

**INFESTATION DE DIFFÉRENTES CASTES DE TERMITES
SUPÉRIEURS PAR DES NÉMATODES ENTOMOPATHOGÈNES -
RÔLE DE LA COMPOSITION EN LIPIDES**

D. BENMOUSSA-HAICHOIR ¹, G. REVERSAT ², C. ROULAND ¹

*¹ Laboratoire d'Ecophysiologie des Invertébrés - Université Paris XII-Val de Marne,
avenue du général de Gaulle. 94010 - CRETEIL Cedex.*

*² Laboratoire d'Ecologie des Sols tropicaux. ORSTOM, Ile de France
avenue Voragnat 93000 Bondy Cedex 09*

Résumé: Différentes castes de termites champignonnistes (Termitidae, Macrotermitinae), ravageurs de culture sucrières au Tchad et au Congo, ont été utilisées d'une part pour tester l'efficacité de trois souches de nématodes entomopathogènes du genre *Steinernema* et *Heterorhabditis* et d'autre part pour déterminer les mécanismes de développement du parasite à l'intérieur de son hôte. Des connaissances nouvelles sur la composition biochimique des différentes castes peuvent expliquer que la multiplication des nématodes entomopathogènes ne se réalisent, chez les Macrotermitinae testés, que chez les ailés.

Mots clés : *Nématodes entomopathogène, lipides, Terme, culture tropicale*

**SENSITIVITY OF THE DIFFERENTS CASTES OF HIGHER TERMITES
TO AN INFESTATION WITH ENTOMOPATHOGENIC NEMATODS
-ROLE OF THE LIPIDS COMPOSITION**

Abstract : Workers, soldiers, nymphs and alates from the fungus-growing termites Macrotermitinae which caused damages on tropical crops were used to test the efficiency of 3 strains of entomopathogenic nematodes of genera *Heterorhabditis* and *Steinernema*. Recents studies on biochemical composition of differents castes show that the development of entomopathogenic nematodes exists only on the alates .

Key words : *entomopathogenic nematodes, termite control, lipids, tropical crops*

INTRODUCTION

Les nématodes des genres *Heterorhabditis* et *Steinernema* sont des parasites d'insectes édaphiques utilisés en lutte biologique.

Le stade infestant de ces nématodes correspond au troisième stade larvaire L3. A ce stade, la larve vit à l'état libre dans le sol et recherche activement un hôte. Une fois l'hôte trouvé, la larve pénètre par un orifice naturel, puis gagne l'hémolymphe; la mort de l'hôte intervient dans les 48 heures après infestation.

Une bactérie du genre *Xenorhabdus* est associée au nématode chez les *Steinernema*, du genre *Photorhabdus* chez les *Heterorhabditis* (Boemare *et al.*, 1993). Cette association joue un rôle très important dans le mécanisme de la pathogénicité envers l'insecte (Laumond *et al.*, 1989).

Leur efficacité contre plusieurs ravageurs d'importance agronomique a déjà été mise en évidence par différents auteurs (Laumond *et al.*, 1979 ; Georgis *et al.*, 1982 ; Epsy et Capinera, 1988 ; Mauldin et Beal, 1989) et leur innocuité envers les animaux à sang chaud en font des acteurs de la lutte biologique particulièrement intéressants.

Des premiers travaux ont montré que l'infestation d'aîlés d'*Ancistrotermes guineensis* et de *Pseudacanthotermes spiniger* par plusieurs souches de nématodes entomopathogènes entraînait non seulement une forte mortalité de ces derniers mais encore une production de nouvelles larves L3 infestantes (Rouland *et al.*, 1996). Les nématodes peuvent donc effectuer un cycle biologique complet dans un sexué de termites.

L'objectif de cette nouvelle étude est de déterminer l'impact des nématodes entomopathogènes sur les différentes castes de termites ainsi que les conditions nécessaires à la réalisation de leur cycle biologique.

MATERIEL ET METHODES

Origine du matériel :

Les essais ont été réalisés sur trois espèces de termites provenant de deux plantations de canne à sucre africaines où sont apparues des pullulations de ces termites ravageurs:

- La plantation de la SARIS au Congo où se développe une espèce champignoniste *Pseudacanthotermes spiniger*. Les nids de cette espèce d'une grande dureté provoquent des casses importantes au niveau des machines de récoltes (Mora, 1992)

- Dans la plantation de la SONASUT au Tchad se développent deux espèces: *Ancistrotermes guineensis* qui consomme les racines de la canne, provoquant ainsi de fortes baisses de rendement (Rouland *et al.*, 1993) et *Macrotermes bellicosus* qui s'attaque aux boutures lors de la plantation.

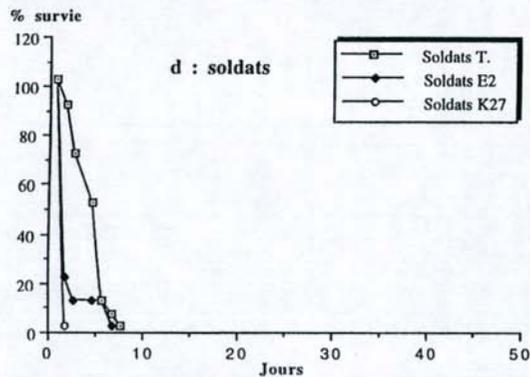
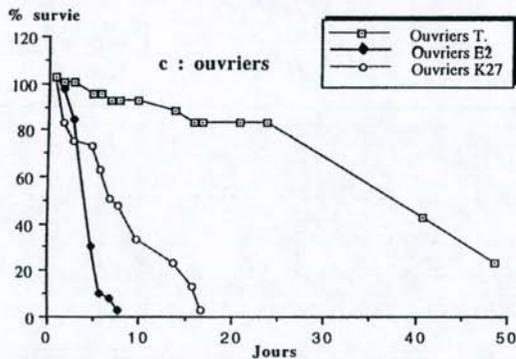
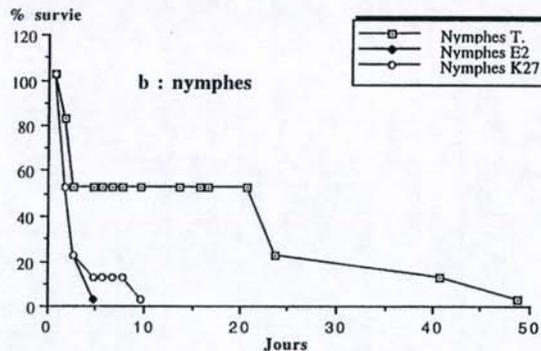
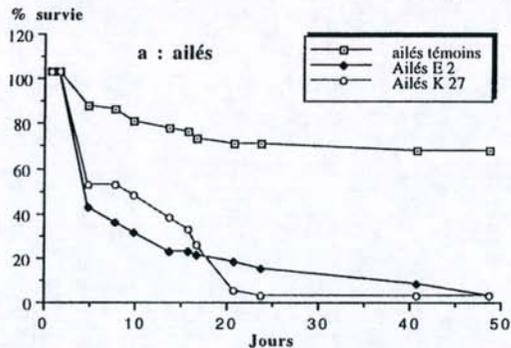
Les infestations ont été effectuées avec trois souches de nématodes produites sur des larves de *Galleria melonella* (Lepidoptera, Noctuidae) par le Laboratoire de Biologie des Invertébrés, INRA Antibes, (Laumond *et al.*, 1979) : *Steinernema carpocapsae* souche Bretonne K27 (France), *Steinernema kushidai* souche Hamakita E2 (Japon), et *Heterorhabditis bacteriophora* HP88 (USA).

Protocole d'infestation :

Les individus des différentes castes (20 ouvriers, 15 soldats, 5 nymphes ou 4 aîlés) sont placés dans des boîtes de pétri rondes (d = 55 mm) contenant 17g de terre Meaux (type S24) imbibée de 2,4 ml d'eau distillée. Trois types de milieux sont réalisés: Témoin (+ 0,5 ml d'eau distillé) ; K27 (+ 0,5ml de solution contenant 780 L3) ; E2 (+ 0,5 ml de solution contenant 555 L3); HP88 (+ 0,5 ml de solution contenant 500 L3). Pour chaque catégorie, 10 boîtes sont réalisées.

Elles sont maintenues à température ambiante pendant toute la durée de l'expérimentation. Chaque jour, les termites morts sont récoltés, comptés et déposés individuellement dans des tubes à hémolyse dont le fond est remplacé par un disque soudé de toile à tamis en acier inoxydable à maille de 100 μ . Chaque tube est ensuite suspendu dans un tube à essai contenant de l'eau distillée jusqu'à une hauteur de 1cm en dessous du tamis. Les nématodes qui ont réalisé un cycle biologique complet dans le terme produisent une nouvelle génération de L3 qui quittent le cadavre de l'insecte, passent à travers le tamis et tombent dans l'eau où ils sédimentent. Tous les 2 jours pendant 2 semaines, les culots des tubes sont comptés.

Figure 1 Sensibilité des différentes castes d'Ancistrotermes guineensis à l'infestation par des nématodes entomopathogènes du genre Steinernema
Sensitivity of the different castes of *Ancistrotermes guineensis* to an infestation with entomopathogenic nematodes of genera *Steinernema*



Dosage des lipides

Les lipides totaux ont été dosés chez les différentes castes du termite *Macrotermes bellicosus* par la méthode sulfo-phospho-vanillique (Drevon et Schmit, 1964), les termites sont digérés à chaud (100°C) en milieu sulfophosphorique, les lipides développent alors avec la vanilline une coloration rose dosable au spectrophotomètre à une densité optique de 550 nm.

Les teneurs mesurées sont exprimées en µg de lipides totaux par mg de termite.

RESULTATS

Sensibilité des castes d'Ancistrotermes guineensis : (Fig. 1)

Toutes les castes d'*A. guineensis* se sont révélées sensibles à l'infestation par les 2 souches de nématodes entomopathogènes mais à des degrés divers (Fig. 1).

Les nymphes (1b) se sont révélées les moins résistantes puisqu'en 2 jours il n'y a plus que 50% de survivants et qu'en moins de 10 jours, tous les animaux sont morts.

Les ouvriers (2c) ont également présenté une mortalité rapide mais on observe une différence significative de sensibilité selon la souche : le temps de L50 est de 5 jours avec la souche E2 alors qu'il est de 10 jours avec la souche K27. Cette même différence se retrouve en fin d'expérimentation, tous les insectes infestés par E2 meurent en moins de 10 jours alors que ceux infestés par K27 survivent jusqu'à plus de 15 jours.

Les ailés présentent un taux de mortalité largement supérieur à celui des témoins puisqu'à la fin de l'expérience plus de 60% des témoins sont encore vivants alors que tous les traités sont morts, on peut cependant noter, là aussi, des différences entre les deux souches testées, pour E2 plus de 50% des insectes sont morts en 5 jours, alors qu'il faut plus de 8 jours pour obtenir le même résultat avec K27.

En ce qui concerne les soldats, il est difficile de conclure en raison de la rapide mortalité des témoins. Si K27 a un effet létal certain sur les soldats, il n'y a pas de différences significatives entre le taux de mortalité des témoins et celui des soldats infestés par E2.

Sensibilité des castes de Pseudacanthotermes spiniger : (Fig.2)

Les ouvriers grands et petits ainsi que les grands soldats ont présenté une mortalité extrêmement rapide aussi bien chez les animaux témoin que chez les traités. Seuls les grands ouvriers traités par la souche HP88 présentent une mortalité significativement plus rapide que les témoins.

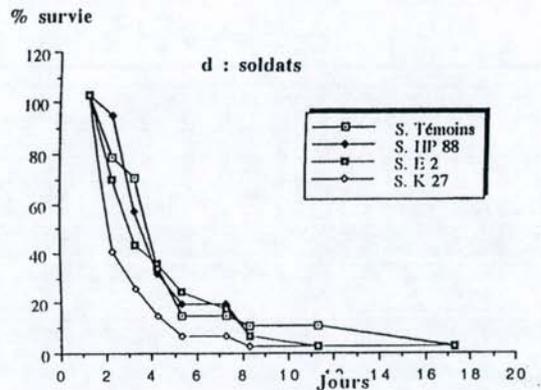
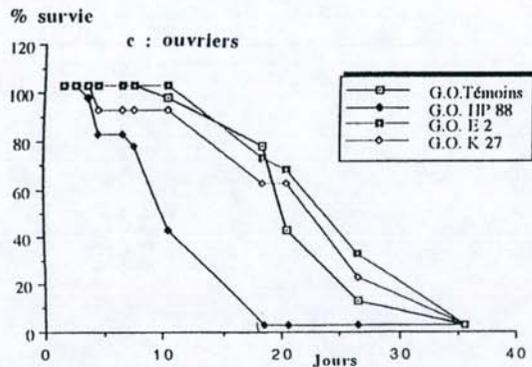
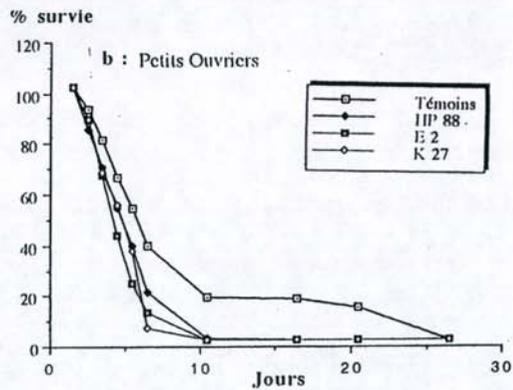
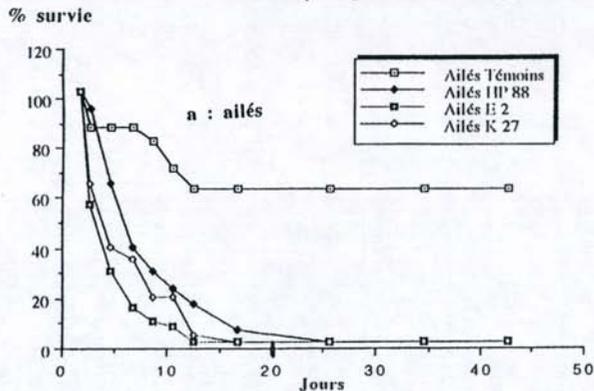
Par contre, les ailés présentent une très grande sensibilité aux différentes souches de nématodes testées. En particulier, les souches E2 et K 27 entraînent la mort de tous les individus en 12 jours. HP 88, bien qu'également efficace, n'induit la mort de tous les sexués qu'après 20 jours.

Sensibilité des castes de M. bellicosus : (Fig 3)

Chez les grands ouvriers de *M. bellicosus* (Fig 3a) la mortalité survient 5 jours après infestation avec la souche K27, alors que la mortalité est observée chez E2 après 6 jours d'infestation. Chez les petits ouvriers (Fig 3b) une mortalité rapide après 3 jours d'infestation est observée avec les souches K27 et E2 alors que les témoins présentent 70 % de survie.

Les ailés de *M. bellicosus* (Fig.3c) présentent également une grande sensibilité aux différentes souches testées : en 2 jours tous les individus traités par K27 sont

Figure 2 Sensibilité des différentes castes de *Pseudacanthotermes spiniger* à l'infestation par des nématodes entomopathogènes du genre *Steinernema* et *Heterorhabditis*
 Sensitivity of the different castes of *Pseudacanthotermes spiniger* to an infestation with entomopathogenic nematodes of genera *Steinernema* and *Heterorhabditis*



morts, la souche E2 n'entraîne une mortalité totale des ailés que 17 jours après infestation.

Production des larves L3 infestantes par les castes neutres :

La production de larves n'a été suivie que chez *A. guineensis* et *P. spiniger*. Contrairement à ce qui a été observé chez les ailés (Rouland *et al.*, 1996), aucune L3 n'a été produite par les ouvriers ou les soldats, quelle que soit la souche de nématode utilisée.

Composition en lipides des différentes castes de M. bellicosus :

| Castes | Lipides $\mu\text{g} / \text{mg}$ |
|---------------------|-----------------------------------|
| Ailés | 49,6 |
| Ouvriers | 15,2 |
| Soldats (grands) | 1,24 |

Tableau 3 : Résultat biochimique chez les différentes castes de *Macrotermes bellicosus*
Biochemistry result in the different castes of Macrotermes bellicosus

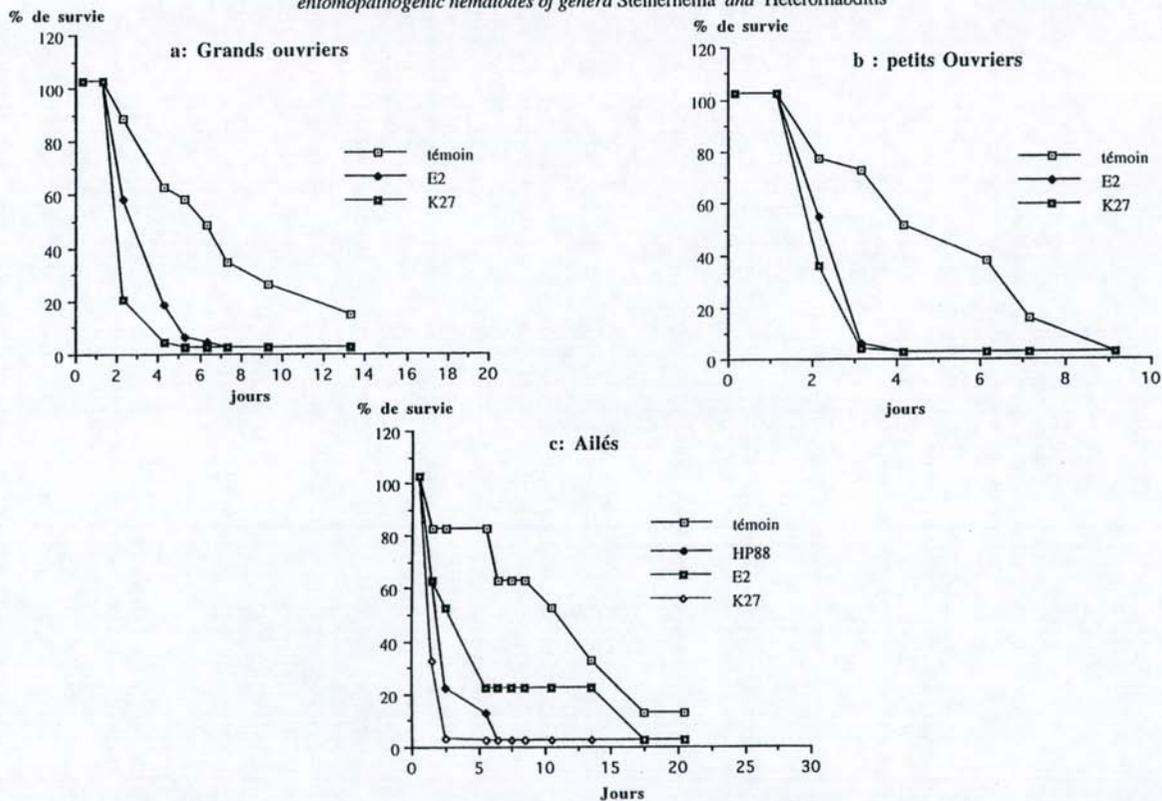
Les ailés se caractérisent par une teneur en lipide bien supérieure à celles observées dans les deux autres castes : elle est plus de 3 fois supérieure à la teneur des ouvriers et 40 fois plus élevée que celle des soldats. Il existe donc de nette différence d'une caste à l'autre. Ces résultats pourraient être liées à des différences de métabolisme entre les individus, elle même en rapport avec la fonction sociale et la nature de l'alimentation.

DISCUSSION ET CONCLUSION

Les différentes castes (ouvriers, soldats, nymphes et ailés) se sont révélées extrêmement sensibles aux souches de nématodes entomopathogènes testées. La souche la plus efficace est, dans tous les cas, *Steinernema kushidai* (E2), souche d'origine japonaise dont on peut supposer qu'elle s'adapte mieux aux températures élevées rencontrées en Afrique.

Un résultat original de ce travail est de montrer qu'aucune production de L3 n'est obtenue après infestation des ouvriers et des soldats aussi bien par *Steinernema kushidai* que par *S. carpocapsae* alors que ces deux espèces entraînent une forte production de L3 chez les ailés (Rouland *et al.*, 1996). Les deux souches de nématodes étudiées sont donc incapables d'effectuer un cycle biologique complet dans un termitier ouverts ou soldats, ce qui est en accord avec les observations de Mauldin *et al.* (1989) sur *Reticulitermes spp.* Les deux souches de nématodes entomopathogènes testées ne peuvent donc réaliser un cycle biologique complet que chez les sexués. Ces sexués se distinguent nettement des autres castes par leur forte teneur en lipides or Bonifassi et Neves (1990) signalent que la présence de lipides est un des facteurs indispensables au développement du nématode entomopathogène dans son hôte. Chez les ailés, la quantité de lipides largement supérieure à celles des autres castes peut expliquer la multiplication et le développement important des nématodes à l'intérieur de l'hôte.

Figure 3 Sensibilité des différentes castes de *Macrotermes bellicosus* à l'infestation par des nématodes entomopathogènes du genre *Steinernema* et *Heterorhabditis*
 Sensitivity of the different castes of *Macrotermes bellicosus* to an infestation with entomopathogenic nematodes of genera *Steinernema* and *Heterorhabditis*



Ces travaux montrent que cette nouvelle technique de lutte contre les termites est particulièrement prometteuse. En effet, comme d'une part les castes se sont toutes révélées sensibles à l'infestation et que, d'autre part les sexués permettent une multiplication des nématodes, un seul traitement effectué au moment des essaimage permettrait de maintenir dans le sol une quantité de nématodes suffisante pour limiter le développement de l'ensemble de la colonie

Remerciements : Nous tenons à remercier très vivement Mr C. Laumond du laboratoire de Biologie des Invertébrés (INRA - Antibes) pour nous avoir fourni les différentes souches de nématodes testées.

RÉFÉRENCES

- Boemare, N. E., Akhurst, R. J. and R.G. Mourant, 1993. DNA Relatedness between *Xenorhabdus* spp. (Enterobacteriaceae), symbiotic bacteria of entomopathogenic nematodes, and a proposal to transfer *Xenorhabdus luminescens* to new genus, *Photorhabdus* gen. nov. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 43 : 249-255.
- Bonifassi, E., and J. Neves, 1990. La production de masse des nématodes entomopathogènes : Steinernematidae et Heterorhabditidae. *Rencontres Caraïbes en Lutte Biologique* 58 : 125-132.
- Drevon, B. and J.M. Schmit, 1964. La réaction sulphophosphovanillique dans l'étude des lipides sériques. *Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon.*, 8 : 173-178.
- Epsky, N. D. and J. L. Capirena, 1988. Efficacy of the entomogenous Nematode *Steinernema feltiae* against a subterranean termite, *Reticulitermes tibialis* (Isoptera : Rhinotermitidae). *J.Econ.Entomol. Soc. Am.* 1313-1317.
- Georgis, R., Poinar, G.O. and A.P. Wilson, 1982. Susceptibility of strawberry root weevil *Otiorrhynchus sulcatus* to neoplectanid and heterorhabditid nematodes. *IRCS Med. Science* 10 : 442.
- Laumond, C., Mauleon, H. and A. Kermarrec, 1979. Données nouvelles sur le spectre d'hôtes et le parasitisme du nématode entomophage *Neoplectana carpocapsae*. *Entomophaga* 24 : 13-27.
- Laumond, C., Simoes N. and N. Boemare, 1989. Toxines de nématodes entomoparasites. Pathogénicité de *Steinernema carpocapsae*. Perspectives d'application en génie génétique. *C. R. Acad. Agric. Fr.* 75 : 135-138.
- Mauldin, J. K. and R.H. Beal, 1989. Entomogenous nematodes for control of subterranean termites, *Reticulitermes* spp. (Isoptera : Rhinotermitidae). *J. Econ. Entomol.*, 82 : 1638-1642.
- Mora, P., 1992. Dégâts des termites champignonnistes (Macroterminae) *Pseudacanthotermes spiniger* et *Microtermes subhyalinus* dans les plantations de canne à sucre. Mise au point d'une lutte spécifique. *Thèse d'Université Paris XII* 176 p.
- Rouland, C., Ikouane, A. and N. Nayalta, 1993. Etude biologique des populations d'*Ancistrotermes guineensis* présentes dans les plantations de la SONASUT. (SAHR - Tchad) *Actes coll. Insectes sociaux*, 8 : 79-87.
- Rouland, C., Benmoussa, D., Reversat, G. and C. Laumond, 1996. Etude de la sensibilité de sexués de termites Macrotermitinae à une infestation par les nématodes entomopathogènes des genres *Heterorhabditis* et *Steinernema*. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie*, 1996 ; 319 : 997-1001.