

O. C. C. G. E.  
Institut Pierre RICHET  
en collaboration avec  
le Centre Muraz

O. R. S. T. O. M.  
Institut Français de Recherche  
Scientifique pour le  
Développement en Coopération

EVALUATION DE L'ACTIVITE LARVICIDE AU LABORATOIRE  
ET SUR LE TERRAIN DE BACILLUS SPHAERICUS 2362 SUR  
ANOPHELES GAMBIAE s.l. GILES, 1902 EN AFRIQUE DE  
L'OUEST (BURKINA-FASO) \*

par

F. DARRIET \*\*

L. NICOLAS \*\*\*

J.M. HOUGARD \*\*\*\*

N° 27/IPR/Rap/85

O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire

N° : 28668

Côte : B

- 
- \* Ce travail a bénéficié d'une subvention du PNUD/Banque Mondiale/OMS, Programme Spécial pour la Recherche et la Formation concernant les Maladies Tropicales.
  - \*\* Entomologiste médical - Antenne ORSTOM auprès du Centre Muraz, BP. 171 Bobo-Dioulasso - Burkina-Faso.
  - \*\*\* Allocataire de Recherche MRT/ORSTOM - OCCGE/IPR, BP. 1500 Bouaké - Côte d'Ivoire.
  - \*\*\*\* Entomologiste médical ORSTOM/SSC, 70-74 Route d'Aulnay, 93140 Bondy - France.

## INTRODUCTION.

Plusieurs souches entomopathogènes de Bacillus sphaericus se sont révélées être en laboratoire d'une efficacité comparable sur Culex sp. et sur différentes espèces d'Anophèles (RAMOSKA et al., 1978; MULLA et al., 1984). D'autre part, CHARLES et NICOLAS (à paraître) ont récemment montré en laboratoire un recyclage des spores de la souche 2362 dans les larves d'Anophèles stephensi.

Les premiers essais réalisés sur le terrain dans des gîtes à Anophèles ont montré une faible efficacité et une courte rémanence en raison principalement de la sédimentation rapide des spores et de leur sensibilité aux rayons ultra-violetts (DAVIDSON et al., 1984). Plusieurs auteurs ont montré que la souche 2362 isolée récemment au Nigeria par WEISER est souvent plus efficace que la souche 1593 sur plusieurs espèces cibles de moustiques (YOUSTEN et HEDRICK, 1982; DAVIDSON et al., 1984; DOSSOU-YOVO, comm. pers.).

Une suspension concentrée de la souche 2362 (BSP 1), fournie par la firme SOLVAY, a récemment été étudiée sur Culex quinquefasciatus en puisard à Bouaké (Côte d'Ivoire); elle présente l'avantage de sédimenter très lentement entraînant une rémanence supérieure à un mois à 10 g/m<sup>2</sup> (NICOLAS et al., 1985).

L'efficacité de ce produit a été évaluée en fonction de la dose utilisée sur Anophèles gambiae en mares cimentées et en mares naturelles à Bobo-Dioulasso (Burkina-Faso).

## MATERIELS ET METHODES.

### 1. EFFET LARVICIDE EN LABORATOIRE.

L'évaluation au laboratoire de l'activité larvicide du BSP 1 (souche 2362) sur A.gambiae s.s. a été réalisée par un triple bioessai à 25-28° C aux concentrations suivantes: 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 et 1 mg/l. L'eau d'une rivière voisine, qui alimentait les essais en mares cimentées, a été utilisée après filtration sur coton pour éliminer les larves et insectes éventuels.

Pour chaque concentration, 4 lots de 25 larves stade 3 jeunes, provenant de pontes d'élevage ont été placés dans des gobelets en plastique contenant 150 ml des dilutions de larvicide. 4 lots de 25 larves non traitées ont servi de témoins. Les larves ont été nourries tous les jours avec un mélange de 3/4 de levure et 1/4 de blédine.

La lecture du test a été effectuée après 24 heures, 48 heures et 72 heures de contact par comptage du nombre de larves vivantes.

## 2. ETUDE SUR LE TERRAIN EN MARES CIMENTEES ET MARES NATURELLES.

Cette expérimentation s'est déroulée durant la saison des pluies 1985, de fin Juillet à mi-Septembre. Le larvicide a d'abord été testé dans 12 mares cimentées carrées, de 0,50 m de côté et de 0,30 m de profondeur construites dans la banlieue Est de Bobo-Dioulasso (Kua) où la population anophélienne est saisonnièrement dense. Le sol perméable et sablonneux ne retenant pas l'eau, le fond et le bord des mares ont été cimentés. Chacune des mares est entourée d'une margelle de 0,10 à 0,15 m de hauteur pour les protéger des eaux de ruissellement. L'ensemble des gîtes borde un cours d'eau temporaire qui ne coule qu'en saison des pluies. Les mares cimentées ont été naturellement colonisées par des larves d'A.gambiae s.l. vers la mi-Juillet.

Les populations préimaginales ont été évaluées dans les gîtes par la méthode du dipping (5 coups de louche dont 4 au bord et 1 au centre) et comptabilisées en trois fractions : larves stades 1 - 2, larves stades 3 - 4 et nymphes. 5 concentrations de B.sphaericus ont été testées simultanément dans deux mares par concentration : 0,001, 0,01, 0,1, 1 et 10 g/m<sup>2</sup>, l'ensemble se référant à deux mares témoins non traitées. La dynamique des populations préimaginales a ensuite été suivie, par dipping à 24, 48 et 72 heures après le traitement puis 2 fois par semaine.

A la suite de l'évaluation dans les mares cimentées, une seconde expérimentation a été mise en place dans quatre mares naturelles circulaires de 1,10 m de diamètre et d'environ 0,60 m de profondeur. Ces mares creusées à même le sol dans un terrain de nature argilo-sableuse, ont été naturellement mises en eau par les pluies et colonisées par des larves d'A.gambiae s.l.. Une dose unique de 1 g/m<sup>2</sup> a été étudiée dans deux mares, les deux autres servant de témoins. Le protocole d'évaluation de la dynamique des populations a été le même que pour les mares cimentées.

Parallèlement au terrain, la toxicité de l'eau des mares traitées a été suivie au laboratoire en chiffrant le pourcentage de nymphose consécutif au traitement. Aux mêmes dates que les dippings, 25 larves stade 3 jeunes d'A.gambiae s.s. ont été mises en contact avec 150 ml d'eau de chaque mare dans un gobelet en plastique. Quotidiennement le nombre de larves vivantes, de larves mortes et de nymphes ont été comptées, jusqu'à l'apparition de la dernière nymphe. On considère que la rémanence du larvicide est terminée lorsque le pourcentage de nymphose dans les eaux traitées redevient comparable à celui du témoin.

Les résultats des dippings sur le terrain et des tests biologiques au laboratoire permettent d'évaluer l'efficacité du larvicide en fonction de la dose.

### 3. ANALYSE BACTERIOLOGIQUE DES EAUX TRAITEES.

#### 3.1. Prélèvement sur le terrain.

Des échantillons de 10 à 30 ml (1 au centre et 4 à la périphérie) ont été prélevés en surface et dans le substrat, en appliquant une pipette sur le fond cimenté, avant le traitement, 2 à 3 mn après, 6 heures, 24 heures, 48 heures et 72 heures après le traitement puis deux fois par semaine.

#### 3.2. Analyse des échantillons au laboratoire.

Tous les échantillons ont été conservés à  $- 20^{\circ}$  C jusqu'à numération des spores. Des dilutions au dixième, d'un volume total d'un millilitre, ont été chauffées au bain-marie pendant 12 minutes à  $80^{\circ}$  C, et des aliquots de 0,1 ml de ces dilutions ensemencées par étalement en boîtes de Pétri sur milieu MBS (KALFON et al., 1983) à 15 g/l de bacto-agar et 100 mg/l de sulfate de Streptomycine Merck. Les boîtes ont été incubées à  $30 - 32^{\circ}$  C pendant 48 heures. Les colonies ont été identifiées morphologiquement et microscopiquement. Le sérotype est vérifié sur un échantillon de colonies par le test d'agglutination avec un sérum H5-1, préparé sur lapin à l'Institut Pasteur de Paris (De BARJAC et al., 1980).

## RESULTATS.

### 1. EFFET LARVICIDE AU LABORATOIRE.

Les CL 50 et CL 95 de chaque essai, calculées par ordinateur après ajustement de la droite log-probit selon la méthode de FINNEY (1971), sont détaillées dans le tableau 1.

### 2. RESULTATS DES ESSAIS SUR LE TERRAIN.

#### 2.1. Résultats entomologiques.

##### 2.1.1. Résultats en mares cimentées.

Les résultats des dippings effectués dans les mares cimentées traitées et témoins sont exposés dans le tableau 2 qui précise les dates de réapparition des différents stades préimaginaux en fonction de la concentration de produit utilisée.

Cette évaluation montre :

- Qu'à 0,001 g/m<sup>2</sup> : aucune mortalité n'est observée puisque les mares restent peuplées en larves stades 1 - 2 et stades 3 - 4.

- Qu'à 0,01 g/m<sup>2</sup> : les larves stades 1 - 2 ne disparaissent pas des gîtes. Les larves stades 3 - 4 sont absentes jusqu'à J1 ou J2.

- Qu'à 0,1, 1 et 10 g/m<sup>2</sup> les larves stades 3 - 4 disparaissent à J1 et repeuplent les gîtes entre le 7ème et le 10ème jour après le traitement. Pendant cette durée, on note toutefois la présence de larves stade 1 sur lesquelles B.sphaericus n'a pas eu encore le temps d'agir.

Durant toute la durée de l'expérimentation, les dippings n'ont permis de prélever la fraction nymphale que de façon très épisodique. En effet la fraction nymphale des A.gambiae prélevée dans les gîtes ne représente généralement qu'une fraction très faible des populations échantillonnées et bien souvent difficile à mettre en évidence par la méthode du dipping.

L'étude de la toxicité au laboratoire des eaux de mares traitées sur des larves stade 3 jeune d'A.gambiae s.s. permet de chiffrer un pourcentage de mortalité après 24, 48 et 72 heures de lecture (tableau 3). Ce larvicide agissant par ingestion le test se poursuit jusqu'à la nymphose qui indique avec plus de précision le nombre de larves survivantes qu'un pourcentage de mortalité larvaire sur 72 heures. En effet, les nymphes ne se nourrissant plus, elles n'ingèrent pas les spores de B.sphaericus et, à moins d'un éventuel effet résiduel de la toxine, indiquent la survie de l'Anophèle. Les pourcentages de nymphose sont exposés figure 1A. Ils oscillent entre 68% et 88% dans la mare témoin.

A 0,001, 0,01 et 0,1 g/m<sup>2</sup>, l'eau prélevée dès le lendemain du traitement entraîne un pourcentage de nymphose au moins égal à 68%.

A 0,1 et 1 g/m<sup>2</sup>, malgré un pourcentage de nymphose supérieur à 48% dès J1, celui-ci redevient inférieur à 8% à J1 et J3 à 0,1 g/m<sup>2</sup> et à J3 à 1 g/m<sup>2</sup>. Il est de nouveau comparable au témoin à J7.

A 10 g/m<sup>2</sup>, on note une absence totale de nymphes les deux premiers jours après le traitement; la nymphose apparaissant à J3 (24%).

### 2.1.2. Résultats en mares naturelles.

Les résultats des dippings effectuées dans les mares naturelles traitées et témoins sont exposés dans le tableau 4.

Cette évaluation montre que :

- Dans les deux mares témoins, une population préimaginale constituée de tous les stades larvaires et de nymphes est entretenue dans les gîtes.

- Dans les deux mares traitées à  $1 \text{ g/m}^2$ , les stades 1 - 2 restent présents dans les mares et les stades 3 - 4 réapparaissent entre le 3ème jour et le 6ème jour après le traitement.

L'étude de la toxicité en laboratoire de ces eaux de mares naturelles permet de chiffrer comme pour les mares cimentées un pourcentage de mortalité à 24 heures, 48 heures et 72 heures (tableau 5) et un pourcentage de nymphose (figure 1B) qui, dans l'eau des gîtes traitée redevient comparable aux témoins 48 heures après le traitement.

## 2.2. Résultats bactériologiques.

### 2.2.1. Mares cimentées.

La figure 1A montre une répartition homogène des spores dans l'eau de surface et dans le substrat 6 heures après le traitement aux trois plus fortes doses (0,1, 1 et  $10 \text{ g/m}^2$ ). La sédimentation des spores de la surface vers le fond est régulière avec cependant une remise en suspension partielle à 48 - 72 heures due à de fortes averses. Il est à noter que l'écart de concentration d'un facteur initialement de 100 entre  $10 \text{ g/m}^2$  et  $0,1 \text{ g/m}^2$  ne se retrouve plus 48 heures après le traitement.

Malgré la diminution de la concentration en spores dans l'eau, celle dans le substrat n'augmente pas à partir de 72 heures. Ceci peut s'expliquer par une remise en suspension et une dilution du produit par les pluies, ce qui ne devrait pas entraîner une diminution du nombre total de spores par mare au cours du temps.

Or le tableau 6B montre une diminution de ce nombre. En effet, en considérant que la concentration en spores est homogène à tous les points de l'eau de la mare à un instant donné, comme cela avait été montré en puisard (NICOLAS et al., 1985) et en gîtes à Culex tarsalis (DAVIDSON et al., 1984) et en tenant compte des variations de volume d'eau dues aux pluies (tableau 6A), on peut ainsi calculer à un instant donné le nombre total de spores dans l'eau de chaque mare, substrat exclu. La concentration en spores dans le substrat étant constante ou en diminution à partir de 72 heures et le volume du substrat variant très peu, le nombre total de spores dans le substrat n'augmente pas dans le temps.

Ces observations montrent donc une diminution du nombre total de spores par mare au cours du temps.

#### 2.2.2. Mares naturelles.

La figure 1B montre un profil de sédimentation semblable à ceux des mares cimentées avec toutefois des concentrations en spores en surface et dans le substrat jusqu'à 6 fois plus élevées que dans les mares cimentées.

#### DISCUSSION - CONCLUSION.

Les tests d'efficacité en laboratoire du BSPl, souche 2362, ont montré que les CL 95 sont de 20 à 25 fois plus fortes pour A.gambiae (1,807 mg/l à 48 heures; 0,571 mg/l à 72 heures) que pour Culex quinquefasciatus (0,08 mg/l à 48 heures; 0,025 mg/l à 72 heures) (DOSSOU-YOVO et NICOLAS, comm. pers.).

Sur le terrain, l'efficacité de ce produit est également supérieure contre Culex quinquefasciatus que contre Anopheles gambiae.

En effet un traitement à 10 g/m<sup>2</sup> a entraîné une remanence de 5 à 6 semaines dans des puisards de Bouaké peuplés de larves de Culex quinquefasciatus (NICOLAS et al., 1985), alors que la présente étude a révélé à la même dose, une efficacité du BSPl sur A.gambiae inférieure ou égale à 10 - 15 jours. A 0,1 et 1 g/m<sup>2</sup>, cette efficacité n'est plus que de 3 à 10 jours et à 0,01 g/m<sup>2</sup> elle est au plus égale à 48 heures.

La rémanence est apparamment plus longue sur le terrain qu'en laboratoire. En effet en laboratoire, le pourcentage de nymphose à partir de lots de larves stade 3 d'A.gambiae mis en contact avec les eaux traitées, atteint 20% dès le 1er au 3ème jour après le traitement. Ceci s'explique par la plus forte sensibilité des larves stade 1, qui sur le terrain, meurent avant de continuer leur cycle. La réapparition des larves stade 3 dans les gîtes a lieu lorsque la concentration en spores est comprise entre  $10^2$  et  $2.10^3$  spores/ml, alors que les seuils de toxicité de B.sphaericus enregistrés sur le terrain sur C.quinquefas-



BIBLIOGRAPHIE.

De BARJAC (H.), VERON (M.) et COSMAO-DUMANOIR (V.), 1980 - Caractérisation biochimique et sérologique de souches de Bacillus sphaericus pathogènes ou non pour les moustiques. Ann. Microbiol. (Inst. Pasteur) : 131 B : 191-201.

BURKE (W.F.Jr.) Mc DONALD, (K.O.) et DAVIDSON (E.W.), 1983 - Effect of U.V. light on spore viability and mosquito larvicidal activity of Bacillus sphaericus 1593. Appl. Environ. Microbiol. 46 : 954-956.

CHARLES (J.F.) et NICOLAS (L.), - Recycling of Bacillus sphaericus 2362 in mosquito larvae : a laboratory study. (En préparation).

DAVIDSON (E.W.), URBINA (M.), PAYNE (J.), MULLA (M.S.), DARWAZEH (H.), DULMAGE (H.T.) et CORREA (J.A.), 1984 - Fate of Bacillus sphaericus 1593 and 2362 spores used as larvicides in the aquatic environment. Appl. Environ. Microbiol., 47 : 125-129.

FINNEY (D.J.), 1971 - Probit analysis - a statistical treatment of the sigmoid response curve. University Press, Cambridge, 3rd edition.

KALFON (A.), LARGET-THIERY (I.), CHARLES (J.F.) et De BARJAC (H.), 1983 - Growth, sporulation and larvicidal activity of Bacillus sphaericus. Ent. J. Appl. Microbiol., 18 : 168-173.

MULLA (M.S.), DARWAZEH (H.A.), DAVIDSON (E.W.), DULMAGE (H.T.) et SINGER (S.)

YOUSTEN (A.A.) et HEDRICK (J.), 1982 - Bacteriophage typing of mosquito pathogenic strain of Bacillus sphaericus p. 476-482. Proc. Int. Colloq. Invertebr. Pathol. Brighton, U.K. Society for Invertebrate Pathology.

no/1	Essai N° 1	Essai N° 2	Essai N° 3	Moyenne
------	------------	------------	------------	---------

Concentrations	Dates prélèvements	Nombre de larves stades 1-2 pour 5 coups de louche									Nombre de larves stades 3-4 pour 5 coups de louche						Nombre de nymphes pour 5 coups de louche					
		Mare N°	J0	J1	J2	J3	J7	J10	J13	J0	J1	J2	J3	J7	J10	J13	J0	J1	J2	J3	J7	J10
Témoins	4	4	3	12	11	16	17	0	8	6	3	4	6	17	0	0	0	0	0	1	0	0
	9	21	6	15	7	6	20	11	0	2	1	0	3	20	11	0	0	0	0	0	0	3
0,001g/m <sup>2</sup>	6	9	18	43	19	17	21	7	1	0	3	8	5	21	7	0	0	0	0	0	0	0
	8	1	6	8	7	6	1	0	11	8	3	7	0	1	0	0	0	0	3	0	0	0
0,01g/m <sup>2</sup>	5	2	3	5	6	3	18	3	0	0	0	1	8	18	3	0	0	0	0	2	0	0
	7	4	2	15	0	2	1	3	1	0	1	0	0	1	3	0	0	0	0	0	0	0
0,1g/m <sup>2</sup>	3	5	0	0	0	3	17	29	2	0	0	0	0	17	29	0	0	0	0	0	0	0
	12	1	0	0	0	1	1	9	1	0	0	0	0	1	9	0	0	0	0	0	0	0
1g/m <sup>2</sup>	2	0	0	1	0	4	45	23	11	0	0	0	0	45	23	0	0	0	0	0	1	0
	11	8	0	3	0	7	1	15	3	0	0	0	0	1	15	0	0	0	0	0	0	0
10g/m <sup>2</sup>	1	15	0	0	0	22	2	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	10	3	0	0	0	5	0	0	0	0	0	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0

Tableau 2 : Effet résiduel de B.sphaericus sur les stades préimaginaux d'A.gambiae dans les mares cimentées.

Concen- trations	Temps d'observation	Mare N°	Dates pré- lèvements	J0	J1	J2	J3	J7	J10
Témoin	24 heures	4		0	4	0	0	0	0
	48 heures		24	4	0	0	0	0	
	72 heures		24	4	0	24	0	0	
0,001g/m <sup>2</sup>	24 heures	6		8	0	0	0	0	0
	48 heures		12	4	0	0	0	0	
	72 heures		24	4	0	8	0	0	
0,01g/m <sup>2</sup>	24 heures	5		28	12	4	8	0	0
	48 heures		44	24	4	8	0	0	
	72 heures		84	24	8	28	0	0	
0,1g/m <sup>2</sup>	24 heures	3		92	4	84	52	4	0
	48 heures		100	4	100	80	4	8	
	72 heures		-	4	-	96	4	8	
1g/m <sup>2</sup>	24 heures	2		100	12	16	8	0	0
	48 heures		-	24	16	8	0	0	
	72 heures		-	24	16	92	0	4	
10g/m <sup>2</sup>	24 heures	1		100	28	60	0	4	0
	48 heures		-	100	92	0	4	0	
	72 heures		-	-	100	40	4	0	

Tableau 3 : Evaluation en laboratoire de l'efficacité des eaux de mares artificielles traitées avec *B.sphaericus* sur les pourcentages de mortalité enregistrée après 24 heures, 48 heures, et 72 heures d'observation sur des lots de 25 larves d'*A.gambiae* stade 3.

Concentrations	Dates prélèvements	Nombre de larves stades 1-2 pour 5 coups de louche					Nombre de larves stades 3-4 pour 5 coups de louche					Nombre de nymphes pour 5 coups de louche				
		J0	J1	J2	J3	J6	J0	J1	J2	J3	J6	J0	J1	J2	J3	J6
	Mare N°															
	2	12	34	13	83	5	11	22	4	7	30	0	1	0	0	0
Témoins																
	4	13	16	11	14	39	0	9	0	8	7	0	0	2	0	1
	1	8	3	3	0	45	1	0	0	0	2	0	0	0	0	0
1g/m <sup>2</sup>																
	3	6	2	1	7	40	4	0	0	3	8	0	0	0	0	1

Tableau 4 : Effet résiduel de B.sphaericus sur les stades préimaginaux d'A.gambiae dans les mares naturelles.

Concen- trations	Temps d'observation	Mare No	Dates pré- lèvements	J0	J1	J2	J3
Témoins	24 heures			0	0	0	0
	48 heures	2		0	0	0	0
	72 heures			0	0	0	0
	24 heures			0	0	0	0
	48 heures	4		0	0	0	0
	72 heures			0	0	4	4
	24 heures				24	4	4
	48 heures	1		48	48	4	8
	72 heures			100	60	12	8
1g/m <sup>2</sup>	24 heures				8	0	0
	48 heures	3		32	32	0	0
	72 heures			100	44	0	4

Tableau 5 : Evaluation en laboratoire de l'efficacité des eaux de mares naturelles traitées avec B.sphaericus sur les pourcentages de mortalité enregistrée après 24 heures, 48 heures et 72 heures d'observation sur des lots de 25 larves d'A.gambiae stade 3.

Tableau 6 :

A. Volume d'eau (litres) dans les mares cimentées.

N° Mare	10 g/m <sup>2</sup>		1 g/m <sup>2</sup>		0,1 g/m <sup>2</sup>	
	1	2	3	4	5	6
J1	20	23,75	12,5	23,75	25	25
J2	18,75	21,25	10	22,5	23,75	25
J3	17,5	20	8,75	21,25	21,25	31,25
J7	45	48,75	40	48,75	38,75	53,75
J10	53,75	58,75	48,75	55	47,5	60

B. Nombre total de spores dans l'eau des mares, substrat exclu.

Moyenne de 2 mares.

N° Mare	1 et 2		3 et 4		5 et 6	
J3	7,3	10 <sup>7</sup>	1,4	10 <sup>7</sup>	5,2	10 <sup>7</sup>
J7	1,85	10 <sup>7</sup>	4,9	10 <sup>6</sup>	7,2	10 <sup>6</sup>
J10	6,75	10 <sup>6</sup>	3,2	10 <sup>6</sup>	2,3	10 <sup>6</sup>



Luc NICOLAS

OCCGE/Institut Pierre RICHET

B.P. 1500

BOUAKE - Côte d'Ivoire

E R R A T U M

Suite à l'envoi du rapport n° 27/IPR/RAP/85, DARRIET F., NICOLAS L.,  
HOUGARD J.M. -

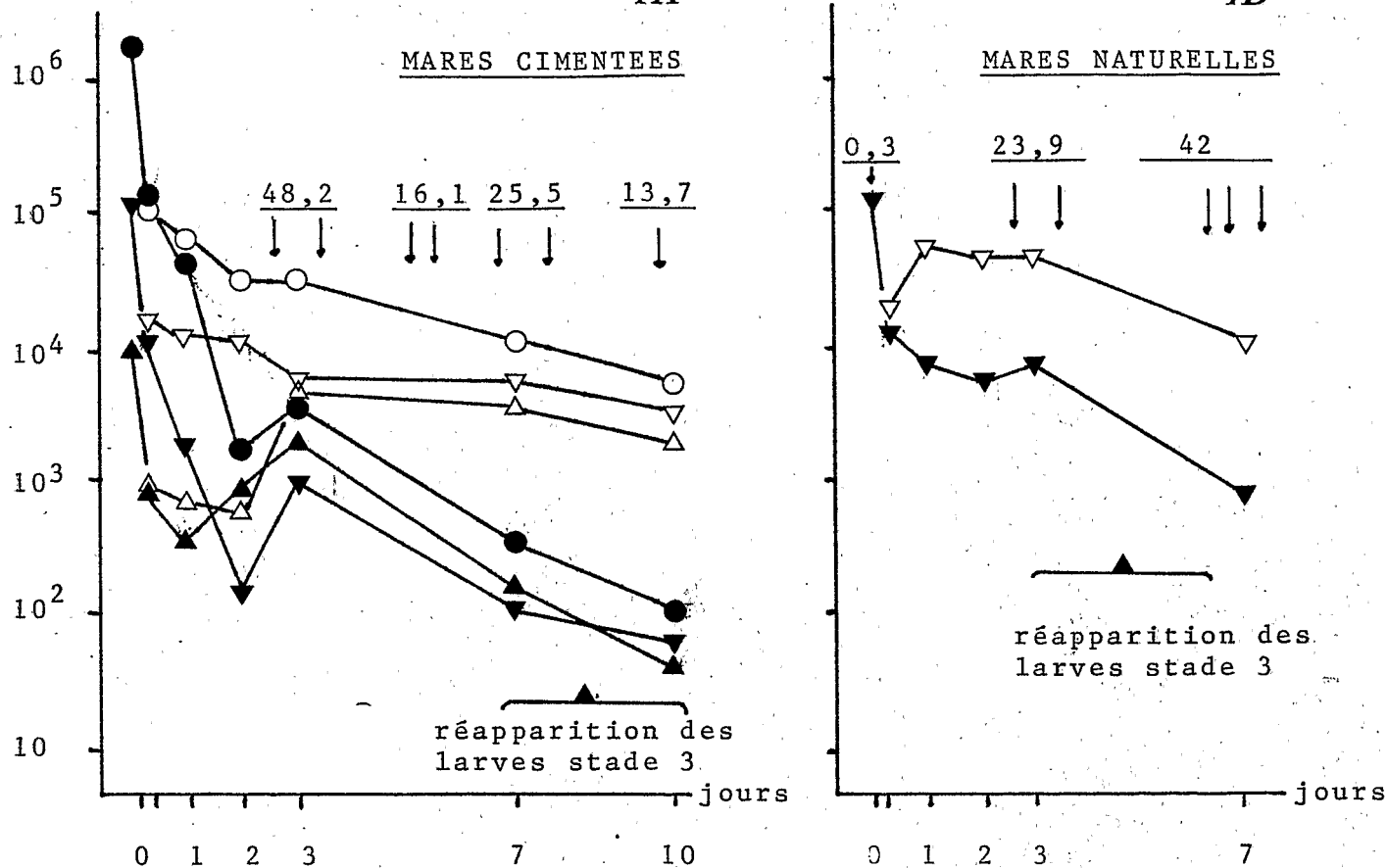
Evaluation de l'activité au laboratoire et sur le terrain de Bacillus  
sphaericus 2362 sur Anopheles gambiae s.l. Giles, 1902 en Afrique de  
l'Ouest (Burkina-Faso).

Légende de la Fig. 1 : lire "A. gambiae" au lieu de "C. quinquefas-  
ciatus".

spores/ml

1A

1B



%N :

Témoïn	68	84	80	76		80	88		100	100	96	100
●	0	0	0	24		52	88					
▼	0	48	60	8		76	92		0	0	30	90
▲	0	76	0	0		72	88					

Fig. 1. Spores résistantes à la chaleur (spores/ml) présentes dans l'eau des mares traitées au BSP 1 (*B. sphaericus* souche 2362) et pourcentage de nymphose (%N) des larves stade 3 jeune de *C. quinquefasciatus* mises en contact avec l'eau des mares.

Eau de surface : ● : 10 g/m<sup>2</sup>, ▼ : 1 g/m<sup>2</sup>, ▲ : 0,1 g/m<sup>2</sup>.  
 Substrat : ○ : 10 g/m<sup>2</sup>, ▽ : 1 g/m<sup>2</sup>, △ : 0,1 g/m<sup>2</sup>.

48,2 : pluviométrie en mm. ↓ : averse.