

LE CONTRÔLE AUTOCIDE DES INSECTES RAVAGEURS DE GRANDE DIMENSION
UNE MÉTHODE EFFICACE ET DURABLE EN DÉVELOPPEMENT

B.BLUM¹, L.DAMOIEAU², AI.LACORDAIRE³

⁽¹⁾ ⁽²⁾ ⁽³⁾ Académie du Biocontrôle et de la Protection Biologique Intégrée

⁽²⁾ damoiseau.louis@orange.fr ⁽³⁾ AILacordaire@koppert.fr

RÉSUMÉ

La Technique de l'insecte stérile (TIS) est la première méthode de lutte contre les insectes ravageurs qui utilise la génétique. Elle consiste à produire en grande quantité des insectes cibles dans une "usine" et à stériliser les mâles. Ces mâles stériles sont ensuite lâchés dans les zones infestées où ils s'accouplent aux femelles sauvages. Si les mâles stériles l'emportent largement en nombre sur les mâles sauvages féconds, la population d'insectes sauvages est rapidement contrôlée. La technique TIS ne peut naturellement convenir qu'à des insectes à reproduction sexuée. Deux problèmes majeurs doivent être résolus au départ: la production massale des insectes et la méthode de stérilisation qui permet aux mâles de garder leur capacité de copulation avec les femelles "sauvages". Il est possible qu'en France dans un premier temps les insectes cibles soient le carpocapse de la pomme et à la drosophile *suzukii*, pour ensuite se pencher sur la mouche du brou des noyers mais d'autres insectes méditerranéens comme la cératite, la mouche de l'olive et certains coléoptères pourraient être concernés.

MOTS-CLÉS

Ceratitis capitata, *Cydia pomonella*, *Rhagoletis completa*, *Drosophila suzukii*, contrôle, lâchers d'insectes stériles, ionisation, regio-biocontrôle

SUMMARY

The Sterilized insects technique (SIT) is the first method of fight against pests which uses the genetic way. It consists of production of big quantities of the target insects in a "factory" and in sterilizing males. These sterilized males are then release in the infested zones where they copulate with the wild females. If the sterile males take it widely in number on the male fertile savages, the population of wild insects is quickly controlled.

The technique TIS can suit naturally only in insects with sexual reproduction. Two major problems must be resolved at first: the breeding of mass of insects and the method of sterilization which allows the males to keep their capacity of copulation with the "wild" females.

We plan that in France at first the target insects will be the carpocapse and in the drosophila *suzukii*, to deal with then the fly of the hull of walnuts but other insects Mediterranean as cératite, fly of the olive and the certain beetles which could be concerned.

KEYS WORDS

Technique sterilized insects, *Ceratitis capitata*, *Cydia pomonella*, *Rhagoletis completa*, *Drosophila suzukii*, pest control, regio-biocontrôle

INTRODUCTION

En 1988 dans le nord-ouest Jamahiriya de Lybie, c'est la découverte de la lucilie bouchère, *Cochliomyia hominivorax* (Coquerel 1958) ; une invasive venue d'Amérique du Nord, seul pays où cet insecte avait été détecté jusqu' alors.

En mars 1989, la FAO confirme la présence de cas de myiases en Lybie. Parmi les mouches recensées, la lucilie bouchère, désignée sous le nom de «dévoreuse d'hommes», est l'une des espèces les plus redoutées. Ce diptère, de la famille des Calliphoridae, au corps bleuté profite de petites blessures cutanées pour injecter en une dizaine de secondes jusqu'à 400 œufs qui ont l'apparence d'une masse blanchâtre. Les œufs éclosent en quelques heures et donnent naissance à des larves de moins d'un millimètre. Carnivores elles sont munies de crochets qui leur permettent de s'enfoncer dans la peau d'où le nom « vers qui se visse ».

Bien qu'encore limitée à cette zone nord-centrale de Lybie, la lucilie menaçait d'immenses territoires d'Afrique du Nord : Tunisie, Algérie, Tchad, Egypte et Soudan.: «une catastrophe majeure», selon D.A Linqvist et M. Abuzowa, vite nommés responsables du programme de lutte. Les méthodes classiques allaient coûter plus de 250 Mio de dollars, sans éviter une hécatombe parmi la faune sauvage et le bétail et sans parler des risques graves pour les populations exposées. Dès le mois de juin 1989, 6 millions de têtes de bétail étaient recensées malades et 2 millions étaient déjà mortes.

Tenant compte des résultats obtenus au Texas en 1982 (USA), il fut décidé de mettre en œuvre, avec l'aide de la FAO, du Programme des Nations Unies pour le développement (PNUD), du Fonds international de développement agricole (FIDA) et de l'Agence internationale d'énergie atomique (AIEA), un programme autocide par la technique de lâchers massifs d'insectes stériles (TIS).

La Technique de l'insecte stérile (TIS) est la première méthode de lutte contre les insectes ravageurs qui utilise la génétique.

Elle consiste à reproduire des quantités énormes d'insectes cibles dans une "usine" et à stériliser les mâles en les exposant à des faibles doses de radiations. Ces insectes (mâles stériles) sont ensuite lâchés dans les zones infestées, où ils s'accouplent aux femelles sauvages. Si les mâles stériles l'emportent largement en nombre sur les mâles sauvages, la population d'insectes sauvages est rapidement anéantie.

Un peu d'histoire :

C'est dès 1930 que deux entomologistes, de l'USDA de Menard au Texas, Raymond Bushland et [Edward Knipling](#), ont cherché une alternative à l'emploi massif d'insecticides contre la lucilie bouchère. Le concept de la lutte autocide, permettant de casser le cycle de reproduction des insectes, fut mis au point par Knipling. Les travaux furent interrompus durant la Seconde Guerre Mondiale et n'ont finalement débouchés qu'en 1950 (Ile de Sanibel, Floride). Dès 1954 les premiers succès ont été enregistrés à grande échelle à Curaçao et au Venezuela contre lucilie bouchère. Puis dans les années 60 et 70, la technique a été mise en œuvre aux Etats Unis, pour ensuite se développer au Mexique et dans toute l'Amérique Centrale. Par ailleurs, des programmes similaires ont été développés avec succès contre la mouche méditerranéenne des fruits (*Ceratitis capitata* Wiedemann) au Mexique, en Floride, en Italie, au Nicaragua, au Pérou, et en Tunisie (Gilmore, 1989), la mouche du melon (*Bactrocera cucurbitae* Coquillett) de l'Ile de Kume au Japon (Shiga 1989) et la mouche Tsé-sé (*Glossina sp.* Wiedemann 1830) en Afrique sur l'île de Zanzibar de 1994-1998.

Cette technique particulièrement sûre pour l'environnement, est capable de protéger d'importantes ressources alimentaires, ainsi, Bushland and Knipling ont reçu en 1992 le "World Food Prize", en reconnaissance pour leurs travaux, considérés comme "le progrès le plus important durant le 20^{ème} siècle accompli en entomologie". (Orville Freemam, chef de l'USDA).

Zoom sur la technique

Principaux contributeurs

année	Point d'étape	E.F. Knippling	Serebro-wsky	Brouss-e	Bush-land	Hermann Müller	Yen & Barr
1928	Concept stérilisation par radiation					X	
1930	Concept SIT	X					
1936	Elevage de masse			X	X		
1937	Mode Accouplement	X					
1940	Amélioration concept		X				
1955	Dynamique populations	X					
1970	Effet Wolbachia						X
1979-85	Cas <i>Iucilieb.</i>	X					

La TIS ne peut naturellement convenir qu'à des insectes à reproduction sexuée. Deux sujets majeurs doivent être pris en compte dès le départ : d'une part la production massive des insectes et d'autre part la méthode de stérilisation qui permet aux mâles de garder leurs capacités de copulation avec les femelles "sauvages" afin de produire des œufs qui seront stériles. Les populations seront réduites génération après génération. La TIS est la seule méthode non chimique permettant de concevoir un contrôle des populations d'insectes sur de grandes surfaces.

Cependant sa mise en œuvre nécessite d'avoir une très bonne connaissance de la biologie et du comportement des insectes visés. Son emploi pourra être conçu dans des espaces confinés ou sur de grandes parcelles, zone agro-écologiques homogènes, d'où la nécessité de prévoir des **actions de protection collective**. Comme il s'agit souvent d'intégrer la TIS à d'autres moyens de protection, le calendrier des lâchers doit être particulièrement précis et il devient nécessaire de disposer d'outils électroniques de surveillance et d'aide à la décision.

Enfin, des mesures de sécurité sont nécessaires pour s'assurer que seuls des insectes stériles sont lâchés et que le suivi de leur dynamique dans la nature est assuré.

Les techniques de stérilisation :

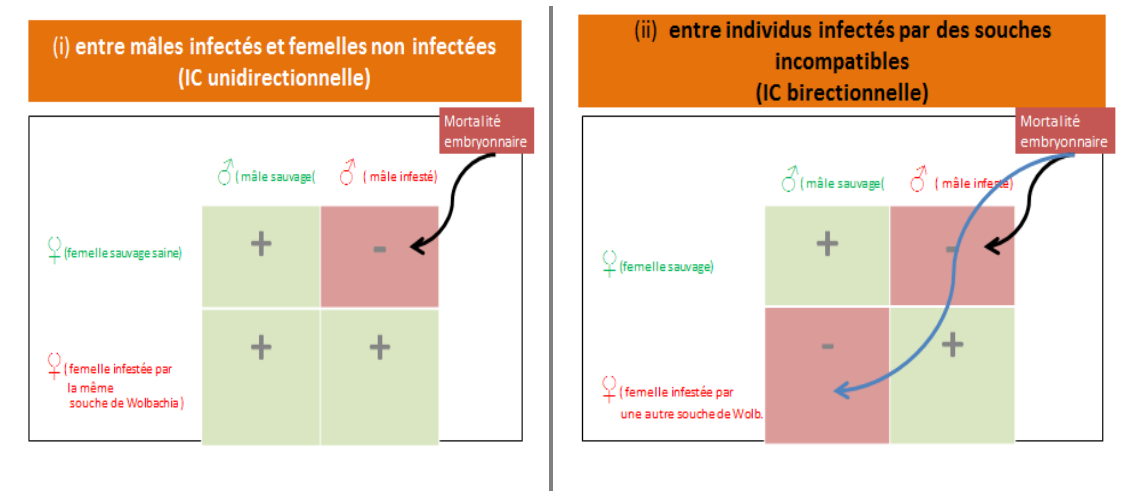
On considère 3 techniques de stérilisation des insectes:

- a) l'induction de l'incompatibilité cytoplasmique,
- b) la transgénése conduisant à l'introduction d'un gène de stérilité,
- c) la stérilisation par radiation,

• **a) la stérilisation par incompatibilité cytoplasmique**

Le processus "d'incompatibilité cytoplasmique" est induit par une bactérie symbionte du genre *Wolbachia* Hertig 1936 (α -proteobactérie intracellulaire). Il s'agit d'une bactérie intracellulaire qui se localise au sein du cytoplasme des cellules de son hôte. On la retrouve en abondance principalement dans les cellules germinales et l'épithélium du système reproducteur des insectes, mais aussi des nématodes. La bactérie induit chez la femelle des mécanismes moléculaires complexes qui n'ont pas encore été expliqués. Il en résulte selon les espèces des cas de parthénogénèse, de féminisation ou d'incompatibilité cytoplasmique qui conduisent à une très forte mortalité (jusqu'à 100%). Deux dispositifs de fécondation conduisent à produire des descendances « incompatibles », selon que la femelle est infestée par la même ou une autre souche de *Wolbachia* : En cas d'infestation avec la même souche, l'incompatibilité se manifeste uniquement

lorsque la copulation est faite avec des femelles sauvages (IC unidirectionnelles). Par contre si les souches sont différentes, l'effet se manifeste aussi avec des femelles infestées (IC bidirectionnelles)

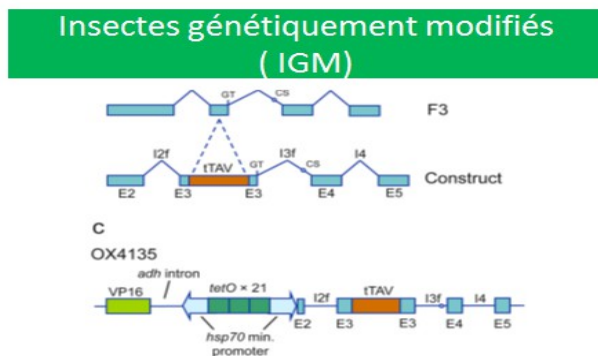


Cette méthode est envisagée principalement dans la lutte contre des insectes ravageurs vecteurs de maladies (*Aedes*, *Culex*, *Anaophèles* etc..).

Il est important de signaler que cette technique soulève de multiples questions. Les souches de Wolbachia restent mal connues. La production industrielle in vitro est encore impossible et les souches sont notoirement instables. Enfin, il y a un grand risque de transmission à des insectes auxiliaires. Mais le plus grand risque provient des propriétés ambivalentes de Wolbachia. En effet Sabesan et Jambulingam (2011) soulignent les limites de cette stratégie de lutte anti-vectorielle. « En premier lieu il n'est pas sûr que ces résultats obtenus en laboratoire soient reproductibles dans un environnement naturel où la durée de développement des parasites -pathogènes chez les vecteurs dépend très largement des conditions de température et d'humidité. L'effet délétère des Wolbachia sur la longévité du vecteur par exemple pourrait être contrebalancé par l'augmentation de la température, actuellement constatée dans de nombreuses régions, susceptible d'accélérer la multiplication virale et de permettre à un virus comme celui de la dengue d'atteindre plus rapidement le seuil d'infectivité.

b) stérilisation par transgénése

La méthode utilisant la méthode de recombinaison moléculaire conduisant à la création d'insectes génétiquement modifiés est développée au Royaume Uni. Cette recherche est réalisée en collaboration avec l'Imperial College de Londres et la fondation Melinda & Bill Gates. Cette méthode, RIDL (Release of Insects carrying a dominant lethal) consiste à introduire un gène dominant létal dans les insectes.



L'addition se fait par voie orale, il suffit de l'ajouter à la diète alimentaire des insectes. L'expression de ce gène mortel pour les insectes peut être « temporisé » par un additif externe, la tetracycline. Il n'y aura alors aucune difficulté à élever en masse les insectes. On ajoute en même temps un marqueur génétique, DsREG fluorescence, de façon à pouvoir par la suite identifier les insectes génétiquement modifiés et suivre leur épidémiologie dans la nature. Il y a plusieurs types de RIDL, mais couramment on utilise un gène dominant spécifique des femelles. Ainsi il ne sera pas nécessaire de séparer les sexes au moment du lâcher : on supprime l'adjonction de tetracycline dans les derniers stades de l'élevage. Les femelles vont mourir et il ne restera que des mâles dans les lâchers. Les mâles ont un comportement sexuel normal et sont en bonne condition pour concurrencer, vis à vis des femelles sauvages, les mâles sauvages.

Les études ont d'abord concerné les diptères (moustiques) grands vecteurs de maladies dans plusieurs pays: Iles Caïmans, Malaisie, Mexique sujet. En 2011, une grande application a été menée au Brésil contre les moustiques dans le but d'éradiquer le vecteur de la Dengue et une usine d'élevage a été ouverte en juillet 2014. La société est en attente d'autorisation pour la commercialisation des insectes dans ce pays.

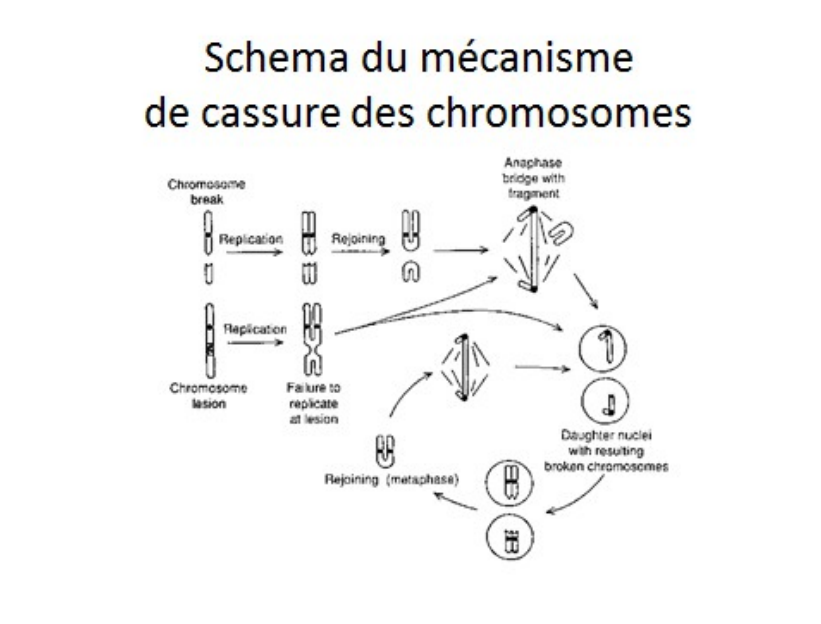
Là encore beaucoup de questions restent en suspens et aucun cadre légal n'est en place aujourd'hui pour contrôler l'adoption de cette technique.

c) la stérilisation par ionisation.

La technique consiste à produire en masse l'insecte visé. À un stade voulu, les insectes seront soumis à une dose "efficace", mais aussi réduite que possible de rayons γ . Le protocole de stérilisation est établi par l'AIEA (Agence Internationale de l'Energie Atomique) qui assure par ailleurs le contrôle des installations en service. Les insectes libérés dans la nature vont alors copuler avec les femelles sauvages qui seront amenées à pondre des œufs stériles.

De façon à assurer un suivi efficace les insectes lâchés sont marqués avec un produit fluorescent. Après plusieurs générations, les populations cibles déclinent. La méthode est particulièrement efficace pour les diptères et certains lépidoptères dont les femelles n'ont souvent qu'une seule copulation. C'est la méthode qui a été utilisée dans les célèbres campagnes contre la lucilie bouchère.

Figure 1 : Schéma de l'action des rayons gamma sur les chromosomes, selon Müller- 1928



Le processus moléculaire qui conduit à la stérilisation des mâles a été décrit par Müller dès 1928 : les rayons gamma ont la capacité de rompre les chromosomes qui alors se collent les uns aux autres pour former des

fragments « dicentriques ». Ce processus peut conduire soit à la mort de la cellule, soit à une incapacité de transmission de l'information génétique. Il devient impossible d'assurer la division cellulaire nécessaire faisant suite à la fécondation des ovules, donc au développement des embryons (voir fig 3).

Suite aux travaux et aux résultats probants obtenus contre la lucilie bouchère, de nombreuses applications, ont été menées contre différents vecteurs et ravageurs dans diverses cultures. La plupart de ces projets sont situés en Amérique ou Afrique. Pour des raisons pratiques d'intervention (nécessité de considérer des actions collectives dépassant la dimension des parcelles de culture), peu de programmes ont été lancés jusqu'ici en Europe. Il semble aussi que des expériences menées en France dans les années 1960 n'aient pas été couronnées de succès, probablement en raison d'un manque de maîtrise des techniques de stérilisation.

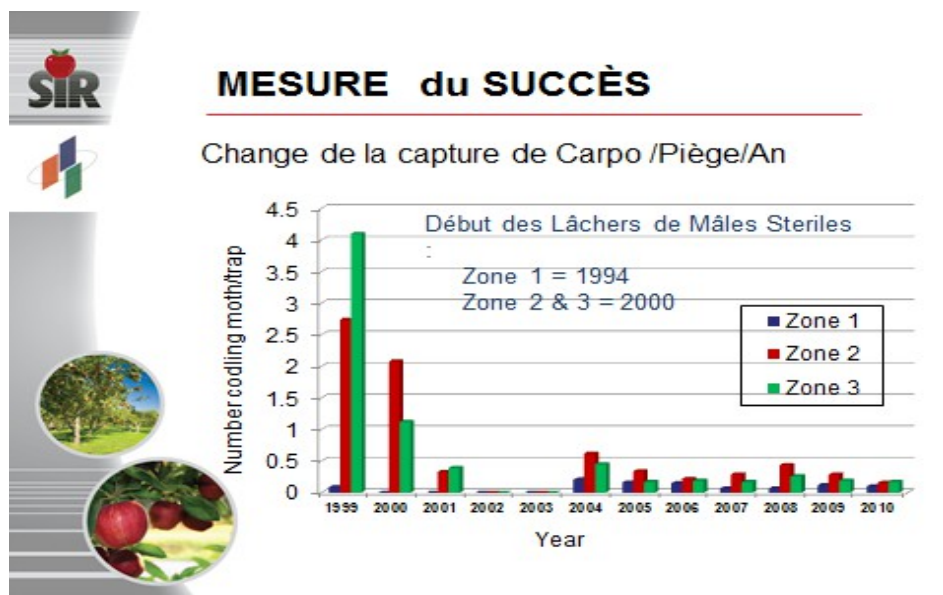
Plusieurs programmes donnent cependant des résultats spectaculaires, soit à titre préventif, soit pour protéger des récoltes de ravageurs particulièrement préoccupants, en voici quelques exemples :

Un vaste programme préventif contre la mouche méditerranéenne des fruits (*Ceratitis capitata*) est mis en place depuis 10 ans en Floride. L'objectif est de se prémunir contre les invasions de ravageurs en provenance d'Amérique centrale. Les insectes sont produits en masse au Guatemala (El Pino), irradiés dans une installation de l'USDA au Mexique et transportés en Floride, où, après conditionnement, des lâchers aériens hebdomadaires sont effectués. Ce programme, étendu maintenant à la Californie a permis jusqu'ici d'épargner toute invasion de Cératite

Dans la vallée d'Okanagan (Colombie Britannique), les autorités et les producteurs de pommes ont lancé en 1994 un vaste programme de protection contre le carpocapse des pommes (*Cydia pomonella* Linnaeus, 1758) du fait de la montée de la résistance de ces ravageurs aux insecticides et des restrictions concernant les résidus de pesticides dans les fruits. Le programme OKSIR (Canada) a donc été lancé sur une base réglementaire sévère (obligation de participer et destruction des arbres non concernés). Une installation de production du carpocapse des pommes a été mise en place et un programme lancé, zone par zone, sur près de 5'000 ha. Suite au lâcher massif hebdomadaire d'insectes ionisés, durant 20 semaines de végétation, on a assisté à une rapide diminution des infestations de ravageurs conduisant en 5 ans à une baisse de 98% de l'emploi des insecticides.

Figure 2 : Evolution des captures de papillon/piège/an (Programme OKSIR Canada)

Number of codling moth /trap/year (Program OKSIR Canada)



LE PROJET REGIO BIOCONTRÔLE

La situation mentionnée au Canada en ce qui concerne la résistance du carpocapse des pommes n'est pas un cas isolé, et cette situation se présente également pour de nombreux ravageurs endémiques : les traitements répétés conduisent au développement de résistance, à l'augmentation des cadences des traitements et à la recherche sans cesse de nouvelles molécules.

Par ailleurs, les producteurs font face à une accélération de l'invasion de nouveaux ravageurs. Cette invasion résulte sans doute de la globalisation des échanges, des flux touristiques et, peut-être aussi des changements climatiques.

Des insectes tels que la chrysomèle du maïs (*Diabrotica virgifera* Le Conte, 1868), la drosophile à ailes tachetées (*Drosophila suzukii* Matsumura, 1931) ou la mouche du brou de la noix (*Rhagoletis completa* Cresson, 1929) font partie de ces ravageurs pour qui, selon l'étude de risques de l'OEPP (organisation européenne de la protection des plantes), les mesures de quarantaine ont été sans effet.

Ce sont ces éléments qui ont motivé la réflexion sur le montage d'un projet « Regio Biocontrôle » qui consiste à développer et mettre en place une protection intégrée centrée sur la technique du lâcher d'insectes stériles.

La genèse

Le projet devrait se dérouler à la fois dans le temps, dans l'espace et étape par étape, contre plusieurs insectes ravageurs des cultures.

a) Insectes cibles

- Dans un premier temps, c'est le carpocapse des pommes qui servira de modèle.
- Ensuite la faisabilité de la technique sera étudiée sur la drosophile suzukii.
- La mouche du brou de la noix devrait clôturer les études.
- Il est envisagé plus tard d'étudier d'autres ravageurs notamment des insectes méditerranéens comme la cératite et ou la mouche de l'olive.
- Par ailleurs le projet pourrait s'intéresser au cas des coléoptères (*Diabrotica* etc...),
- Les surfaces concernées par ces ravageurs dépassent actuellement 9 millions d'hectares en Europe et dans le bassin méditerranéen, et environ 650'000 ha en France.

Tableau I: Cultures et ravageurs concernés par la technique TIS (B.Blum 2014)
SIT Crops and pest (B.Blum 2014)

Cultures et ravageurs				
Culture	Ravageur	Surface (ha) concernée en Europe /Medit.	Surface concernée en France	Commentaires
Petits fruits rouges	<i>Drosophila suzukii</i>	19'000	3'000	
Cerises	<i>Drosophila suzukii</i>	28'000	6'000	
Noyers	<i>Rhagoletis completa</i>	90'000	15'000	
	<i>Cydia pomonella</i>	90'000	10'000	
Châtaignes	<i>Cydia splendana</i>	110'000	5'000	
Pêches, abricôts, nectarines	<i>Drosophila suzukii</i>	110'000	8'000	Extension rapide
Pommes	<i>Cydia pomonella</i>	180'000	12'000	
	<i>Drosophila suzukii</i>		?	1ère infestations 2013
Vigne	<i>Drosophila suzukii</i>	8'670'000	360'000 (sur 780'000)	1ère attaques en 2012

Les Partenaires du projet

- Pour aborder les questions multiples soulevées par un tel projet, il est indispensable de rassembler plusieurs partenaires : Ministères, Instituts, industriels, Collectivités locales, Organisations de producteurs... Ils pourraient être réunis dans un « Groupement d'Intérêt Economique et Ecologique » (GI2E), tel que défini dans la nouvelle loi d'Avenir Agricole.

CONCLUSION

La méthode de lutte autocide par lâcher d'insectes stériles est une méthode relativement ancienne qui a été réactualisée grâce aux progrès récents en biologie, biologie moléculaire, électronique etc...

Il est alors possible de concevoir des programmes innovants de contrôles efficaces pour des ravageurs particulièrement préoccupants. Aucune autre méthode biologique n'a jusqu'ici apporté une telle efficacité (jusqu'à 98%). Cependant cette technique nécessite de revoir fondamentalement les conditions de développement et de mise en œuvre. Il est en effet nécessaire de fédérer les connaissances de tous les acteurs, d'intégrer des moyens et concevoir des opérations collectives de protection.

Les bénéfices à attendre sont importants. Le Mexique protège des fruits et légumes d'une valeur à l'export se montant à 3'000 Mio\$/an, pour un investissement de 25 Mio\$. Au Chili, la lutte contre la cératite a ouvert un marché d'exportation se montant à 500 Mio\$.

La méthode de lutte autocide par insectes stériles apporte non seulement des avantages économiques et sociaux tangibles, mais crée aussi de nombreux emplois dans les régions rurales qui en ont bien besoin. De plus, cette technique permet de protéger efficacement l'environnement. C'est pourquoi de nombreux projets TIS voient le jour et se développent en ce moment à travers le monde.

Le projet Regio Biocontrol en est encore à sa genèse, son aboutissement nécessitera de lever des freins et des verrous administratifs, économiques et techniques.

BIBLIOGRAPHIE

Cunningham E.P., Abusowa M., Lindquist D.A., Sidahmed A.E., Vargas Teran M Le programme d'éradication de la lucilie bouchère d'Afrique du Nord, Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux, Maladies des animaux, 1992 volume 45, pages 115-118

Lachiheb Abdallah 2007-2008 Rapport de Projet de Fin d'Etudes : Optimisation de la dose d'irradiation dans le cadre du projet de lutte par la Technique de l'Insecte Stérile (TIS) contre la cératite (*Céraititis Capitata*)

Sabesan S et coll. : What ails Wolbachia transinfection to control diseases vectors ? Trends Parasitol, 2012 ; 28: 1-2

Van der Vloedt et B. Butt A.M.V Programme d'éradication de la lucilie bouchère en Afrique du Nord
Une action internationale est en cours pour juguler l'invasion de cet insecte dangereux, AIEA Bulletin 4/1990 pages 35-41

SITES INTERNET

Combattre la mouche tsé-tsé, un fléau pour les agriculteurs africains

<http://www.fao.org/french/newsroom/news/2002/4620-fr.html>

La Technique de l'insecte stérile (TIS) au service de la lutte contre les maladies transmises par les moustiques

https://www.ird.fr/content/download/85493/.../1/.../DP_TIS_Réunion.pdf

La découverte du génome de la mouche tsé-tsé donne de l'espoir aux agriculteurs africains

<http://www.fao.org/news/story/fr/item/225060/icode/>

Bounfour Malika La Technique des Insectes stériles, Ou l'innovation dans la lutte, Journée ONSSA SIAM 2010