

## LES CHAMPIGNONS ENTOMOPATHOGENES DU GENRE *COELOMOMYCES* A MADAGASCAR

par

F. RODHAIN\*

### INTRODUCTION

C'est en 1921 que KEILIN a créé le genre *Coelomomyces* pour un champignon observé parasitant une larve d'*Aedes albopictus* (identifiée à l'origine comme *Ae. scutellaris*) récoltée en Malaisie. Depuis lors, une cinquantaine d'espèces ont été décrites de toutes les parties du monde, toujours parasites de diptères, des culicides dans l'immense majorité des cas. En raison de leur pathogénicité élevée pour leurs hôtes, ces champignons ont, bien entendu, été d'emblée considérés comme des agents potentiels de lutte biologique contre les moustiques.

### CYCLE BIOLOGIQUE DES *COELOMOMYCES*

Pendant longtemps, les tentatives de culture, tant *in vivo* qu'*in vitro* ont été des échecs, et le cycle biologique des *Coelomomyces* demeurait inconnu. Si quelques infections de larves de culicides avaient pu être obtenues au laboratoire, ce n'est qu'en 1974 que WHISLER *et al.* ont décrit le cycle complet de *C. psorophorae* impliquant un microcrustacé aquatique. Les *Coelomomyces* ont donc un cycle complexe, qui peut être résumé comme suit (fig. 1).

Le corps de la larve infectée apparaît totalement rempli de sporanges du champignon : il s'agit d'éléments ovoïdes mesurant, selon les espèces, environ 10 à 40  $\mu\text{m}$  x 30 à 100  $\mu\text{m}$ , limités par une double paroi, dont la couche externe, la plus épaisse, est généralement brun-jaune et présente des ornements (crêtes anastomosées ou non, dépressions plus ou moins rugueuses, polygonales ou allongées, percées de petits pertuis, ...) largement utilisées pour la reconnaissance des espèces. Grâce à cette paroi épaisse, ces sporanges sont très résistants, notamment à la dessiccation. Il semble cependant que, chez certaines espèces au moins, un autre type de sporanges, à paroi mince, puisse coexister avec les précédents. Quoi qu'il en soit, une sporulation intervient au niveau du sporange : formation de zoospores avec intervention d'une méiose (méiospores) ; ces spores font alors

---

\* Chef de laboratoire, Unité d'Ecologie des Systèmes Vectoriels, Institut Pasteur, 25 rue du Dr Roux, 75724 Paris Cedex 15.

issue grâce à une fente de déhiscence allongée d'une extrémité à l'autre du sporange mûr. Il s'agit de zoospores libres, de  $3 \mu\text{m} \times 5 \mu\text{m}$  environ, uniflagellées, très mobiles, vraisemblablement sexuées. Celles-ci vont alors envahir le corps d'un microcrustacé pour s'y enkyster. L'infection du crustacé semble pouvoir s'effectuer soit par voie digestive, soit au travers de sa cuticule. Les crustacés connus pour être des hôtes intermédiaires de *Coelomomyces* sont, suivant les cas, soit des Copépodes (genres *Cyclops*, *Mesocyclops*, *Acanthocyclops*, *Microcyclops*, *Eucyclops*, *Tigriopus*, *Harpacticus*, etc...), soit, plus rarement, des Ostracodes (genres *Heterocypris* et *Potamocypris*). Quelques jours après l'infection, un mycelium ramifié peut être observé dans l'hémocoèle de l'animal (phase gamétophytique) : il s'agit d'hyphes sexués qui peu à peu vont coloniser l'ensemble du coelome et la gamétogénèse va alors intervenir ; elle s'accompagne d'une paralysie de l'hôte, bientôt suivie par la mort du crustacé. La gamétogénèse aboutit à la formation de gamètes uniflagellés qui, après rupture de la paroi hyphale (gamétange), sont libérés d'abord dans la cavité coelomique du copépode moribond, puis hors du corps de l'animal. Ces gamètes ressemblent beaucoup aux zoospores issues des sporanges ; la fusion de deux gamètes de sexes opposés donne naissance à un zygote biflagellé, ceci pouvant se produire soit à l'intérieur du corps du crustacé lorsque celui-ci est parasité par des gamétanges des deux sexes, soit, plus souvent, dans le milieu extérieur. C'est ce zygote qui constitue la forme infectante du champignon pour l'insecte-hôte. Le zygote se fixe alors sur la cuticule et, grâce à la formation d'un tube de pénétration, il s'introduit dans son hôte au niveau de sites privilégiés (capsule céphalique, papilles anales, membrane intersegmentaire, etc...) ; on observe alors une injection du cytoplasme zygotique à l'intérieur de la cellule épidermique de l'arthropode. Se poursuit ensuite le développement végétatif du parasite sous la forme d'hyphes qui, peu à peu, envahissent l'hémocoèle (phase sporophytique). Les extrémités des segments mycéliens se différencient ensuite en sporanges à paroi épaisse, ce qui, généralement, empêche la mue de la larve. Toutefois l'infection tardive d'une larve du 4<sup>e</sup> stade peut être compatible avec sa transformation en nymphe puis en adulte, ce qui permettra la dissémination ultérieure du champignon.

La description détaillée de la morphologie et de l'ultrastructure des différents stades des *Coelomomyces*, les modalités de la réalisation de leur cycle de développement, sont précisées par *WHISLER* d'une part, par *BLAND* et *COUCH* d'autre part dans l'ouvrage publié en 1985 par *COUCH* et *BLAND*.

#### **POSITION SYSTEMATIQUE ET TAXONOMIE DES COELOMOMYCES**

Les *Coelomomyces* sont actuellement classés dans l'ordre des Blastocladiales (*COUCH*, 1945), aux côtés d'autres champignons ayant des cycles de développement du même type bien que souvent plus simples. Ils y forment la famille des *Coelomomycetaceae*, caractérisée par les modalités de leur vie parasitaire et l'absence de paroi cellulaire des hyphes végétatifs (*COUCH*, 1962).

Le genre comprend actuellement plus de 50 espèces, dont la spécificité parasitaire n'est plus aujourd'hui considérée comme aussi étroite qu'autrefois. Beau-

coup d'espèces peuvent en effet parasiter un assez grand nombre de moustiques, ou, rarement, de chironomes. Toutefois, la plupart des *Coelomomyces* semble associée à un genre donné de Culicides. (quelques cas d'infection ont aussi été décrits chez des phlébotomes, des simuliés, des tabanides).

Pour ce qui est des crustacés hôtes intermédiaires, nos connaissances sont moins avancées dans la mesure où les observations de Copépodes ou d'Ostracodes parasités sont encore peu nombreuses, et en raison aussi de la difficulté de l'identification de ces microcrustacés ; il en résulte que nous n'avons guère de données fiables au sujet de la spécificité des *Coelomomyces* à ce niveau.

## LES COELOMOMYCES OBSERVÉS A MADAGASCAR

Quatre espèces au moins de *Coelomomyces* ont été observées à Madagascar, dont une n'est connue que de la Grande Ile, alors qu'une autre y est représentée par une variété particulière. Leurs principales caractéristiques sont les suivantes.

### *Coelomomyces africanus* Walker

Ce champignon fut, avec d'autres, décrit par WALKER (1938) de moustiques de Sierra Leone ; la description fut ensuite complétée par COUCH et BLANC (1985) qui en donnèrent une diagnose latine réglementaire.

Description : hyphes de 4,0 à 11,3  $\mu\text{m}$  de diamètre, irrégulièrement ramifiés ; sporanges ellipsoïdes, souvent plus dilatés du côté de la fente de déhiscence, mesurant 9 à 24  $\mu\text{m}$  x 18,5 à 35  $\mu\text{m}$  ; surface ornée de dépressions généralement circulaires (2 à 4  $\mu\text{m}$  x 2 à 12  $\mu\text{m}$ ) avec des ponctuations éparées et présentant une bande de points ou stries d'un côté ou de part et d'autre de la fente de déhiscence ; dépressions séparées par des côtes peu élevées.

Décrit à l'origine chez *Anopheles gambiae*, *C. africanus* fut ensuite retrouvé chez cette même espèce ou chez d'autres *Anopheles* (*An. argenteolobatus*, *An. cydippis*, *An. distinctus*, *An. funestus*, *An. squamosus*) dans différents pays africains, d'autres anophèles encore en Thaïlande (*An. barbirostris*, *An. campestris*). A Madagascar, GRJEBINE a observé ce champignon parasitant *Anopheles squamosus* à Alasora (province de Tananarive) (COUCH et BLAND, 1985).

### *Coelomomyces dentalatus* Couch et Rajapaksa

Description : hyphes de 6 à 9  $\mu\text{m}$  de diamètre ; sporanges ellipsoïdes, de 19 à 37  $\mu\text{m}$  x 33,5 à 68  $\mu\text{m}$ , de surface ornée de côtes allongées (hautes de 3 à 5  $\mu\text{m}$ , larges d'autant), anastomosées sur une face ; entre les côtes, dépressions avec des rangées de ponctuations, généralement disposées perpendiculairement aux côtes donnant ainsi aux zones déprimées un aspect strié ; fente de déhiscence allongée sur une côte longitudinale ; à la section, côtes ayant l'aspect d'ailes finement denticulées en périphérie du sporange, donnant à celui-ci, en vue polaire, une forme étoilée à 5 ou 6 pointes.

La diagnose latine est donnée par COUCH et BLAND (1985).

L'espèce fut rapportée pour la première fois à Sri Lanka par RAJAPAKSA

(1964) de larves d'*Aedes albopictus*, *Ae. aegypti* et *Armigeres obturbans* se développant toutes dans des récipients artificiels abandonnés ou des coques de fruits.

Nous l'avons retrouvé à Madagascar, parasitant des larves d'*Aedes aegypti* d'un creux de manguiier à Anamakia (province de Diégo-Suarez), le 21 Avril 1980.

#### *Coelomomyces madagascariensis* Couch et Grjebine

Description : hyphes inconnus ; sporanges grossièrement ellipsoïdes, mesurant 15 à 30  $\mu\text{m}$  x 28 à 38  $\mu\text{m}$ , à surface ornée de côtes et de papilles isolées, irrégulières (largeur : 1,5 à 2,5  $\mu\text{m}$  ; hauteur : 0,5 à 2  $\mu\text{m}$  ; longueur : 2,5 à 25  $\mu\text{m}$ ), séparées par des zones déprimées (larges de 2 à 8  $\mu\text{m}$ ) avec des ponctuations éparses (diamètre 0,5  $\mu\text{m}$ , distants les uns des autres de 0,5 à 1  $\mu\text{m}$ ) ; fente de déhiscence le long d'une côte longitudinale. La diagnose latine est publiée par COUCH et BLAND (1985).

L'espèce n'est actuellement connue que de Nosy-Be, chez deux larves de *Mimomyia (Ingramia) roubaudi* récoltées en 1955 à Lokobé par GRJEBINE, à l'aisselle de feuilles de *Typhonodorum*.

#### *Coelomomyces lacunosus*, var. *madagascariensis* Couch et Rodhain

Description : hyphes inconnus ; sporanges ellipsoïdes mesurant 17 à 33  $\mu\text{m}$  x 25 à 57  $\mu\text{m}$ , à surface ornée de nombreux pertuis irréguliers (1 à 2  $\mu\text{m}$  de large, 1 à 3  $\mu\text{m}$  de long, distants les uns des autres de 1 à 4  $\mu\text{m}$ ). La variété *madagascariensis* est caractérisée par la localisation de la fente de déhiscence sur une côte longitudinale dépourvue de pertuis. La diagnose latine est publiée par COUCH et BLAND (1985).

L'espèce est connue pour parasiter des culicidés des genres *Trichoprosopon* et *Sabethes* à Panama. La variété malgache avait déjà été récoltée par GRJEBINE en 1955 à Lokobé, Nosy-Be, chez *Uranotaenia douceti*. Par la suite, nous l'avons observée chez des larves d'*Uranotaenia* sp. d'un creux de rocher à Iaraka, aux environs de Maroantsetra, le 29 Mars 1979, ainsi qu'à Périnet, également chez des larves d'*Uranotaenia* sp. de creux d'arbres, en 1978, 1979 et 1980. Il faut noter la persistance du champignon d'une année à l'autre dans le même creux d'arbre où il pouvait être retrouvé à volonté sans toutefois qu'il parasite toutes les larves présentes dans le gîte.

#### *Coelomomyces* sp.

Plusieurs larves de *Culex antennatus* récoltées par nous dans une rizière des environs de Manakara le 30 Avril 1976 ont été trouvées infectées par un *Coelomomyces* encore non identifié.

très prometteurs pour les programmes de lutte biologique contre les vecteurs.

Leur pathogénicité pour les larves de culicides est élevée, et trois modalités d'utilisation peuvent, en théorie, être envisagées :

— dissémination de sporanges, ou de cadavres de larves infectées, le recyclage du parasite ne pouvant avoir lieu qu'en présence d'un nombre suffisant d'hôtes intermédiaires qui devront, si nécessaire, être lâchés parallèlement.

— dissémination répétée de zygotes obtenus au laboratoire à partir de crustacés infectés.

— dissémination combinée de sporanges et de zygotes et, éventuellement, d'hôtes intermédiaires.

Bien entendu, d'importants progrès dans nos connaissances sur l'écologie de ces champignons et de leurs hôtes sont indispensables pour que de tels essais aient, le moment venu, quelque chance d'efficacité. Pour l'instant, les seules tentatives d'envergure réalisées sur le terrain ont été celles de LAIRD qui, en 1958, a procédé à la dissémination de sporanges de *C. stegomyiae* pour lutter contre *Aedes polynesiensis* sur l'atoll de Nukunono, dans les îles Tokelau (LAIRD, 1967). Un taux d'infection de 37,1 % des gîtes larvaires était observé en 1963 ce qui indique un bon niveau de recyclage grâce à la présence, alors insoupçonnée, d'un copépode qui se révéla être un bon hôte pour le champignon. Toutefois, en 1967-68, ce taux était retombé entre 2 et 5 % des gîtes à *Aedes*, retrouvant ainsi approximativement l'incidence du champignon dans sa population d'origine (chez *Ae. albopictus* à Singapour). Il apparaît par conséquent nécessaire de procéder à des ensemencements massifs et répétés, ce qui n'est pas possible actuellement. En cas de lâchers massifs de copépodes, il conviendrait aussi d'examiner les autres effets possibles d'une telle mesure, certains parmi eux étant des compétiteurs nutritionnels des larves de moustiques, d'autres des prédateurs de larves, ou encore d'ennemis naturels de larves comme des nématodes Mermithides, d'autres enfin pouvant constituer, dans certains pays, des hôtes intermédiaires pour des helminthes pathogènes pour l'homme, notamment la filaire de Médine. Les interactions écologiques sont donc complexes ; elles doivent être connues avant que l'on procède, sur une grande échelle, à des expériences qui ne sont rien d'autre que des modifications écologiques qu'une fois créées, l'on cherche à rendre durables (FEDERICI *et al.*, 1985).

### CONCLUSION

Nous disposons, avec les champignons du genre *Coelomomyces* d'agents potentiels de lutte biologique contre les moustiques qui, *a priori*, sont intéressants par leur pathogénicité et leur spécificité. L'impossibilité de les produire en grandes quantités, en partie liée à la complexité de leur cycle biologique, interdit, pour le moment, leur utilisation.

Il apparaît nécessaire de mieux connaître, par des observations expérimentales, les conditions optimales de leur développement, et, par ailleurs, de procéder à

des études, dans les différents biotopes naturels, pour isoler de nouvelles espèces ou souches qui pourraient se révéler intéressantes, et pour mieux comprendre l'écologie de ces organismes et de leurs hôtes.

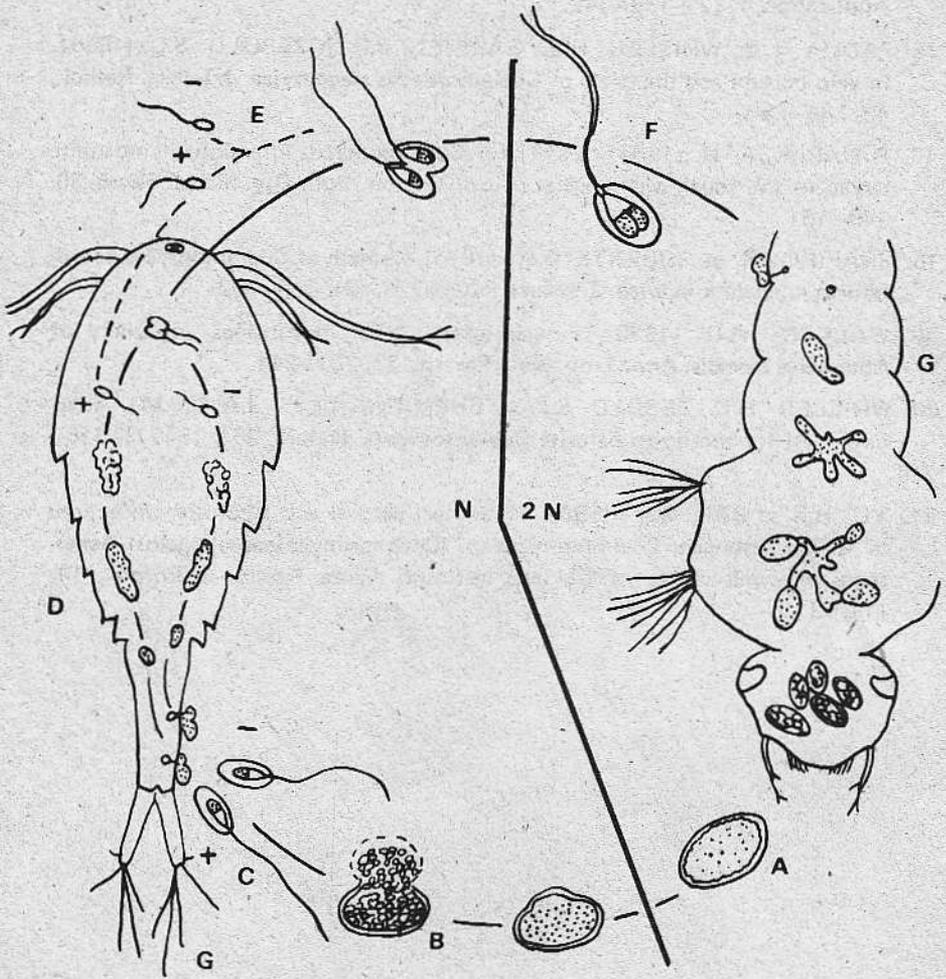
A Madagascar, en particulier, le très haut degré d'endémisme qui caractérise la faune et la flore peut amener à découvrir d'autres *Coelomomyces* et les entomologistes travaillant sur le terrain dans la Grande Ile doivent toujours être attentifs à la présence de tels organismes ; il s'agit là d'un domaine de recherche qui tant en laboratoire que sur le terrain, apparaît à la fois passionnant et utile.

## BIBLIOGRAPHIE

1. CASTILLO, J.M. et ROBERTS D.W. (1980). *In vitro* studies of **Coelomomyces punctatus** from **Anopheles quadrimaculatus** and **Cyclops vernalis**. **J. Invert. Pathol.**, 35, (2), 144–157.
2. COUCH J.N. (1945). Revision of the genus **Coelomomyces** parasitic in insect larvae. **J. Elisha Mitchell Sci. Soc.**, 61, 124–136.
3. COUCH J.N. (1962). Validation of the family **Coelomomycetaceae** and certain species and varieties of **Coelomomyces**. **J. Elisha Mitchell Sci. Soc.**, 78, 136–138.
4. COUCH J.N. (1968). Sporangial germination of **Coelomomyces punctatus** and the conditions favoring the infection of **Anopheles quadrimaculatus** under laboratory conditions. **Proceedings of the joint U.S. — Japan Seminar on Microbial Control of Insect Pests**, Fukuoka, Japon, 21–23 Avril 1967, 93–105.
5. COUCH J.N. (1972). Mass production of **Coelomomyces**, a fungus that kills mosquitoes. **Proc. Nat. Acad. Sci. U.S.A.**, 69, (8), 2043–2047.
6. COUCH J.N. et BLAND C.E. (1985). **The genus Coelomomyces**. Academic Press, New York, 399 p.
7. FEDERICI B.A. (1980). Production of the mosquito-parasitic fungus **Coelomomyces dodgei** through synchronized infection and growth of the intermediate copepod host **Cyclops vernalis**. **Entomophaga**, 25, (2), 209–217.
8. FEDERICI B.A. (1981). Mosquito control by **Culicinomyces**, **Lagenidium** and **Coelomomyces**. In : «**Microbial Control of pests and plant diseases, 1970–1980**», H.D. BURGESS édit., Academic Press, New York, 555–572.
9. FEDERICI B.A. et CHAPMAN H.C. (1977). **Coelomomyces dodgei** : establishment of an *in vivo* laboratory culture. **J. Invert. Pathol.**, 30, (3), 288–217.
10. FEDERICI B.A. ; TSAO P.W. et LUCAROTTI C.J. (1985). **Coelomomyces** (Fungi). **Bull. Amer. Mosq. Control Ass.**, (6), 75–86 (in : CHAPMAN H.C. **Biological Control of Mosquitoes**).
11. KEILIN D. (1921). On a new type of fungus : **Coelomomyces stegomyiae** n.g., n. sp., parasitic in the body cavity of the larva of **Stegomyia scutellaris** Walker (Diptera, Nematocera, Culicidae). **Parasitology**, 13, (3), 225–234.
12. LAIRD M. (1967). A coral island experiment : a new approach to mosquito control. **Chron. Org. Mond. Santé**, 21, 18–26.
13. NNAKUMUSANA E.S. (1985). Susceptibility of mosquito larvae to **Coelomomyces indicus**. **Indian J. Med. Res.**, 82, 316–320.
14. NNAKUMUSANA E.S. (1986 a). Some studies on pathogenicity of **Coelomomyces stegomyiae** against mosquito larvae in the laboratory. **Insect Science and its Application**, 7, (1), 93–97.

15. NNAKUMUSANA E.S. (1986 b). The effect of *Coelomomyces indicus* on the fecundity and longevity of *Anopheles gambiae*, *Culex fatigans* and *Aedes aegypti* exposed to infection at each larval instar. *Insect Science and its Application*, 7, (2), 139–142.
16. PADUA L.E., WHISLER H.C., GABRIEL B.P. et ZEBOLD S.L. (1986). *In vivo* culture and life cycle of *Coelomomyces stegomyiae*. *J. Invert. Pathol.*, 48, 284–288.
17. RAJAPAKSA N. (1964). Survey for *Coelomomyces* infections in mosquito larvae in the south-west coastal belt of Ceylon. *Bull. Org. Mond. Santé*, 30, 149–151.
18. SHAPIRO M. et ROBERTS D.W. (1976). Growth of *Coelomomyces psorophorae* mycelium *in vitro*. *J. Invert. Pathol.*, 27, (3), 399–402.
19. WALKER A.D. (1938). Fungal infections of mosquitoes, especially of *Anopheles costalis*. *Ann. Trop. Med. Parasit.*, 32, 231–244.
20. WHISLER H.C., ZEBOLD S.L. et SHEMANCHUCK J.A. (1974). Alternate host for mosquito parasite *Coelomomyces*. *Nature*, 251, (5477), 715–716.
21. YU H.S. et BAN S.J. (1984). Studies on natural and laboratory infections of fungal pathogen, *Coelomomyces* sp. (Coelomomycetaceae) against *Aedes togoi* principal vector of filariasis in South Korea. *Korean J. Entom.*, 14, (1), 93.

Figure 1



**Cycle de développement des *Coelomomyces***

A : sporange quiescent ; B : libération des méiospores par un sporange mûr ; C : méiospores ; D : développement de la phase gametophytique chez le crustacé copépode et formation des gamètes ; E : fusion des gamètes ; F : zygote ; G : infection de la larve de culicide et développement de la phase sporophytique (d'après Couch et Bland, 1985).