

Un insecticide biologique : *Bacillus sphaericus*

I. Activité larvicide de *B. sphaericus* sur quelques espèces et souches de moustiques

Mamadou DAGNOGO ⁽¹⁾

Jean COZ ⁽²⁾

Résumé

Au cours de cette étude, nous avons testé l'effet larvicide de *Bacillus sphaericus* sur les larves au 4^e stade de 6 espèces de moustiques : *Aedes aegypti*, *A. albopictus*, *A. caspius*, *Anopheles gambiae*, *A. stephensi* et *Culex pipiens*.

Les résultats montrent, en utilisant la culture de l'Institut Pasteur :

- la forte sensibilité de *Culex pipiens*
CL 50 = 0,1. 10⁻⁵
- la bonne sensibilité d'*Anopheles gambiae*
CL 50 = 0,2. 10⁻⁴
- une sensibilité moyenne de certains *Anopheles* et *Aedes*
CL 50 = 0,15. 10⁻³ pour *A. albopictus*
CL 50 = 0,16. 10⁻³ pour *A. stephensi*
- une moindre sensibilité de certains *Aedes*
CL 50 = 0,5. 10⁻² pour *A. caspius*
CL 50 = 0,65. 10⁻² pour *A. aegypti*

La résistance au d.d.t. et à la Dieldrine n'influe pas sur la sensibilité d'*A. stephensi* à *B. sphaericus*. Par contre, la sensibilité de cette même espèce varie avec la formulation.

Mots-clés : *Bacillus sphaericus* — Insecticide — Sensibilité — Larves — Moustiques.

Summary

A BIOLOGICAL INSECTICIDE : *Bacillus sphaericus*. 1. LARVICIDAL ACTIVITY OF *B. sphaericus* ON SOME SPECIES AND STRAINS OF MOSQUITOES

Bacillus sphaericus insecticidal activity has been evaluated in laboratory, on mosquitoes larvae. *B. sphaericus* strain 1593-4 tested was isolated in June 1974 from moribund larvae of *Culex pipiens quinquefasciatus*, Jakarta strain (Indonesia).

In this work, the authors have tested insecticidal effects of *B. sphaericus* against fourth stage larvae of six species of mosquitoes : *Aedes aegypti*, *A. albopictus*, *A. caspius*, *Anopheles gambiae*, *A. stephensi* and *Culex pipiens*.

(1) Centre Universitaire de Formation en Entomologie médicale et vétérinaire, Bouaké, Côte d'Ivoire.

(2) Entomologiste médical O.R.S.T.O.M. Laboratoire d'Entomologie médicale, Services Scientifiques Centraux, O.R.S.T.O.M. 70, route d'Aulnay, 93140 Bondy, France.

The results show, using culture from Pasteur Institute of Paris :

- large susceptibility of *C. pipiens*
CL 50 = 0,1. 10^{-5} = 0,001 ml/l
- good susceptibility of *A. gambiae*
CL 50 = 0,2. 10^{-4} = 0,02 ml/l
- average susceptibility of some *Anopheles* and *Aedes*
CL 50 = 0,15. 10^{-3} = 0,15 ml/l for *A. albopictus*
CL 50 = 0,16. 10^{-3} = 0,16 ml/l for *A. stephensi*
- lower susceptibility of some *Aedes*
CL 50 = 0,5. 10^{-2} = 5 ml/l for *A. caspius*
CL 50 = 0,65. 10^{-2} = 65 ml/l for *A. aegypti*

DDT and dieldrine resistance do not influence the susceptibility of *A. stephensi* to *B. sphaericus*. The susceptibility of this same species change with the formulation. Indeed, a powder prepared by Stauffer Chemicals in U.S.A. is more efficace than culture of Pasteur Institute on two strains of *A. stephensi*.

Key words : *Bacillus sphaericus* — Insecticide — Susceptibility — Mosquitoes — Larvae.

1. INTRODUCTION

La lutte actuelle contre les arthropodes vecteurs de graves maladies tend à concilier l'efficacité et la spécificité de l'insecticide utilisé ainsi que la conservation de l'environnement

Bacillus sphaericus « insecticide d'origine biologique » ne possède aucune toxicité sur les crustacés (Mulligan *et al.*, 1978, Dagnogo et Coz, 1980), les poissons (O.M.S., 1979), et les mammifères (de Barjac, 1979).

Des auteurs ont montré une activité larvicide de *B. sphaericus* var. *fusiformis* Neide sur les larves de moustiques (Kellen *et al.*, 1965, Singer *et al.*, 1976, Goldberg *et al.*, 1977, Davidson, 1979).

Nous avons utilisé la souche 1593-4 de *B. sphaericus* isolée à partir de larves infectées de *Culex quinquefasciatus* à Jakarta, Indonésie, en juin 1974. Dans le présent article nous faisons d'une part, une analyse des résultats de tests d'activité larvicide de *B. sphaericus* sur des larves du 4^e stade de quelques espèces de moustiques des genres *Aedes*, *Anopheles* et *Culex*, et d'autre part une comparaison des résultats obtenus avec une poudre (Stauffer) et une culture (Institut Pasteur de Paris) de la souche 1593-4 de *B. sphaericus*.

2. MATÉRIEL ET MÉTHODE

2.1. Matériel

2.1.1. *B. sphaericus* souche 1593-4

la poudre Stauffer : cette poudre est préparée aux

États-Unis par la firme Stauffer Chemicals. Elle nous a été adressée par la Division du Contrôle et de la Biologie des Vecteurs de l'O.M.S. sous le numéro de code MV 716. 10 g de cette poudre dilués dans un litre donne une solution mère à 10^{-2} qui servira à faire les autres dilutions.

la culture Institut Pasteur : cette culture de la souche 1593-4 de *B. sphaericus* a été réalisée à l'Institut Pasteur de Paris. La technique de dilution est la même sauf que 10 ml de culture remplacent 10 g de poudre.

2.1.2. LES LARVES DE MOUSTIQUES TESTÉS

Aedes aegypti Linnaeus 1762

Aedes albopictus Skuse 1864

Aedes caspius Pallas 1771

Culex pipiens Linnaeus 1758

Anopheles gambiae Giles 1902

Anopheles stephensi Liston 1901, deux souches : une souche sensible au d.d.t. et à la Dieldrine (ST15) et une souche résistante à ces deux insecticides (STR).

2.2. Méthode

La méthode normalisée O.M.S. pour la détermination de la sensibilité aux insecticides a été utilisée dans ce travail. Généralement 4 lots de 25 larves du 4^e stade sont testés à chaque concentration, toutefois, pour certaines concentrations, nous avons utilisé 8 lots. Les larves en contact avec le bacille sont nourries et les mortalités sont lues après 48 heures. Les nymphes étant décomptées, les tests ont porté sur les jeunes larves du

4^e stade. Cette précaution évite une très grande nymphose durant les tests. La mortalité dans les lots témoins étant inférieure à 5 %, la mortalité n'a pas été corrigée par la formule d'Abbott.

Bien que les résultats des tests, à l'exception d'un, ne permettent pas de transformer par anamorphose les sigmoïdes mortalité/concentration, nous avons utilisé sur les figures et par commodité une représentation gaussio-logarithmique, en joignant les points observés.

3. RÉSULTATS

3.1. Tests effectués avec *B. sphaericus*, culture de l'Institut Pasteur

Efficacité sur les Aedes. Les résultats sont portés au tableau I et la mortalité d'*A. albopictus* est représentée sur la figure 1. Les mortalités d'*A. aegypti* et *A. caspius* ne peuvent être représentées graphiquement. Les CL 50 sont les suivantes :

- pour *A. aegypti* : $0,65 \cdot 10^{-2}$
- pour *A. caspius* : $0,5 \cdot 10^{-2}$
- pour *A. albopictus* : $0,15 \cdot 10^{-3}$

Il est à noter que la sensibilité d'*A. albopictus* à *B. sphaericus* est 40 fois plus élevée que celle d'*A. aegypti*.

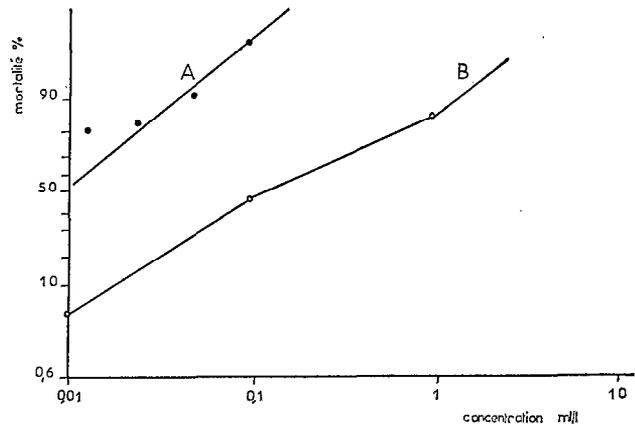


FIG. 1. — Sensibilité des larves du 4^e stade à *B. sphaericus* — Culture Institut Pasteur. A : *Culex pipiens* ; B : *Aedes albopictus*

TABLEAU I

Activité de *B. sphaericus* sur les larves du 4^e stade de trois espèces d'*Aedes*

<i>B. sphaericus</i> — Culture Institut Pasteur									
<i>A. aegypti</i>				<i>A. caspius</i>			<i>A. albopictus</i>		
C	T	M	%M	T	M	%M	T	M	%M
10^{-2}	99	64	64,6	100	79	79,0	100	100	100,0
10^{-3}	93	3	3,2	100	3	3,0	100	85	85,0
10^{-4}	90	2	2,2				100	46	46,0
10^{-5}	90	0	0,0				100	5	5,0
Te	92	0	0,0	100	0	0,0	100	0	0,0
CL 50	$0,65 \cdot 10^{-2}$			$0,5 \cdot 10^{-2}$			$0,15 \cdot 10^{-3}$		

C : concentration ; T : nombre de larves testées par concentration ; M : nombre de larves mortes par concentration ; %M : pourcentage de mortalité ; Te : témoin.

Efficacité sur les Anopheles. Les résultats sont portés au tableau II et représentés sur la figure 2. Les CL 50 sont les suivantes :

- pour *A. gambiae* : $0,2 \cdot 10^{-4}$
- pour *A. stephensi* ST15 : $0,16 \cdot 10^{-3}$

pour *A. stephensi* STR : $0,27 \cdot 10^{-3}$

Il est à noter qu'*A. gambiae* est plus sensible qu'*A. stephensi*, mais que les deux souches d'*A. stephensi* sensibles ou non au d.d.t. et à la Dieldrine, réagissent de façon comparable à *B. sphaericus*.

TABLEAU II

Activité de *B. sphaericus* sur les larves du 4^e stade d'*Anopheles*

<i>B. sphaericus</i> — Culture Institut Pasteur											
<i>A. stephensi</i> ST15 (1)				<i>A. stephensi</i> STR (2)			<i>A. gambiae</i>				
C	T	M	%M	T	M	%M	C	T	M	%M	
10 ⁻²	99	99	100,0	200	198	99,0	0,25. 10 ⁻³	100	100	100,0	
10 ⁻³	100	99	99,0	200	175	87,5	0,125. 10 ⁻³	97	96	99,0	
10 ⁻⁴	100	29	29,0	100	41	20,5	10 ⁻⁴	197	187	94,0	
10 ⁻⁵	99	25	25,2	199	35	17,6	0,5. 10 ⁻⁴	99	79	79,0	
10 ⁻⁶	100	30	30,0				0,25. 10 ⁻⁴	92	57	62,0	
10 ⁻⁷	100	13	13,0				0,125. 10 ⁻⁴	87	31	35,0	
Te	100	1	1,0	192	0	0,0	Te	184	0	0,0	
CL 50	0,16. 10 ⁻³			0,27. 10 ⁻³			0,2. 10 ⁻⁴				
Chi ² (2)	76,5 (3 ddl) — S			59,9 (2 ddl) — S			35,7 (3 ddl) — S				

- (1) : souche sensible au d.d.t. et à la dieldrine (ST15)
souche résistante à ces deux insecticides (STR)
(2) : S = significatif.

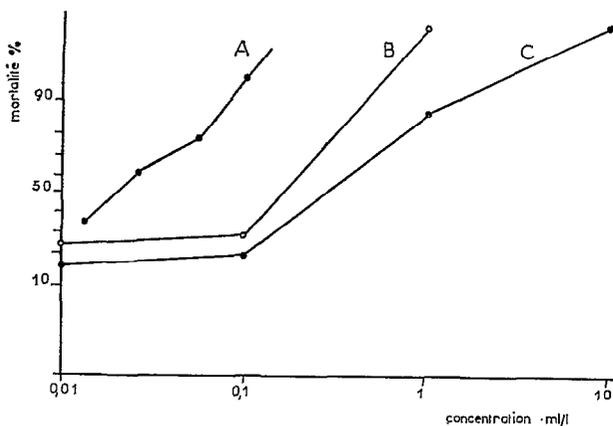


FIG. 2. — Sensibilité des larves du 4^e stade à *B. sphaericus* — Culture Institut Pasteur. A : *Anopheles gambiae* ; B : *A. stephensi* ST15 ; C : *A. stephensi* STR

Efficacité sur les *Culex*. Les résultats sont portés au tableau III et sur la figure 1. La CL 50 = 0,1. 10⁻⁵.

Il est à noter que la droite de régression ne peut être tracée que pour cette espèce.

3.2. Tests effectués avec *B. sphaericus*, poudre Stauffer

Ils n'ont porté que sur deux souches d'*Anopheles stephensi* ; sensible au d.d.t. et à la Dieldrine (souche ST15) ou résistante à ces deux insecticides

TABLEAU III

Activité de *B. sphaericus* sur les larves du 4^e stade de *Culex pipiens*

<i>B. sphaericus</i> — Culture Institut Pasteur <i>Culex pipiens</i>				
C	T	M	%M	
10 ⁻³	100	100	100,0	
10 ⁻⁴	100	98	98,0	
0,5. 10 ⁻⁴	100	91	91,0	
0,25. 10 ⁻⁴	100	83	83,0	
0,125. 10 ⁻⁴	100	81	81,0	
10 ⁻⁵	100	33	33,0	
Te	194	0	0,0	
CL 50	0,1. 10 ⁻⁵			
Chi ² (1)	2,9 (3 ddl) — NS			

- (1) : S = significatif ; NS = non significatif.

(souche STR). Les résultats sont portés au tableau IV et sur la figure 3. Il apparaît que ces deux souches sont également sensibles à cette poudre de *B. sphaericus*.

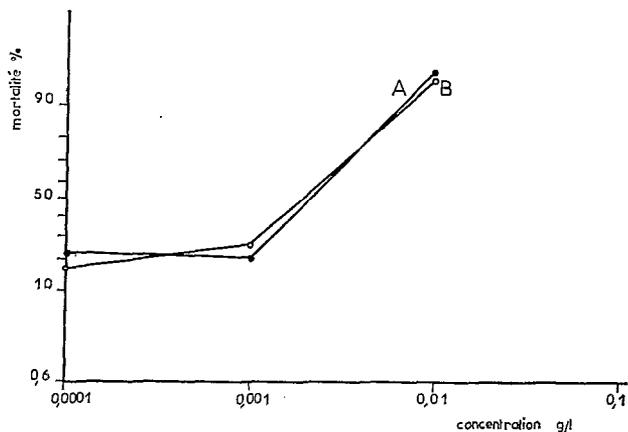


FIG. 3. — Sensibilité des larves du 4^e stade à *B. sphaericus* — Poudre Stauffer. A : *A. stephensi* ST15 ; B : *A. stephensi* STR

4. DISCUSSION

4.1. Sensibilité comparée des différences espèces de moustiques à *B. sphaericus*, culture de l'Institut Pasteur

Les résultats récapitulés et analysés statistiquement au tableau V montrent :

— la moindre sensibilité des *Aedes* ce qui confirme les travaux de Kellen *et al.*, 1965, Singer *et al.*, 1976, Mulligan *et al.*, 1978. Cependant il convient de noter qu'*A. albopictus* est 40 fois plus sensible qu'*A. aegypti* et qu'*A. caspius*, ces deux dernières espèces présentant une sensibilité comparable.

— une meilleure sensibilité des *Anopheles*, en particulier *A. gambiae* ; celle d'*A. stephensi*, quelle que soit la souche, est voisine de celle d'*A. albopictus*, *Aedes* le plus sensible.

— la forte sensibilité de *Culex pipiens*, ce qui va dans le sens des observations de Goldberg *et al.*, 1977, Mulligan *et al.*, 1978, sur *Culex pipiens quinquefasciatus*.

4.2. Efficacité comparée de deux préparations de *B. sphaericus* sur deux souches d'*A. stephensi*

La comparaison des résultats portés aux tableaux II et IV fait ressortir :

— l'égale sensibilité à *B. sphaericus* d'une souche d'*A. stephensi* sensible au d.d.t. et à la Dieldrine et d'une souche résistante à ces insecticides, quelle que soit la préparation de *B. sphaericus* utilisée.

— une meilleure efficacité de la poudre Stauffer par rapport à la « culture Institut Pasteur ».

Il n'y aurait donc pas de résistance croisée avec les insecticides organo-chlorés ; par contre, la formulation de *B. sphaericus* pourrait jouer sur le

TABLEAU IV

Activité de *B. sphaericus* sur les larves du 4^e stade de 2 souches d'*Anopheles stephensi* ; souche sensible au d.d.t. et à la Dieldrine (ST15) ; souche résistante à ces deux insecticides (STR)

<i>B. sphaericus</i> — Poudre Stauffer						
<i>A. stephensi</i> STR				<i>A. stephensi</i> ST15		
C	T	M	%M	T	M	%M
10 ⁻³	200	200	100,0	100	100	100,0
10 ⁻⁴	199	199	100,0	100	100	100,0
10 ⁻⁵	100	95	95,0	199	192	96,5
10 ⁻⁶	98	27	27,5	100	22	22,0
10 ⁻⁷	187	31	16,6	99	24	24,2
Te	192	1	0,5	200	0	0,0
Chi ² (1)	32,7 (2 ddl) — S			60,4 (2 ddl) — S		
CL 50	0,20. 10 ⁻⁵			0,21. 10 ⁻⁵		

(1) : S = significatif

niveau de sensibilité d'une même espèce de moustiques.

5. CONCLUSION

Les essais larvicides de *B. sphaericus* sur différents genres et espèces de moustiques montrent

l'efficacité de cet agent biologique, en particulier sur les larves de *Culex* et d'*Anopheles*. La sensibilité des *Aedes* paraît moindre, bien que certaines espèces (*A. albopictus*) puisse se comporter comme les *Anopheles* les moins sensibles (*A. stephensi*).

Il faut aussi noter l'influence de la formulation sur le niveau de sensibilité. Ainsi la poudre Stauffer paraît plus efficace que la Culture de l'Institut Pasteur sur deux souches d'*A. stephensi*.

TABLEAU V

Récapitulation des résultats obtenus avec *B. sphaericus* — Culture Institut Pasteur, sur différentes espèces testées

	<i>B. sphaericus</i> — Culture Institut Pasteur						
	<i>Aedes aegypti</i>	<i>A. caspius</i>	<i>Anopheles stephensi</i> STR	<i>A. stephensi</i> ST15	<i>Aedes albopictus</i>	<i>Anopheles gambiae</i>	<i>Culex pipiens</i>
CL 50	0,65. 10 ⁻³	0,5. 10 ⁻³	0,27. 10 ⁻³	0,16. 10 ⁻³	0,15. 10 ⁻³	0,2. 10 ⁻⁴	0,1. 10 ⁻⁵
Chi ² (1)	—	—	59,9 (2 ddl) S	76,4 (3 ddl) S	—	35,7 (3 ddl) S	2,8 (3 ddl) NS
Facteur d'hétérogénéité	—	—	29,1	25,4	—	11,9	0

(1) : S = significatif ; NS = non significatif

Ces résultats devraient inciter à poursuivre les investigations dans deux voies :

- essais larvicides sur un plus grand nombre de genres et d'espèces de moustiques,
- essais de différentes formulations.

Ces recherches permettraient de préciser les possibilités d'utilisation de *B. sphaericus* dans la lutte larvicide contre les moustiques.

Manuscrit reçu au Service des Éditions de l'O.R.S.T.O.M., le 8 février 1982

BIBLIOGRAPHIE

- BARJAC (H. de), LARGET (I.), COSMAO (V.), BENICHOU (L.) et VIVIANI (G.), 1979. — Inocuité de *Bacillus sphaericus*, souche 1593, pour les mammifères. *Mimeo. Doc.*, WHO/UBC/79. 731.
- DAGNOGO (M.) et COZ (J.), 1980. — Étude de l'activité larvicide de *Bacillus sphaericus* sur quelques souches de moustiques. Mémoire du DEA. Université d'Orsay (Paris XI).
- DAVIDSON (E. W.), 1979. — Ultrastructure of mid guts events in the pathogenesis of *Bacillus sphaericus* strain SS 11-1 infection of *Culex pipiens quinquefasciatus* larvae. *Can. J. Microbiol.*, 25 : 178-184.
- GOLBERG (L. J.), FORD (I.), TANABE (A. M.) and WATKINS (H. M. S.), 1977. — Effectiveness of *Bacillus sphaericus* var. *fusiformis* (SS 11-1) as a potential mosquito larval control agent : the role of variations in natural microbial flora in the larval environment. *Naval Biosciences Laboratory, Technical Progress Report*, 53.
- KELLEN (W. R.), CLARK (T. B.), LINDEGREN (J. E.) and HO (B. C.), 1965. — *Bacillus sphaericus* Neide as a pathogen of mosquito. *J. Invertebr. Path.*, 7 : 442-448.
- MULLIGAN (F. S.), SCHAEFER (C. H.) and MIURA (T.), 1978. — Laboratory and field evaluation of *Bacillus sphaericus* as mosquito control agent. *J. econ. Entomol.*, 71, 5 : 774-777.
- O.M.S., 1979. — *Bacillus sphaericus*, strain 1593-4. *Rap. mimeogr.* WHO/VBC — DS/79.09.
- SINGER (S.) and MURPHY, 1976. — New insecticidal strain of *Bacillus sphaericus* useful against *Anopheles albimanus* larvae. in : *Proceedings, Annual Meeting of the American Society Microbiology, Atlantic City.*