57	28,5	0,69	26	16	42	21,0	0,47	(en cours)

CONCLUSION :

- Un élevage complet de *H. marginalis* a été réalisé mais le taux de réussite (% adulte/L1 mise en élevage) est médiocre (20 à 50 %).

- La population de Bellemène réussit le mieux. Cette conclusion se confirme quand on considère le poids des adultes prélevés en conditions naturelles (Poids des femelles - Bellemène : 0,72 gr ; Colimaçons : 0,60 gr ; Ste-Thérèse : 0,50 gr).

3. Essai méthodologique

L'exploitation des données envoyées au service de Biométrie sera envisagée au début 1990, lors d'une mission de Mr ARNAULD. D'autres prélèvements systématiques (estimation des densités de vers blancs avant traitement dans les 3 essais *Beauveria* 1989 (Janvier-Février 1989) ont été mis en forme pour diversifier les exemples de dispersion des vers blancs.

B. ESTIMATION DES PERTES DE RENDEMENT ET SEUIL DE NUISIBILITE

1. Pertes de rendement au champ

Durant la coupe, il a été estimé les pertes de rendement et la richesse en cannes sur 5 champs. Les données sont en cours d'exploitation.

2. Pertes de rendement dans les essais agronomiques

Les populations des parcelles témoins n'ont pas dépassé 5 vers blancs/souche, ce qui correspond au niveau haut du seuil de nuisibilité déterminé par l'IRAT pour la zone des Hauts de l'Ouest.

L'étude des rendements des 2 essais agronomiques traités en repousses ne montre pas de différence de rendement significative, malgré une baisse de population de 50 % dans les parcelles traitées, confortant ainsi la valeur du seuil actuel.

3. Liaison entre attaque de vers blancs et affaiblissement d'une souche de canne

Le seuil de nuisibilité estimé par l'IRAT, repose sur la notion de souches "solides" (bien ancrées dans le sol et impossibles à extirper manuellement) et souches "faibles" (venant facilement à la traction manuelle).

Entre les 2, il existe un gradient de "vigueur" des souches. Afin de mesurer la liaison entre nombre de vers blancs et affaiblissement progressif d'une souche de canne, un appareil de traction muni d'un dynamomètre a été mis au point avec le CEEMAT et sera utilisé au cours de la prochaine saison de coupe.

CIRAD-DIST
Unité bibliothèque
Lavalette

C. RESULTATS DE LA LUTTE BIOLOGIQUE

1. Champignons

1.1. Recherche en laboratoire sur les mycoses entomopathogènes

a) Mycoses à *Beauveria*

* Souches malgaches :

La mission effectuée à Madagascar par l'IRAT et la FOFIFA du 25 avril au 16 mai 1989 concernant les prospections de maladies sur les ravageurs du sol a permis d'isoler 2 nouveaux pathotypes d'*Hoplochelus marginalis*, l'un originaire de la côte Est (Brickaville), l'autre, de la région Ouest de la capitale malgache (Sakay). Ces 2 isolats ont été testés pour leur pouvoir pathogène à l'égard des larves d'*H. marginalis*. Les résultats obtenus font apparaître une très forte sensibilité des vers blancs à ces isolats, la DL 50 étant inférieure à 10^2 spores/ml. Le pouvoir pathogène est comparable à l'isolat utilisé actuellement à la Réunion. Ces 2 pathotypes sont conservés en laboratoire et vont faire l'objet d'une analyse électrophorétique comparée avec d'autres souches malgaches précédemment isolées.

* Production de *Beauveria* avec pré-culture en milieu liquide

Depuis sa création, l'unité de production de champignons entomopathogènes de Bois-Rouge assure la fourniture d'un produit à base de riz sporisé destiné à être appliqué en champ dans le cadre de la lutte microbiologique contre le ver blanc. Cette production est réalisée à partir d'une pré-culture du champignon sur milieu gélosé en tube ou en fiole de Roux. Cette technique permet de fournir un rendement de l'ordre de 1.10^9 spores/gr. de riz frais. Cependant, la pré-culture du champignon en milieu gélosé nécessite de nombreuses manipulations et demande une place indispensable au stockage de nombreux récipients de culture. C'est pourquoi, nous avons cherché une technique de pré-culture ne présentant pas ces inconvénients. Nous nous sommes orientés vers la culture du champignon en milieu nutritif liquide agité qui permet d'obtenir un inoculum à base de blastospores infectieuses avec un rendement élevé. L'objectif de cette étude est de montrer les avantages d'une telle technique afin de la substituer à la culture en milieu gélosé comme moyen de production de l'inoculum pour l'ensemencement du substrat à base de riz.

Les principaux résultats obtenus sont les suivants :

* Production d'un inoculum d'ensemencement du riz avec un rendement élevé. On multiplie par 60 (3 jours) et 80 (5 jours) le nombre de spores.

* Gain de temps au niveau du repiquage du champignon et les manipulations en milieu aseptique.

* Risque de contamination diminuée et économie de verrerie de laboratoire.

* Pas d'amélioration au niveau de la quantité de spores par gramme de riz ($\approx 1.10^9$ spores/g).

* Pas d'amélioration au niveau des contaminations bactériennes des sacs de riz. Avec un autoclave unique, on obtient 10 % de sacs contaminés ; avec un double autoclave, ce pourcentage est ramené à 1 %. Une étude complémentaire est en cours à l'unité de Bois-Rouge pour confirmer ce résultat.

* Le pouvoir germinatif des spores développées sur riz est élevé (100 %) mais ce résultat est biaisé par une erreur d'appréciation de la quantité des spores ensemencées en boîte de Petri.

* La sensibilité des vers blancs au produit est acceptable car équivalente à une souche référence, toutes conditions égales par ailleurs. Toutefois, on a observé un pourcentage élevé de mortalité des larves ne présentant pas de sporulation du champignon (60 %). Ceci est important d'un point de vue épidémiologique car il n'y a plus "d'auto-entretien" de l'inoculum. Par conséquent, le laboratoire a engagé des recherches afin d'apporter des éléments de réponse sur l'origine de ce phénomène.

* Des résultats similaires ont été obtenus avec un produit identique mais stocké 1 mois à + 5°C. Ceci indique une bonne tenue au stockage du riz sporisé.

EN CONCLUSION : la préculture du champignon *Beauveria* en milieu liquide agité offre la possibilité d'obtenir un inoculum d'ensemencement pour la culture du riz rapidement et avec un rendement élevé. L'unité de Bois-Rouge va s'orienter vers cette technique pour sa production, l'achat d'une table d'agitation ayant été effectué.

* Sensibilité larvaire et pouvoir germinatif du champignon *Beauveria* cultivé à l'unité de Bois-Rouge

Un programme de travail a été établi entre le laboratoire et l'unité de Bois-Rouge. Celui-ci porte sur des tests du pouvoir pathogène et du pouvoir germinatif du champignon produit à l'égard des larves et des adultes d'*H. marginalis*. Le germe est testé mensuellement pour le pouvoir pathogène et bi-mensuellement pour le pouvoir germinatif. Le pouvoir pathogène est apprécié par le % de mortalité de 4 x 20 individus et le pouvoir de germination par le % de colonies développées sur gélose. Les résultats obtenus apparaissent dans le tableau ci-dessous :

TYPE D'ISOLAT	POUVOIR PATHOGENE	POUVOIR GERMINATIF
7/4/89, 5 mois à 5°C	80 % (# isolat réf)	100 %, pb méthod.
7/4/89, 6 mois à 5°C	90 % (> isolat réf)	
idem, repiquage n+1	85 % (# isolat réf)	80 %

EN CONCLUSION : on constate qu'il n'y a pas d'altérations des potentialités d'origine de la souche entretenue à l'unité de production de Bois-Rouge.

b) **Mycose à métarhizium**

Introduit à la Réunion depuis 1982, le champignon *Métarhizium* fait actuellement l'objet d'études sur son extension et son acclimatation dans l'île. Une étude, entreprise en collaboration avec l'INRA de la Minière, vise à montrer l'identité de la souche introduite ce qui permettra de s'assurer de l'acclimatation et de l'extension de ce pathotype. La technique employée est l'analyse électrophorétique d'isolements monospores. A ce jour, 30 clones ont été envoyés à la Minière correspondant à l'étude sur l'acclimatation. 30 autres clones sont en cours d'isolement correspondant à l'étude sur l'extension. Les résultats ne nous ont pas encore été communiqués par l'INRA.

CIRAD-DIST
Unité bibliothèque
Lavalette

1.2. Applications agronomiques du champignon *Beauveria*

a) Essais de plein champ : début 1989

* Trois essais agronomiques avec *Beauveria* ont été réalisés : 2 en repousses de canne à sucre et un à la plantation. Le suxon (28 kg/ha), le *Beauveria* à 50 et 300 kg/ha selon 2 formulations (riz et granulé) et un témoin 0 ont été comparés. D'après les 4 prélèvements réalisés tous les 2 mois, on constate :

- Une diminution de 50 % des effectifs larvaires et nymphaux dans les parcelles traitées par rapport à celles des témoins.

- Efficacité comparable des insecticides chimique et biologique.

- Un taux d'insectes retrouvés mycosés de l'ordre de 30 à 40 %.

* Douze (9 en 1988, 3 en 1989) tests (dispositif expérimental plus simple que les essais agronomiques) ont été suivis régulièrement au cours de l'année 1989. Plusieurs modalités d'application (larves mycosées placées directement dans le sol d'un champ de canne à sucre, adultes pulvérisés ou trempés à l'aide d'une solution de spores, riz sporisé appliqué en cultures maraîchères) et plusieurs centres d'intérêt étaient envisagés (évolution de la virulence d'un inoculum initial durant 2 ans, acclimatation et extension de la mycose par le biais des adultes au moment de la période de vol).

Les principaux résultats sont les suivants :

- Baisse des populations de vers blancs de 18 à 93,3 % par rapport aux parcelles témoin.

- Transmission possible de *Beauveria* à la génération N + 1 par traitement des adultes de la génération N.

- Développement d'une épizootie à *Beauveria* en 1989 sur les parcelles inoculées durant la campagne 1988 (31 mars) à l'aide de 0,5 à 1 larve mycosée par souche. Dans 2 cas, on parvient à augmenter l'inoculum initial : 4 larves mycosées/souche à la fin du stade L3 de *Hoplochelus* (juillet 1989) (cf. figure1 : test n° 1 *Beauveria* (LASSAONE, La Réunion, 1988). Le prélèvement de Novembre indique un certain tassement des résultats, qui conservent néanmoins la même tendance.

Si l'on ajoute les résultats des 3 tests de la FDGDEC, on peut calculer une moyenne arithmétique des % de baisses de population par rapport aux parcelles témoins et un % de larves mycosées au champ, s'établissant aussi pour 1989 :

AVRIL-MAI		JUIN-JUILLET	
% baisse population	% larves mycosées	% baisse population	% larves mycosées
37,6 %	33,5 %	50,2 %	47,9 %

On remarque quel le taux moyen de baisse de population en Juin-Juillet est du même ordre que celui des essais agronomiques et qu'un fort % de larves mycosées est retrouvé dans le sol.

EN CONCLUSION : les résultats obtenus sur l'efficacité de *Beauveria* à l'égard du ver blanc sont très prometteurs mais ils nécessitent un complément d'étude en plein champ et une reproductibilité dans le temps.

b) **Essais de plein champ : fin 1989**

Quatre nouveaux essais sont en cours d'installation. Ils sont effectués en collaboration avec la Fédération des Groupements de Défense contre les Ennemis des Cultures (F.D.G.D.E.C.) et concernent la canne à la plantation. Les niveaux de traitement portent sur différentes doses de *Beauveria* et sur le suxon appliqué seul ou en complément du champignon.

EN CONCLUSION : l'année 1990 apparaît comme décisive en matière de lutte contre le ver blanc. En effet, on possèdera plusieurs années d'expérimentations du *Beauveria* et l'on pourra juger de l'efficacité de ce germe sur 2-3 ans.

2. Grégarines

Les élevages des larves avec ou sans grégarines ont été poursuivis jusqu'à l'obtention des adultes notamment afin de suivre l'impact des protozoaires sur la capacité reproductive des femelles. L'exploitation des résultats sont en cours. On doit souligner que des pertes importantes ont eu lieu suite à une épizootie accidentelle des élevages maintenus au P.C VERS BLANCS, due à *Beauveria*.

CONCLUSION : Nos observations biologiques sont de plus en plus fréquemment rendues difficiles, du fait du développement non voulu de *Beauveria* sur les élevages en quarantaines. Des dispositions très sévères en matière d'aseptie vont devoir être prises.

D. CONTACTS AVEC LA PROFESSION

1. Convention FDGDEC-IRAT

Août 1989 : Réunion de mise au point et définition d'un programme d'appui (cf. supra)

2. Mise au point d'une brouette distributrice de riz sporisé

Le CIRAD (CEEMAT + IRAT) a mis au point une brouette distributrice du riz sporisé. Les essais sont satisfaisants.

E. ACTIVITES DE SYNTHESE, CONTACTS SCIENTIFIQUES, OPERATION DE DEVELOPPEMENT

1. Réunion du groupe de travail Vers Blancs

25/07 : Réunion de l'unité de Production d'Entomopathogène
01/08 : Réunion à la D.A.F.
07/09 : Réunion au CIRAD Montpellier
19/10 : Réunion à la D.A.F.
20/11 : Réunion à la D.A.F.

2. Contacts scientifiques

MAURICE :

20 au 24/07 : Prélèvement dans les zones aéroportuaires - Compte-rendu envoyé à la Préfecture pour transmission aux pouvoirs publics de Maurice

24/11 : Contact avec le Dr WILLIAMS

05 au 12/12 : Mission d'information et d'observation sur ver blanc d'une délégation mauricienne (MM RAJABALEE, JOOMAYE, BENI-MADHU) dans le cadre du COCOLAG.

MADAGASCAR :

18 au 25/07 : Visite d'information de 2 entomologistes malgaches du FOFIFA (L. RANDRIANANDRIANINA et E. RAZAFINDRAMANA).

BRESIL :

09 au 21/09 : Participation au congrès ISSCT.

FRANCE :

23 au 17/09 : Contact avec INRA La Minière (M. RABA) et Université ORSAY (M. DAVID)

30/9 au 4/10 : Foire de l'Océan Indien - Réception de journalistes métropolitains.

3. Opération de développement et formation

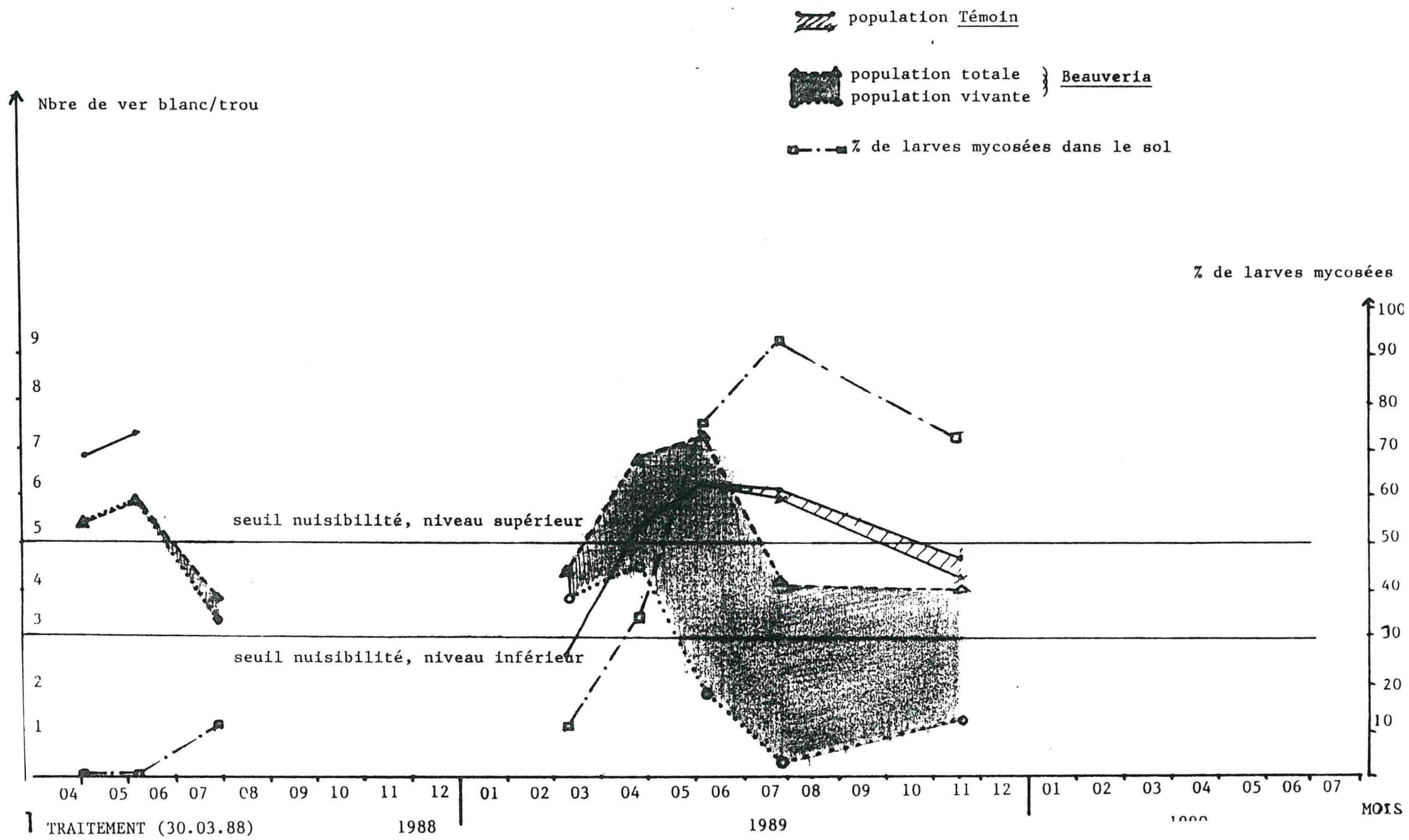
7 au 17/11 : Stage de formation de Mr TSITSALA (ingénieur agricole gabonais), sur VER BLANC.

30/11 : Visite des étudiants en formation T.S. du Lycée Agricole de Saint-Paul (Professeur : Mr PINARD)

4. Publication et notes

5 notes + 2 rapports de synthèses rédigés à l'occasion des réunions du groupe Vers Blancs et de la convention FDGDEC-IRAT.

FIGURE N° 1

TEST N°1 : BEAUVERIA (Lassaone, La Réunion, 1988)

(traitement avec larves mycosées : 1 larve/m ligne de canne)