

ETAT ACTUEL DE LA LUTTE BIOLOGIQUE A L'AIDE DE *BACILLUS THURINGIENSIS* : CE BIOINSECTICIDE PERMETTRA T-IL DEMAIN D'ATTEINDRE LE DORYPHORE ?

D. LERECLUS et J. CHAUFaux
I.N.R.A., Station de Recherches de Lutte biologique
La Minière, 78280 GUYANCOURT

L'utilisation de microorganismes contre les insectes ennemis des cultures ou de la Santé humaine, est une forme de lutte biologique dont la pratique est encore peu répandue. Cependant, elle repose sur une réalité digne d'intérêt puisque le caractère entomopathogène de certains microorganismes constitue une arme biologique particulièrement efficace ; au contraire des insecticides chimiques, celle-ci permet d'intervenir de manière quasi sélective contre les espèces visées, tout en étant semble-t-il, infiniment moins susceptible de provoquer des phénomènes de résistance.

INTRODUCTION

Environ 1 500 microorganismes entomopathogènes d'origine fongique, virale ou bactérienne sont actuellement connus. Parmi les bactéries, seul le genre *Bacillus* dans la famille des *Bacillaceae* fait l'objet d'une utilisation pour combattre les insectes ; c'est l'espèce *Bacillus thuringiensis* qui offre les potentialités insecticides les plus intéressantes tant sur le plan des applications actuelles que sur celui des perspectives de développement des bioinsecticides bactériens.



Photo 1 : *Bacillus thuringiensis* (x 1000). Les bactéries sont en cours de sporulation. On peut distinguer la spore réfringente et le cristal protéique de forme bipyramidale (Cliché Institut Pasteur).

A – ORIGINES, PRODUCTION ET MODE D'ACTION

Découvert pour la première fois en 1902 au Japon dans un élevage de vers à soie, *Bacillus thuringiensis* est isolé à nouveau et identifié en Thuringe, par Berliner en 1911, à partir d'une population de teigne de la farine dans le grenier d'un moulin. Aujourd'hui l'espèce *B. thuringiensis* compte un millier d'isolats recueillis dans les milieux les plus divers et qui constituent autant de souches naturelles réparties en 22 sérotypes différents.

Depuis près d'une trentaine d'années, des recherches sont menées sur les aspects biologiques et biochimiques du pouvoir pathogène de cette bactérie. Il est maintenant clairement établi que la cause de la pathogénéicité de *B. thuringiensis* réside en une inclusion parasporale (appelée aussi cristal protéique ou δ -endotoxine) dont la structure cristalline résulte de l'assemblage de sous-unités protéiques ou protoxines de 130 000 daltons (GLATRON *et al.* 1972).

Lorsqu'il est ingéré par l'insecte, le cristal protéique est digéré à pH alcalin par les protéases du tube digestif et transformé en toxines polypeptidiques actives (LECADET et MARTOURET, 1967).



Photo 2 : Microphotographie d'une cellule en fin de sporulation. Le cristal n'est pas encore libéré. On distingue nettement la spore réfringente et le cristal protéique. (Cliché J. Ribier).

La synthèse du cristal protéique a lieu pendant le processus de sporulation de *B. thuringiensis*. La sporulation est un phénomène simple de différenciation provoquée par la carence du milieu en éléments nutritifs. L'engagement de la bactérie dans ce processus, met en jeu un certain nombre de mécanismes dont une série de modifications qui interviennent au niveau de la transcription de l'ADN (acide désoxyribonucléique) en ARN (acide ribonucléique). Ce sont ces nouvelles conditions, spécifiques de la sporulation, qui permettent à la cellule de synthétiser la δ -endotoxine : on observe la formation d'un cristal protéique, représentant 30% du poids sec de la bactérie ; le cristal est libéré de la spore environ 20 heures après le début du processus.

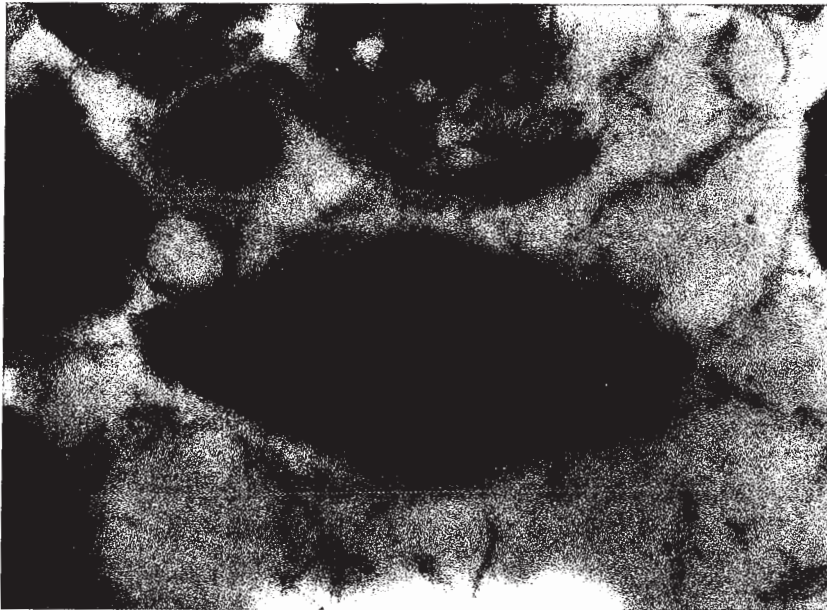


Photo 3 : Microphotographie d'une coupe fine dans un cristal isolé ; on peut noter la trame cristalline très régulière. (Cliché J. Ribier).

D'ores et déjà , il apparaît que la production d'un tel bioinsecticide est économiquement possible. *B.thuringiensis* peut être en effet facilement multiplié par des cultures en fermenteur et le produit obtenu est constitué en grande partie par la toxine à laquelle la structure cristalline assure une bonne stabilité.

En ce qui concerne le mode d'action de la δ -endotoxine, si les aspects moléculaires et biochimiques du mécanisme ne sont pas encore clairement définis, en revanche, la suite d'événements qui aboutit à la mort de l'insecte est bien déterminée. Les cristaux, ingérés par une larve sensible, sont rapidement hydrolysés et la toxine active provoque alors, en quelques minutes, une paralysie du tube digestif et d'importantes lésions de l'épithélium intestinal, une paralysie générale est parfois observée. Les insectes meurent de toxémie ou de septicémie dans les jours qui suivent.

B – APPLICATIONS ACTUELLES

1. – Contre les lépidoptères phytophages :

Différentes spécialités à base de *B. thuringiensis* sont déjà commercialisées en France, sous le nom de BACTOSPEINE (Covagri), DIPEL (Agriphyt), THURICIDE (Sandoz).

Elles ont été couramment utilisées, ces 15 dernières années, dans les campagnes de traitement effectuées contre les chenilles processionnaires du pin sur plusieurs dizaines de milliers d'hectares de pinède tout au long de la côte atlantique française.

La processionnaire du pin (*Thaumetopoea pityocampa* Schiff.) est un lépidoptère provoquant des dégâts et des nuisances tels que:

– la destruction des jeunes arbres dans les parcelles de régénération forestière ;

- un préjudice esthétique, dans les forêts des régions touristiques, les parcs et jardins des zones urbanisées, lorsque les pins sont dépouillés de leurs aiguilles dévorées par les chenilles ;
- de graves irritations dermiques à caractère allergique chez l'Homme et les Vertébrés : cette nuisance relative à l'hygiène publique est provoquée par les poils urticants de l'insecte.

La lutte contre ce ravageur à l'aide d'un bioinsecticide sélectif tel que *Bacillus thuringiensis* a l'avantage de préserver l'environnement.

D'autres interventions ont été réalisées à plusieurs reprises contre la tordeuse grise du mélèze (*Zeiraphera diniana* Guénée) dans les Hautes Alpes : en 1971, 670 ha de mélèzin du col de Montgenèvre et en 1979, 2500 ha de forêt de la vallée de Névache ont été traitées avec des suspensions de «spores-cristaux».

Les applications ont provoqué une réduction massive de la population du ravageur assurant ainsi une bonne protection de la forêt contre cet insecte. Aucune nuisance à l'encontre de l'environnement n'a été constatée au cours de ces interventions dans les mélézins alpins (MARTOURET et AUER, 1977).

Actuellement les bioinsecticides à base de *B. thuringiensis* autorisés à l'emploi contre les ravageurs forestiers peuvent être également utilisés pour lutter contre d'autres lépidoptères déprédateurs en culture maraîchère, fruitière ou céréalière.

2. – Contre des diptères vecteurs de maladies parasitaires

Jusque vers la fin des années 70, *Bacillus thuringiensis* était considéré comme un germe entomopathogène spécifique des lépidoptères. La découverte en Israël et l'identification d'un nouveau sérotype H14, (DE BARJAC, 1978) isolé à partir de moustiques ont ouvert une voie dans la recherche de nouvelles souches de la bactérie. Cette découverte a provoqué un regain important d'activités tant au point de vue des recherches que des applications. Aujourd'hui, *B. thuringiensis* est utilisé dans la lutte contre les vecteurs des maladies tropicales (paludisme, fièvre jaune, ...).

En Europe, en Asie et en Afrique, cours d'eaux et marécages sont traités avec des formulations à bases de «Bt i» (*Bacillus thuringiensis* variété *israelensis*) contre les moustiques et les simulies (MARGARIT et Dean, 1985). Le «Bt i» est commercialisé sous différentes formes, notamment en France par Covagri sous le nom de BACTIMOS et par Abbott sous l'appellation VECTOBAC AS.

C – PERSPECTIVES NOUVELLES

Deux souches de *B. thuringiensis*, actives vis-à-vis de Coléoptères, viennent d'être isolées presque simultanément l'une en Allemagne, l'autre aux Etats-Unis (KRIEG *et al.*, 1983 ; HERRNSTADT *et al.*, 1986). Leur toxicité à l'égard du doryphore est certaine et cette découverte récente indique, encore une fois, que nous sommes loin d'avoir recensé toutes les potentialités naturelles de la bactérie, et elle nous incite à rechercher des souches actives sur coléoptères et très performantes.

1. Moyens mis en oeuvre

Les travaux coordonnés de l'INRA et de l'Institut Pasteur ont pour objectif, d'une part d'augmenter le niveau de toxicité de souches de *B. thuringiensis* actives sur les lépidoptères et sur les diptères, et d'autre part, d'élargir le spectre d'activité de cette bactérie.

Les importantes perspectives déjà offertes par *B. thuringiensis* sur le plan agronomique ont largement contribué à l'évolution rapide des recherches d'ordre fondamental chez cet organisme, principalement sur le déterminisme de la δ -endotoxine (LERECLUS, 1984 ; ARONSON *et al.*, 1986).

Les recherches en biologie moléculaire ont permis de localiser, de cloner et de séquencer le gène codant pour la δ -endotoxine. Il s'agit d'une séquence d'ADN de 3 528 nucléotides correspondant à l'information nécessaire pour synthétiser une protéine de 1 176 acides aminés d'environ 130 000 daltons.

En fonction des souches de *B. thuringiensis*, plusieurs types de gènes peuvent être distingués. Ces différents gènes possèderaient une partie constante et une partie variable. Il est vraisemblable que la partie constante du gène correspond au motif toxique du cristal protéique alors que la partie variable serait impliquée dans la spécificité d'action de la δ -endotoxine. Il est dès lors envisageable de modifier, par recombinaison génétique *in vitro*, un fragment donné du gène, afin de modifier soit le spectre d'hôte de la δ -endotoxine, soit son niveau de toxicité. Néanmoins, il est difficile de se substituer à l'évolution naturelle et, en particulier, d'imaginer la construction d'un gène codant pour une protéine spécifiquement active sur les coléoptères si les déterminants de cette spécificité sont inconnus, ce qui est le cas aujourd'hui.

Une autre possibilité offerte par la biologie moléculaire a été récemment exploitée avec succès en Belgique, par le laboratoire «Plant Genetic Systems»; il s'agit de l'introduction du gène de la δ -endotoxine dans la plante : des plants de tabac ayant reçu ce gène synthétisent la toxine et deviennent eux-mêmes toxiques. Ils sont ainsi protégés contre les larves de lépidoptères qui meurent avant d'avoir pu causer un dommage notable à la plante.

2. — Participation de l'entomologiste amateur :

Une des principales préoccupations actuelles est de trouver une souche de *B. thuringiensis* permettant de combattre certains coléoptères et en particulier le doryphore (*Leptinotarsa decemlineata* Say.).

Si la génétique et la biologie moléculaire permettent d'envisager une amélioration *in vitro* du pouvoir pathogène de *B. thuringiensis*, il est presque certain que la nature a déjà dû réaliser ce qu'il est possible de reconstituer au laboratoire. C'est pourquoi une étape primordiale du programme de l'INRA et de l'Institut Pasteur est de rechercher et de découvrir de nouvelles souches de *B. thuringiensis* dans les «niches écologiques» que l'on désire toucher, c'est-à-dire parmi les populations de coléoptères dans un premier temps, parmi les autres ordres d'insectes ensuite.

Il est possible que de telles souches existent dans les élevages ou les collectes d'insectes des entomologistes amateurs et c'est pourquoi il serait intéressant que toutes les larves mortes en raison de causes indéterminées parviennent à nos laboratoires pour subir un examen systématique.

Les insectes morts, individualisés (1 insecte par tube, sans alcool) sont à envoyer à : INRA, Station de Recherches de Lutte biologique, Enquête Bth, La Minière 78280 Guyancourt ou à OPIE, Enquête Bth, B.P. 9, 78280 Guyancourt, en précisant le lieu de récolte et, si possible, le nom de l'espèce. A chaque envoi, nous enverrons une réponse.

Amis lecteurs, entomologistes de terrain, en démultipliant nos capacités de prospection à la recherche de nouvelles souches de *B. thuringiensis* votre aide peut être utile et d'un grand intérêt pour développer l'emploi de bioinsecticides spécifiques qui sauvegardent l'environnement des cultures.

Merci à l'avance pour cette aide et le concours que vous pourrez nous apporter dans cette voie.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ARONSON A.I., BECKMAN W., DUNN P., 1986. — *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens. *Microbiological Reviews*, 50, 1-24.
- de BARJAC H., 1978. — A new subspecies of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* serotype 14. *C.R. Acad. Sci. Paris, Ser. D*, 286, 787-800.
- GLATRON M.F., LECADET M.M., DEDONDER R., 1972. — Structure of the parasporal inclusion of *Bacillus thuringiensis* Berliner : characterization of a repetitive subunit. *Eur. J. Biochem.*, 30, 330-338.
- HERRNSTADT C., SOARES G.G., WILCOX E.R., EDWARDS D.L. 1986. — A new strain of *Bacillus thuringiensis* with activity against coleopteran insects. (*Biotechnology*, 4, 305-308).
- Von KRIEG A., HUGER A.M., LANGENBRUCH G.A., SCHNETTER W., 1983. *Bacillus thuringiensis* var. *tenebrionis* : ein neuer, gegenüber Larven von Coleopteren wirksamer Pathotyp. *Z. ang. Ent.*, 96, 500-508.
- LECADET M.M., MARTOURET D., 1967. — Enzymatic hydrolysis of the cristal of *B. thuringiensis* by the proteases of *Pieris brassicae*. II. Toxicity of the different fractions of the hydrolysate for larvae of *Pieris brassicae*. *J. Invertebr. Pathol.*, 2, 322-330.
- LERECLUS D., 1984. Récents développements de la recherche sur la génétique de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Agronomie*, 4, 269-278.
- MARGALIT J., DEAN D., 1985. — The story of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (B.t.i.). *J. Am. Mosq. Control Assoc.*, 1 (1), 1-7.
- MARTOURET D., AUER C., 1977. — Effets de *Bacillus thuringiensis* chez une population de tordeuse grise du mélèze, *Zeiraphera diniana* (*Lep. Tortricidae*) en culmination gradologique. *Entomophaga*, 22 (1), 37-44.