

**Accélération de l'activité larvicide
de *Bacillus sphaericus*
sur *Culex pipiens*
par l'ingestion de cadavres
de larves de moustiques intoxiqués
par ce bacille ⁽¹⁾**

Saïd KARCH ⁽²⁾, Jean Coz ⁽²⁾

Résumé

Les broyats de cadavres de larves de stade III de Culex pipiens, intoxiquées par B. sphaericus 1593-4, mis en suspension dans l'eau permutée engendrent une mortalité de 99 % chez les larves saines après 24 h de contact; ce n'est qu'après 48 h de contact qu'une poudre de B. sphaericus 1593-4 donne une DL 90 (0,02 ppm).

La culture des broyats de larves mortes après intoxication par B. sphaericus 1593-4, dans un milieu dit M.B.S., durant 48 h avec agitation à 30°C, a donné approximativement 50 % de cellules végétatives et 50 % de spores de B. sphaericus. La DL 50 de cette culture sur les larves au stade III de C. pipiens est de l'ordre de $0,5 \cdot 10^{-5}$ ml.

Mots-clés : Cadavres de larves — *Culex pipiens* — *Bacillus sphaericus*.

Summary

ACCELERATION OF LARVICIDIAL ACTIVITY OF Bacillus sphaericus ON Culex pipiens BY AN INGESTION OF DIED LARVAE INTOXICATED BY THIS BACILLUS. 24 hr contact of healthy larvae with squashed IIIrd Instar larvae corpses of Culex pipiens intoxicated with Bacillus sphaericus 1593-4 in suspension in distilled water resulted in 99 percent mortality, whereas a LD 90 of 0.02 ppm was obtained from 48 hr contact with a suspension of B. sphaericus 1593-4 powder.

The culture of squashed larvae died of intoxication with B. sphaericus 1593-4, in the M.B.S. medium for 48 hr stirring at 30°C, produced approximately 50 % cells and 50 % spores of B. sphaericus. The LD 50 of this culture tested on IIIrd larvae of C. pipiens was estimated to be approximately $0.5 \cdot 10^{-5}$ ml.

Key words : Larvae corpses — *Culex pipiens* — *Bacillus sphaericus*.

(1) Cette étude a bénéficié d'un appui financier du programme spécial P.N.U.D./Banque Mondiale/O.M.S. pour la recherche et la formation concernant les maladies tropicales.

(2) O.R.S.T.O.M., Services Scientifiques Centraux, 70/74, route d'Aulnay, 93140 Bondy, France.

La toxicité de *B. sphaericus* a été démontrée sur les larves de *Culex* et *Anopheles* et à un moindre degré sur *Aedes* (Bourgouin, 1981 ; Dagnogo et Coz, 1982). Cette toxicité n'est pas due à un cristal parasporal (Singer, 1980), mais elle est en relation avec des phénomènes digestifs dans l'intestin de la larve qui libèrent la ou les toxines à partir des différents constituants du bacille (paroi cellulaire, spore) (Davidson, 1981).

Les larves tuées par *B. sphaericus* possèdent donc une certaine quantité de toxine libérée dans leur tube digestif.

Il nous a paru intéressant de voir si cette toxine libérée était directement active sur les larves saines de moustiques et dans l'affirmative d'en mesurer la toxicité. Dans ce but nous avons étudié l'activité larvicide de cadavres de larves au stade III de *C. pipiens* tuées par *B. sphaericus* souche 1593-4.

TABLEAU I

Évolution et comparaison de la mortalité des larves au stade III de *Culex pipiens* après exposition au broyat de cadavres de larves et à des concentrations de 0,006 et 0,02 ppm de la poudre de *B. sphaericus* 1593-4 pendant un temps donné. LM : nombre de cadavres de larves par gobelet ; LS : nombre de larves saines par gobelet ; h : temps de contact « heure ».

Forme "pp" Nature des lots	Effectif total des larves testées	Mortalité %				
		8h	10h	20h	24h	48h
20 LM + 5 LS	80	4	8	88	99	
20 LM + 10 LS	160	0	4	90	100	
20 LM + 15 LS	240	2,5	5,3	98	100	
20 LM + 20 LS	320	5	5	98	100	
15 LM + 20 LS	320	1	2	100		
10 LM + 20 LS	320	2	3	84	98	
DL 50 = 0,006 ppm	120	-	-	3	10	45
DL 90 = 0,02 ppm	120	-	-	26	41	95
Témoin	100	0	0	0	0	1

Matériel et méthodes

Tous les tests ont été effectués sur des lots de 20 larves au stade III de *Culex pipiens*, placées à 26°C dans des gobelets en plastique, contenant 150 ml d'eau permutée.

Les cadavres ont été obtenus après exposition de larves saines à une concentration de 0,02 ppm

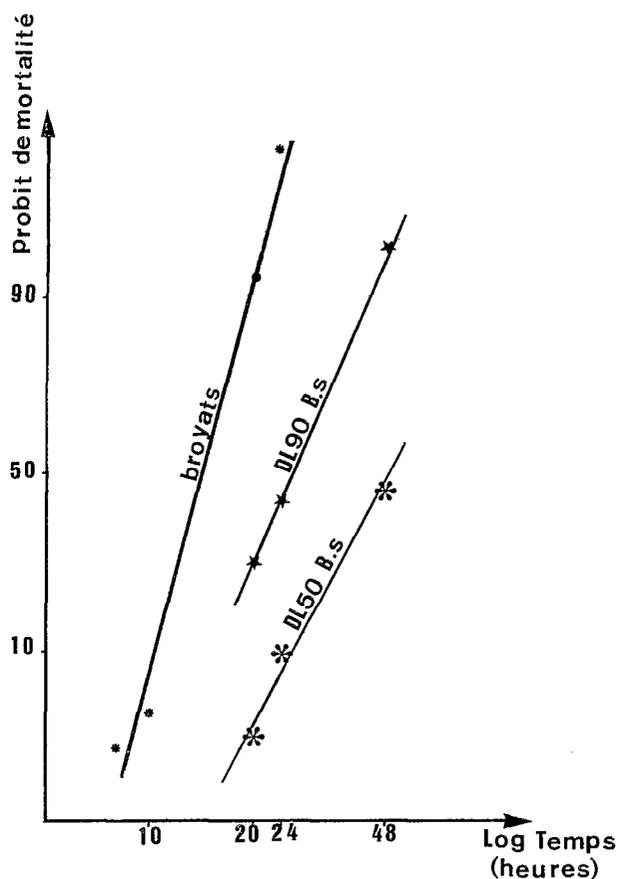


FIG. 1. — Sensibilité des larves de *Culex pipiens* au stade III exposées au broyat de cadavres de larves et à la poudre de *B. sphaericus* 1593-4 : DL 50 = 0,006 ppm et DL 90 = 0,02 ppm.

d'une poudre de *B. sphaericus* 1593-4, ce qui correspond à une DL 90 après 48 h de contact. Les cadavres ont ensuite été laissés deux jours dans l'eau permutée. Ils ont enfin été lavés et broyés à l'aide d'une baguette de verre. Ce broyat a été ajouté à l'eau permutée des gobelets dans lesquels se trouvaient des larves saines.

La culture de contrôle de ce broyat a été effectuée dans un milieu dit M.B.S. utilisé par Kalfon *et al.* (1983). Elle est incubée pendant 48 h, à 30°C avec agitation.

Résultats et discussion

Les résultats montrent que les broyats de cadavres de larves de stade III de *C. pipiens*

obtenus après exposition de larves saines à 0,02 ppm pendant 48 h de contact (ce qui correspond à la DL 90), laissés deux jours dans l'eau permutée, donnent avec des larves saines une mortalité non négligeable après 8 et 10 h, mais après 20 et 24 h de contact, une mortalité respective de 90 et 99 %. Ce niveau de mortalité ne peut être obtenu qu'après 48 h si on emploie de la poudre de *B. sphaericus* 1593-4 à la concentration de 0,02 mg/litre (= DL 90) (tabl. I).

La culture de ces broyats de cadavres de larves en milieu M.B.S. pendant 48 h., a donné approximativement 50 % des pores et 50 % de cellules végétations de *B. sphaericus*. La DL 50 de cette culture sur les larves au stade III de *C. pipiens* est de l'ordre de $0,05 \cdot 10^{-5}$ ml.

Le pouvoir larvicide de ces broyats est beaucoup plus rapide que celui de la poudre du bacille lui-même (fig. 1). Cependant, les cadavres restent

un certain temps dans l'eau, nous ne pouvons rejeter, pour expliquer l'accélération observée de la toxicité, une multiplication du bacille dans les cadavres eux-mêmes. Ces cadavres contiendraient d'après Davidson (1982) une seconde génération de bacille très toxique. La multiplication du bacille après ingestion par la larve n'est pas nécessaire à la pathologie (Davidson *et al.*, 1975). La toxicité pourrait être occasionnée par une libération de toxine (Myers *et al.*, 1979 ; Davidson, 1981) associée à une seconde génération de bacille dans les cadavres. Rappelons que la toxine ne serait pas sécrétée par le bacille (Davidson et Sweeney, 1983).

Ces hypothèses pourraient contribuer à expliquer le recyclage de *B. sphaericus* mentionné par Hertlein *et al.*, 1979 et par un groupe d'experts de l'O.M.S. (1980), qui pourrait être dû à une décomposition progressive des cadavres de larves libérant des bacilles qui s'y sont multipliés.

BIBLIOGRAPHIE

- BOURGOIN (C.), 1981. — Étude de l'activité larvicide vis-à-vis d'*Anopheles stephensi*. Essai d'isolement et de caractérisation d'un facteur toxique. Thèse 3^e cycle, Univers. Paris-Sud Orsay.
- DAGNOGO (M.) et Coz (J.), 1982. — Un insecticide biologique : *Bacillus sphaericus*. 1. Activité larvicide de *B. sphaericus* sur quelques espèces et souches de moustiques. *Cah. O.R.S.T.O.M., sér. Ent. méd. et Parasitol.*, 20, 2 : 133-138.
- DAVIDSON (E. W.), 1981. — A review of the pathology of Bacilli infecting Mosquitoes, including an ultrastructural study of larvae fed *Bacillus sphaericus* 1593 spores. *Developments in Industrial Microbiology*, 22 : 69-81.
- DAVIDSON (E. W.), 1982. — Insecticidal factors from *Bacillus sphaericus* production of biocides from this organism. Working paper, W.H.O., Genève, avril 1982, 11 p.
- DAVIDSON (E. W.), SINGER (S.) et BRIGGS (J. D.), 1975. — Pathogenesis of *Bacillus sphaericus* strain SS II-I infection in *Culex pipiens quinquefasciatus* larvae. *J. Invert. Path.*, 25 : 179-184.
- DAVIDSON (E. W.) et SWEENEY (A. W.), 1983. — Microbial control of vectors : A decade of progress. *J. Med. Entomol.*, 20, 3 : 235-247.
- HERTLEIN (B. C.), LEWY (R.) et MELLER (J. R. W.), 1979. — Recycling potential and selective retrieval of *Bacillus sphaericus* from soil in a Mosquito habitat. *J. Invert. Path.*, 33 : 217-221.
- KALFON (A.), LARGET-THIÉRY (I.), CHARLES (J. F.) et BARJAC (H. de), 1983. — Growth, sporulation and larvicidal activity of *Bacillus sphaericus*. *Eur. J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 18 : 168-173.
- MYERS (P.), YOSTEN (A. A.) et DAVIDSON (E. W.), 1979. — Comparative studies of the Mosquito larval toxin of *Bacillus sphaericus* SS II-I and 1593. *Can. J. Microbiol.*, 25 : 1222-1231.
- O.M.S., 1980. — Data Sheet on the biological control agent *Bacillus sphaericus*, strain 1593. Doc. mimeo. W.H.O./VBC/80.777.
- SINGER (S.), 1980. — *Bacillus sphaericus* for control of Mosquitoes. *Biotechnology and Bioengineering*, 22 : 1335-1355.