O.C.C.G.E./O.R.S.T.O.M.
Institut de Recherches
sur la Trypanosomiase
et l'Onchocercose
B.P. 1500 - B O U A K E
C O T E D ' I V O I R E

O . M . S.
Programme de Lutte contre
l'Onchocercose dans la
Région du Bassin de la Volta
B.P. 549 - OUAGADOUGOU
H A U T E - V O L T A

EVALUATION DE LA SENSIBILITE DES LARVES DU COMPLEXE *S. DAMNOSUM* AU *BACILLUS THURINGIENSIS* H14*

GUILLET (P.)**, HOUGARD (J.M.)**, DOUANNIO (J.)*** et ESCAFFRE (H.)****

Rapport d'activités 1982

24 OCT. 1983
O.R.S.T.O.M. Fonds Documentaire
N° : 3512 ex1
Cote : B

B-3512 ex1

N° 12/IRTO/RAP/83
DU 25/3/1983

* Ce travail a bénéficié d'une aide financière de l'Organisation Mondiale de la Santé.

** Entomologistes médicaux de l'O.R.S.T.O.M.

*** Stagiaire du Centre Universitaire de Formation en Entomologie Médicale et Vétérinaire (C.E.M.V.) de Bouaké.

**** Technicien d'entomologie médicale de l'O.R.S.T.O.M.

RESUME

Une nouvelle méthode a été mise au point pour déterminer la sensibilité des larves du complexe *S. damnosum* au *B. thuringiensis* H14. Cette méthode a été conçue pour être utilisable sur le terrain. Différents essais ont permis de déterminer des conditions expérimentales optimum et de proposer un protocole standardisé permettant d'obtenir des résultats parfaitement stables. Ce protocole est décrit en détail. Une enquête a commencé portant sur l'étude de la sensibilité de base de certaines populations du complexe *S. damnosum* au *B.t.* H14.

SUMMARY

A new method is proposed to determine the basic susceptibility of *S. damnosum* complex larvae to *B. thuringiensis* H14. This method is designed for field use in order to check the susceptibility of larvae regularly exposed to *B.t.* H14. Several trials has been carried out to determine the optimum experimental conditions and to propose to O.C.P. scientists a fully standardised and reliable method. The exposure period is 3 h and the temperature 25° ± 1° C. 30 seventh instar larvae are used per 500 ml becher containing distilled or filtered water. The imprecision in the LC 50 values obtained does not exceed 20 %. A survey is in progress on the basis susceptibility of different *S. damnosum* complex populations both in savannah and forest area.

EVALUATION DE LA SENSIBILITE DES LARVES DU COMPLEXE *S. DAMNOSUM* AU *BACILLUS THURINGIENSIS* H14

I - INTRODUCTION

L'utilisation massive du *B. thuringiensis* H14 dans le cadre du programme OMS de lutte contre l'onchocercose (OCP) entraine le risque de voir les populations du complexe *S. damnosum* régulièrement traitées développer une résistance à cet entomopathogène.

Si l'on considère la nature de la toxine et son mode d'action, on peut raisonnablement penser que les mécanismes de développement d'une résistance seront beaucoup plus complexes et donc beaucoup plus longs à se mettre en oeuvre qu'avec les larvicides chimiques. Ceci semble être confirmé par la tentative infructueuse de sélectionner une souche de moustiques résistants au *B.t.* H14 (Georghiou, com. pers.). Toutefois, ces risques ne sont pas nuls. Il s'avère dès lors indispensable de mettre au point une méthode permettant de déterminer la sensibilité des larves du complexe *S. damnosum* et de recueillir des informations sur la sensibilité de base des populations larvaires devant être régulièrement traitées. Ceci a fait l'objet d'un contrat de recherches passé entre OCP et l'IRTO.

Ce type de test repose en fait sur 2 contraintes majeures : le *B.t.* H14 n'agit que par ingestion, il faut donc placer les larves dans un système simulant le courant, d'autre part il s'agit d'un test de sensibilité qui, aussi standardisé que possible, doit être réalisable sur le terrain. Cette dernière contrainte est exactement la même que pour les tests Mouchet (1976).

Les méthodes utilisant une eau courante (minigouttières, troughs ...) sont difficilement utilisables dans des conditions standard sur le terrain. Le choix s'est donc porté sur des dispositifs rotatifs, le courant étant créé par la rotation d'un barreau magnétique (Colbo et Thompson, 1978) ou d'une bouteille (Frommer, Hembree Remington, 1980). Le dispositif de Colbo et Thompson a été utilisé à Bouaké sur les larves du complexe *S. damnosum* (Guillet, 1981). La corrélation dose/mortalité est très satisfaisante. Toutefois, nous avons noté un pourcentage souvent élevé de mortalité dans le lot témoin. De plus, il est difficile, en utilisant cette méthode sur le terrain, de maintenir une température constante.

.../...

Aux Etats-Unis et au Canada, les chercheurs travaillant sur les larves de simulies ont proposé, pour tester les produits à base de *B.t.* H14, une méthodologie dérivée du dispositif de Frommer et Hembree (Lacey, Undeen, Chance, 1982). Cette méthodologie aussi standardisée que possible est aux larves de simulies ce que la méthode OMS de titrage biologique est aux larves de moustiques. En tenant compte des particularités liées aux larves du complexe *S. damnosum*, à la finalité des tests de sensibilité et des conditions d'exécution sur le terrain, nous avons dû modifier très sensiblement la méthode proposée.

2. MATERIEL ET METHODES

Dans un premier temps, nous avons construit 2 prototypes d'après le modèle figurant dans la publication originale (Frommer *et al.*, *loc. cit.*). Il comporte 12 axes rotatifs entrainés par une courroie plate solidaire d'un moteur 12 V (essuie-glace de R4). Le moteur est alimenté par un groupe électrogène par l'intermédiaire d'un chargeur de batterie à contrôle automatique de charge et d'une batterie 12 V. En cas d'arrêt du groupe, le moteur est toujours entrainé par la batterie. Les axes rotatifs sont reliés à une bouteille (diamètre : 7,5 cm, hauteur : 15 cm) qui tourne à l'intérieur d'un becher de 1 litre (en Manolène[R]; diamètre intérieur 10 cm, hauteur totale 15 cm). C'est dans ces bechers que les larves de simulies sont disposées. Une rotation de 150 t/mn entraine une vitesse sur la paroi de la bouteille de 60 cm/s. Le volume d'eau (500 cc) est lui-même entrainé par la rotation de la bouteille mais à une vitesse moindre. Les larves se fixent en partie sur la bouteille, en partie sur les parois des bechers. Axes, moteur et bouteilles sont sur un capot amovible. Les bechers sont placés dans un caisson recevant le capot. L'ensemble une fois fermé est isotherme et les variations de température en 3 h de temps n'excèdent pas 1° C pour des variations extérieures de 5 à 10° C.

Ces prototypes ont actuellement fonctionné sur le terrain plus de 200 h sans incident majeur grave, mais ne sont pas d'une fiabilité absolue. En vue de proposer à OCP un matériel parfaitement fiable, nous avons amélioré la conception mécanique du dispositif et entrepris la construction de 5 appareils. Une description détaillée ainsi qu'une liste des fournisseurs possibles sera proposée séparément.

Une description détaillée de la méthodologie du test de sensibilité au *B.t.* H14 est donnée en annexe. Sa mise au point a supposé la mise en oeuvre d'un certain nombre d'essais parfois d'erreurs qui seront reportés ici.

.../...

2.1. TEMPS D'ADAPTATION

Dans nos premiers essais, nous avons tenté de laisser un temps d'adaptation des larves aussi long que possible avant de traiter. Constatant l'hétérogénéité des résultats obtenus, nous avons recherché de façon systématique l'influence de divers temps d'adaptation sur les résultats.

2.2. TEMPS DE CONTACT

Partant du principe qu'il fallait réduire le temps de contact au maximum, nous avons recherché si les droites obtenues à partir des mortalités après 3, 6, 12 et 24 heures étaient parallèles, c'est-à-dire si la réponse de l'insecte à la toxine était exprimée normalement même avec des temps de contact réduits.

2.3. TEMPERATURE DE L'EAU

Il est toujours délicat sur le terrain de refroidir l'eau. Tenant compte de cela, nous avons recherché si entre 20 et 30° C, la température de l'eau avait une influence significative sur les résultats, l'idéal étant à priori de pouvoir utiliser une eau à la même température que celle de la rivière où sont prélevées les larves.

2.4. STADES LARVAIRES

Dans la mise en oeuvre des tests de sensibilité aux insecticides, il a été démontré l'influence très nette du stade larvaire sur la mortalité. Les tests réalisés en gouttières avec le *B.t.* H14 nous ont également permis de mettre en évidence la plus grande sensibilité des larves jeunes. Comme cela était le cas avec le temps de contact, nous avons recherché si les droites obtenues à partir des mortalités de larves de stades 3-4, 5-6 et 7 étaient parallèles. Dans l'affirmative, ceci nous permettait de choisir indifféremment l'un ou l'autre stade en ne prenant en compte que la fiabilité des critères morphologiques retenus pour la sélection des larves.

2.5. NOMBRE DE LARVES

Le *B.t.* H14 agissant par ingestion, nous avons recherché s'il n'y avait pas dans le nombre de larves un seuil au-delà duquel, les larves ingérant toute la toxine disponible, il n'existait plus de corrélation dose/mortalité.

.../...

2.6. NOURRITURE DES LARVES

En tenant compte de l'expérience des titrages biologiques sur larves de moustiques et de l'influence négative de l'adjonction de nourriture pendant le test, nous avons décidé a priori de ne pas nourrir les larves de simulies.

Les résultats obtenus en faisant varier le temps d'adaptation nous ont permis de montrer qu'il existe une interaction prévisible entre le comportement trophique des larves et les résultats des tests de sensibilité. Une étude est en cours sur le comportement trophique des larves au cours du test en utilisant comme nourriture de la Tetramin^R (nourriture pour poissons) tamisée à 120 μ. Toutefois dans le protocole final, aucune nourriture n'est utilisée et les premiers résultats obtenus à ce sujet ne seront pas exposés dans ce rapport.

2.7. POPULATIONS TESTEES

La majorité des essais ont été réalisés aux chutes Gauthier sur une population mixte de *S. soubrense/S. sanctipauli*. Une enquête a été réalisée dans la région de Manantali en République du Mali sur une population savanicole. Des larves ont été fixées dans le carnoy pour connaître la composition de la population testée mais n'ont pas encore été identifiées. Des tests ont également été effectués avec une population de *S. hargreavesi* de Bouaké. Nous avons par le passé réalisé ce type de tests avec cette espèce et montré une similitude très nette avec les résultats obtenus sur *S. damnosum*.

2.8. PRODUIT TESTE

Pratiquement tous les tests ont été réalisés avec le standard alors disponible qui était l'IPS 80. Des tests ont également été réalisés avec un lot de Teknar^R (Sandoz, lot 21.731) d'un titre *A. aegypti* de 1.100 U.I./mg (titre IRTO)

2.9. INTERPRETATION DES RESULTATS

Les résultats des tests sont analysés à l'aide d'un programme analyseprobit réalisé sur un miniordinateur Apple II^R. Ce programme calcule le X^2 au seuil de 5 % et donne la CL 50 et son intervalle de confiance. Une modification de ce programme a été proposée dans le protocole détaillé en annexe.

.../...

3. RESULTATS

3.1. INFLUENCE DU TEMPS D'ADAPTATION

Sans temps d'adaptation, la corrélation dose/mortalité est toujours très satisfaisante. Avec 10 mn d'adaptation, on observe un doublement de la CL 50 qui est multipliée pratiquement par 8 après 40 mn (tableau 1). Cette augmentation s'accompagne d'une dispersion des points autour de la ligne de régression qui traduit une hétérogénéité au niveau de la réponse biologique de l'insecte (graphique 1). Chez *S. hargreavesi* l'augmentation de la CL 50 n'est significative qu'à partir de 60 mn d'adaptation (tableau 2, graphique 2) mais la mauvaise corrélation dose/mortalité est évidente à partir de 15 mn.

3.2. INFLUENCE DU TEMPS DE CONTACT

Les résultats obtenus après 3, 6, 12 et 24 heures de contact concordent parfaitement bien avec la relation : temps de contact x dosage = constante (tableau 3). Les droites obtenues après 3, 6 et 12 heures de contact sont parfaitement parallèles. Seule la droite correspondant à 24 heures présente une pente supérieure (graphique 3).

3.3. TEMPERATURE DE L'EAU

Les résultats obtenus portent sur 3 séries de tests (tableau 4). A 20° C, la corrélation dose/mortalité est très mauvaise et la droite obtenue a une pente très faible (graphique 4). En revanche, entre 25 et 30° C, les CL 50 s'échelonnent entre 0,017 et 0,051 mg/l et les variations observées semblent aléatoires. Au cours de la première sortie, on n'observe aucune différence au niveau des CL 50 obtenues à 25 et à 30° C. Les différences observées au cours des deuxième et troisième sorties sont de l'ordre de 50 %. Les droites obtenues à partir des résultats à 25 et 30° C sont parallèles et la corrélation dose/mortalité satisfaisante dans tous les cas (graphique 5).

3.4. STADES LARVAIRES

Les larves de stades 7 sont respectivement 2 et 4 fois moins sensibles que les larves de stades 5-6 et 3-4 (tableau 5). La meilleure corrélation dose/mortalité et, partant, la plus faible marge d'erreur sont obtenues avec les stades 7 (tableau 5, graphique 6).

.../...

3.5. NOMBRE DE LARVES PAR BECHER

Avec 15 et 30 larves par bol, on obtient les mêmes résultats. En revanche la CL 50 augmente respectivement de 8 et 400 fois avec 60 et 120 larves par becher (tableau 6, graphique 7).

3.6. SENSIBILITE DE BASE DE DIFFERENTES POPULATIONS DU COMPLEXE *S. DAMNOSUM*

Nous avons réalisé des tests dans 3 localités différentes (cf. 2.7.). Les résultats obtenus sur *S. squamosum* à Akakro (Côte d'Ivoire) ne sont pas mentionnés ici. En effet, ils ont été obtenus avant que notre méthode ne soit définitivement au point et ne sont pas suffisamment fiables pour être publiés. Les résultats obtenus à Manantali (Mali) sont très homogènes (CL 50 moyenne 0,045 mg/l) (tableau 7). Les résultats obtenus aux chutes Gauthier le sont moins mais portent sur 4 sorties étalées sur une période de 8 mois. Les CL 50 observées varient dans un rapport de 1 à 2 et la moyenne des 4 séries est de 0,032 mg/l. Il semblerait a priori que les populations savanicoles soient légèrement moins sensibles comme cela est le cas avec le téméphos, mais cela demande confirmation.

4. DISCUSSION - CONCLUSION

Cette série d'expérimentations a été réalisée en vue de proposer au programme OMS/OCP une méthode simple et fiable permettant de réaliser sur le terrain des tests de sensibilité des larves du complexe *S. damnosum* au *B. thuringiensis* H14. Une pratique intensive des titrages biologiques sur *A. aegypti*, bien que présentant une finalité différente des tests de sensibilité proposés, nous a permis de constater que ce n'est qu'au prix d'une standardisation poussée au maximum que ce type de test peut donner des résultats reproductibles. Si la méthode proposée est simple à mettre en oeuvre comme l'est la méthode OMS de titrage, il est essentiel que ses utilisateurs respectent scrupuleusement le protocole expérimental proposé en annexe.

L'influence d'un certain nombre de facteurs a été étudiée. Le temps d'adaptation est un des facteurs les plus importants. Ce n' est qu'après de nombreux essais que nous avons pu le mettre clairement en évidence. Il semblerait que dans une eau courante sans particules en suspension, les larves de simulies aient un comportement trophique aberrant. Ceci se traduit bien par l'hétérogénéité des résultats obtenus lorsque l'on ne traite pas immédiatement après la mise en route du moteur. Nous tentons actuellement d'étudier et de comprendre ce phénomène biologique.

.../...

Il est très intéressant de constater que la relation entre le dosage et le temps de contact est aussi nette avec le *B.t.* H14 qu'avec les insecticides conventionnels. La réponse biologique de l'insecte après 3 h est aussi fiable qu'après 6, 12 et même 24 h. Si les larves du complexe *S. damnosum* devaient développer une résistance au *B.t.* H14, un test utilisant un temps de contact de 3 h permettra de la mettre en évidence aussi sûrement que le test Mouchet a permis de mettre en évidence la résistance au téméphos.

Il ne semble pas qu'entre 20 et 30° C la température ait une influence significative sur les résultats. Il n'est pas exclu qu'un test réalisé avec du matériel d'élevage comme les larves d'*A. aegypti* avec lequel on pourrait obtenir des résultats encore plus précis, nous permettrait de mettre en évidence une éventuelle influence de la température. Les variations de l'ordre de 50 %, semble-t-il aléatoires, obtenues entre 25 et 30° C, paraissent plus être le fait de la variabilité naturelle au niveau de la réponse d'un insecte collecté sur le terrain que de l'influence du facteur température.

Le choix du stade larvaire est important. La différence observée concorde bien avec toutes les observations faites préalablement par de nombreux auteurs. Elle est moins importante que dans le cas des tests de sensibilité aux insecticides chimiques. Il est intéressant de constater au vu du récapitulatif par stades larvaires que c'est avec les stades 7 que la précision du résultat est la meilleure. Ceci n'est pas surprenant car il s'agit du stade le plus aisé à différencier à l'oeil nu et dont la sélection est la plus fiable. De plus, contrairement aux larves de moustiques qui cessent de se nourrir relativement longtemps avant la nymphose, les larves de simulies elles, se nourrissent jusqu'au moment où elles commencent à tisser leur cocon nymphal. Nous avons nourri des larves de simulies à l'aide de poudre fluorescente et constaté que la proportion de larves n'ayant pas ingéré de colorant n'est pas plus importante chez les stades 7 que les autres stades. Avec un temps de contact de 3 h, les pourcentages de nymphoses observés dans les tests sont toujours faibles (moins de 5 %). Cela confirme que l'adoption des stades 7 pour les tests de sensibilité aux insecticides (Kurtak, non publié) a été une mesure judicieuse.

Le choix du nombre de larves par becher est également un facteur à prendre en compte. Il n'y a pas de différence entre 15 et 30 larves. Même avec 30 larves par becher, la totalité de la toxine introduite n'est pas interceptée

par les larves. Ceci est clairement démontré par le fait que la mortalité continue à augmenter proportionnellement au temps de contact et ce jusqu'à 24 h. En revanche, avec 60 et surtout 120 larves par becher, les doses à employer sont considérablement plus fortes et les pentes des droites obtenues beaucoup plus faibles. Il est difficile à dire si la totalité de la toxine introduite est interceptée avant d'avoir pu intoxiquer toutes les larves ou si la surpopulation larvaire induit à un niveau ou à un autre un phénomène d'inhibition.

Le protocole proposé repose donc sur un certain nombre d'observations dans l'ensemble suffisamment probantes. Toutefois, un point important reste à prendre en considération. Le standard utilisé est l'IPS 80. Toutes les préparations de suspensions au cours de nos essais ont été réalisées comme il est décrit en annexe. Toutefois, nous avons noté qu'un certain nombre de lots de standard au lieu de donner une suspension homogène de petites particules donnaient un floculat de grosses particules très difficiles à fractionner avec la méthode d'agitation retenue. Nous avons systématiquement éliminé ces lots dans la mesure où la taille des particules, avec un produit agissant par ingestion, revêt, lors des tests sur larves de simulies, une importance considérable. Récemment, nous avons reçu le nouveau standard IPS 82. Tous les flacons utilisés ont donné une suspension très homogène de fines particules. En outre, nos résultats sur *A. aegypti* sont plus homogènes qu'avec l'IPS 80. Bien que ce soit ce dernier que nous ayons initialement proposé comme produit de référence, il nous paraît plus judicieux à la lumière de notre expérience de recommander dès lors l'utilisation du nouveau standard IPS 82. Ce dernier existe en quantité suffisante pour couvrir largement tous les besoins du programme, somme toute relativement limités. Une proposition a été faite dans ce sens pour 1983 à OCP. Nous nous proposons de reprendre nos enquêtes sur la sensibilité de base de *S. soubrense/ sanctipauli* aux chutes Gauthier, *S. squamosum* à Akakro, *S. yahense* à Wa (Danané) et sur une population savanicole stricte dont la localité reste à définir en temps opportun.

Description du protocole d'évaluation de la sensibilité des larves du complexe *S. damnosum* au *B. thuringiensis* H14

1. Choix du produit, préparation des suspensions

1.1. Produit :

Le produit testé sera l'IPS 82 qui est le standard international "définitif" du *B. thuringiensis* H14. Il est disponible sur demande auprès du Dr. de Barjac, Laboratoire de Référence du *Bacillus thuringiensis*, Institut Pasteur, Paris.

1.2. Préparation des suspensions :

A) Peser le flacon de standard après avoir ôté la capsule métallique sans toucher au bouchon.

B) Transvaser rapidement le produit dans une fiole jaugée de 1 l et reboucher immédiatement le flacon.

C) Repeser le flacon et déterminer le poids exact de produit prélevé. Le contenu d'un flacon ne sera jamais fractionné. Ces mesures évitent de fausser la pesée car les lyophilisats de *B.t.* H14 sont très hygroscopiques.

D) Compléter la fiole à 1 l avec de l'eau distillée, permutée ou de l'eau du robinet déchlorée par un barbottage préalable de 24 h.

E) Rajouter dans la fiole un barreau magnétique de 7 cm et 40 gr de billes de verre de 4 mm ; agiter pendant 2 h à la vitesse maximum de rotation.

F) Ajuster la concentration de cette suspension à 100 mg/l.

G) Stocker cette suspension dans 5 flacons en verre de 200 ml (permettant par la suite d'agiter avant de prélever). Ces suspensions peuvent se garder au réfrigérateur plusieurs mois. Dans la pratique, se limiter à 1 ou 2 mois. Tout flacon de suspension mère utilisé sur le terrain ne sera pas restocké au laboratoire.

1.3. Préparation des dilutions :

Les dilutions seront préparées peu de temps avant l'expérimentation. Ne pas stocker les suspensions fille d'une sortie sur l'autre. La gamme des concentrations à tester s'échelonne de 2 en 2 entre 1 mg/l et 0,00625 mg/l soit 7 concentrations. Prélever 200 ml de suspension mère additionnés à 200 ml d'eau dans une bouteille en verre de 500 cc puis diluer de 2 en 2.

.../...

2. Réalisation des tests

2.1. Les larves :

Seuls les stades 7 seront utilisés (ébauches branchiales blanches ou noires). Avec le temps de contact retenu, on observe un pourcentage de nymphoses généralement très faible. On utilise 30 larves par becher avec 480 cc d'eau.

2.2. L'eau :

On utilise de l'eau distillée permutée ou à défaut de l'eau de rivière filtrée en prenant garde aux risques de contamination dans les rivières traitées. On peut également utiliser de l'eau de puits filtrée. La température au cours du test est maintenue à 25° ± 1° C.

2.3. Traitement :

Verser 10 ml de suspension puis rincer le tube d'introduction avec 10 ml d'eau complétant ainsi le volume du becher à 500 ml. Il est primordial de traiter sitôt la mise en route du moteur. Un délai, même de 10 mn peut entrainer d'importantes variations aléatoires au niveau des résultats. On utilise 6 concentrations à raison de 2 bechers par concentration et 2 bechers témoins.

2.4. Temps de contact : 3 heures.

2.5. Vitesse de rotation : 150 tours par minute.

2.6. Lecture du test :

Sitôt l'arrêt du moteur, dévisser les bouteilles et les remettre dans les bechers correspondants en rajoutant 250 ml d'eau (cela évite aux larves situées près de la surface de se retrouver hors de l'eau lorsqu'on enlève la bouteille). La lecture nécessite d'utiliser des pinces fines d'une longueur de 20 cm. Elle commence toujours par le lot témoin.

- lecture sur les bouteilles : les larves vivantes sorties de l'eau sont généralement repliées sur elles-mêmes ou se replient immédiatement au contact de la pince. Sont considérées comme moribondes les larves qui ne réagissent pas ou "mollement" au contact de la pince. Lorsque la température est basse, en dessous de 25° C, l'évaporation tend à refroidir les larves et donc à les engourdir.

Il importe de lire le test le plus rapidement possible en commençant par les vivants et les moribonds. Ceci est très important notamment en zone de savane où, en saison froide, l'hygrométrie est très faible et les larves vivantes du fait d'un refroidissement brusque cessent tout mouvement.

- la lecture dans les bechers se fait comme pour les tests classiques de sensibilité.

Dans la pratique de ces tests, on rencontre peu de larves moribondes comparativement aux tests avec les larvicides chimiques. Les larves mortes sont généralement décomposées et il est peu commode de les conserver en alcool. Cependant, l'utilisation de stades 7 laisse une marge d'erreur très faible au niveau du choix des larves.

3. Interprétation des résultats

3.1. Pour un test donné :

Il faut un minimum de 4 pourcentages de mortalité compris entre 0 et 100 %. On aura au minimum un point de part et d'autre de la CL 50 et de préférence 2 ou 3 points supérieurs à la CL 50. On élimine les tests pour lesquels le X^2 au seuil de 10 % est significatif. Lors des tests sur *A. aegypti*, on utilise un seuil de 5 %, toutefois lors des tests sur simulies le matériel biologique est moins homogène. Un seuil de 5 % sur simulies serait trop strict et conduirait à éliminer trop de tests. Le seuil de 10 % laisse aux tests une marge de fiabilité suffisante. Rappelons que le X^2 est fonction de la corrélation dose/mortalité ; un X^2 significatif en présence de points normalement répartis de part et d'autre de la CL 50 traduit généralement un intervalle de confiance excessivement élevé au niveau de celle-ci.

3.2. Entre tests :

Les tests à X^2 non significatif et dont les intervalles de confiance se chevauchent sont pris en compte. La CL 50 peut être calculée en regroupant, concentration par concentration, toutes les données en un seul test (le nombre de larves testées pour chaque concentration étant le même d'un test à l'autre) ou en calculant la moyenne arithmétique des CL 50 observées. Il faut un minimum de 3 répliques acceptables pour un test complet. Une réplique comporte 5 à 6 concentrations et 2 bechers par concentration.

N.B. Tous les résultats inclus dans ce rapport ont été calculés à l'aide d'un programme comportant un seuil de 5 % utilisé en routine pour les titrages *A. aegypti*. Comme nous l'avons mentionné plus haut (3.1.), il serait préférable de retenir un seuil de 10 %.

BIBLIOGRAPHIE

- COLBO (M.H.), THOMPSON (B.H.), 1978 - An efficient technique for laboratory rearing of *Simulium verecundum* s.l. (Diptera : Simuliidae). Can. J. Zool., 56, 507-510.

- GUILLET (P.), ESCAFFRE (H.), 1981 - Evaluation des formulations expérimentales et commerciales à base de bactéries entomopathogènes utilisables contre les larves des vecteurs de l'onchocercose humaine en Afrique de l'Ouest. Rapport annuel d'activité n° 2/Oncho/Rap/81, 31 pp.

- HEMBREE (S.C.), FROMMER (R.L.), REMINGTON (M.P.), 1980 - A bioassay apparatus for evaluating larvicides against blackflies. Mosq. News, 40, 647-650.

- LACEY (L.A.), UNDEEN (A.H.), CHANCE (M.M.), 1982 - Laboratory procedure for the bioassay and comparative efficacy evaluation of *Bacillus thuringiensis* (serotype 14) against black flies (Simuliidae). Misc. Pub. Ent. Soc. Amer., 12, 4 : 19-23.

- MOUCHET (J.) *et al.*, 1977 - Methodologie pour tester la sensibilité aux insecticides des larves de *S. damnosum*. Cah. ORSTOM, sér. Ent. méd. Parasitol., 15, 1 : 55-56.

ANNEXE I

TABLEAUX ET GRAPHIQUES

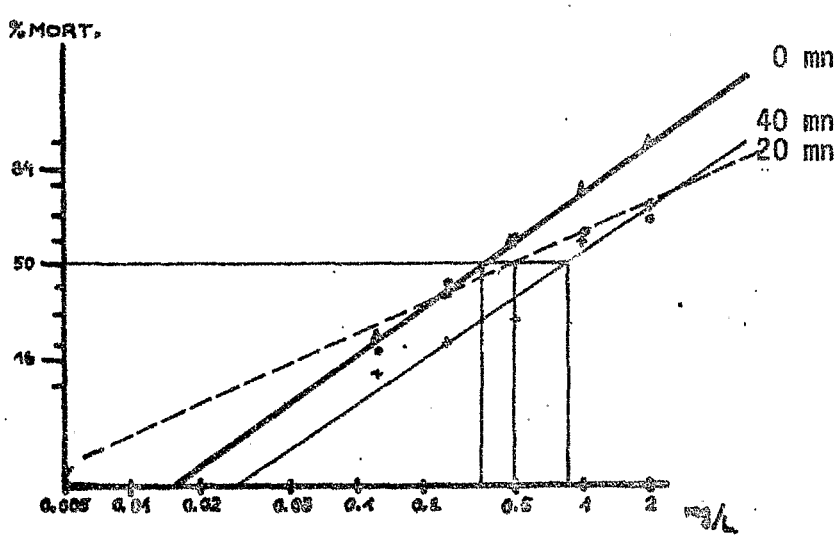
Un tableau de synthèse a été présenté pour chaque facteur étudié. Les résultats reposent toujours sur un triple essai. En colonne 2 figurent les moyennes arithmétiques des CL 50 des 3 essais. La ligne "récapitulatif" présente les résultats obtenus en groupant, concentration par concentration, les trois essais. Ce sont ces données qui figurent en annexe II.

Les graphiques présentés sont repris sur ceux tracés par l'imprimante de miniordinateur de l'IRTO.

Influence du temps d'adaptation

Temps d'adaptation	CL 50 Moyenne	Données par test			
		CL 50	Intervalle de confiance	Imprécision sur la CL 50	X^2
0 mn	0,36	0,472	0,401 - 0,555		NS
		0,246	0,189 - 0,321		NS
		0,363	0,275 - 0,479		NS
	Récapitulatif	0,357	0,314 - 0,406	13,7 %	
10 mn	0,92	0,49	0,399 - 0,602		NS
		0,565	0,430 - 0,742		S
		1,714	0,270 -10,87		S
	Récapitulatif	0,627	0,478 - 0,824	31,17 %	
20 mn	0,57	0,281	0,219 - 0,361		NS
		0,628	0,403 - 0,977		S
		0,798	0,345 - 1,846		S
	Récapitulatif	0,493	0,302 - 0,805	63,3 %	
40 mn	0,92	0,499	0,406 - 0,614		NS
		1,132	0,852 - 1,50		NS
		1,130	0,853 - 1,50		NS
	Récapitulatif	0,847	0,734 - 0,977	15,4 %	

Tableau 1 - Influence du temps d'adaptation avant traitement (Teknar lot 21731, 25 ° C, stades 7, *S. soubrense*, chutes Gauthier, février 1983).

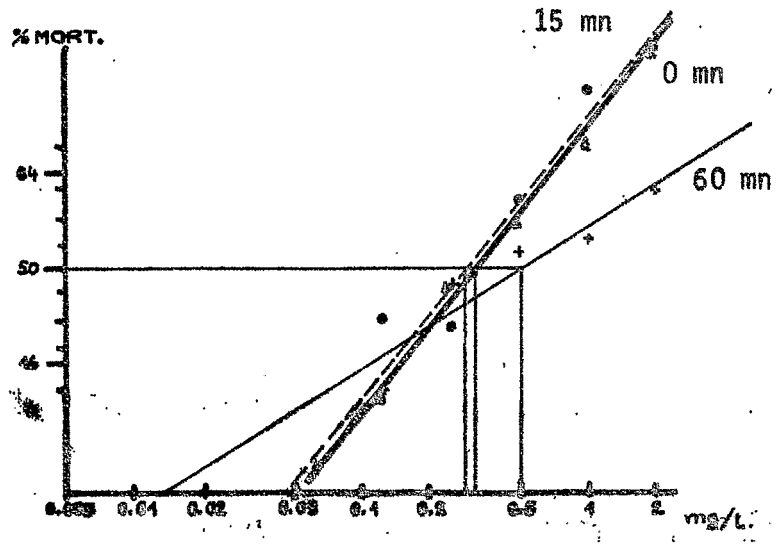


Graphique 1 : Influence du temps d'adaptation (*S. soubrense*).

Influence du temps d'adaptation

Temps d'adaptation	CL 50 Moyenne	Données par test			
		CL 50	Intervalle de confiance	Imprécision sur la CL 50	X^2
0 mn	0,332	0,371 0,292	0,323 - 0,427 0,255 - 0,333		NS NS
	Récapitulatif	0,326	0,295 - 0,361	10,5 %	
15 mn	0,302	0,346 0,258	0,30 - 0,398 0,168 - 0,396		NS S
	Récapitulatif	0,287	0,201 - 0,408	42,3 %	
30 mn	0,175	0,332 0,017	0,183 - 0,602 0,011 - 0,025		S NS
	Récapitulatif	0,239	0,191 - 0,298	25,1 %	
60 mn	0,532	0,226 0,837	0,171 - 0,299 0,547 - 1,281		NS S
	Récapitulatif	0,513	0,353 - 0,747	45,3 %	

Tableau 2 - Influence du temps d'adaptation avant traitement (Teknar lot 21731, 25° C, stades 7, *S. hargreavesi*, Bouaké, décembre 82).

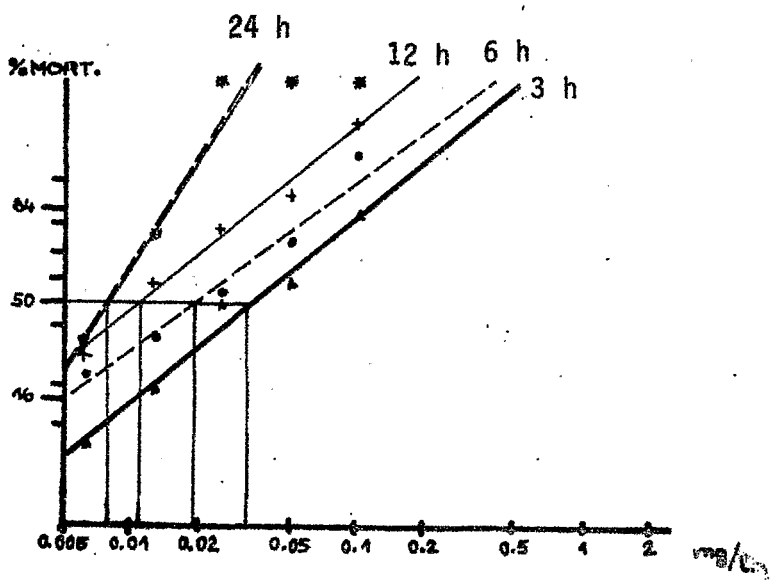


Graphique 2 : Influence du temps d'adaptation (*S. hargreavesi*)

Influence du temps de contact

Temps de contact	CL 50 Moyenne	Données par test			
		CL 50	Intervalle de confiance	Imprécision sur la CL 50	X^2
3 h	0,045	0,043	0,021 - 0,089		S
		0,051	0,038 - 0,068		NS
		0,041	0,033 - 0,05		NS
	Récapitulatif	0,033	0,029 - 0,037	13,8 %	
6 h	0,020	0,013	0,003 - 0,023		S
		0,023	0,019 - 0,027		NS
		0,023	0,018 - 0,028		NS
	Récapitulatif	0,019	0,017 - 0,021	11,7 %	
12 h	0,014	0,014	0,01 - 0,018		NS
		0,013	0,011 - 0,015		NS
		0,014	0,012 - 0,018		NS
	Récapitulatif	0,011	0,01 - 0,013	10 %	
24 h	0,008	0,009	0,007 - 0,012		S
		0,006	0,004 - 0,009		S
		0,009	0,007 - 0,01		NS
	Récapitulatif	0,008	0,007 - 0,009	14,3 %	

Tableau 3 - Influence du temps de contact
(IPS 80, 30° C, stade 7, *S. soubrense*, chutes Gauthier, février 1983).

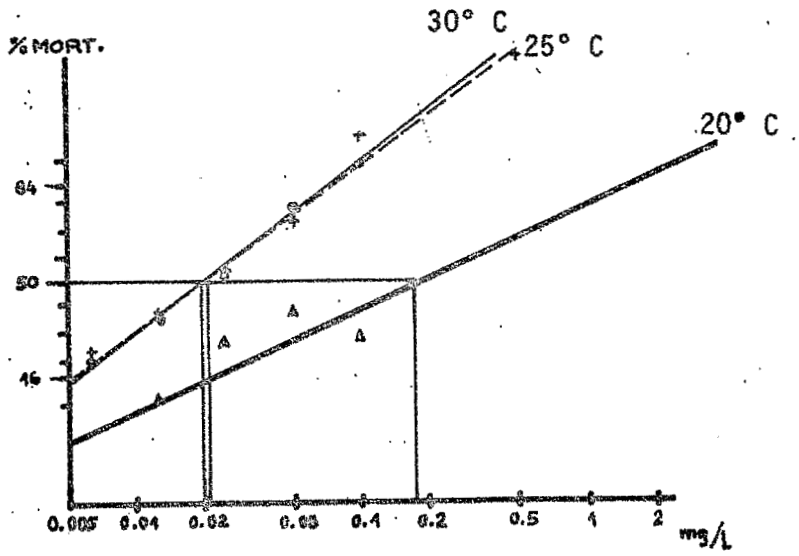


Graphique 3 :
Influence du temps de contact
(*S. soubrense*)

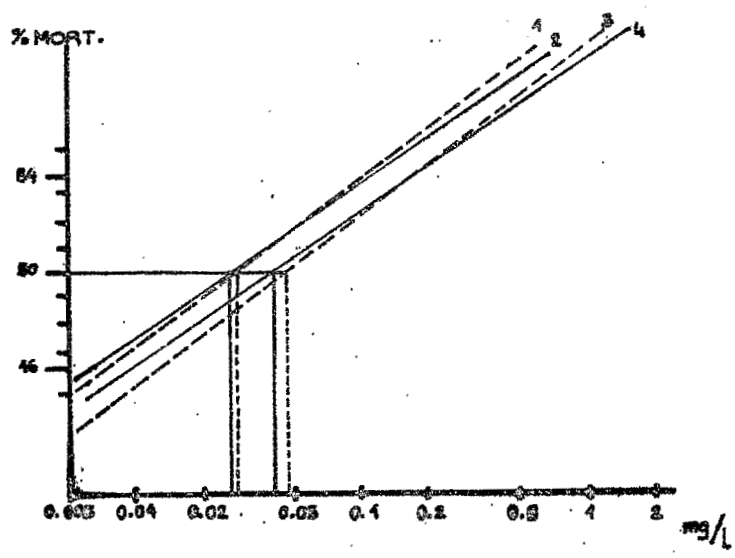
Influence de la température

Série	Température T° C	CL 50 Moyenne	Données par test			
			CL 50	Intervalle de confiance	Imprécision sur la CL 50	X^2
1	20° C	(0,179)	0,179	0,041 - 0,775		S
	25° C	0,021	0,018	0,015 - 0,022		NS
			0,017	0,012 - 0,022		NS
			0,027	0,022 - 0,033		NS
		Récapitulatif	0,021	0,018 - 0,023	16,7 %	
	30° C	0,021	0,017	0,013 - 0,023		NS
			0,026	0,02 - 0,035		NS
			0,021	0,017 - 0,026		NS
		Récapitulatif	0,02	0,017 - 0,023	17,7 %	
2	25° C	0,028	0,027	0,022 - 0,033		NS
			0,027	0,021 - 0,035		NS
			0,031	0,021 - 0,044		S
		Récapitulatif	0,028	0,025 - 0,031	12 %	
	30° C	0,045	0,043	0,021 - 0,089		S
			0,051	0,038 - 0,068		NS
			0,041	0,033 - 0,05		NS
		Récapitulatif	0,045	0,035 - 0,058	28,6 %	
3	25° C	0,041	0,045	0,024 - 0,084		S
			0,038	0,03 - 0,049		NS
			0,039	0,033 - 0,047		NS
		Récapitulatif	0,04	0,035 - 0,046	14,3 %	
	30° C	0,027	0,020	0,016 - 0,025		NS
			0,034	0,027 - 0,043		NS
		Récapitulatif	0,026	0,022 - 0,030	18,2 %	

Tableau 4 - Influence de la température
(IPS 80, stades 7, *S. soubrense*, chutes Gauthier - 1 : décembre 82, 2 : février 83, 3 : mars 83).



Graphique 4 - Influence de la température (*S. soubrense*)



Graphique 5 - Influence de la température (*S. soubrense*)

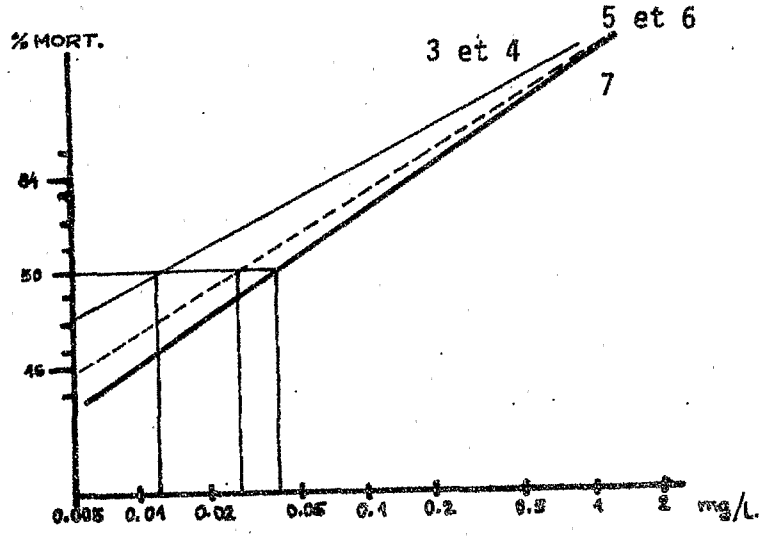
1. Février 83 : 25° C - 2. Mars 83 : 30° C

3. Février 83 : 30° C - 4. Mars 83 : 25° C

Influence du stade larvaire

Stade larvaire	CL 50 moyenne	Données par test			
		CL 50	Intervalle de confiance	Imprécision sur la CL 50	X^2
3 et 4	0,012	0,011	0,006 - 0,021		S
		0,011	0,003 - 0,016		NS
		0,013	0,01 - 0,019		NS
	Récapitulatif	0,012	0,01 - 0,014	20 %	
5 et 6	0,027	0,021	0,016 - 0,028		NS
		0,031	0,015 - 0,067		S
		0,029	0,024 - 0,036		NS
	Récapitulatif	0,028	0,022 - 0,036	27,7 %	
7	0,041	0,045	0,024 - 0,084		S
		0,038	0,03 - 0,049		NS
		0,039	0,033 - 0,047		NS
	Récapitulatif	0,04	0,035 - 0,046	14,3 %	

Tableau 5 - Influence du stade larvaire.
(IPS 80, 25° C, *S. soubrense*, chutes Gauthier, mars 1983).



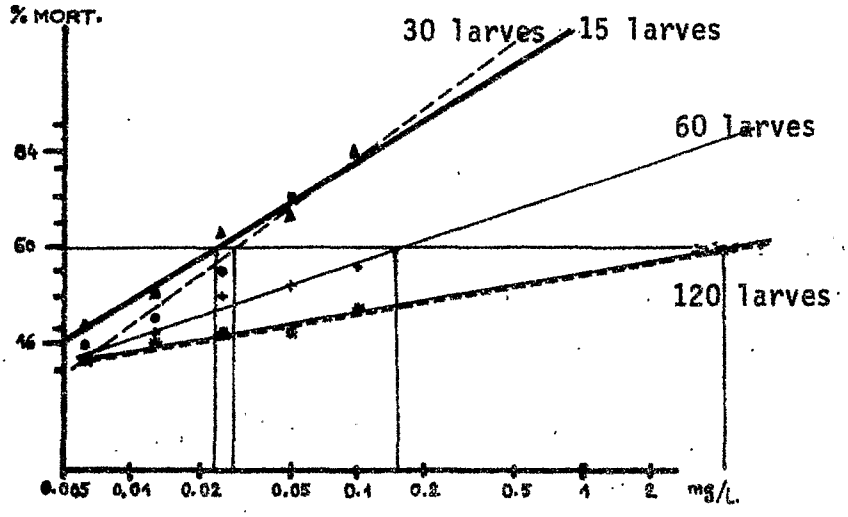
Graphique 6 :
Influence du stade larvaire (*S. soubrense*)

METHODOLOGIE

Influence du nombre de larves par Becher

Nombre de larves par Becher	CL 50 moyenne	Données par test			
		CL 50	Intervalle de confiance	Imprécision sur la CL 50	X^2
15	0,024	0,030	0,023 - 0,038		NS
		0,014	0,009 - 0,023		NS
		0,027	0,019 - 0,038		NS
	Récapitulatif	0,023	0,019 - 0,028	21 %	
30	0,028	0,031	0,021 - 0,044		S
		0,027	0,022 - 0,033		NS
		0,027	0,021 - 0,035		NS
	Récapitulatif	0,028	0,025 - 0,032	12 %	
60	0,218	0,332	0,01 - 11		S
		0,217	0,103 - 0,46		NS
		0,104	0,05 - 0,214		S
	Récapitulatif	0,15	0,104 - 0,215	44,2 %	
120	(11,33)	1,66	0,33 - 8,37		NS
		21,00	0,267 - 1655		NS
	Récapitulatif	4,124	0,712 -23,901	47,9 %	

Tableau 6 - Influence du nombre de larves par Becher
(IPS 80, 25° C, 3 h, stades 7, *S. soubrense*, chutes Gauthier, mars 83).



Graphique 7 :
Influence du nombre de larves par Becher.

Localité	Espèces	CL 50 moyenne	Données par test		
			CL 50	Intervalle de confiance	X^2
Manantali (Mali)	Savane (Carnoy à identifier)	0,045	0,041	0,034 - 0,049	NS
			0,043	0,034 - 0,053	NS
			0,045	0,036 - 0,056	NS
			0,05	0,040 - 0,062	NS
Chutes Gauthier (R.C.I.)	Forêt *S. soubrense* *S. sancti-pauli*	0,021	0,018	0,015 - 0,022	NS
			0,017	0,012 - 0,022	NS
		(Déc. 82)	0,027	0,022 - 0,033	NS
		0,039	0,045	0,038 - 0,054	NS
		(Août 82)	0,032	0,024 - 0,042	S
		0,028	0,031	0,021 - 0,044	S
			0,027	0,022 - 0,033	NS
		(Fév. 83)	0,027	0,021 - 0,035	NS
			0,045	0,024 - 0,084	S
		0,041	0,038	0,03 - 0,049	NS
		(Mars 83)	0,039	0,033 - 0,047	NS

Tableau 7 - Sensibilité comparée des populations de savane et de forêt (IPS 80, 3 h, 25° C, stades 7).

A N N E X E I I

Présentation des résultats bruts obtenus après avoir regroupé, concentration par concentration, les 3 séries d'essais réalisées pour l'étude de chaque facteur.

Influence du temps d'adaptation - contact 3 h, stades 7, *S. soubrense* (chutes Gauthier), Teknar(R) lot 21731, température : 25° C.

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE T A 0MN NB POINTS 5
NB SUJET 184 NB SUCCES 4 MB.022

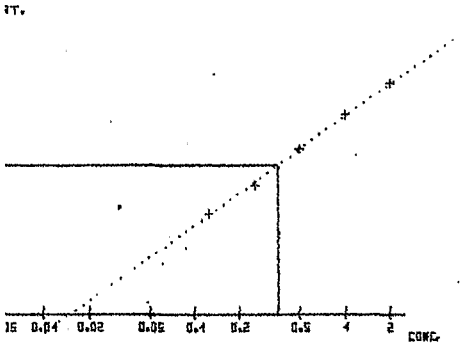
% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

3 EN PPM

T	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
	0.1250	182	45	0.247	0.230
	0.2500	169	67	0.396	0.383
	0.5000	183	111	0.607	0.598
	1.0000	181	142	0.785	0.780
	2.0000	177	159	0.898	0.896

2 EST NON SIGNIFICATIF (.257)

) : .357 (-.314 +.406)
Y= 1.686 X + 5.754



1. Adaptation 0 mn

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE T A 10MN NB POINTS 5
NB SUJET 178 NB SUCCES 5 MB.028

A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

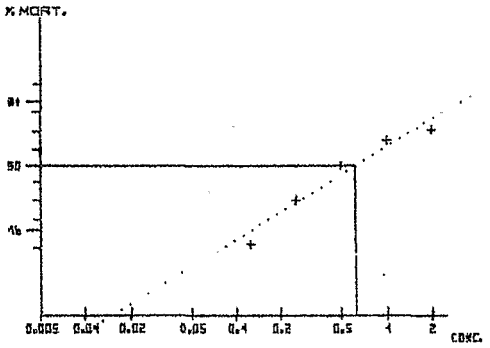
DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.1250	185	25	0.135	0.110
2	0.2500	180	58	0.322	0.302
3	0.5000	184	95	0.516	0.502
4	1.0000	182	120	0.659	0.649
5	2.0000	174	124	0.713	0.705

LE X2 EST SIGNIFICATIF (10.829)

DL50 : .627 (-.478 +.824)

Y= 1.435 X + 5.29



2. Adaptation 10 mn

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE T A 20MN NB POINTS 5
NB SUJET 180 NB SUCCES 5 MB.028

% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

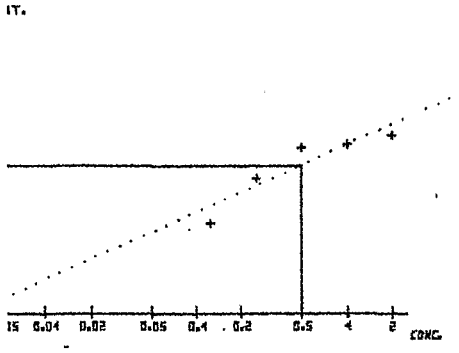
3 EN PPM

T	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
	0.1250	179	36	0.201	0.178
	0.2500	178	78	0.438	0.422
	0.5000	176	109	0.619	0.608
	1.0000	184	118	0.641	0.631
	2.0000	176	121	0.688	0.679

2 EST SIGNIFICATIF (20.815)

) : .493 (-.302 +.805)

Y= 1.059 X + 5.325



3. Adaptation 20 mn

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE T A 40MN NB POINTS 5
NB SUJET 176 NB SUCCES 4 MB.023

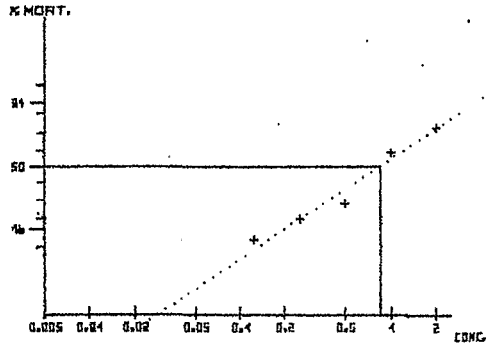
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.1250	174	24	0.138	0.118
2	0.2500	176	38	0.216	0.198
3	0.5000	171	51	0.298	0.282
4	1.0000	181	109	0.602	0.593
5	2.0000	179	131	0.732	0.726

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (7.225)

DL50 : .847 (-.734 +.977)
Y= 1.579 X + 5.114



4. Adaptation 40 mn

2. <u>Influence du temps d'adaptation</u> - contact 3 h, stades 7, *S. hargreavesi* (Bouaké), Teknar[R], lot 21731, température 25° C.

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE T A 0MN NB POINTS 6
NB SUJET 119 NB SUCCES 4 MB.034

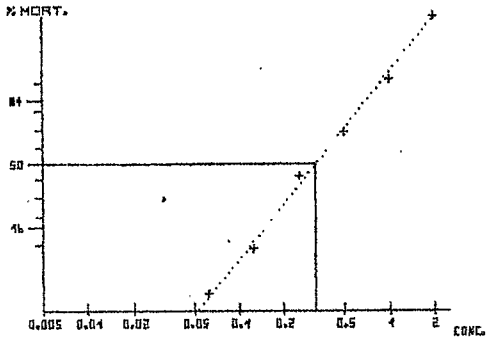
A 5% POUR 4 DDL LE X2 = 9.488

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0625	63	3	0.048	0.015
2	0.1250	117	14	0.120	0.089
3	0.2500	121	53	0.438	0.418
4	0.5000	122	85	0.697	0.686
5	1.0000	113	103	0.912	0.909
6	2.0000	64	64	0.999	1.000

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (3.167)

DL50 : .326 (-.295 +.361)
Y= 2.939 X + 6.429



1. Adaptation 0 mn

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE T A 15MN NB POINTS 5
NB SUJET 117 NB SUCCES 2 MB.017

A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

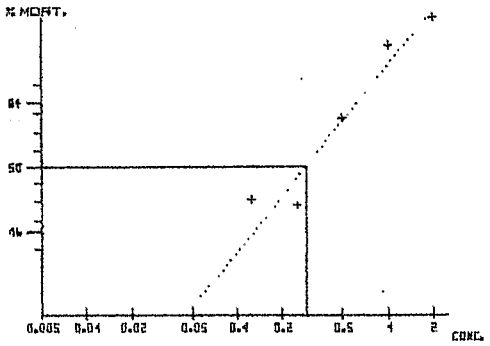
DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.1250	60	19	0.317	0.305
2	0.2500	114	33	0.289	0.277
3	0.5000	118	91	0.771	0.767
4	1.0000	116	113	0.974	0.974
5	2.0000	119	118	0.992	0.992

LE X2 EST SIGNIFICATIF (25.632)

DL50 : .287 (-.201 +.408)

Y= 2.892 X + 6.569



2. Adaptation 15 mn

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE T A 30MN NB POINTS 5
NB SUJET 58 NB SUCCES 3 MB.052

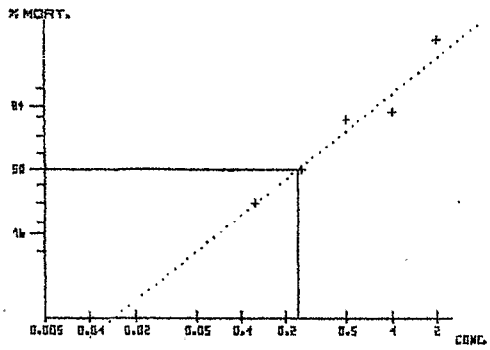
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.1250	63	21	0.333	0.297
2	0.2500	63	33	0.524	0.498
3	0.5000	59	47	0.797	0.786
4	1.0000	58	48	0.828	0.819
5	2.0000	62	61	0.984	0.983

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (4.787)

DL50 : .239 (-.191 +.298)
Y= 1.904 X + 6.185



3. Adaptation 30 mn

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE T A 60MN NB POINTS 5
NB SUJET 104 NB SUCCES 7 MB.067

A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

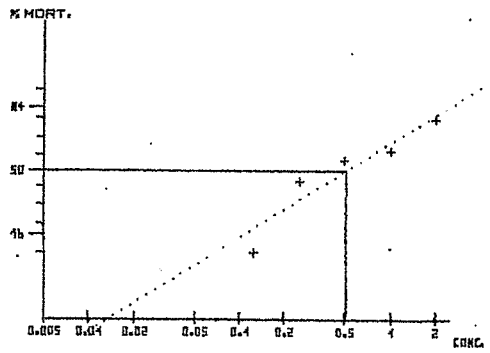
DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.1250	143	23	0.161	0.100
2	0.2500	127	59	0.465	0.426
3	0.5000	157	93	0.592	0.563
4	1.0000	155	100	0.645	0.619
5	2.0000	196	158	0.806	0.792

LE X2 EST SIGNIFICATIF (18.698)

DL50 : .513 (-.353 +.747)

Y= 1.469 X + 5.425



4. Adaptation 60 mn

3. Influence du temps de contact - Stades 7, *S. soubrense* (chutes Gauthier), température : 30° C, IPS 80

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE TPS 3H NB POINTS 5
NB SUJET 173 NB SUCCES 15 MB.087

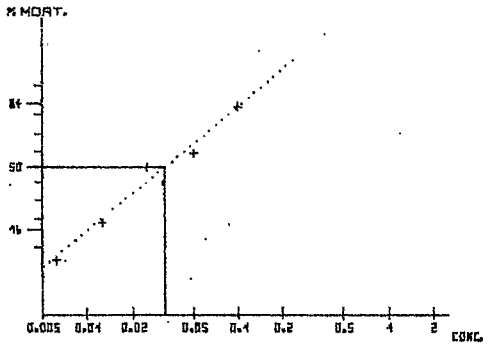
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	171	25	0.146	0.065
2	0.0125	147	38	0.259	0.189
3	0.0250	172	93	0.541	0.497
4	0.0500	172	108	0.628	0.593
5	0.1000	163	137	0.840	0.825

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (7.773)

DL50 : .033 (-.029 +.037)
Y= 1.952 X + 7.897



1. Contact 3 h.

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE TPS 6H NB POINTS 5
NB SUJET 168 NB SUCCES 6 MB.036

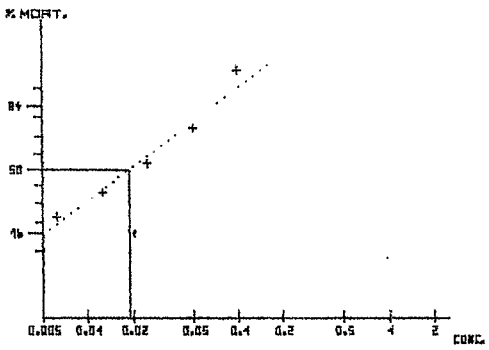
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	172	44	0.256	0.228
2	0.0125	163	63	0.387	0.364
3	0.0250	173	96	0.555	0.539
4	0.0500	168	127	0.756	0.747
5	0.1000	176	165	0.938	0.936

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (6.162)

DL50 : .019 (-.017 +.021)
Y= 1.772 X + 8.051



2. Contact 6 h.

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE TPS 12 NB POINTS 5
NB SUJET 150 NB SUCCES 1 MB7E-03

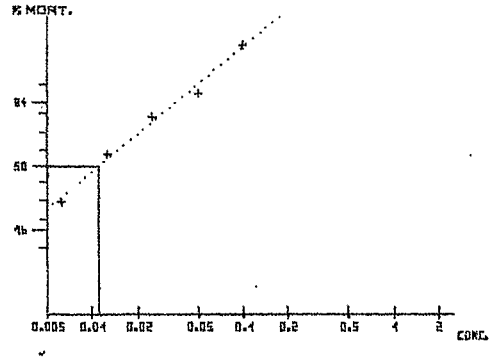
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	154	45	0.292	0.287
2	0.0125	142	83	0.585	0.582
3	0.0250	162	126	0.778	0.777
4	0.0500	172	150	0.872	0.871
5	0.1000	173	168	0.971	0.971

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (3.396)

DL50 : .011 (-.01 +.013)
Y= 1.931 X + 8.782



3. Contact 12 h.

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE TPS 24H NB POINTS 5
NB SUJET 153 NB SUCCES 9 MB.059

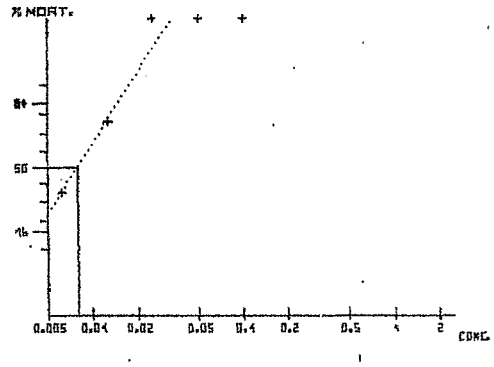
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	159	62	0.390	0.352
2	0.0125	158	122	0.772	0.758
3	0.0250	161	159	0.988	0.987
4	0.0500	168	168	0.999	1.000
5	0.1000	174	174	0.999	1.000

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (3.774)

DL50 : 8E-03 (-7E-03 +9E-03)
Y= 3.682 X + 12.746



4. Contact 24 h.

4. Influence de la température - Stades 7, *S. soubrense*, chutes Gauthier, IPS 80 - Décembre 1982.

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE T 20C NB POINTS 5
NB SUJET 60 NB SUCCES 6 MB.1

A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

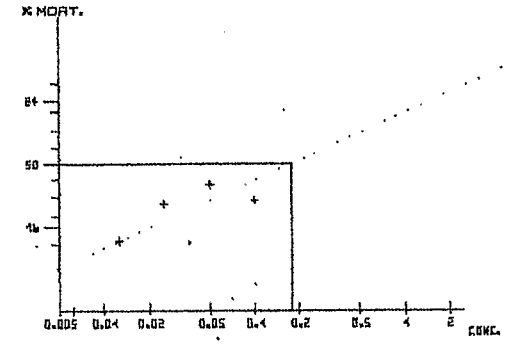
DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	58	6	0.103	0.003
2	0.0125	64	13	0.203	0.114
3	0.0250	57	19	0.333	0.259
4	0.0500	62	27	0.435	0.372
5	0.1000	63	22	0.349	0.277

LE X2 EST SIGNIFICATIF (12.011)

DL50 : .179 (-.041 +.775)

Y= 1.064 X + 5.796



1. 20° C

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE T 25C NB POINTS 5
NB SUJET 177 NB SUCCES 5 MB.028

A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

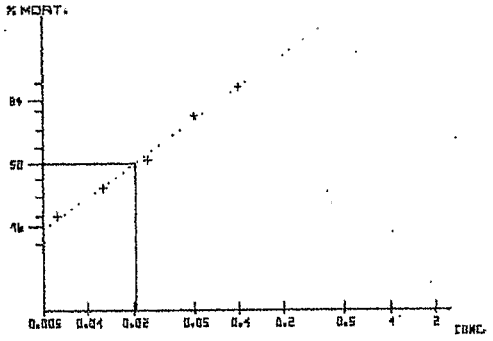
DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	179	40	0.223	0.200
2	0.0125	173	64	0.370	0.352
3	0.0250	167	89	0.533	0.519
4	0.0500	172	134	0.779	0.773
5	0.1000	175	155	0.886	0.883

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (1.725)

DL50 : .021 (-.018 +.023)

Y= 1.722 X + 7.907



2. 25° C

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE DECEMBRE 1982 T 30C NB POINTS 6
NB SUJET 173 NB SUCCES 5 MB.029

A 5% POUR 4 DDL LE X2 = 9.488

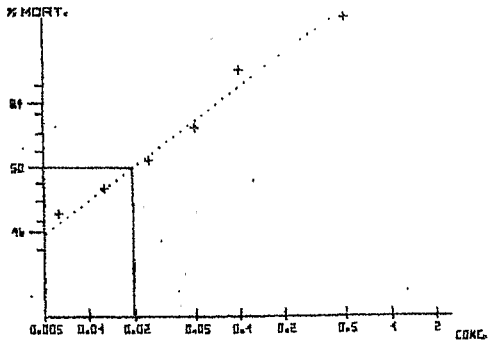
DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	73	19	0.260	0.238
2	0.0125	113	44	0.389	0.371
3	0.0250	177	97	0.548	0.535
4	0.0500	166	123	0.741	0.733
5	0.1000	173	161	0.931	0.929
6	0.5000	111	110	0.991	0.991

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (4.854)

DL50 : .02 (-.017 +.023)

Y= 1.749 X + 7.985



3. 30° C

5. Influence de la température - Stades7, *S. soubrense* (chutes Gauthier) IPS 80, février et mars 83

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE T 25 NB POINTS 5
NB SUJET 174 NB SUCCES 7 MB.04

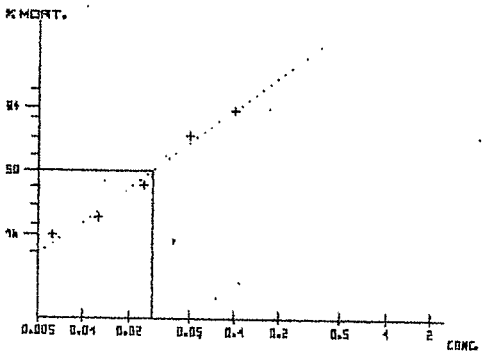
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	188	36	0.191	0.157
2	0.0125	182	49	0.269	0.238
3	0.0250	173	75	0.434	0.410
4	0.0500	181	130	0.718	0.706
5	0.1000	177	148	0.836	0.829

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (5.733)

DL50 : .028 (-.025 +.032)
Y= 1.737 X + 7.685



1. Février 83 - 25° C

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE FEVRIER 83 T 30C NB POINTS 6
NB SUJET 173 NB SUCCES 15 MB.087

A 5% POUR 4 DDL LE X2 = 9.488

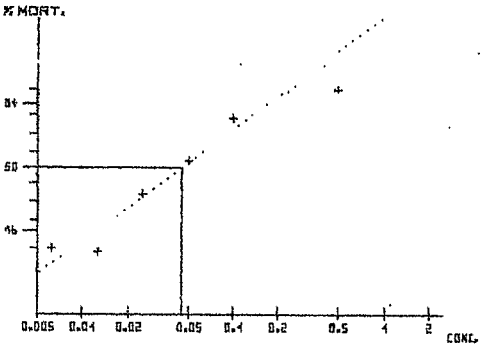
DOSES EN PPMJ

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	114	20	0.175	0.097
2	0.0125	143	24	0.168	0.089
3	0.0250	173	68	0.393	0.335
4	0.0500	177	103	0.582	0.542
5	0.1000	161	129	0.801	0.782
6	0.5000	57	52	0.912	0.904

LE X2 EST SIGNIFICATIF (15.56)

DL50. : .045 (-.035 +.058)

Y= 1.756 X + 7.362



2. Février 83 - 25° C

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE T 25C NB POINTS 5
NB SUJET 178 NB SUCCES 3 MB.017

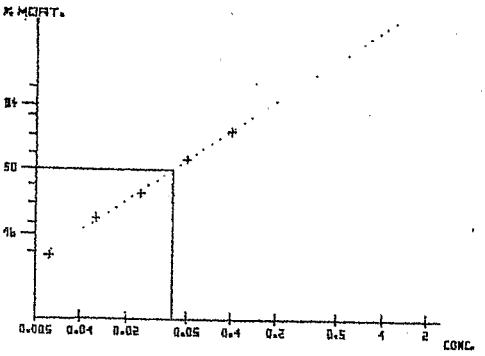
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	174	19	0.109	0.094
2	0.0125	175	42	0.240	0.227
3	0.0250	177	66	0.373	0.362
4	0.0500	187	106	0.567	0.560
5	0.1000	179	132	0.737	0.732

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (.359)

DL50 : .04 (-.035 +.046)
Y= 1.573 X + 7.194



3. Mars 83 - 25° C

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE T 30C NB POINTS 5
NB SUJET 112 NB SUCCES 4 MB.036

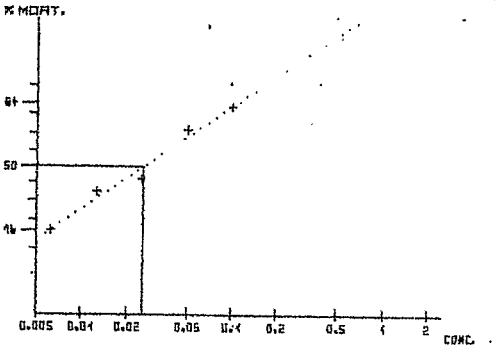
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	110	21	0.191	0.161
2	0.0125	110	41	0.373	0.350
3	0.0250	119	52	0.437	0.416
4	0.0500	113	82	0.726	0.716
5	0.1000	120	100	0.833	0.827

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (4.311)

DL50 : .026 (-.022 +.03)
Y= 1.607 X + 7.552



4. Mars 83 - 30° C

5. Influence du stade larvaire - *S. aoubrense* (chutes Gauthier), température 25° C, IPS 80

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE ST 7 NB POINTS 5
NB SUJET 178 NB SUCCES 3 MB.017

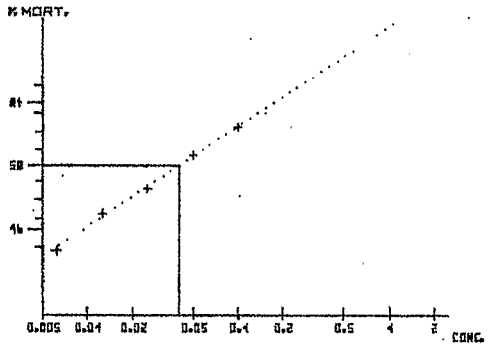
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	174	19	0.109	0.094
2	0.0125	175	42	0.240	0.227
3	0.0250	177	66	0.373	0.362
4	0.0500	187	106	0.567	0.560
5	0.1000	179	132	0.737	0.732

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (.359)

DL50 : .04 (-.035 +.046)
Y= 1.573 X + 7.194



1. Stades 7

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE ST 5 6 NB POINTS 5
NB SUJET 183 NB SUCCES 17 MB.093

A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

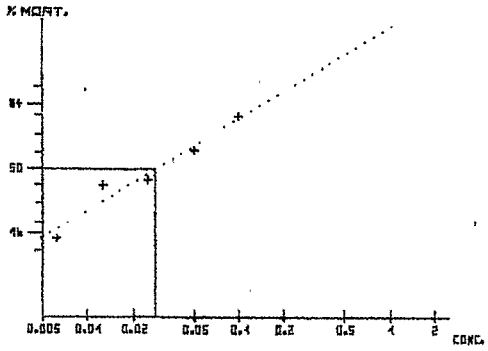
DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	180	40	0.222	0.142
2	0.0125	177	80	0.452	0.396
3	0.0250	182	87	0.478	0.425
4	0.0500	179	118	0.659	0.624
5	0.1000	178	145	0.815	0.796

LE X2 EST SIGNIFICATIF (9.447)

DL50 : .028 (-.022 +.036)

Y= 1.429 X + 7.218



2. Stades 5 et 6

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE STADES LARVAIRES 3 4 NB POINTS 5
NB SUJET 182 NB SUCCES 7 MB.038

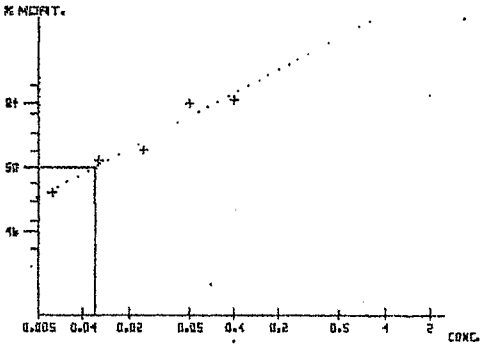
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	180	68	0.378	0.353
2	0.0125	177	98	0.554	0.536
3	0.0250	177	111	0.627	0.612
4	0.0500	182	154	0.846	0.840
5	0.1000	188	161	0.856	0.850

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (7.279)

DL50 : .012 (-.01 +.014)
Y= 1.243 X + 7.395



3. Stades 3 et 4.

7. Influence du nombre de larves par Becher - Stades 7, *S. soubrense* (chutes Gauthier), température : 25° C, IPS 80

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE 15 LVES NB POINTS 5
NB SUJET 89 NB SUCCES 6 MB.067

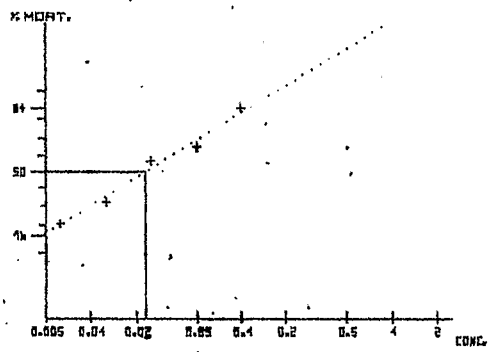
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	90	24	0.267	0.214
2	0.0125	92	34	0.370	0.324
3	0.0250	86	51	0.593	0.564
4	0.0500	91	61	0.670	0.646
5	0.1000	91	77	0.846	0.835

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (1.815)

DL50 : .023 (-.019 +.028)
Y= 1.442 X + 7.357



1. 15 larves/Becher

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE 30 LVES NB POINTS 5
NB SUJET 174 NB SUCCES 7 MB.04

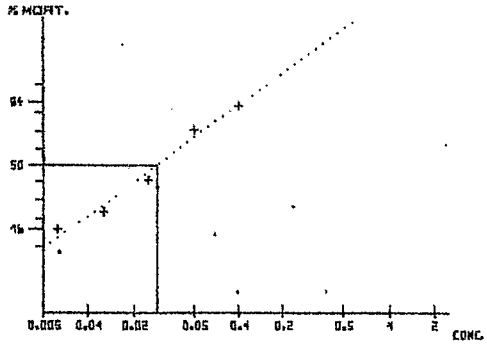
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	188	36	0.191	0.157
2	0.0125	182	49	0.269	0.238
3	0.0250	173	75	0.434	0.410
4	0.0500	181	130	0.718	0.706
5	0.1000	177	148	0.836	0.829

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (5.733)

DL50 : .028 (-.025 +.032)
Y= 1.737 X + 7.685



2. 30 larves/Becher

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE 60 LVES NB POINTS 5
NB SUJET 363 NB SUCCES 18 MB.05

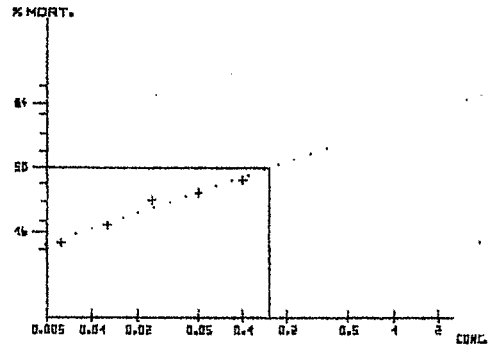
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	360	58	0.161	0.117
2	0.0125	369	85	0.230	0.190
3	0.0250	360	124	0.344	0.310
4	0.0500	351	134	0.382	0.350
5	0.1000	361	163	0.452	0.423

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (4.981)

DL50 : .15 (-.104 +.215)
Y= .801 X + 5.661



3. 60 larves/Becher

*** ANALYSE PROBIT ***

REFERENCE 120 LVES NB POINTS 5
NB SUJET 480 NB SUCCES 14 MB.029

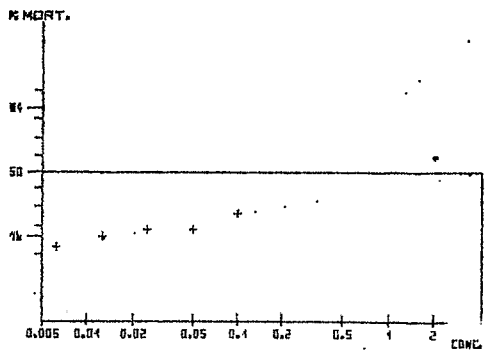
A 5% POUR 3 DDL LE X2 = 7.815

DOSES EN PPM

POINT	DOSES	SUJETS	MORTS	M.BRUT	M.CORR
1	0.0062	465	67	0.144	0.118
2	0.0125	358	66	0.184	0.159
3	0.0250	456	99	0.217	0.193
4	0.0500	473	101	0.214	0.190
5	0.1000	492	139	0.283	0.261

LE X2 EST NON SIGNIFICATIF (2.748)

DL50 : 4.124 (-.712 +23.901)
Y= .41 X + 4.747



4. 120 larves/Becher