CN0101294
H220
NDO

THESE

présentée

devant L'UNIVERSITE PAUL SABATIER DE TOULOUSE (SCIENCES)

pour l'obtention

DU GRADE DE DOCTEUR INGENIEUR

par

M'Baye N'DOYE

SUJET DE LA THESE : ETUDE DE LA SENSIBILITE DE *Chilo suppressalis* WALKER aux *Fungi Imperfecti* ET DES EFFETS SECONDAIRES DE L'INFECTION A *Beauveria bassiana* (BALSAMO) VUILLEMIN.

Soutenue le 28 mai 1975 devant la Commission d'examen

JURY : MM. A. LEDOUX Président
A. SCHNEIDER
B. HURPIN } Examinateurs
J. BRENIERE

8-10-76
6734

SOMMAIRE

AVANT-PROPOS

INTRODUCTION

CHAPITRE 1 - , BIOLOGIE BE *Chilo suppressalis*

1. Les oeufs et la ponte
2. Les larves
3. Les chrysalides
4. Les adultes

Conclusion

CHAPITRE I I - LA TECHNIQUE D'ELEVAGE DE MASSE DE LA PYRALE DU RIZ EN LABORATOIRE

A. BREF HISTORIQUE DE L'ELEVAGE DU *Chilo suppressalis*

B. ELEVAGE DE LA PYRALE SUIVANT LA METHODE GUENNELON-SORIA

1. Elevage des adultes et ponte
. conditions d'incubation des oeufs
. durée de vie des adultes
2. Elevage des larves
. le milieu d'élevage
. conditions d'élevage des larves
. conditions de chrysalidation

C. CONCLUSION

CHAPITRE III - ETUDE DE LA SENSIBILITE DU *Chilo suppressalis* AUX *Fungi Imperfecti*

A. APERCU BIBLIOGRAPHIQUE SUS LES MALADIES DU *Chilo suppressalis*

B. ESSAIS PRELIMINAIRES SUR LA SENSIBILITE DE *Chilo suppressalis* AUX DEUTEROMYCETES

1. Matériel et méthode
2. Expérimentation. et traitement du matériel biologique
. préparation de la suspension entomopathogène
. traitement du matériel' biologique
. élevage des insectes traités
. analyse des résultats
3. Rëaultats préliminaires

C. LA MYCOSE A *Beauveria bassiana*

1. Historique
2. Caractéristiques de *Beauveria bassiana*
3. Infection du *Chilo suppressalis* par le *Beauveria bassiana*

D. INFLUENCE DE LA QUANTITE DE SPORES

1. Action de la nipagine sur la sensibilité des larves à la mycose
2. Influence de la quantité de spores
3. Définition de la DL 50 pour les larves et les chrysalides

E. EFFET DE LA TEMPERATURE SUR LA SENSIBILITE DU *Chilo suppressalis* A LA MYCOSE

1. Matériel et méthode
2. Principaux résultats obtenus
   . sur chrysalides
   . sur larves
3. Discussion et conclusions

F. CONCLUSIONS

CHAPITRE IV - EFF'T DU CHAMPIGNON SUR LES INSECTES SURVIVANTS AU TRAITEMENT ET SUR LEUR DESCENDANCE

A. POSITION DE LA QUESTION

B. MATERIEL ET METHODES D'ETUDE

C. PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS

1. Etude des larves diapausantes
   . effet direct sur les larves et évolution de la population traitée
   . évolution des chrysalides formées et étude de la ponte de la génération traitée
   . étude de la première génération

2. Etude des larves normales
   . effet direct sur les larves traitées
   . effet sur la porte des adultes survivants

3. Effet sur jeunes chrysalides
   . effets du *Beauveria bassiana* sur les insectes traites
   . effet du champignon sur la ponte lorsqu'on traite les insectes au stade chrysalides
   . étude de la première génération
4. Interprétation des résultats.

D. DISCUSSION et CONCLUSIONS

CONCLUSIONS GENERALES

RESUME

BIBLIOGRAPHIE

AVANT-PROPOS

Ce travail a été réalisé à la Station de Recherches de Lutte Biologique (I.N.R.A.) de La Minière, dirigée par M. B. HURPIN qui a eu l'extrême obligeance de m'accepter comme stagiaire de D.E.A. (Biologie Animale, option Entomalogie de l'Université Paul SABATIER de Toulouse, 1373) puis comme élève de 2ème année de l'Office de la Recherche Scientifique et Technique Outre-Mer (O.R.S.T.O.M.) et enfin comme étudiant de 3ème Cycle.

Je dois à la profonde connaissance des problèmes de lutte microbiologique contre les insectes ravageurs des cultures de M. B. HURPIN mon orientation dans ce domaine. Je tiens à lui témoigner ici ma très respectueuse reconnaissance.

J'exprime mes remerciements les plus sincèresà M. le Professeur LEDOUX dont l'enseignement tant à l'E.N.S.A de Toulouse qu'à l'Université Paul SABATIER assura ma Eormation entomologique et pour l'honneur qu'il me fait de bien vouloir présider le jury de cette thèse.

Je remercie vivement M. le Professeur SCHNEIDER d'avoir accepté de faire partie de ce jury.

Il m'est très agréable d'exprimer ici toute ma sympathie et tous mes remerciements à P. FERRON, 'Paître de Recherches à l'I.N.R.A., qui anime l'"Unité Mycose" de la Station dont l'expérience m'a permis d'aborder rapidement l sujet proposé. J'associe à ces remerciements son collègue J. MARGUS pour ses remarques et ses conseils.

Je remercie vivement M. M. ROTH, Directeur de Recherches à l'O.R.S.T.O.M., dont l'initiation à la recherche et aux problèmes d'Entomologie tropicale m'a été d'une grande utilité,

Mes remerciements vont également à M. J. BRENIERE, Chef du Service Défense des cultures de l'I.R.A.T. pour l'intérêt qu'il a porté à mon travail et poux toute l'aide qu'il m'a apportée.

Je suis très heureux d'exprimer ici, mes remerciements chaleureux à tous ceux qui, au sein de la Station de Recherches de Lutte biologique,m'ont apporté une aide très appréciable et de précieux encouragements.

Je ne saurais citer tout le monde, mais je me permettrai d'exprimer ma profonde sympathie à Mme DEOTTE qui aassuré la multiplication des champignons, à M. MARCHAL et Mme CHAUFAUX pour leur concours technique, à M. PONSARDIN et son équipe qui ont spécialement à mon attention mis au point une culture de riz en serre. Je ne saurais oublier Mme CORMENIER à qui je dois la présentation de ce travail, ni Mme NIORE et M. VERMEIL de CONCHARD qui ont assuré. l'illustration photographique de cette thèse.

INTRODUCTION

Les développements intervenus dans la lutte contre les insectes nuisibles et la sensibilisation de l'opinion publique aux problèmes de toxicologie et plus particulièrement à ceux posés par les résidus pesticides, ont rendu très urgente la nécessité de mettre au point de nouveaux moyens de lutte contre les ravageurs des cultures.

Mais, il y a déjà plus d'un siècle, alors que les interventions par des moyens chimiques contre les insectes nuisibles étaient très limités et peu efficaces, les précurseurs de la lutte biologique avaient montré la possibilité d'utiliser les organismes entomopathogènes dans la lutte contre ces ravageurs (METSCHNIKOFF, 1879).

Cependant, l'euphorie provoquée chez les entomologistes par les premières observations devait très vite se transformer en déception après des échecs répétés. Il fallut attendre les années 1950, avec les problèmes posés par l'emploi généralisé de la lutte chimique, pour que les méthodes de lutte biologique regagnent l'intérêt de l'opinion et des pouvoirs publics. C'est en effet au cours de cette période que, dans de nombreux pays (Etats-Unis d'Amérique, Union Soviétique, France), des laboratoires ont été créés pour étudier les possibilités d'utilisation des germes pathogènes contre les insectes ravageurs des cultures.

Le groupe des microorganismes pathogènes pour les insectes est très vaste et très divers. Depuis les premières muscardines observées sur le ver à soie par les sériciculteurs italiens et français, de nombreux autres types de germes ont été recensés et nombre d'entre eux ont été expérimentés avec succès, entraînant souvent leur utilisation sur une grande échelle. L'essentiel des travaux effectues dans ce domaine se trouve dans les synthèses de : ANGUS et HEIMPEL (1959) ; BUCHER (1956) ; FRANZ (1961) ; HURPIN (1961 et 1968) ; FERRON (1967) ; BURGES et al. (1971).

De par leur importance historique, mais aussi de par le nombre très élevé d'espèces pathogènes connues, et enfin, de par la facilité d'observation de leurs symptômes, les champignons entomopathogènes occupent une place de premier ordre dans ce groupe des microorganismes pathogènes.

Le travail que nous avons effectué à La Minière a consisté en l'étude des conditions d'infection des *Fungi Imperfecti* sur *Chilo suppressalis* (Lépidoptère, *Pyralidae*, *Crambinae*), qui vit en foreur, à l'état larvaire dans la tige du riz (*Oryza sativa*).

Cette céréale qui est la nourriture de base de plus de la moitié de la population du Globe et qui occupe le 1/5 des surfaces céréalières du monde (soit environ 124 millions d'ha) subit de graves dégâts dûs à cette pyrale. Les aires de pullulation de celle-ci sont aujourd'hui le lieu d'interventions chimiques d'une rare intensité, mais, malgré le nombre important de ses prédateurs, parasites et pathogènes, la littérature ne signale pas d'utilisation de méthode biologique de lutte contre ce borer.

Le Chi lo suppressalis a été depuis très longtemps l'objet d'une attention particulière de la part des entomologistes, qui ont déjà précisé les points principaux de sa biologie, de son écologie et de son éthologie (KUWANA, 1929 ; GOMEZ-CLEMENTE, 1948 ; KIRITANI et IWAO, 1964) et qui ont réussi à mettre au point son élevage de masse (KAMNO, 1973 ; ISHII, 1971 ; GUENNELQN et SORIA, 1973).

C'est donc en bénéficiant de toutes ces données que nous avons essayé de comprendre quelles conditions favorisent le développement des muscardines de la pyrale du riz.

CHAPITRE 1

BIOLOGIE DE *Chilo suppressalis*

Le borer asiatique du riz, *Chilo suppressalis* WALKER, est un ravageur bien connu des riziculteurs. 11 est originaire de l'Asie où il cause encore aujourd'hui des dégâts très importants, mais on le trouve également sur tous les continents.

L'abondante littérature qui lui a été consacrée depuis le début de ce siècle (BOUNIAS, 1973), permet d'avoir une bonne connaissance de la biologie, du comportement et de l'écologie de cet insecte.

C'est un Lépidoptère *Pyraloidea, Pyralidae,* de la sous-famille des *Crambinae*. Il a fait pendant longtemps l'objet de nombreuses confusions. Aussi le trouve-t-on dans la littérature sous les noms de :

Chilo simplex BUTLER
Crambus suppressalis WALKER
Chilo oryzae FLETCHER

Le nom de *Chilo suppressalis* WALKER, actuellement employé, n'a été définitivement retenu qu'en 1958.

Comme toutes les autres espèces de *Crambinae, Chilo suppressalis* est caractérisé par un important développement des palpes chez les adultes des deux sexes. Le dimorphisme sexuel n'apparaissant chez ces derniersqu'au niveau de la coloration et de la taille : les mâles sont brun foncé et généralement plus petits que les femelles colorées d'un jaune-bistre clair.

Chez les chrysalides la séparation des sexes, bien que plus difficile, peut se faire par une simple observation de l'extrémité abdominale, qui présente, selon le sexe, un dessin différent sur les trois derniers segments. 11 est évident que la vie endophyte de ce ravageur a rendu très difficiles d'abord l'étude de sa biologie, ensuite la mise au point des méthodes de lutte.

1. Les oeufs et la ponte

Dans la nature, les oeufs sont pondus par ouplaques, d'une cinquantaine d'oeufs en moyenne, sur la face inférieure des feuilles (KUWANA, 1929). Ces oeufs donnent des larves du premier stade une semaine environ après la ponte. Cette durée d'incubation a fait l'objet d'observations assez discordantes. En effet, alors que GOMEZ-CLEMENTE (1948) indique, en Espagne, un temps d'incubation de 10 à 15 jours, KATSUMATA (1934) donne au Japon des durées d'incubation de 8 jours pour les oeufs de première génération et 6 jours pour les oeufs de deuxième génération.

Signalons toutefois que, dans notre. élevage artificiel à 25°C, 90 à 100 % d'H.R. et 6 h d'éclairement sur 24, nous avons observé des durées d'incubation de l'ordre de 7 jours. Tous les oeufs ont éclos entre 5 et 8 jours.

Selon les indications de KATSUMATA, il est vraisemblable que, dans la nature, la durée d'incubation soit liée non seulement aux différentes générations du borer, mais également à la température et à l'humidité ambiantes.

En ce qui concerne les effets propres à la température sur le développement de l'oeuf, HARUKAWA et al. (1931) indiquent qu'au Japon le zéro de développement se situe à 12°C alors que GOMEZ-CLEMENTE (1948) en Espagne donne la valeur de 14°9 qui est très élevée à notre avis. L'optimum de développement est à 25-26°C.

L'humiditê est un facteur très important dont l'action est étroitement liée à celle de la température. L'oeuf se développe normalement entre 13 et 36°C lorsque l'humidité relative dépasse 70 % (DORE, 1936).

2. Les larves

Chilo suppressalis est une espèce polyvoltine, présentant en Espagne et au Japon deux générations annuelles et le plus souvent le début d'une troisième. Le développement de la larve est plus ou moins rapide selon la génération considérée. Il est de l'ordre de 36 jours en laboratoire (SATO, 1964) et de 30 à 60 jours dans la nature (GOMEZ-CLEMENTE, 1948) pour la première génération. La deuxième génération se développe dans des délais similaires alors que la troisième, qui hiverne au cinquième stade larvaire, peut avoir un temps de développement de l'ordre de dix mois.

Le nombre de stades larvaires est bien défini (KATSUMATA, 1934.) bien qu'il soit très difficile de les différencier. Dans la nature, ce nombre est de 5 à 7 en première génération et de 6 à 9 en deuxième génération.

Au niveau des trois premiers stades, qu'il est très aisé de reconnaitre, nous avons relevé dans l'élevage artificiel à 25°C des durées de 6 à 7 jours en moyenne pour chacun de ces stades.

La différenciation des stades peut se faire par la mesure de la taille des capsules céphaliques, mais il semble que la mesure des dimensions des mandibules donne de meilleurs résultats (YAGI et KATSUMATA, 1935).

La température, l'humidité ct dans une moindre mesure la lumière, agissent sur la croissance larvaire. Sur milieu artificiel, à la température de 25°C et 100 % d'HR, nous avons obtenu des durées de développement larvaire de l'ordre de 30 à 45 jours.

Le comportement des larves est aléatoire (KUWANA, 1929 ; GOMEZ-CLEMENTE, 1948 y YAMAZAKI et HATAI, 1960) et leurs réactions très variées (YAMAZAKI et HATAI, 1960 ; FUKAYA, 1955 ; SATO et MORIMOTO, 1962) bien qu'elles vivent toujours en borer dans la tige du riz.

Lorsqu'au laboratoire nous avons élevé des larves sur du riz cultivé en pots, nous avons pu constater qu'au 3ème stade larvaire presque toutes les larves ont quitté les tiges de riz. L'épuisement de la nourriture nous a semblé être le facteur déterminant de ce comportement. Un tel comportement a été observé dans la nature par les auteurs japonais. Signalons enfin l'observation de MORIMOTO (1960) selon laquelle les larves sont grégaires pendant les trois premiers stades et se dispersent aux stades suivants. Ceci nous a amené, tout en tenant compte des indications de GUENNELON (1973) sur la densité optimale des larves dans les boîtes d'élevage, à choisir le nombre de 50 individus par boîte (cf. Chapitre II).

3. Les chrysalides

Les chrysalides se forment se forment dans les tiges, les chaumes ou la paille (KUWANA, 1929 ; MUELLER, 1970), de préférence lorsque le diamètre est voisin de 4 mm (IYATOMI, 1936). La nymphose peut également se faire entre la gaine et la tige (GOMEZ-CLEMENTE, 1948).

Le développement des chrysalides est conditionné par la température et l'humidité, mais il semble selon KUWANA (1929) qu'il soit très lié à la. génération. Les chrysalides de première génération donnent des insectes parfaitsau bout de 7 à 8 jours alors que les imagos de la deuxième génération ne sortent que deux semaines après la nymphose. GOMEZ-CLEMENTE donne des temps de développement plus longs, respectivement de 10-12 jours pour la première génération et 22 jours pour la seconde.

En ce qui concerne les effets de la température sur le développement des chrysalides, HARUKAWA (1931) puis DOKE (1436) ont montré que le taux d'émergence augmente linéairement entre 1.5 et 30°C puis baisse rapidement au-dessus de 35°C. Dans ce dernier cas la mortalité est très élevée et les imagos sont souvent déformés.

Nous avons pu élever à la température de 15°C, pendant 30 jours et sans dommage apparent, des chrysalides de *Chilo suppressalis*. Ceci ralentit considérablement le développement. Signalons cependant que lorsqu'on place en pondoir des adultes issus de chrysalides qui ont subi un *tel* traitement, on constate une baisse très nette de fertilité et de fécondité.

L'humidité ne semble pas avoir une très grande influence sur le développement des chrysalides, mais en élevage artificiel on doit toujours veiller à ce qu'elle dépasse le taux de 70 % d'HR pour assurer à ces dernières les meilleures conditions de croissance.

4. Les adultes

Les papillons s'accouplent dans les heures qui suivent leur éclosion et pondent dans les 24 à 48 heures suivantes. Dans la nature, les adultes de première génération émergent en mai-juin et ceux de deuxième génération en août-septembre au Japon (KUWANA, 1929). En Espagne, GOMEZ-CLEMENTE signale un décalage des sorties, surtout pour la première génération, qui commence à voler dès le mois d'avril. Les adultes ne vivent pas très longtemps ; un maximum de durée de vie de trois semaines est indiqué par KUWANA (1929), mais il semble, selon BALACHOWSKY (1972), que celle-ci est fonction de la température.

Conclusion

Le cycle complet du *Chilo suppressalis* peut varier de 40 à 65 jours lorsqu'il s'effectue sans diapause y mais lorsqu'intervient cet arrêt de développement, l'évolution de l'oeuf à l'adulte peut durer 300 jours.

La température joue un rôle plus important que l'humidité sur le développement des différents stades. Celle-ci doit cependant se situer à un taux au moins égal à 70 % d'HR. Il est donc nécessaire de conduire l'élevage de masse dans les conditions optimales pour obtenir un cycle suffisamment court et disposer au moment voulu des lots d'insectes nécessaires aux expériences.

Les exigences du borer, telles que nous les avons décrites, recoupent celle du riz qu'il parasite et, nous le verrons ultérieurement, celles de la plupart des *Fungi Imperfecti*.

CHAPITRE II

LA TECHNIQUE D'ELEVAGE DE MASSE DE LA PYRALE DU RIZ EN LABORATOIRE

Nous avons pu constituer une souche de *Chilo suppressalis* à partir d'un élevage entretenu au Laboratoire d'Entomologie de l'IRAT-Nogent, dirigé par PI. BRENIERE, et qui est conduit selon la méthode récemment mise au point à la Station de Zoologie INRA d'Avignon (GUENNELON et SORIA, 1973). Nous adopterons, à peu de chose près, cette méthode qui, selon ses auteurs et nos propres constatations, donne d'excellents résultats pour l'élevage de masse de la pyrnle du riz.

Cette méthode permet de disposer à tout moment du nombre d'insectes voulu, au stade de développement choisi, condition nécessaire pour l'exécution des tests biologiques.

Nous avons eu à apporter un certain nombre d'adaptations dûes aux conditions particulières dans lesquelles nous avons travaillé à La Minière

A. BREF HISTORIQUE DE L'ELEVAGE DU *Chilo suppressalis*

L'élevage artificiel d'un insecte n'a d'autre but que de pouvoir disposer d'un nombre suffisamment important d'individus de l'espèce considérée afin d'en étudier soit la biologie, l'écologie et l'éthologie, soit les moyens de lutter le plus efficacement possible contre lui tout en étant libéré des contraintes posées par la culture de la plante hôte en toute saison. Les chercheurs japonais ont, dès 1952, essayé de mettre en élevage artificiel le *Chilo suppressalis* pour mieux cerner sa biologie (KANEKO et FUKAZAWA, 1952).

Les premières tentatives ne devaient pas être très concluantes et il fallut attendre les travaux de SATO (1964) pour qu'on arrive Ii élever correctement la pyrale du riz.

En ce qui concerne l'élevage sur milieu artificiel, les principaux résultats obtenus par les auteurs japonais ont été synthétisés par ISHII (1971) et KAMANO (1973). Il apparaît très clairement que les hydrates de carbone (Saccharose, glucose, fructosc) de même que 9 vitamines et 10 acides aminés sont indispensables à la croissance et au développement de la larve, Par contre, les larves peuvent se développer sur un milieu artificiel ne contenant aucun acide gras si celui-ci renferme du cholestérol.

L'orientation générale des recherches est de trouver un milieu le plus simple possible et d'un prix de revient relativement bas, mais qui puisse assurer le maintien de l'élevage pendant de nombreuses générations. C'est ainsi que KAMANO(1973) a mis au point un milieu assez simple additionné de semoule de maïs, ce qui a permis d'avoir des résultats satisfaisants comparativement aux milieux complexes utilisés jusque-là.

B. ELEVAGE DE LA PYRALE SUIVANT LA METHODE GUENNELON-SORIA

1. Elevage des adultes et ponte

Dans la nature les oeufs sont déposés de préférence sur la face inférieure des feuilles. Au laboratoire il est assez facile de faire pondre les papillons sur du papier gaufré. La cage est constituée d'une boîte parallélipipédique en matière plastique transparente de 27 x 8 x 13 cm dans laquelle on place un abreuvoir rempli d'une solution de saccharose à 5 % et muni d'un coton dentaire. De plus, les parois de ce pondoir sont tapissées du papier gaufré destiné à recevoir les oeufs.

Nous plaçons 15 à 30 couples de chrysalides sexées, 1 à 2 jours après la nymphose, dans une boîte à pilules que nous introduisons dans le pondoir place à 25°C, 16 heures de photopériode sur 24 et 80 % à 100 % d'HR. Cette solution Evite la manipulation des adultes après l'émergence. En général, un tampon de coton humide est Egalement introduit dans le pondoir pour maintenir l'hygrométrie à un niveau optimal.

Au bout d'une dizaine de jours, on échange le ruban de papier gaufre qui porte les premières pontes. On procèdera de même tous les matins jusqu'à la fin de la ponte.

a. Conditionsd'incubation des oeufs

Le ruban de papier qui porte les ooplaques est découpé en plusieurs morceaux placés dans une boîte en matière plastique tapissée au préalable d'une rondelle de papier filtre humidifié. Cette boîte est introduite dans une autre plus grande de 100 x 70 mm et le tout hermétiquement fermé. L'incubateur ainsi préparé est placé à 25°C, 80 à 100 % d'HR et 16 h sur 24 de photopériode. Dans ces conditions tous les oeufs éclosent dans un délai de 5 à 7 jours.

b. Durée de vie des adultes

Les adultes qui s'accouplent peu de temps après leur émergence, pondent dans les 24 à 48 heures. Dans les conditions d'élevage que nous avons décrites plus haut, nous avons observé des longévités de 72 heures à 7 jours.

2. Elevage des larves

Le choix de cette méthode est guidé par le souci d'utiliser un milieu simple, facile à prèparer et peu couteux.

a. le milieu d'élevage

Pour élever les larves de *Chilo suppressalis*, GUENNELON et SORIA (1973) se sont inspirés de la technique mise au point par POITOUT et BUES (1970) pour l'élevage sur milieu artificiel des larves de *Noctuidae*. Il a fallu cependant réduire la teneur en eau du milieu POITOUT pour pouvoir y élever la pyrale du riz. La formule employée se présente donc comme suit :

eau	600 ml
agar	16 g
semoule de maïs	112 g
germe de blé	28 g
levure de bière	30 g
acide ascorgique	4 g
acide benzoïque	1,20 g
nipagine	1 g
auréomycine en poudre	0,1 g

L'agar et 300 ml d'eau sont portés à l'autoclave à 110°C pendant 10-15 mm, le reste des poudres à l'exclusion de l'acide ascorbique thermolabile à plus de 50°C et de l'auréomycine est mélangé aux 300 ml d'eau restant et le tout mélangé au mixer,

L'agar autoclavé est mélangé au reste des produits ce qui abaisse fortement la température, C'est à ce moment seulement qu'on ajoute l'acide asccrbique et l'auréomycine. On coule ensuite le milieu ainsi préparé dans des boîtes en plastique transparent de 80 x 50 mm, sur une hauteur de 1 à 1,5 cm.

Les larves néonatcs sont mises en élevage sur ce milieu après avoir éliminé l'eau qui se condense sur les parois de la boîte et strié le milieu pour qu'il puisse être facilement entamé.

b. Conditions d'élevage des larves

Les larves sont élevées comme les chrysalides, les adultes et les oeufs à 25°C, 90 à 100 d'HR avec une photopériode de 16 h sur 24. Pratiquement, une fois que les L1 sont placées sur le milieu, l'élevage évolue normales, ment sans aucune manipulation jusqu'au moment de la chrysalidation. Les larves pénètrent dans le milieu d'où elles ne ressortent que pour se nymphoser. Certaines même "se laissent surprendre!' par la nymphose dans les galeries qu'elles ont creusées dans le milieu.

Si pratiquement tous les oeufs d'une même ooplaque éclosent en même temps, les larves issues de cette ponte peuvent évoluer différemment même lorsqu'elles sont élevées dans les mêmes conditions. Ceci fait que la chrysalidation s'étale sur de nombreux jours. Signalons toutefois que les premières chrysalides apparaissent dès le 28ème jour d'élevage des larves.

MORIMOTO (1960) de même que PATHAK (1969) ont indiqué que les larves sont grégaires au cours des trois premiers stades et se dispersent aux stades suivants. L'isolement des larves aux premiers stades tout comme leur rc-, groupement aux derniers, entraine une forte mortalité, Ces observations nous ont amené contrairement à GUENNELON et SORIA (1973) qui élèvent les larves par groupe de 30 dans les boîtes rondes 80 x 50 mm, à faire des lots de 50 à 70 aux premiers stades et de 25 au maximum aux stades plus avancés. Un tel procédé donne de bons résultats mais nous oblige à manipuler les larves.

c. Conditions de chrysalidation

Les premières chrysalides apparaissent au bout de 28 à 30 jours après la mise en élevage des larves néonates.

Les larves âgées, comme du reste les jeunes chenilles, manifestent un géotropisme négatif très important. De plus on peut remarquer un certain cannibalisme des larves du dernier stade vis à vis des premières chrysalides formées et des larves malades ou blessées.

On place à la partie supérieure d'une boîte ronde (100 x 70 mm) un ruban de papier gaufre et on dépose dans cette dernière la petite boîte de 80 x 50 mm contenant 25 larves âgées. La boîte de nymphose hermétiquement fermée est placée dans les conditions optimales de 25°C, 16 h de photopériode star 24 et 80 à 100 % HR. Les larves qui grimpent le long de la paroi se nymphosent dans les cannelures du papier. Les chrysalides sont prélevées tous les 2 jours et mises en élevage dans les pondoirs dans les conditions décrites plus haut.

C. CONCLUSIONS

Le cycle complet du *Chilo suppressalis*, élevé dans les candi-, tions que nous avons décrites, est de l'ordre de 45 à 70 jours. Il est par con séquent beaucoup plus long que celui des noctuclles élevées sur le même milieu par POITOUT, GUENNELON et SORIA l'ont déjà constaté.

Nous avons pu maintenir de façon acceptable l'élevage du borer sur milieu artificiel mais nous avons également essaya de l'élever parallèlement sur riz cultivé en pot. Il est bien évidemment plus difficile de maintenir ce dernier élevage du fait d'une forte mortalité larvaire au premier stade et du fait aussi d'un plus grand nombre de manipulations nécessaires.

Le phénomène de consanguinité ne s'est pas posé à nous bien qu'il soit à redouter comme dans tout élevage de masse. KAMNO et FUKAYA (1964) proposent l'élevage de souches parallèles alors que GUENNELON et SORIA (1973) pensent qu'il faut capturer de temps à autre des papillons dans la nature pour maintenir le potentiel génétique de la souche. Nous avons, quant à nous, compte tenu de notre situation particulière, préféré partir d'une souche très impor- tante (environ 5000 larves) pour éviter les accidents de l'inbreeding.

C'est ainsi que nous sommes arrivés à produire la "quantité" d'insectes que nous avons voulu pour entreprendre les tests biologiques sur la pathogénicité des champignons entomopathogènes (Deutéromycètes) pour le *Chilo suppressalis*.

CHAPITRE III

ETUDE DE LA SENSIBILITE DU *Chilo suppressalis* AUX *Fungi Imperfecti*

A. APERÇU BIBLIOGRAPHIQUE SUR LES MALADIES DU *Chilo suppressalis*

Comme pour les autres insectes, les pullulations des populations naturelles de la pyrale du riz peuvent être limitées par les parasites et pathogènes qui colonisent le même biotope.

C'est ainsi que des Protozonoses (NICKEL, 1964), des Viroses (TANADA, 1965), des Bactérioses (HIRANO, 1964 ; YASUMATSU, 1968) et des Mycoses (TATEISHI, 1951 et 1955 ; MORIMOTO, 1959 ; RAO, 1964) ont été signalées sur le *Chilo suppressalis*.

En dehors des mycoses, aucune de ces maladies n'a fait l'objet d'études très approfondies. Et, de toute façon, il n'y a pas encore, du moins à notre connaissance, d'utilisation d'un microorganisme pathogène dans la lutte biologique contre la pyrale du riz.

En ce qui concerne les mycoses, de nombreux exemples ont déjà été signalés surtout par les auteurs japonais qui ont beaucoup étudié le *Chilo suppressalis*. TATEISHI remarque, dès 1951, les attaques d'un *Cordyceps* sur la pyrale du riz et en 1955, celles de l'*Aspergillus flavus* et d'un *Spicaria*. Il semble cependant que les plus grands ravages sont causés aux larves hivernantes du borer par l'*Isaria* * *farinosa* (KAMANO et INOUE, 1955). Les modalités d'attaque de la pyrale par ce champignon appelé "yellow muscardine disease" sont sous le contrôle de nombreux facteurs parmi lesquels la température (WADA, 1957). TATEISHI et MURATA (1955) ont trouve que dans la nature l'*Isaria farinosa* pouvait provoquer des épizooties qui entrainent une mortalité de 100 %.

Un rôle important dans la limitation des pullulations du *Chilo suppressalis* est attribua à l'*Oospora destructor* * qui, semble-t-il, résiste bien aux insecticides de syntbès e organophosphorés et organochlorés (MORIMOTO, 1959) Cette espèce peut donc être intéressante dans le cadre d'une opération de lutte intégrée.

---

* Le genre *Isaria* correspond dans la nouvelle classification des Deutéromycètes de SACCARDO au genre *Paecilomyces (Isaria farinosa = Paecilomyces farinosus)*, et dans cette même classification l'espèce *Oospora destructor* devient *Metarrhizium anisopliae*.

En 1964, RAO découvre en Inde, dans la nature, des attaquas de *Beauveria bassiana* sur le *ChiZo suppressalis*. RAO indique en outre que le *Cordyceps* affecte plutôt le *Tryporyza incertulas*, alors que ce genre fut le premier signalé sur la pyrale.

Signalons enfin l'étude de KOIDSUMI (1957) qui a procédé à des contaminations des larves du borer du riz avec des spores de *Beauveria bassiana* et d'*Aspergillus flavus*. Il a pu montrer que les lipides cuticulaires des larves de *ChiZo suppressalis* avaient un effet inhihiteur très net sur la formation et la germination des spores et sur la croissance mycélienne. Une telle idée n'est pas partagée par de nombreux auteurs car nous verrons qu'il est possible de contaminer les larves avec des suspensions de spores par simple pulvérisation.

B. ESSAIS PRELIMINAIRES SUR LA SENSIBILITE DE *ChiZo suppressalis* AUX DEUTEROMYCETES

L'élevage du *Chilo suppressalis* tel que nous l'avons décrit plus haut, permet de réaliser les tests biologiques nécessaires en vue de choisir un biotype très virulent pour les études ultérieures.

Il est établi depuis longtemps déjà (PAILLOT, 1933 ; 'FERRON, 1966 ; VAGO, 1959) que l'infection des insectes par les champignons entomopathogènes se fait essentiellement par voie tégumentaire. Cependant le tégument de l'insecte constitue pour le champignon un obstacle qu'il faut franchir. Les 'blessures naturelles (VAGO, 1959) comme l'abrasion artificielle du tégument (FERRON, 1966) facilitent l'infection des larves d'insectes par les 'mycoses. KOIDSUMI (1957) pense que ce sont les lipides cuticulaires qui jouent le plus grand rôle dans la défense de l'insecte contre cette infection.

WADA (1957) et OHO et al. (1961) ont montré que les larves hivernantes (au stade L5) de *ChiZo suppressalis* sont très sensibles à l'*Isaria farinosa* et aussi au moment de la prénymphose, du fait de l'état physiologique des larves.

Mous avons essayé de tenir compte de tous ces travaux, en traitant, pendant les essais préliminaires, à la fois des chrysalides et des larves âgées, au dernier stade larvaire L5 , L6 ou L'7 (les conditions d'élevage de la pyrale ne lui permettent pas d'entrer en diapause).

Nous avons retenu le mode de contamination par pulvérisation du tégument compte tenu des commodités qu'elle présente.

1. Matériel et méthode

Nous traitons à la fois des chrysalides et des larves âgées. Les chrysalides sont prélevées de l'élevage tous les deux jours. Par conséquent les chrysalides utilisées pour l'expérimentation sont âgées de 24 à 48 heures. Les larves, quant à elles, sont choisies en moyenne 30 jours après leur mise en élevage au stade L1. Un ne retient que des larves qui sont apparemment dans le même état physiologique et qui n'ont pas encore commencé la mue prénymphale.

Pour ce qui concerne les champignons, nous avons utilisé des souches de la mycothèque de la Station INRA de Lutte biologique de La Minière. Ces souches appartiennent toutes aux espèces suivantes : *Beauveria bassiana* (BALS.) WILL. ; *B. tenella* (DELACR.) SIEM. ; *Paecilomyces farinosus* (DICKS) BROWN et SMITH ; P. *fumoso-roseus* WIZE ; *Spicaria rileyi* FARLOW et *Metarrhizium anisopliae* (METSCH) SOR.

Nous retrouvons ici toutes les espèces dont le parasitisme a déjà été signale sur le *Chilo suppressalis*. Hais les souches utilisées n'ont pas toutes été isolées de la pyrale du riz tel que le montre le tableau 1. Ces différents biotypes sont multipliés dans les mêmes conditions au laboratoire et la mise en suspension et le traitement ont été effectués au bout du 14ème jour de culture sauf pour les deux souches de *Spicaria rileyi* qui sc cultivent mal. Pour ces deux dernières souches il nous a fallu attendre un mois de multiplication pour avoir une suspension titrant plus de 10^7 spores/ml avec un tube à essais.

TABLEAU n° 1 : Biotypes de Deuteromycètes étudiés.

Biotype testé	Hôte	Origine	Date isolement
Beauveria bassiana			
n° 34	Chilo suppressalis	IRAT - Nogent	?
n° 40	"	La Minière	1972
n° 5s	Diatraea saccharalis	Cuba	1972
n° 28	Doryphore	Versailles	avril 1971
n° 58	"	Pologne	sept. 1973
n° 32	"	Versailles	mars 1973
Beauveria tenella			
n° 6	fi. melolontha	Sarthe	octobre 1964
?aecilomyces farinosus			
n° 15	Cirphis unipuncta	Saint Palais	26 oct. 1973
P. fumoso roseus			
n° 12	Mamestra brassicae	La Minière	décembre 1972
tfctarrhizium anisopliae			
n° 71	Doryphore	La Minière	août 1972
n° 60	Noctuelle	?	octobre 1971
Spicaria rile i			
n° 3	Mamestra brassicae	La Minière	?
n° 1	Prodenia litura	Bouaké	4 juin 1969

2. Expérimentation et traitement du matériel biologique

a. préparation de la suspension entomopathogène

Les spores du champignon multiplié sur milieu synthétique sont récoltées au bout de 14 jours et mises en suspension dans de l'eau à 2 °/₀₀ de novémol. La suspension ainsi préparée est vigoureusement agitée avec des billes de verre pendant une dizaine de minutes pour disperser les spores et homogénéiser le mélange. Le novémol qui est un dialkyl sulfosuccinate de sodium joue ici un rôle de mouillant. Il est sans action insecticide, bactéricide, phytocide ou fongicide.

La suspension-mère étant préparée, on compte le nombre de spores par millilitre de suspension en utilisant l'hématimètre de Malassez. On opère au préalable une dilution par 100 fois de la suspension-mère. Dans ces conditions, le nombre de spores par millilitre de suspension-mère est donné par la formule suivante :

$$PJ = \frac{\text{nb de germes comptés à la cellule}}{\text{nb de grands carrés comptés}} \times \text{dilution} \times c$$

où $c = 10^5$ = constante de la cellule.

Signalons que le laboratoire s'est doté récemment d'un compteur électronique de particules qui donne directement la quantité de spores par millilitre de suspension, augmentant d'une part la précision des comptages (erreur systématique pouvant atteindre 20 % dans le cas de l'hématimètre et seulement 1 à 2 % à l'aide du compteur électronique) et réduisant considérablement le délai consacré aux comptages, d'autre part.

Connaissant la quantité de spores par millilitre de suspension-mère, il ne reste plus qu'à opérer les dilutions nécessaires pour obtenir des suspensions aux doses voulues.

Nous avons traité les larves et les chrysalides avec trois doses différentes : 10^6 spores/ml, dose faible : 10^7 spores/ml, dose moyenne ; 10^8 spores/ml dose forte.

b. traitement du matériel biologique

Le traitement par pulvérisation des larves et des chrysalides est effectué à l'aide de la tour mise au point par BURGERJON (1956) (fig. n° 1) pour tester des préparations entomopathogènes principalement à base de *Bacillus thuringiensis* BERLINER. Cette tour répond 3 des exigences propres aux préparations insecticides biologiques et à leur manipulation. Elle assure une dispersion homogène et laisse un dépôt d'une quantité bien connue (5 mg de produit/cm2 pour 10 ml de solution pulvérisée) sur le matériel traits..

La pulvérisation s'effectue par entrainement à l'aide d'un courant. d'air comprimé, Le liquide aspiré dans le flacon sort en brouillard du bec pulvériseur, il est brassé dans l'atmosphère de la tour et vient se déposer sur les larves ou les chrysalides. L'air pollué est ensuite brûlé nvant d'être évacué à l'extérieur.

Nous préparons pour chacune des doses ci-dessus indiquées, une suspension de 10 ml. avec laquelle nous traitons les larves ou les chrysalides déposées sur le fond d'une boîte de Pétri qui est posée sur le disque rotatif (33 tours/minute).

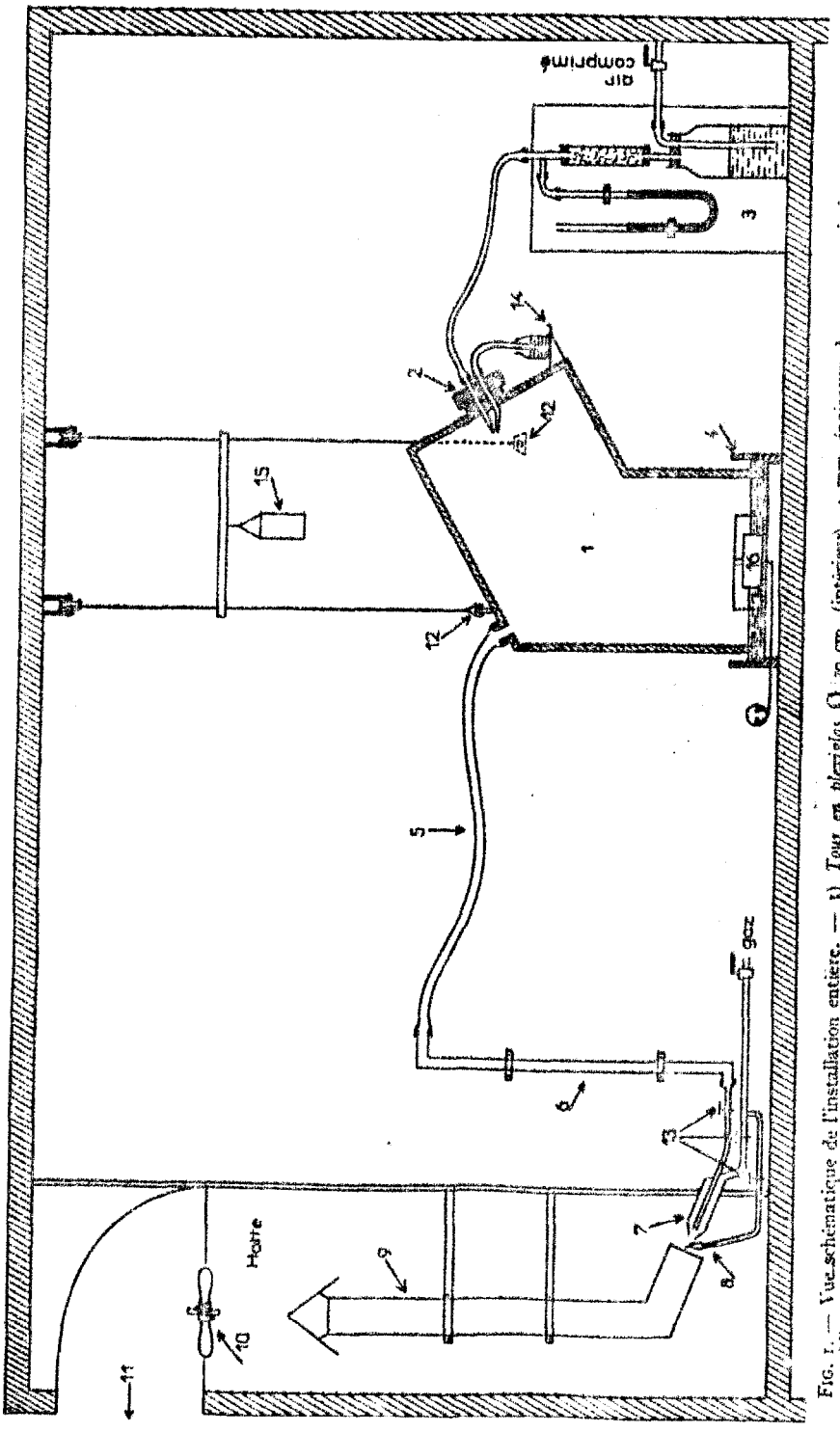


FIG. 1. — Vue schématique de l'installation entière. — 1) *Tour en plexiglas* (1 30 cm. (intérieur), 4 mm épaisseur, hauteurs verticales : 476 et 295 mm, hauteurs obliques : 450 et 250 mm. — 2) *Bec pulvérisateur* : bouchon en plexiglas pouvant se visser dans la tour ; l'étanchéité est assurée par un joint en caoutchouc. Dans ce bouchon se trouvent deux tubes de verre : l'un laissant passer l'air comprimé et l'autre aspirant le liquide à pulvériser. — 3) *Ensemble de filtration* de l'air comprimé et *manomètre* (filtration à travers de l'eau et une colonne de coton hydrophile). — 4) *Canette* remplie d'eau ou d'un bactéricide non volatil et disque rotatif propulsé par un petit moteur électrique. — 5) *Tuyau flexible* de 20 mm de diamètre intérieur, évacuant l'air pollué et permettant le mouvement de haut en bas et vice-versa de la tour. — 6) *Tuyau rigide* de 20 mm de diamètre. — 7) *Chalumeau à gaz* dont le tuyau intérieur de 10 mm de diamètre laisse passer l'intérieur de la tour l'oxygène nécessaire pour une bonne combustion du gaz et fait brûler en même temps les germes pathogènes. — 8) *Veilleuse*. — 9) *Tuyau de toile* guidant la chaleur dégagée par la flamme. — 10) *Ventilateur*. — 11) *Ouverture* faisant communiquer la hotte et l'extérieur. — 12) *Crochets* de suspension de la tour. — 13) 3 *robinets* de diverses conduites. — 14) *Plateau* permettant de poser le flacon contenant la préparation à pulvériser. — 15) *Contrepoids* (flacon en polyéthylène rempli de plombs de chasse). — 16) *Moteur* (tourniquet).

Mous avons donc réalisé tous les tests par contamination directe des larves comme des chrysalides. Les chenilles du dernier stade larvaire prélevées au moment où elles quittent le milieu nutritif d'élevage pour préparer leur chrysalidation ne s'alimentent pratiquement plus et n'entrent donc plus en contact avec la nipagine contenue dans ce milieu.

c. élevage des insectes traites

Les chrysalides traitées sont mises en élevage pendant 48 h à 20°C, 90-100 % d'HR et 16 h sur 24 de photopériode.

Les larves sont également élevées dans ces conditions et en plus elles sont privées de nourriture pendant 24 heures.

Au bout de ces 48 heures les larves comme les chrysalides sont ramenées aux conditions normales d'élevage à 25°C, 90-100 % d'HR et 16 sur 24 heures de photopériode. Dans ces conditions les premières mycoses commencent à apparaître au bout du 5e-6e jnur.

d. analyse des résultats

Il n'est pas facile de déterminer la mort de l'insecte surtout pour les chrysalides. Lorsqu'elles sont en vie, elles répondent aux stimuli par des mouvements de la partie postérieure de l'abdomen ; mais l'intensité des mouvements diminue avec l'âge de la chrysalide. L'absence totale de mouvements ne peut donc pas présupposer la mort chez la chrysalide.

Pour ce qui concerne les larves, le point de vue de BEARD (in SHEPARD, 1960) peut être retenu : "La mort peut être très difficile à déterminer, mais très communément on considère que l'absence de mouvement, particulièrement une réponse négative aux stimuli chimiques et lumineux ainsi qu'à la chaleur, indique la mort.". Nous avons pour notre part considéré comme mortes les larves qui ne répondent plus à aucune stimulation tactile et les chrysalides qui, tout en restant immobiles présentent un ratatinement dc leur partie antérieure (photo 1) au lieu d'une distension de la partie abdominale {signe de l'émergence imminente du papillon).

Dans aucun des cas étudiés, le traitement n'a provoque une mortalité immédiate de l'ensemble des insecte:; du lot. Beaucoup d'insectes sont tués dans les stades qui ont suivi le traitement et nous avons ainsi été amené à continuer la lecture des essais jusqu'à l'émergence des imagos issus des survivants.

Lorsque l'insecte mort est bien tué par le champignon, la mise en incubation du cadavre provoque la sortie du mycélium qui fructifie, Quelquefois, après manifestation des symptômes d'une infection par le champignon (milanisation), l'individu mort présente un faciès de septicémie. Dans ce cas une observation complémentaire de l'hémolymphe de l'insecte révèle en général la présence de blastospores (formes de multiplication du champignon dans la cavité hoemocélienne) qui attestent le franchissement par le champignon de la /par barrière tégumentaire. Il y a enfin mort/septicémie, uniquement, lorsqu'on ne peut déceler la présence de ces blastospores sur un cadavre présentant un faciès de septicémie.

Tout ceci atteste la difficulté qu'il y a à déterminer la mort. Mais l'homogénéisation maximale du matériel aussi bien entomologique que fongique, l'utilisation de critères d'étude bien éprouvés et l'emploi de techniques sûres peuvent limiter les erreurs.

Photo n° 1 : Chrysalides mortes de *Beauveria bassiana*. On voit bien que le mycélium du champignon ressort en premier lieu des orifices naturels (stigmates)

Photo n° 2 : Coplaque de *Chilo suppressalis* parasitée par *Beauveria bassiana*. Les oeufs attaqués changent de couleur et virent au rose. Le mycélium du champignon commence à sortir des oeufs.

3. Résultats préliminaires

Les résultats obtenus après traitement des larves et des chrysalides tels que les présentent les tableaux 2 et 3 permettent de constater que la réponse du *Chilo suppressalis* aux différentes souches de Deutéromycètes étudiées est très variable.

Il se dégage nettement que toutes les souches de *Beauveria bassiana* éprouvées, les souches de *Metarrhizium anisopliae*, ainsi que la souche de *Paecilomyces fumoso-roseus* provoquent une mycose chez *Chilo suppressalis*. La souche de *Beauveria tenella* n° 6, les souches de *Spicaria rileyi* n° 3 et n° 1 ainsi que celle de *Paecilomyces farinosus* n° 15 n'ont pu infecter la pyrale dans les conditions de l'expérience.

Lorsqu'on traite les larves ou bien les chrysalides, on observe, non seulement au stade larvaire ou nymphal traité, mais également aux stades ultérieurs du développement de l'insecte (prénymphal, nymphal, imaginal), une mortalité par mycose due au champignon utilisé. Cette constatation pose en même temps le problème de la mortalité différée déjà étudié par FARGUES (1972) et celui de la contamination des adultes que nous examinerons plus loin.

Une représentation sous forme d'histogramme des résultats du tableau 2 donne (figure 2) la mortalité totale et la mortalité par type de mycose mesurées pour les différentes souches de champignon sur larves à la dose de 1.10^7 spores/millilitre.

On peut constater que pour ce qui concerne la mortalité par mycose, les souches *Metarrhizium anisopliae* 71 et *Beauveria bassiana* 28 donnent les meilleurs résultats sur larves, avec 75 % la mortalité environ. Cependant, du point de vue de la mortalité totale, la souche *M. anisopliae* 71 permet d'obtenir un pourcentage de 90 %.

L'examen du tableau 2 montre que la souche *B. bassiana* 28 qui ne donne que 27,5 % de mortalité sur larves au stade larvaire provoque 30 % de mortalité au stade imaginal alors que la souche *M. anisopliae* 71 qui entraine 40 % de mortalité larvaire ne tue aucun adulte. Ceci traduit le fait que la mortalité différée est nettement plus forte chez la souche *B. bassiana* 28, ce qui peut jouer dans la nature un rôle non négligeable dans la dissémination du germe pathogène. En effet les papillons infectés qui s'envolent peuvent disperser le champignon, c'est là un aspect qui ne doit pas être sous estimé dans l'écologie du germe, surtout lorsqu'on envisage son utilisation dans des opérations de lutte biologique ou de lutte intégrée.

Examinons maintenant le tableau 3 qui indique les résultats globaux du traitement des chrysalides avec les différentes souches et la figure 3 qui dégage l'importance de la mycose en séparant la mortalité au stade adulte et la mortalité totale par le champignon. On peut observer une mortalité différée au stade adulte au niveau de toutes les souches de *B. bassiana* et de *Metarrhizium anisopliae*, mais dans tous les cas cette mortalité est plus importante avec *Beauveria* qu'avec *Metarrhizium*.

Paecilomyces fumoso-roseus qui provoque une mortalité de l'ordre de 86,7 %, ne tue aucun adulte les papillons n'ayant pas le temps d'éclore. La mortalité totale par mycose est la plus élevée avec la souche *M. anisopliae* 60 mais cette souche ne provoque que 10 % de mortalité différée

sur adultes. Pour les souches de *Beauveria*, *B. bassiana* n° 28 et *B. bassiana* n° 34 donnent les plus importantes mortalités par mycose. Ces deux souches permettent d'obtenir des résultats très proches sur l'ensemble de l'expérience mais il faut remarquer que la mortalité au stade larvaire est de l'ordre du double chez la souche *B. bassiana* n° 28 par rapport à la souche *B. bassiana* n° 34 qui pourtant a été isolée de la pyrale.

Les remarques que nous faisions plus haut sur la dissémination du germe pathogène sont ici aussi valables. Rappelons que le stade chrysalide est immobile et dans le cas de *Chilo suppressalis* se déroule la plupart du temps comme chez les larves à l'intérieur de la tige du riz ou des pailles. Il ne sera donc pas indifférent de choisir une souche qui permette à la majeure partie de la population infectée de passer ce stade.

Si nous comparons les résultats obtenus sur larves et ceux observés sur chrysalides, nous constatons de façon générale que les nymphes sont plus sensibles aux champignons que les larves. *Metarrhizium anisopliae* 60 qui donne 93 % de mortalité sur chrysalides et 73 % de mortalité sur larves ne provoque que 10 % de mortalité différée sur adultes lorsqu'on traite les nymphes et 13 % de mortalité nymphale sans aucune mortalité imaginale lorsqu'on traite les larves. *Paecilomyces fumoso-roseus* n° 12 qui entraine 100 % de mortalité totale avec 86 % de mortalité par mycose sur chrysalides, ne permet d'obtenir que 65 % de mortalité par mycose à la suite d'un traitement larvaire compte tenu des 50 % tués aux stades larvaire et nymphal. *B. bassiana* n° 28, *M. anisopliae* n° 71 et *M. anisopliae* n° 60 paraissent donner la réponse la plus stable sur les deux types d'expérience ; mais *M. anisopliae* 71 présente sur chrysalides une mortalité différée deux fois moins importante que *B. bassiana* n° 28 ; *M. anisopliae* 60 laisse apparaître le même désavantage. Compte tenu de l'origine subtropicale de *Chilo suppressalis* et des aptitudes de *Metarrhizium anisopliae* aux conditions thermiques élevées, le parasitisme légèrement supérieur des souches de *Metarrhizium* par rapport à celles de *Beauveria* traduit éventuellement une certaine logique écologique.

Mais la plus grande aptitude de *B. bassiana* n° 28 à provoquer une mortalité différée sur les stades ultérieurs quel que soit le niveau du traitement, les récents progrès dans la production semi industrielle des germes du genre *Beauveria* (CATROUX et al., 1970 ; PRISTAVKO et GORAL, 1966 TELENGA et GORAL, 1966 ; GORAL, 1971 ; ALIOSHINA et al., 1970) ouvrant la voie à une possibilité d'utilisation plus proche, nous ont amenés à retenir la souche *Beauveria bassiana* n° 28 pour la suite de ce travail.

La souche ainsi choisie sera repassée sur insecte chaque fois que le besoin s'en fera sentir pour en maintenir la virulence (LEPESME, 1938 ; KAWAKAMI, 1960), elle donne alors la souche *Beauveria bassiana* n° 28 A

TABLEAU n° 2 : Mortalité comparée sur larves en fonction des différentes souches étudiées : résultats exprimés en pourcentage.

Souches		nombre de larves	Mortalité larv. mycose	Mortalité larv. septicé.	Nb chrysalides formées	Mort. nymphale mycose	Mort. nymphale septicé.	Nb IP éclos	Mort. imaginale par mycose	Mort. par mycose	Mortalité totale
Beauveria bassiana	40	30	0	36,6	73,4	23,3	16,6	23,3	16,6	40	93,2
" "	55	20	10	0	90	20	5	65	0	30	35
" "	34	20	25	0	75	15	0	60	0	40	40
" "	28	40	27,5	2,5	70	17,5	0	52,5	30	75	77,5
" "	32*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
" "	58*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
M. anisopliae	60	30	60	6,6	33,4	13,3	6,6	13,3	0	73,3	86,5
" "	71	20	40	10	50	25	10	15	0	75	95
Paecilomyces farinosus	15	30	0	40	60	0	20	40	0	0	60
P.fumoso roseus	12	20	25	0	75	25	5	45	15	65	70
Spicaria rileyi	3	20	0	10	90	0	20	70	0	0	30
" "	1*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Beauveria tenella	6*	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

* Souches non essayées sur larves

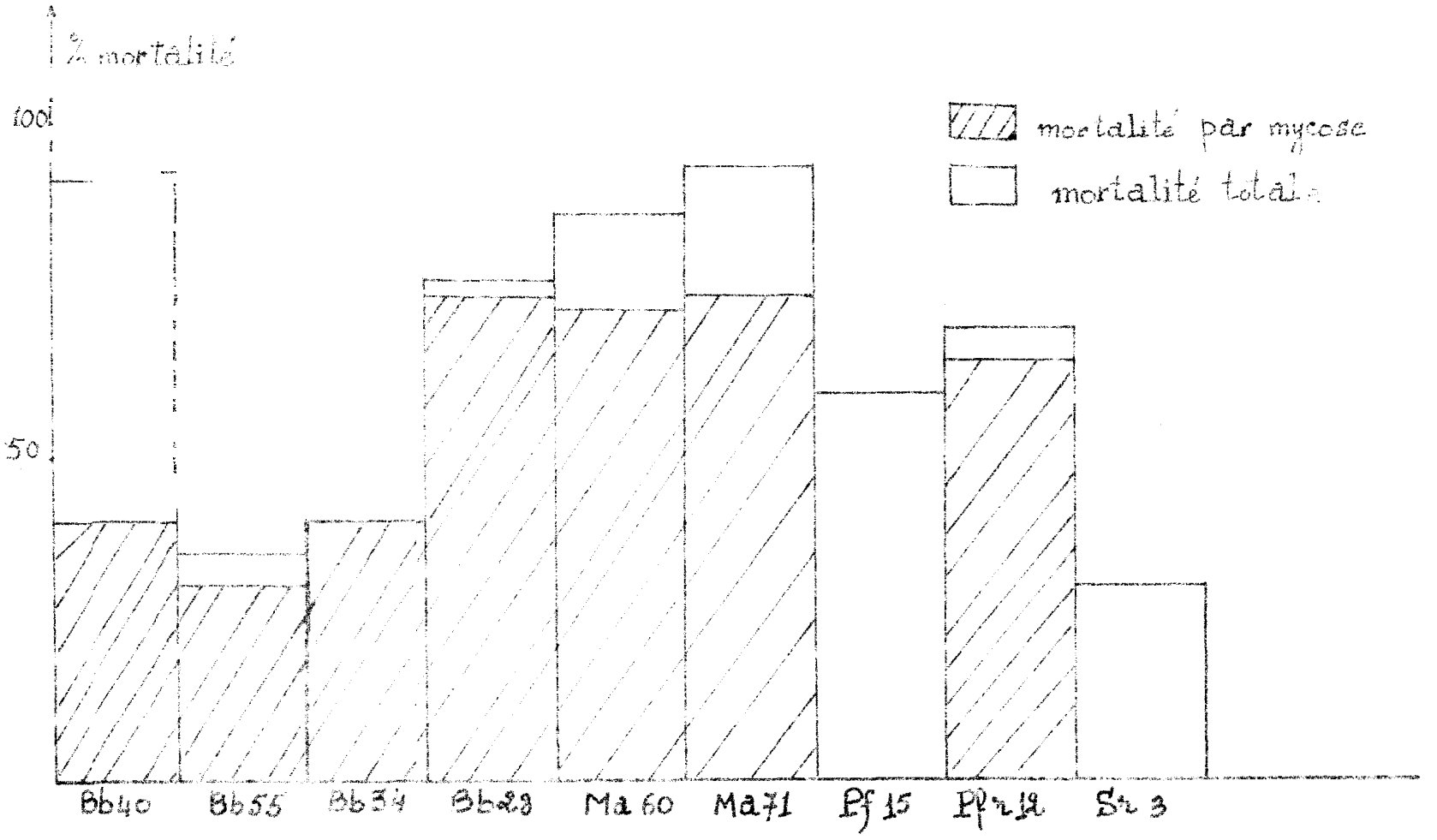


fig. 2 - Mortalités totale et par mycose enregistrées avec différentes souches d champignon sur larves traitées à 10^7 sp./ml.

TABLEAU 3 : Mortalité comparée sur chrysalides en fonction de différentes souches de champignon : pourcentages obtenus aux différents niveaux.

Souches	Nb de chrys.	Mort. nymphale % mycose	Mort. nymphale % septicémie	Nb IP éclos %	Mort. imagin. mycose %	Mort.tot. par mycose %	Mortalité totale en %
B.bassiana 58	20	30	10	60	40	70	80
B.bassiana 28	30	16,7	0	83,3	70	86,7	86,7
B.bassiana 40	30	10	6,7	83,3	53,3	63,3	70
B.bassiana 32	30	16,7	6,7	76,7	60	76,7	83,3
B.bassiana 34	30	13,3	0	86,7	73,3	86,7	86,7
B.bassiana 55	30	10	3,3	86,7	33,3	43,3	46,7
B. tenella 6	30	0	10	90	0	0	10
S. rileyi 1	30	0	26,7	73,3	0	0	26,7
P. farinosus 15	30	0	23,3	76,7	0	0	23,3
P. fumoso-roseus 12	30	86,7	13,3	0	0	86,7	100
M. anisopliae 71	20	55	10	35	30	85	95
M. anisopliae 60	30	83,3	6,7	10	10	93,3	100
S. rileyi 3	30	0	26,7	73,3	0	0	26,7

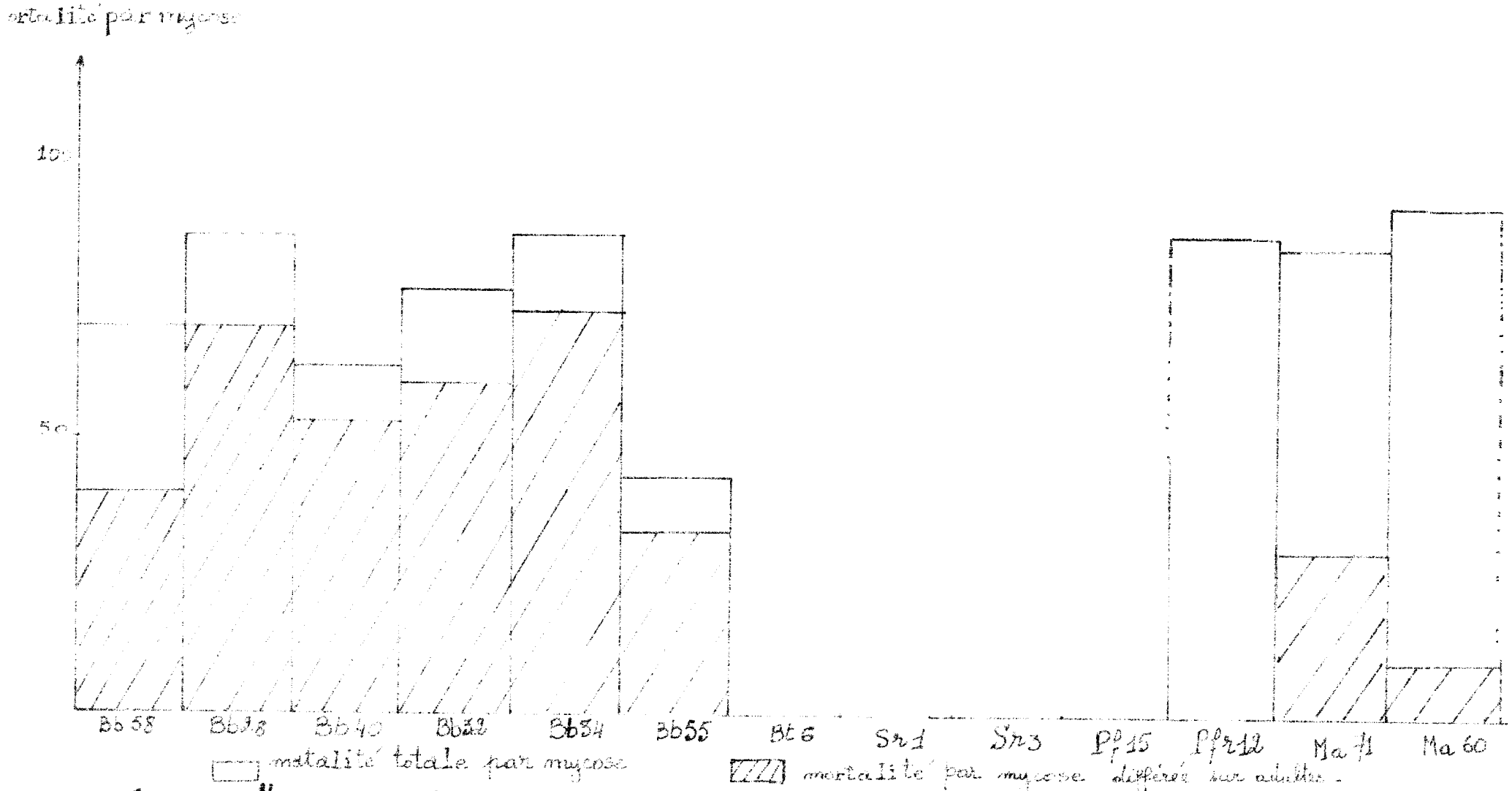


fig. 3. Mortalités totale et différée sur adultes par mycose observées avec différentes souches de champignon à la suite d'une contamination directe par pulvérisation des chrysalides à la dose de 1.10^7 spores/ml.

C. LA MYCOSE A *Beauvetia bassiana*

Les mycoses sont des maladies d'origine cryptogamique. Les champignons entomopathogènes appartiennent tous aux quatre classes suivantes. Phycomycètes, Ascomycètes, Easidiomycètes et Deutéromycètes ou *Fungi Imperfecti* (STEINHAUS, E.A., 1949). La plupart des mycoses sont cependant dûes aux Coelomomyces, Entomophthorales et *Fungi Imperfecti* (HURPIN, 1973). Les spectres d'hôtes de ces groupes sont très variables d'un groupe à l'autre et au sein d'un même groupe, d'une espèce fongique à l'autre, nous venons d'en voir un exemple.

Les mycoses causées par certains Deutéromycères tels que *Beauveria bassiana, Metarrhizium anisopliae*, etc. . . , sont communément appelées muscardines. Ce nom a été donné à la maladie par les sériciculteurs italiens qui parlaient de "moscardino" et français qui eux parlaient de "muscardine" pour désigner la mycose à *Beauvetia bassiana* du ver à soie. Le terme muscardine, désigne aujourd'hui aussi bien le champignon que la maladie.

Avant d'examiner les autres résultats que nous avons obtenus, nous aurons' à préciser certains, points qui vont nous permettre de mieux connaitre l'espèce *Beauveria bassiana pue* nous utilisons dans nos tests.

1. Historique

Il n'est pas très étonnant que les muscardines aient été les premières maladies du ver à soie à être connues du fait qu'elles sont très facilement reconnaissables. La momie blanche en laquelle la larve se transforme est très remarquable et les premiers sériciculteurs étaient en mesure d'en détecter très vite la présence. De nombreuses hypothèses ont été émises par BOISSIER des SAUVAGES (1763), NYSTEN (1808), DANDOLO (1825) (cités par STEINHAUS, 1949) pour tenter d'expliquer la maladie.

11 faudra attendre 1835-39 pour que BASSI de LODI démontre qut la maladie du ver à soie est dûe à un champignon qui se multiplie dans et sur le corps de l'insecte. C'est une maladie contagieuse et parasitaire.

BALSAMO a été le premier à décrire ce champignon sous le nom de *Botrytis bassiana.*

BEAUVERIE (1911-1914) l'a étudié en la comparant à une autre espèce très proche (*Botrytis effusa*)découverte sur le ver à soie,et a montré que les deux espèces possèdent des propriétés communes et indiqué la nécessité de créer un genre différent pour ces espèces.

En 1912 VUILLEMIN qui, en 1910, s'était occupé de modifier la classification des Hyphomycètes (*Fungi Imperfecti*), créa *Le* genre *Beauveria* en hommage à BEAUVERIE et dans lequel l'espèce *bassiana* devenait le type.

C'est pour cela qu'en conformité avec l'usage actuel, le champignon responsable de la muscardine blanche du ver à soie et de près de 500 autres espèces d'insectes est dénommé *Beauvetia bassiana* (BALSAMO) VUILLEMIN.

Cette espèce possède donc un spectre d'hôtes très large mais la sensibilité du *Chilosuppressalis* à ses attaques n'a Cté signalée qu'en 1964 par RAO.

De nombreuses études qui ont déjà été réalisées ont permis de préciser les principales caractéristiques de ce cryptogame.

2. Caractéristiques de *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana est certainement l'espèce de champignon entomopathogène la mieux connue. Elle est cosmopolite et s'attaque à un très grand nombre d'espèces d'insectes, nous l'avons déjà signale.

Ses caractéristiques morphologiques et physiologiques ont été étudiées aussi bien en culture que dans la nature.

C'est un champignon qui se cultive bien à une température optimale de l'ordre de 25-28°C sur de nombreux milieux artificiels. Il produit une croissance franche, avec formations de spores au bout de 3 à 7 jours (STEINHAUS, 1949). Lorsque la *spore* est placée dans un milieu humide, elle germe en 24-48 heures et émet un ou plusieurs tubes germinatifs cloisonnés

L'humidité tout comme la température jouent un rôle important dans le développement du *Beauveria bassinna.*

En étudiant l'effet des facteurs abiotiques sur l'efficacité du *Beauveria bassiana* et du *Metarrhizium anisopliae* comme agents de lutte biologique contre le charançon *Hylobius* pales, WALSTAD et al. (1970) indiquent que ces champignons ont besoin de 92,5 % d'HR au moins à des températures qui se situent entre 15 et 35°C pour que croisse le mycélium et se forment les spores, enfin que celles-ci germent. L'optimum de croissance du mycélium, de germination des spores et de sporulation se situe selon ces mêmes auteurs à 100 % d'HR entre 25 et 30°C. WALSTAD et al. (1970) ont donné une représentation graphique de l'effet de la température sur la germination des spores de *B. bassiana* (voir fig. 4).

Il faut remarquer qu'en 1927, ARNAUD, étudiant les mêmes problêmes, indiquait que le *B. bassiana* se développe entre 6 et 40°C et que son optimum de développement se situe à 27°5.

Dans la nature, la longévité des conidies est plus ou moins limitée par de nombreux facteurs extérieurs notamment la température.

STEINHAUS (1960) pense que cette longévité des conidies dépend aussi bien de la température que des souches du cryptogame.

WALSTAD et al. ont observé l'évolution du pouvoir germinatif des spores dans le temps, *en* considérant 2 températures différentes (voir figure 5).

Ces conditions de développement du *Beauveria bassinna,* recoupent pratiquement celles du *Chilo suppressalis* et c'est sans doute ce qui explique les possibilités de rencontre de l'hôte avec son parasite. Le parasitisme du *Beauveria bassiana* sur la pyrale du riz est donc très possible et nous allons examiner les facteurs qui influent sur la pathogénicité de la souche *Beauveria bassiana* n° 28 sur le *Chilo suppressalis.*

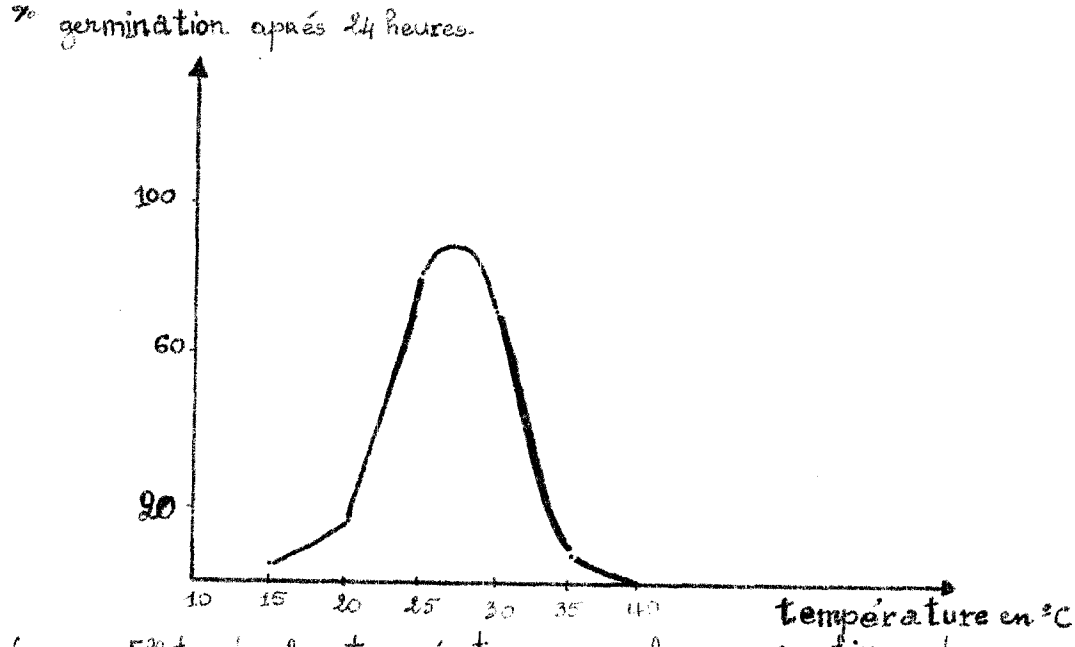


fig 4. Effet de la température sur la germination des spores de Beauveria bassiana (d'après WALSTAD et al., 1970)

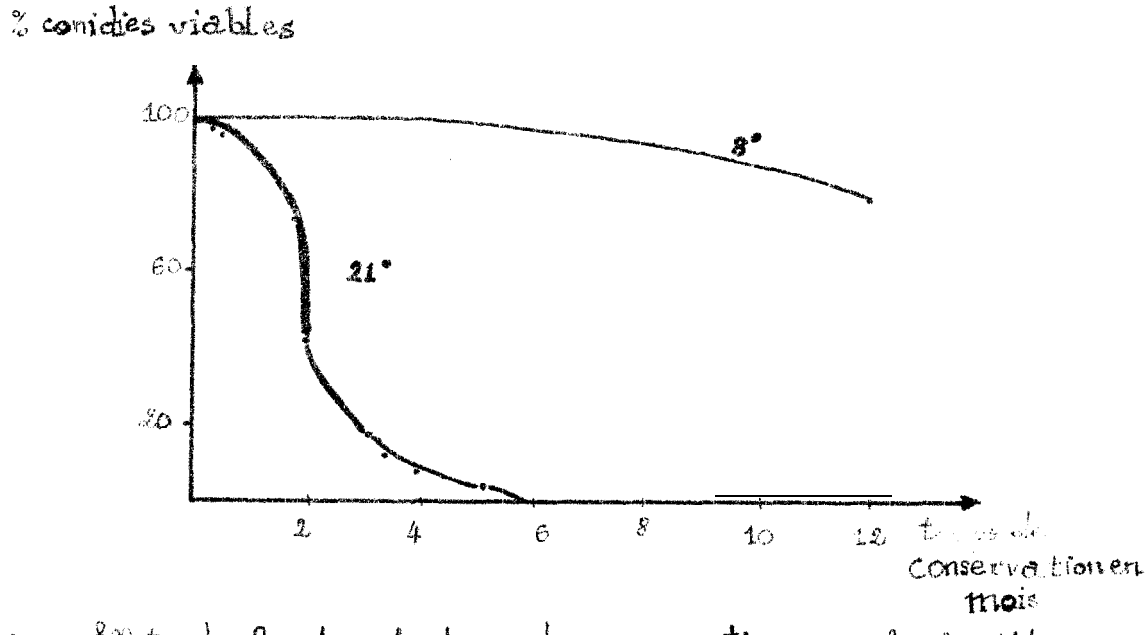


fig. 5. Effet de la température de conservation sur la longévité des spores de Beauveria bassiana (d'après WALSTAD et al., 1970)

3. Infection du *Chilo suppressalis* par le *Beauveria bassiana*

Il a déjà été indiqué au début de ce chapitre que l'infection des insectes par les champignons entomopathogènes se fait essentiellement par voie tégumentaire. D'autres voies de pénétration ont cependant été signalées, notamment la voie digestive (LEFEBVRE, 1934 ; GABRIEL, 1959 ; BAJAN et KOITOWA, 1968) et la voie trachéale (STEINHAUS, 1949). Tous ces auteurs conviennent néanmoins que dans la majorité des cas, l'infection intervient par pénétration directe du tube infectieux à travers le tégument. Il est bien établi maintenant que cette action s'opère par un double mécanisme enzymatique (HUBER, 1958) et physique (LEFEBVRE, 1934 ; ROBINSON, 1966 ; SANNASI, 1969) malgré l'absence de structure appressoriale chez la plupart des Deuteromycètes entomopathogènes.

L'ensemble des expériences effectuées a été réalisé par contamination directe des insectes. Nous n'insisterons cependant pas dans ce paragraphe sur les symptômes ante-mortem des maladies cryptogamiques, mais nous retiendrons certains aspects qui nous ont paru intéressants.

a. infection des oeufs

- Matériel

Le *Chilo suppressalis* pond ses oeufs en ooplaques pouvant renfermer de quelques oeufs à plus d'une centaine. Pour étudier la sensibilité des oeufs de *Chilo suppressalis* au *Beauveria bassiana* nous avons procédé par contamination directe d'oeufs du jour avec différentes doses d'une suspension de la souche *B. bassiana* n° 28 A, c'est à dire la souche B.b. 28 préalablement repassée sur insecte. Les doses suivantes : 1.10^5, 1.10^7, 1.10^9 spores/ml de cette suspension en plus d'un témoin sont utilisées.

Les oeufs du lot témoin sont pondus en 10 ooplaques dont 8 renferment plus de 20 oeufs, le lot contaminé à la dose de 1.10^5 spores/ml est formé de 16 ooplaques dont 8 de plus de 20 oeufs ; le lot traité à 1.10^7 spores/ml est composé de 6 ooplaques de plus de 20 oeufs et le lot traité à 1.10^9 spores/ml est formé de 10 ooplaques dont 7 de plus de 20 oeufs. Nous avons ainsi étudié un nombre d'oeufs différents à chaque dose.

- Résultats

Il se dégage très nettement de cette expérience que les oeufs de *Chilo suppressalis* contaminés par pulvérisation d'une suspension de spores de *Beauveria bassiana* sont très sensibles à la mycose. Les oeufs parasités par le champignon virent au rose et se momifient très vite (photo 2). Les oeufs sont tués à tous les stades de leur développement mais une grande majorité ne semble pas avoir manifesté une certaine croissance avant l'intervention de la mycose. Dans les conditions normales d'incubation de ces oeufs (90-100 % d'hygrométrie, 25°C et 16 heures sur 24 de photopériode) le mycélium du champignon ressort des oeufs et des spores se forment (photo 3).

Les résultats observés sont exposés dans le tableau 4, pour ce qui concerne l'effet direct du champignon sur les oeufs.

Photo 3 : Les oeufs momifiés deviennent roses. Le champignon qui commence à fructifier recouvre S'ooplaque parasitée.

Photo 4 Larves du dernier stade de *Chilo suppressalis* tuées par *Beauveriabassiana*. On peut remarquer la couleur rose caractéristique et la persistance de taches de mélanisation.

TABLEAU n° 4 : Effet du *Beauveria bassiana* sur les oeufs de *Chilo suppressalis*

Doses	Nb total oeufs traités	Nb oeufs éclos		Oeufs morts au stade capsule noire	oeufs atteints de mycose	Nb oeufs morts	Nb L1 mortes	Pourcentage oeufs non éclos
		Nb	%					
Témoin	336	242	66	35	0	89	2	34
1.10^5 sp/ml	540	336	62	46	42	119	16	38
1.10^7 sp/ml	488	102	21	89	283	0	36	79
1.10^9 sp/ml	316	49	16	98	167	2	33	84

L'éclosion des larves s'est effectuée entre le 7e et le 8e jour après la ponte. Les lots traités à 1.10^7 sp/ml et 1.10^9 spores/ml n'ont commencé à éclore que le 8e jour alors que dans le lot témoin et le lot traité à 1.10^5 spores/ml la majorité des larves est sortie entre le 7e et le 8e jour.

Le tableau 4 montre qu'il faut des doses très fortes de l'ordre de 1.10^7 à 1.10^9 spores/ml pour provoquer efficacement la mycose chez les oeufs de *Chilo suppressalis*. 84 % des oeufs n'ont pas éclos à la dose de 1.10^9 spores/ml et 53 % environ des oeufs sont atteints de mycose à cette même dose. A la dose de 1.10^7 spores/ml, bien que 59 % des oeufs soient atteints de mycose, 21 % des oeufs étudiés ont donné lieu à l'éclosion des larves. On peut également remarquer que 67 % des larves écloses dans le lot traité à la dose de 1.10^9 spores/ml et seulement 35 % de celles écloses à la dose de 1.10^7 spores/ml sont tuées par le champignon dans les 3 jours qui ont suivi l'éclosion. Moins de 1 % de ces larves sont mortes dans le lot témoin.

D'autre part, aucune des 10 ooplaques du lot témoin n'a été attaquée par le champignon, mais 4 ooplaques du lot traité à 1.10^5 spores/ml 4 à $.110^7$ spores/ml et 10 ooplaques traitées à la dose de 1.10^9 spores/ml ont été atteintes de mycose (voir photo 2 et 3). Les ooplaques attaquées par le champignon peuvent être totalement ou partiellement détruites.

Il se dégage nettement de cette expérience que la dose de spores utilisée joue un rôle très important dans l'infection des oeufs par le *Beauveria bassiana*. La différence observée entre les doses 1.10^7 spores/ml et 1.10^9 spores/ml est peu importante, mais il reste qu'il faut de très fortes doses pour contaminer les oeufs. Par comparaison les doses utilisées par BAJAN et al. (1969) pour infecter les oeufs de *Leptinotarsa decemlineata* paraissent faibles. En effet ces auteurs obtiennent des mortalités de 100 % au bout de 48 heures seulement avec des doses de 1 à 2.10^6 spores/ml de suspension de *Paecilomyces farinosus*.

Photo n° 5 : Chrysalide momifiée par *Metarrhizium anisopliae*. Le champignon qui fructifie sur son hôte est ressorti par les stigmates et en traversant les membranes intersegmentaires.

Photo n° 6 . Le mycélium du champignon recouvre très rapidement l'insecte mort de mycose, placé en atmosphère hunide. En un peu plus d'une semaine les spores du champignon se forment.

On peut dire néanmoins que la contamination des oeufs de *Chilo suppressalis* avec des suspensions de *Beauveria bassiana* comme celle des larves et des chrysalides est une possibilité. Il restera sur le plan pratique à envisager les conditions d'utilisation de tels procédés pour atteindre cet insecte dans son milieu naturel au stade oeuf.

b. Infection des larves

Les paragraphes précédents ont déjà beaucoup insisté sur la sensibilité des larves à la mycose à *Beauveria bassiana*.

Les larves traitées présentent dans de nombreux cas des tâches de mélanisation dûes à une réaction de l'insecte à l'infection. Nous avons eu à observer dans le cas de larves diapausantes, une mélanisation de l'ensemble du corps de l'insecte provoquant la mort de ces dernières avec le faciès scepticémie.

De façon générale les larves de *Chilo suppressalis* mortes du *Beauveria bassiana* se colorent d'un rose violacé (voir photo 4) et se momifient. Le corps durcit et le mycélium ressort du cadavre si ce dernier est placé en atmosphère humide. Les premières larves mortes apparaissent dès le 5e - 6e jour après le traitement.

La coloration rose observée est dûe selon EL BASYOUNI et al. (1968) à un pigment appelé l'oosporéine. C'est un dibenzoquinone synthétisé par le champignon. Son métabolisme est lié à la nutrition azotée et carbonée du champignon dans son hôte ou dans le milieu de culture. D'autre part sa production est le fait de certaines souches du genre *Beauveria*.

La souche *Beauveria bassiana* n° 28 provoque chez le *Chilo suppressalis* la production de l'oosporéine à la fois sur les larves et sur les oeufs qu'elle parasite.

c. Infection des chrysalides et des adultes

A la suite des traitements larvaire et nymphal, on observe très souvent une mortalité différée au stade adulte. Le traitement direct de chrysalides par pulvérisation a permis de définir la sensibilité de ce stade à différents types de mycose (photos 5, 6) ainsi que celle du stade adulte (photos 7 et 8).

Pour ce qui est des chrysalides directement contaminées, l'infection se fait à la suite d'un contact entre les spores du champignon et l'insecte. Mais en ce qui concerne les chrysalides et les adultes morts à la suite d'un traitement larvaire ou nymphal on peut toujours se demander si l'insecte tué par le champignon n'est pas contaminé secondairement.

Pour préciser la source de la mortalité différée des adultes nous avons réalisé l'expérience suivante :

- Quatre lots de 30 chrysalides sont contaminés avec une suspension de *Beauveria bassiana* n° 28 A dosant 1.10^7 spores/ml. Les nymphes utilisées sont de jeunes nymphes qui sont élevées après le traitement 24 h à 20°C puis portées à 25°C, 16 heures de photopériode sur 24 et 90-100 % d'hygrométrie. Les quatre lots sont définis comme suit :

<u>lot A</u> : chrysalides élevées individuellement après traitement, avec élimina

Photo n° 7 : Adultes de *Chilo suppressalis* tués par le *Beauveria bassiana*. Le mycélium et les spores du champignon recouvre 1 "abdomen et le thorax des insectes.

Photo n° 8 : Adulte de Chi *lo suppressalis* tué par *Metarrhizium anisopliae* au moment de l'émergence. La photo montre lèxuvie nymphale et l'insecte mort sur l'abdomen duquel le champignon a fructifié.

tion de l'exuvie des boites d'élevage au fur et à mesure des éclosions. L'élevage de tels adultes sera bien entendu un élevage individuel.

lot B : l'élevage des adultes de même que celui des chrysalides sera individuel, mais contrairement au lot A les exuvies seront maintenues dans les boites après l'éclosion des adultes.

lot C : les 30 chrysalides vont être élevées en groupe dans une même enceinte mais au fur et à mesure des éclosions les exuvies vont être enlevées.

lot D : elevage groupé des chrysalides et des adultes mais maintien des exuvies dans les boîtes d'élevage.

Le tableau 5 donne les résultats observés au terme de cette expérience.

TABLEAU 5 : Résultats exprimés en pourcentage sur 30 chrysalides traitées avec une suspension de *Beauveria bassiana* 2P A.

Lots	Nb IP éclos	* nb IP atteints de mycose		Nb chrysalides atteintes de mycose	Nb chrysalides atteints de septicémie	Mortalité totale par mycose	
A	83,3	70	84	16,7	0	86,7	81,7
B	83,3	60	72	16,7	0	76,7	
C	73,3	40	54,5	26,7	0	66,7	76,7
D	50	40	80	46,7	3,3	86,7	

* La colonne 1 exprime le pourcentage d'adultes atteints de mycose par rapport à l'échantillon de départ, la colonne 2, le pourcentage d'adultes atteints de mycose par rapport au total d'imagos éclos.

La comparaison des pourcentages de mortalité totale cumulée obtenue dans les différents lots nous donne un écart réduit Σ {AB-CD} entre les lots élevés individuellement et les lots élevés en groupe de l'ordre de 0,35 qui est nettement inférieur à la valeur donnée par la table de FISHER-YATES au risque d'erreur de 5 %. Ceci traduit le fait que les différences observées ne sont pas significatives du point de vue statistique. La façon d'élever les chrysalides et les adultes n'influe donc pas sur le pourcentage de mycose observé. D'autre part la comparaison des mortalités imaginales montre qu'il n'y a pas non plus de différence significative à ce niveau.

Ces observations traduisent au niveau biologique le fait que l'infection des adultes est réalisée bien avant l'éclosion. Le champignon contamine les insectes au stade du traitement même si la mort par mycose n'est extériorisée qu'aux stades ultérieurs.

En conclusion, nous reviendrons sur le problème de la mortalité différée chez *Chilo suppressalis* pour dire que cet aspect peut être d'un intérêt primordial pour le maintien et la transmission de la mycose aux générations futures.

D. INFLUENCE DE LA QUANTITE DE SPORES

Cette étude a été effectuée à la fois sur larves et sur chrysalides. Le milieu d'élevage des larves contient de la nipagine qui est un fongicide incorporé dans la nourriture de l'insecte pour prévenir une détérioration de celle--ci par des champignons saprophytes. Ce produit est cependans sans action sur la pyrale mais son action vis-a-vis des champignons n'est pas très bien cernée puisque FARGUES (communication personnelle) pense qu'il provoque une réduction de la mortalité larvaire chez certaines *Noctuidae* traitées aux *Fungi Imperfecti* et élevées sur le milieu POITOUT-BUES. Les larves de *Chilo suppressalis* provoquent une infection rapide du milieu artificiel lorsque celui-ci ne renferme pas de la nipagine. Une comparaison entre une boîte de milieu sans nipagine contenant des larves et une autre sans larve montre que c'est la présence des larves qui contamine le milieu et provoque une croissance bactérienne qui le détériore. De toute façon, lorsque les larves sont nourries avec un milieu sans nipagine, on est pratiquement oblige de changer l'aliment toutes les 43 heures.

Nous avons, dans ces conditions, été amenés à mesurer l'effet de la nipagine sur la sensibilité du *Chilo suppressalis* au *Beauveria bassiana.*

1. Action de la nipagine sur la sensibilité des larves à la mycose

Pour réaliser ce test nous avons choisi de faire l'étude avec deux doses différentes (107 spores/ml et 103 spores/ml) et nous avons trait? des larves du dernier stade (L5) juste avant la prénymphose. Les larves traitées ont été maintenues 43 heures en diète alimentaire à 20°C puis élevées à 25°C, 80-100 % d'HR et 16 h/24 de photopériode et normalement alimentées. Nous avons réalisé pour chaque dose , sur chacun des milieux, 6 répétitions de 10 larves.

Le tableau 6 résume les résultats obtenus.

Un rapide calcul statistique, pour comparer les pourcentages de mortalité sur les deux milieux à la dose de 10^8 spores/ml, nous donne un écart réduit de :

$$t = \frac{10}{\sqrt{225,7962}} \# \frac{10}{\sqrt{225}} \# \frac{10}{15} \# 0,66$$

Ce chiffre est nettement inférieur à l'écard réduit que donne la table de FISHER-YATES qui est de 1,96 pour une probabilité d'erreur de 5 %. La différence n'est donc pas significative entre l'action des deux milieux d'élevage sur la sensibilité du *Chilo suppressalis* au *Beauveria bassiana.*

On peut également constater sur le tableau 6 une plus forte mortalité par mycose à la dose de 10^7 sur le milieu contenant le fongicide.

Nous pensons que compte tenu de la non signification du résultat obtenu même si à 10^8 spores/ml on obtient une plus forte mortalité par mycose sur le milieu sans nipagine, compte tenu également de la rapidité de détérioration de ce milieu dans les conditions de l'expérimentation et du surcroît de manipulation que cela provoque, il est logique de poursuivre les tests sur milieu artificiel complet pour étudier l'action de la mycose sur les larves.

TABLEAU n° 6 : Sensibilité comparée à la mycose des larves élevées sur deux milieux différents

Milieux	doses	Mort. larvaire mycose	Mort. larvaire septic.	Nb de chrys. formé.	Mort. chrys + prénymphe mycose	Mort. chrys + prénymphe septic.	Nb IP éclos	Nb IP attients mycose	Mort. totale mycose	Mortalité totale	2 mycose
Milieu normal	1.10^7	8	3	45	15	2	29	16	39	44	65
	1.10^8	4	3	43	20	0	28	20	44	47	78,33
Milieu sans nipagine	10^7	4	0	51	13	0	34	17	34	34	57
	10^8	25	G	28	24	0	7	4	53	53	88,33

2. Influence de la quantité de spores

Lorsqu'on effectue un traitement soit à la tour, soit dans la nature, on provoque une dissémination artificielle des spores. Généralement il faut une grande quantité de spores pour contaminer tons les insectes,

De nombreuses expériences ont été effectuées pour déterminer le nombre de spores nécessaires à l'infection mais pour ce qui est du *Beauveria bassiana* il est assez difficile d'exploiter les résultats obtenus par les différents auteurs. SMITH (1951) cité par FERRON (1970) évalue à 13 conidiospores de *Metarrhizium anisopiiae* l'inoculum nécessaire pour obtenir 50 % de mortalité des chenilles de *Pyrausta nubilalis* en infectant les insectes par injection intrahemocoelienne. Cette technique, en éliminant la barrière téguméntaire, qui joue un rôle important dans la défense de l'insecte vis-à-vis des pathogènes, paraît d'un intérêt très discutable (FERRON et DIOMANDE, 1969)

Nous avons, pour ce qui nous concerne, étudié la dose d'inoculum nécessaire par pulvérisation directe des individusà la tour.

Les tableaux 7 et 8 donnent respectivement les résultats globaux de l'action des différents dosages de spores sur les larves et sur les chrysalides. Indiquons que pour les larves comme pour les chrysalides des lots de 40 individus ont été traités pour chaque dose, et les tests ont été conduits dans les conditions définies dans le paragraphe précédent.

L'examen de ces deux tableaux indique, comme l'ont déjà montré de nombreux auteurs, que la quantité de spores joue un rôle important dans le déclenchement de la mycose chez l'insecte.

Le tableau 7 montre pour ce qui concerne les larves, que la progression de l'effet du champignon est liée à l'importance de la dore. On constate que la mortalité par mycose qui est nulle à la dose 1.10^4 spores/ml ne diffère pas de celle du témoin. La mortalité des larves au stade traité progresse comme la dose de spores. Les résultats obtenus ne permettent pas de définir graphiquement une Dose Léthale 50 % (DL SO) mais le tableau 5 permet de rsituer cette dernière entre 1.10^7 et $3,3.10^7$ spores/ml. On peut donc dire que pour les larves cette DL 50 nécessite un niveau assez élevé de contamination.

La rapidité du processus infectieux peut aussi dépendre de la quantité de spores. Ce fait ne ressort pas du tableau 7 mais des résultats globaux du test, La mortalité différée aux autres stades est plus importante aux doses voisines dc la DL 50. FARGUES (1972) indiquait cependant que celle ci était plus élevée aux faibles doses, sur larves de doryphore. C'est donc un point qui reste à préciser.

Une représentation sous forme d'histogramme (fig. 6) montre plus nettement cet effet de la dose sur le pourcentage de mortalité.

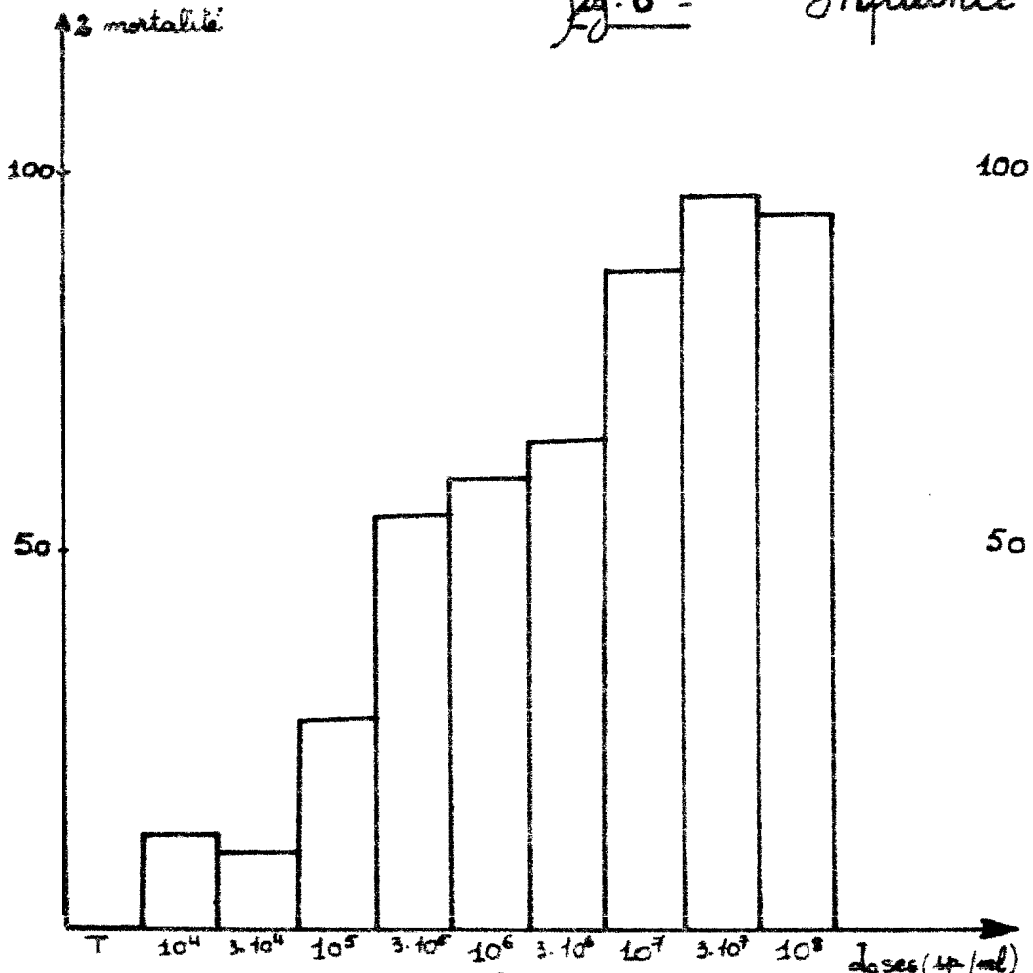
Pour ce qui est des chrysalides, la liaison dose-mortalité est plus nette, et on peut constater que la quantité minimale de spores pouvant provoquer la mycose est inférieure à 10^4 spores/ml. La DL 50 pour les chrysalides se situe entre 1.10^5 et $3,3.10^5$ spores/ml. On observe à la dose 1.10^8 spores/ml, une mortalité par mycose de 95 % et une mortalité totale à 100 %.

La comparaison des deux tableaux souligne, pour les différentes doses, une. plus grande sensibilité des chrysalides par rapport aux larves, lorsque ces deux stades sont traités avec le *Beauveria bassiana*. Les larves

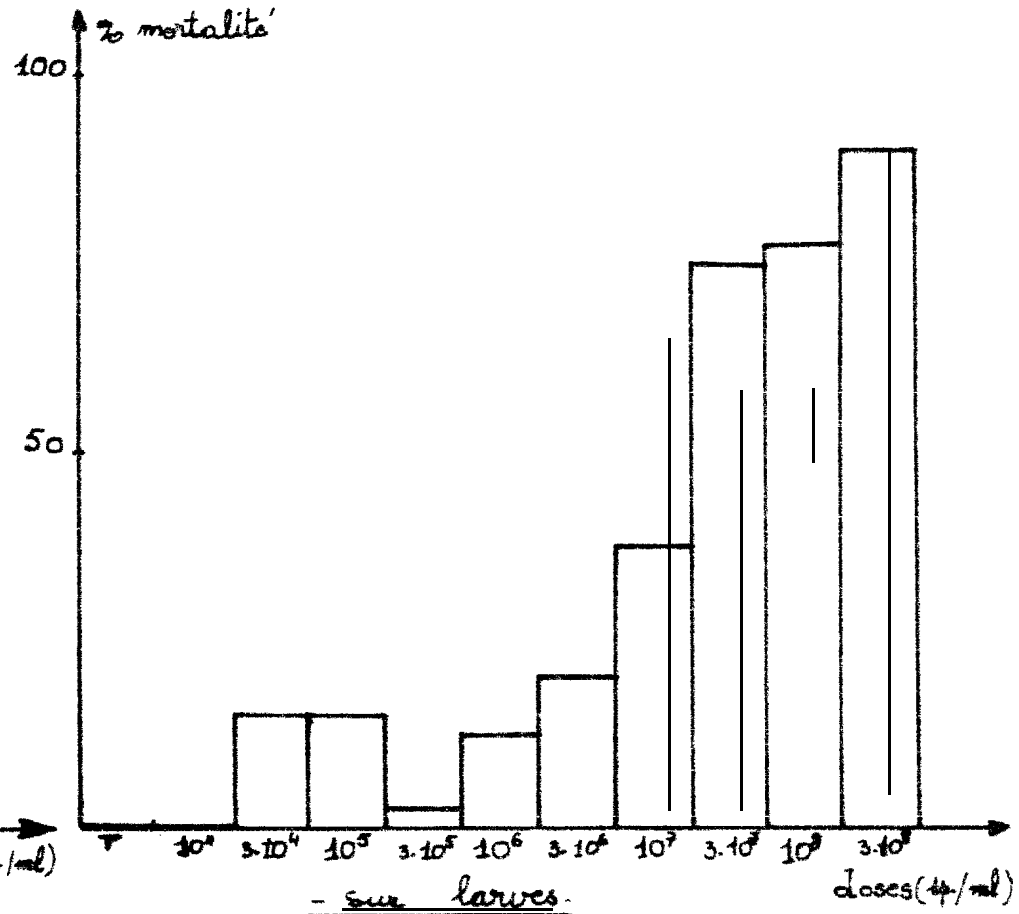
TABLEAU n° 7 : Mortalité en fonction de la dose lorsqu'on traite le dernier stade larvaire

Doses spores/ml	Mortal. mycose	larvai. septic.	Nb de chrys. formé.	Mortali ycose	é nymp eptic.	Nb IP éclos	Nb IP myco-sés	Mort. totale mycose	Mort. totale	% ycose
Témoin (0)	0	1	39	0	9	30	0	0	9	0
10^4	0	4	36	0	8	28	0	0	12	0
$3,3/10^4$	0	13	27	2	2	23	4	6	21	15
10^5	3	4	33	3	2	28	0	6	12	15
$3,3.10^5$	0	2	38	1	6	31	0	1	9	2,5
10^6	3	1	36	1	5	30	1	5	11	12,5
$3,3.10^6$	4	1	35	1	4	30	3	8	13	20
10^7	3	2	35	10	1	24	2	15	18	37,5
$3,3.10^7$	11	1	28	7	0	21	12	30	31	75
10^8	19	5	16	II	2	3	1	31	38	77,5
$3,3.10^8$	29	1	10	4	1	5	3	36	38	90

Fig. 6 - Influence de la quantité de spores.



- sur chrysalides



- sur larves.

TABLEAU n° 8 : Sensibilité de la pyrale en fonction de la dose après traitement des chrysalides

Doses en nb /de spores/ ml	Mortalité nymphale mycose	Mortalité nymphale septicémie	Nb IP éclos	Mort. imaginale par myco.	Mortalité totale par myco.	Mortalité totale	% de mortalité mycose	% de mortalité totale
Témoin (0)	3	0	40	0	0	0	0	0
10^4	0	2	38	5	5	7	12,5	17,5
$3,3.10^4$	0	3	37	4	4	7	10	17,5
	0	2	38	11	11	13	27,5	32,5
$3,3.10^5$	1	1	38	21	22	23	55	57,5
10^6	3	0	37	21	24	24	60	60
$3,3.10^6$	4	2	34	22	26	28	65	70
10^7	5	2	33	30	35	37	87,7	92,5
$3,3.10^7$	26	0	14	13	39	39	97,5	97,5
10^8	17	2	21	21	38	40	95	100

traitées même avec une suspension titrant $3,3.10^8$ spores/ml résistent mieux que les chrysalides traitées à 10^8 spores/ml. Il doit intervenir ici la mobilité des larves (à la recherche d'une cannelure pour effectuer leur chrysalidation) et qui, peut-être, ainsi se débarassent d'une partie des germes reçus, sinon de la totalité. Les nymphes par contre, restent pratiquement immobiles et gardent la totalité de l'inoculum pathogène projeté sur elles.

Par rapport aux chiffres publiés par différents auteurs sur la quantité de spores nécessaire pour provoquer la mycose, le *Chilo suppressalis* semble être un insecte moyennement sensible au *Beauveria bassiana* puisqu'il faut des doses de l'ordre de $3,3.10^8$ spores/ml pour obtenir une mortalité larvaire égale à 90 % en moyenne. Les chrysalides qui au départ pouvaient être prises pour plus résistantes se sont avérées en fait plus sensibles que les larves.

3. Détermination des DL 50 sur larves et sur chrysalides

Rappelons tout d'abord que la dose léthale 50 % (DL 50) est la dose qui permet d'obtenir une mortalité de 50 % sur l'échantillon contaminé.

Lorsqu'on a une série de doses (x) provoquant une série de réponses (y) dans une population donnée, on peut établir entre les réponses comprises entre 40 % et 95 % et les doses qui les provoquent une relation du type $y - \bar{y} = b\ (x - \bar{x})$, qui est l'équation d'une droite appelée droite de régression dont la solution permet d'obtenir $\bar{x}$ qui est la dose moyenne et $\bar{y}$ qui est la réponse moyenne provoquée par cette dose. C'est cette dose moyenne $\bar{x}$ qui correspond à la DL 50.

Sur le plan pratique on procède par la construction de cette droite de régression qui est obtenue par ajustement à vue entre les différents points déterminés en prenant dans un repère le logarithme de la dose en abscisses et la valeur probit de la réponse y exprimée en pourcentage de mortalité par exemple en ordonnées. Dans le cas de notre expérience on obtient la figure 7.

L'ajustement à vue donne les droites L et C après transformation des mortalités par mycose en valeur probit. Ce graphique permet de définir une DL 50 pour les chrysalides de l'ordre de 3.10^5 spores de *Beauveria bassiana* ?? par ml et pour les larves de l'ordre de 2.10^7 spores/ml.

Les chrysalides sont plus sensibles que les larves au *Beauveria*. Ceci pourrait être lié à leur immobilité et à leur état particulièrement fragile. Les larves qui se déplacent beaucoup vers la fin de leur vie larvaire arrivent peut être à se débarasser de tout ou partie de l'inoculum qu'on a réussi à leur appliquer.

C'est donc là un problème dont il faudra tenir compte pour assurer le succès de toute contamination de la pyrale du riz par le *Beauveria bassiana*.

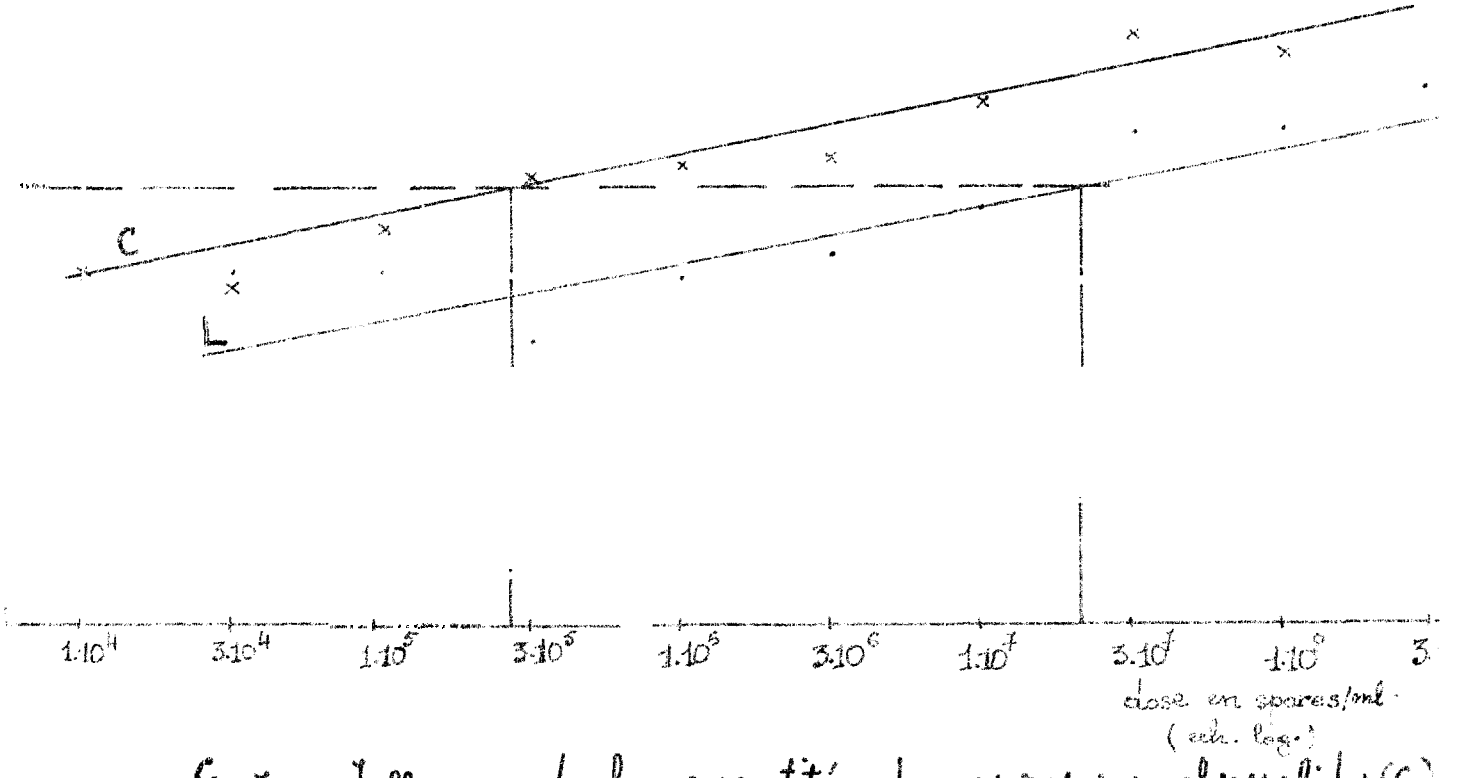


Fig. 7 . Influence de la quantité de spores sur chrysalides (C) et sur larves (L.) après contamination directe par pulvérisation de ces stades à différentes doses de spores de *Beauveria bassiana*.

3. EFFET DE LA TEMPERATURE SUR LA SENSIBILITE DU *Chilo suppressalis* A LA MYCOSE

Il est nécessaire lorsqu'on étudie le complexe hôte-parasite, de prendre en considération non seulement les facteurs biotiques (liés au germe pathogène et à l'insecte-hôte), mais également les facteurs abiotiques (liés aux conditions d'environnement) pour bien cerner l'ensemble du phénomène.

Dans les paragraphes précédents, nous avons essayé de donner une vue aussi complète que possible des facteurs biotiques.

En ce qui concerne les facteurs abiotiques, nous n'insisterons ici que sur le facteur température pour les raisons suivantes :

- Tout d'abord la plupart des champignons entomopathogènes ont un optimum de développement entre 20 et 30°C et la souche de *Beauveria bassiana* que nous utilisons croît très bien entre 20 et 23°C.

- Ensuite, comme nous l'avons déjà vu, ce facteur température joue un rôle important dans le développement de la pyrale du riz qui peut être perturbé par des températures trop élevées ou au contraire trop basses.

- Disons enfin qu'en ce qui concerne l'autre facteur abiotique, le facteur humidité dont l'importance dans cette étude pourrait être évoquée, il semble jouer un rôle moins primordial qu'on ne l'a pensé jusqu'ici (MURPHY, 1973). En effet les études effectuées jusqu'à présent ne correspondent pas souvent à la réalité, du fait de l'importance du microclimat qui règne au niveau du tégument sur la germination des spores et sur le développement du filament mycélien. De plus, dans le cas que nous étudions, l'humidité relative ambiante tant au niveau des rizières qu'au niveau de nos boîtes d'élevage n'est pas sensiblement différente de la saturation.

1. Matériel et méthode

Nous traitons, comme dans les expériences précédentes, par pulvérisation directe à la tour BURGERJON (fig. 1) des larves du dernier stade larvaire et de jeunes chrysalides âgées de 24 heures environ à la dose de 1.10^7 spores par ml de suspension.

Après contamination, les insectes sont élevés aux différentes températures : 15°C, 20°C, 25°C, 30°C. Au préalable des lots de 30 individus répartis en 3 répétitions de 10 sont formés pour chacune des températures, aussi bien sur les larves que sur les chrysalides, et pour chacune d'elles un lot témoin de 10 larves et un autre de 10 chrysalides ont servi de référence.

La photopériode et l'hygrométrie sont identiques pour les différentes températures. Elles sont respectivement de 16 heures de photopériode sur 24 et 80 à 100 % d'HR.

Les larves comme les chrysalides ont été prélevées de l'élevage, elles sont donc demeurées à la température de 25°C jusqu'au moment du traitement pour les larves avant d'être portées à leur température d'étude. Pour les chrysalides le prélèvement a été effectué environ 2 heures avant le traitement. Elles ont été élevées donc pendant tout ce temps à leur température d'étude avant d'être contaminées.

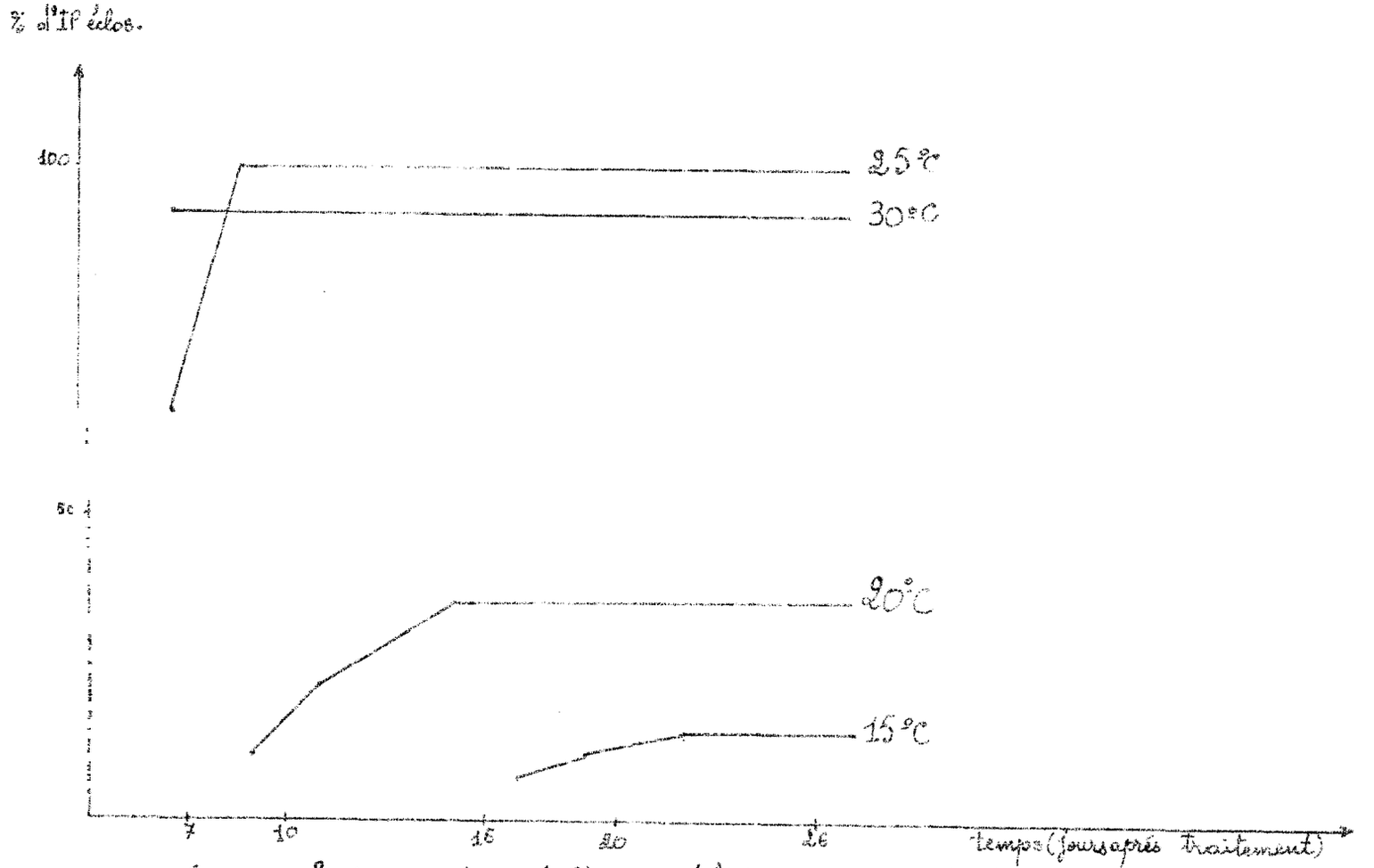


fig. 8 - Eclosion des adultes à différentes températures après un traitement des chrysalides avec une suspension dosant 1. 10^7 spores/ml.

2 - Principaux résultatsobtenus

a. sur chrysalides

L'élevage des chrysalides à des températures différentes de l'optimum thermique entraine un allongement ou au contraire un raccourcissement du temps de vie nymphale.

La figure 8 donne en fonction du temps le pourcentage d'imagos éclos aux différentes températures lorsqu'on contamine les chrysalides avec une dose de 1.10^7 spores/ml.

On peut constater que huit jours après leur formation et sept jours après le traitement, 93 % des chrysalides élevées à 30°C et 63 % de celles élevées à 25°C ont donné naissance à des insectes parfaits. 9 jours après le traitement tous les insectes élevés à 25 ou 30°C et qui ne sont pas morts au stade chrysalide sont devenus des adultes.

A ce même moment, 10 % seulement des chrysalides élevées à 20°C ont donné des adultes alors qu'à 15°C il n'y a eu aucune éclosion. Au total, si le nombre d'adultes formés est très élevé à 25 et 30°C (100 % et 93 % respectivement) il est très bas à 20 et 15°C où de nombreuses chrysalides sont tuées par le champignon.

La température de 15°C ralentit de façon très sensible le développement des chrysalides. Celles-ci peuvent survivre jusqu'à 40 jours avant d'éclore mais la fécondité des adultes est très fortement réduite et des malformations alaires peuvent souvent s'en suivre.

Le tableau 9 donne en pourcentage la mortalité totale cumulée pour les stades chrysalides et adultes aux différentes températures.

TABLEAU 9 : Pourcentages de mortalité totale cumulée par mycose enregistrée aux différentes températures sur chrysalides et sur adultes, lorsqu'on élève à ces 4 températures des lots de 30 chrysalides traitées avec une dose de 1.10^7 spores/ml.

Stades	Températures 15°C	20°C	25°C	30°C
Chrysalides	86,66	66,66	0	6,66
témoin	0	0	0	0
adultes	13,33	33,33	93,33	30
témoin	6,66	0	0	0

La figure 9 permet une compréhension plus aisée des résultats exposés dans le tableau 9.

Le tableau 9 et la figure 9 montrent très bien la variabilité de la réponse du *Chilo suppressalis* à la mycose à *Beauveria bassiana* en fonction de la température d'élevage.

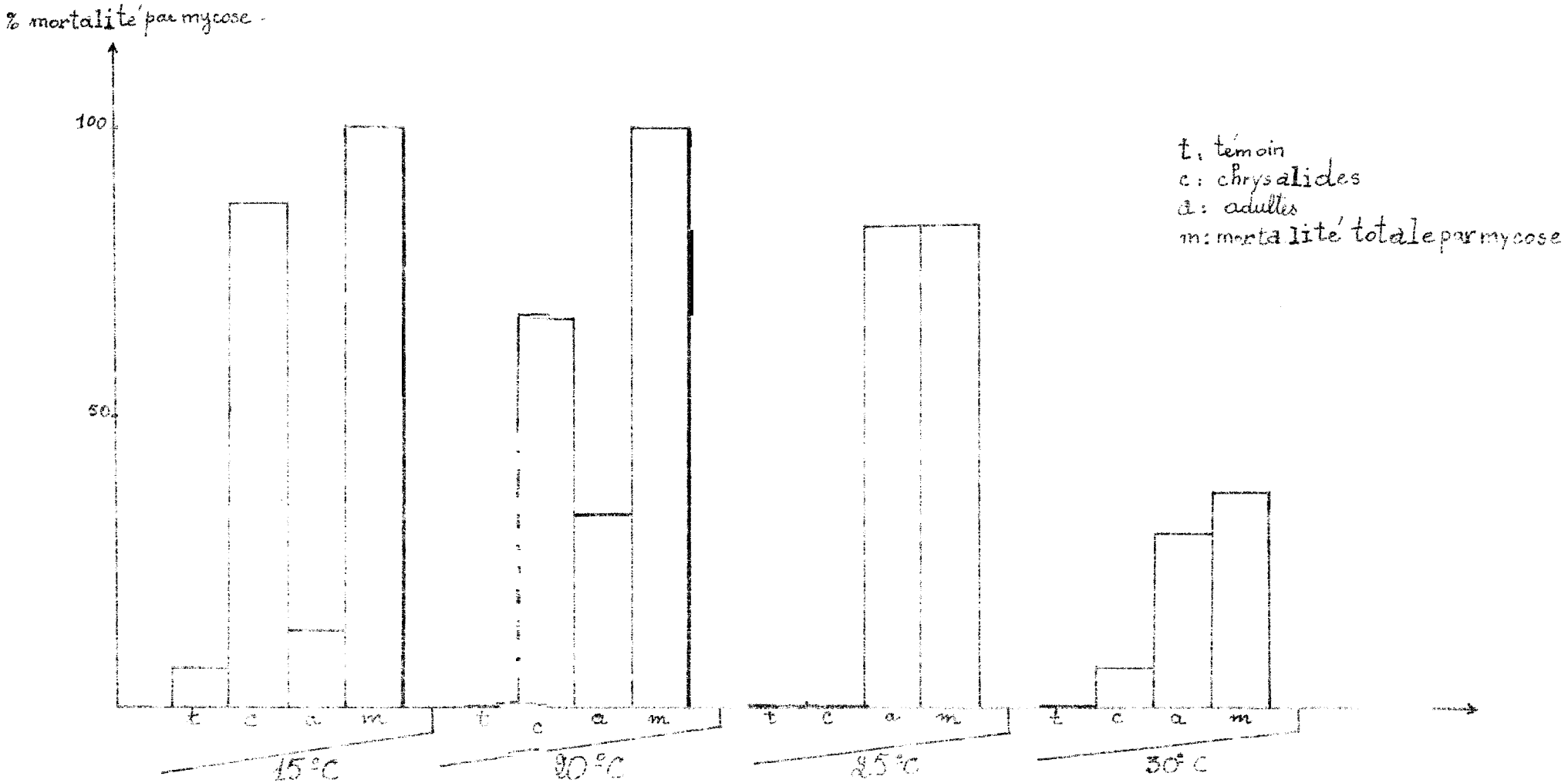


fig. 9 - Mortalité par mycose aux stades chrysalides et adultes observés sur insectes élevés à différentes températures après le traitement.

A 15 et 20°C le champignon tue 100 % des insectes avec respectivement 87 % et 67 % environ des individus morts au stade chrysalide. La mortalité différée est très réduite à ce niveau à la dose de 1.10^7 spores par ml utilisée.

A 25°C toute la mortalité est différée au stade adulte. La dose de 1.10^7 spores/ml a été suffisante pour tuer plus de 83 % des insectes traités.

A la température de 30°C la mortalité totale ne dépasse pas 37 % mais 30 % des insectes traités sont tués au stade adulte.

On voit donc que dans l'ensemble les plus faibles températures donnent une plus forte mortalité, très certainement en favorisant le champignon ou en défavorisant l'insecte.

b. sur larves

Le tableau 10 récapitule l'ensemble des résultats du traitement sur larves pourles quatre températures étudiées.

Nous avons poursuivi le contrôle des larves pendant 34 jours. Au terme de l'expérience les insectes survivants étaient donc âgés de 65 jours. On peut ainsi constater que tous les individus n'ont pas évolué sur le même rythme.

A 15, 25 et 30°C, il reste des larves qui ne sont ni tuées par le *Beauveria bassiana*, ni transformées en chrysalides. Par contre à 20°C toutes les larves sont soit mortes de mycose ou de septicémie soit nymphosées.

Le pourcentage d'individus tués par le champignon au stade traité est plus important aux faibles températures (15 et 20°C) qu'aux températures plus élevées (25 et 30°C) ; mais le nombre de chrysalides formées est plus élevé à 25°C (60 %) et 30°C (66,7 %) qu'à 15 et 20°C.

La mortalité différée sur le stade chrysalide qui est de 30 % à 20°C est la plus forte à ce niveau, mais seule la température de 25°C permet d'observer une mortalité différée au stade imaginal.

La mortalité totale et par mycose la plus forte est enregistrée à la température de 20°C.

3. Discussion et conclusions

La première remarque qu'on peut faire est que lorsque l'humidité est voisine de la saturation, comme c'est le cas dans nos expériences, les conditions de température les plus favorables au développement de l'infection sur le *Chilo suppressalis* semblant être celles qui se rapprochent le plus de l'optimum thermique du *Beauveria bassiana*. C'est une observation qui avait déjà été faite par FUROON (1967) dans l'infection du ver blanc par le *Beauveria tenella* et par DIOMANDE (1969) dans celle de l'*Oryctes monoceros* par le *Metarrhizium anisopliae*.

Dans l'infection du *Chilo suppressalis* par le *Beauveria bassiana* on obtient la plus forte mortalité par mycose avec une suspension

TABLEAU 10 : Résultats exprimés en pourcentage sur 30 larves contaminées avec une dose de 1.10^7 spores/ml et élevées à différentes températures pendant 34 jours après le traitement.

Température	Mycoses sur chenilles	Chrysalides formées	Mycoses sur chrysalides	Mort. totale par septicémie	IP éclos	Mycoses sur IP	Mort.totale par mycose	Mortalité totale	% larves surviv.après 34 jours
15°C	33,3	13,3	0	16,7	-	-	33,3	50	36,7
20°C	46,7	36,7	30	16,7	6,7	0	76,7	93,3	0
25°C	13,3	60	0	10	56,7	10	23,3	33,3	16,7
30°C	20	66,7	0	10	66,7	0	20	30	3,4

de 1.10^7 spores/ml à la température de 20°C aussi bien sur chrysalides que sur larves.

L'effet de la température sur le développement de la mycose semble être très important en ce sens qu'elle agit et sur le champignon et sur l'insecte.

BUSNEL (1939) puis DE WILDE (1950) ont déjà remarqué le rôle particulièrement important de la température sur le développement du doryphore. En 1972 FARGUES tenant compte de ces observations a mis en évidence le rôle de la mue dans le développement de la mycose à *Beauveria bassiana* chez la larve de ce ravageur. La durée de l'intermue est liée à la température et on peut observer un raccourcissement de ce délai chez des L3 et des L4 de doryphore élevées à 25 ou 30°C.

L'effet de la température est net sur le développement des chrysalides et des larves de *Chilo suppressalis*. Sur chrysalides, le tableau 11 donne le temps de survie à différentes températures.

TABLEAU 11 : Effet de la température sur la longévité des nymphes et des adultes de *Chilo suppressalis* traitées à la dose de 1.10^7 spores/ml au début du stade nymphal.

	Stades	15°C	20°C	25°C	30°C
chrysalides	témoin	19	15	7,5	6
	traitées	16	13	7,5	6
adultes	témoin	-	10	6	5
	traitées	9	7	5 *	5

* Nombreux morts par mycose

On constate queles chrysalides survivent deux fois plus longtemps à 15°C qu'à 25°C et près de trois fois plus qu'à 30°C. La température de 15°C peut assurer aux nymphes saines une survie de l'ordre de 30 jours en moyenne. Ceci allonge de façon très sensible la période d'intermue laissant au *Beauveria* le temps nécessaire pour bien se développer dans son hôte. Ce retard de la mue imaginale est également observé à 20°C.

En ce qui concerne les larves, la durée de vie est généralement augmentée à 15°C et à 20°C. Les larves du dernier stade contaminées et élevées à 20°C se montrent très sensibles au champignon, nous n'avons jamais observé de retard important à ce niveau. Par contre des larves du 1er stade élevées à 20°C dès leur éclosion et traitées 40 jours après ou non traitées et élevées à 25°C après un mois sont entrées en diapause et ont survécu plus de 180 jours. Nous réexaminerons cette question plus loin en étudiant les survivants au traitement.

Le rôle de la mue observé par FARGUES (1972a) sur l'infection des larves de doryphore par le *Beauveria bassiana* peut être étendu ici à l'infection de *Chilo suppressalis* par ce même champignon. En effet plus la température augmente entre 15 et 30°C plus la mue imaginale intervient tôt et corrélativement moins le champignon est efficace.

En ce qui concerne les larves, le tableau 10 montre la relation entre la mortalité totale par mycose et la température. Lorsqu'on traite les larves, il y a souvent des retardataires qui, contaminés au dernier stade, effectuent des mues surnuméraires et se réalimentent. Ces larves échappent souvent à la mycose et peuvent survivre longtemps. Leur nombre est plus important aux faibles températures.

Des tableaux 9 et 10 il se dégage le fait que les faibles températures favorisent la mycose, certainement en perturbant le développement du *Chilo suppressalis* (allongement de la période d'intermue) ; les températures de 25 et 30°C en précipitant la mue imaginale permettent à l'insecte d'échapper à l'infection (rejet des téguments contaminés).

La deuxième remarque que l'on peut faire concerne le développement respectif du champignon et de l'insecte en rapport avec la température. Selon FARGUES (1972a) on enregistre une baisse de la mortalité cumulée par mycose sur L4 et L3 de doryphore traitées à 1.10^7 spores/ml lorsque la température dépasse 20°C. Le traitement de *Chilo suppressalis* permet d'observer effectivement une réduction de la mortalité totale par mycose au-dessus de 20°C (figure 9) ; on peut parallèlement constater une augmentation de la mortalité différée jusqu'à la température de 25°C (fig. 9). La mortalité nymphale par mycose qui est très forte aux faibles températures diminue en s'annulant à 25°C pour la dose de 1.10^7 spores/ml. La température de 30°C ne permet d'obtenir que des résultats très faibles.

Les figures 8 et 9 permettent de penser qu'aux faibles températures le champignon se rapprochant plus que l'insecte de son optimum thermique se trouve dans de meilleures conditions pour se développer alors que l'insecte est très défavorisé. Aux fortes températures, le développement de l'insecte étant plus rapide, la mue intervient plus vite, ce qui permet à de nombreux individus d'échapper à l'infection au moins durant le stade traité.

A 25°C le développement du *Chilo suppressalis* est suffisamment rapide pour lui permettre d'échapper à l'attaque du *Beauveria bassiana* au stade chrysalide, la mortalité par mycose ne se manifestant qu'au stade imaginal.

L'origine subtropicale de la pyrale pourrait peut-être expliquer sa plus grande sensibilité à la mycose à *Beauveria bassiana* lorsque la température baisse.

L'importance de ce facteur sur le développement de la mycose à *Beauveria bassiana* sur le *Chilo suppressalis* ne fait donc pas de doute de par l'action qu'il exerce sur le développement de l'insecte et sur l'évolution du complexe *Chilo-Beauveria*. La variabilité de la réponse à une même dose de spores pour des températures différentes fait que toute intervention dans la nature ou au laboratoire doit tenir compte du facteur température.

F. CONCLUSIONS

L'étude du complexe *Chilo suppressalis Beauveria bassiana* telle qu'elle a été menée dans ce chapitre a permis de préciser un certain nombre de questions relatives aux rapports de l'hôte *Chilo suppressalis* avec son parasite *Beauveria bassiana*.

Les expériences réalisées montrent une très nette sensibilité de la pyrale aux *Fungi Imperfecti* de façon générale et en particulier aux espèces *Metarrhizium anisopliae*, *Paecilomyces fumoso-roseus* et *Beauveria bassiana*. Cette sensibilité se manifeste aussi bien au moment de la vie larvaire que de la vie nymphale et imaginale.

La sensibilité du *Chilo suppressalis* au *Beauveria bassiana* n° 20 que nous avons retenu pour les raisons que nous avons exposées plus loin, est liée à la quantité de spores, à la température et aussi au stade de l'insecte (chrysalide, larve) considéré. C'est ainsi qu'on observe des doses léthales 50 % différentes pour les larves (2.10^7 spores/ml) et pour les chrysalides (3.10^5 spores/ml) à la suite de contamination par pulvérisation directe.

La souche retenue permet d'obtenir une forte mortalité différée et occasionner ainsi une infection secondaire des oeufs déposés.

Pour ce qui concerne l'infection des larves du dernier stade larvaire, on a pu constater que l'incorporation dans le milieu d'élevage s'un fongicide tel que la nipagine ne modifie pas la sensibilité de la pyrale au *Beauveria bassiana*.

Signalons enfin que la sensibilité du *Chilo suppressalis* comme celle de tous les autres insectes aux champignons entomopathogènes est liée à la virulence de ces derniers. On peut observer des baisses de virulence lorsque le champignon est trop longtemps multiplié sur milieu artificiel (MÜLLER-KÖGLER, 1965 ; BAJAN et al., 1973). Cette baisse de virulence n'est pas irrémédiable car un réisolement du champignon à partir de l'hôte mycosé permet de retrouver pleinement la virulence observée au départ.

CHAPITRE IV

EFFET DU CHAMPIGNON SUR L'INSECTE SURVIVANT AU TRAITEMENT ET SUR SA DESCENDANCE

A. POSITION DE LA QUESTION

L'action du pathogène fongique sur l'insecte survivant au traitement microbiologique et sur sa descendance est l'un des aspects les moins étudiés du rapport hôte-pathogène. Il est cependant important, non seulement de constater l'action directe des produits insecticides et des microorganismes entomopathogènes sur une population soumise à un traitement, mais aussi, l'effet de ces substances sur la partie de la population qui a survécu à ce traitement et sur des individus infectés avec des doses sublétbales. Compte tenu du rôle de la fertilité sur le développement de l'espèce, nous aurons à examiner cette question en même temps d'ailleurs que la fécondité des femelles chez *Chilo suppressalis*.

Si nous possédons aujourd'hui une abondante littérature sur l'action des insecticides chimiques sur les insectes survivants au traitement (MORIARTY, 1969), nous disposons de peu de renseignements sur l'effet des microorganismes entomopathogènes sur les populations qui survivent au traitement microbiologique et sur leur descendance.

Les travaux des chercheurs soviétiques (TELENGA, 1959 DJADECHKO et SIKURA, 1963 ; PRIMAK, 1967 ; SIKURA et SIKURA, 1967 ; ZIGAEV 1963 et 1967, SEKURINA, 1960) et polonais (BAJAN et KMITOWA, 1972) ont abordé les problèmes de l'action des champignons entomopathogènes employés seuls ou en combinaison avec des doses réduites d'insecticides chimiques sur les insectes qui survivent au traitement. La plupart de ces études ont porté sur le doryphore (*Leptinotarsa decemlineata* SAY) mais l'effet secondaire des traitements biologiques a été étudié sur des insectes appartenant à d'autres ordres (PRIMAK, 1967).

Beauveria bassiana utilisé seul provoque une baisse de fécondité assez importante chez le doryphore (SIKURA, 1968 ; ZIGAEV, 1963) ; cette réduction peut atteindre les 2/3 chez les adultes du carpocapse survivants au traitement lorsque ces derniers arrivent à pondre (PRIMAK, 1967). L'action de la combinaison *Beauveria bassiana*-doses sublétbales d'insecticides induit par contre une réduction de fécondité beaucoup moins importante que dans le cas précédent (DJADECHKO et al., 1963 ; MULLER-KOGLER, 1970).

L'insecte traité se défend contre l'agression du pathogène (KOIDSUMI, 1957). Chez la larve, la réaction est souvent matérialisée par la présence de taches de mélanisation sur le tégument. Dans certains cas lorsqu'il survit à l'attaque de son agresseur, l'insecte peut voir ses mécanismes physiologiques normaux profondement perturbés. DIEHTIAROVA (1967)

a observé des modifications du métabolisme protéoglucidique chez le doryphore à la suite d'un traitement avec un mélange *Beauveria bassiana*-DDT. Ces modifications témoignent selon MIENTIAROVA des capacités d'adaptation de l'organisme hôte à ces deux produits, mais peuvent expliquer les réductions de fécondité observées par ailleurs sur les adultes. Ces perturbations tout en ne tuant pas l'hôte peuvent persister et se manifester indirectement sur d'autres fonctions de l'organisme. C'est ce qu'affirment TELENGA (1959) et SIKURA et SIKURA (1967) en indiquant que l'action du champignon s'exerce non seulement sur l'insecte directement traité mais aussi sur les générations suivantes.

Il est souvent très facile au laboratoire, d'obtenir des taux de mortalité très élevés, en agissant simplement sur la dose (nous l'avons vu plus haut).

Il n'en est rien lorsqu'on réalise un traitement dans la nature. En effet quelle que soit la dose utilisée, elle peut être subléthale pour une partie dela population parce que, tout simplement, dans les conditions naturelles on ne peu+ être assuré, comme au laboratoire, que tous les individus sont entrés en contact avec un inoculum infectieux suffisant.

La dose de spores de même que de nombreux autres facteurs jouent un rôle important dans l'infection des insectes par les champignons (cf. Chapitre III).

Certains phénomènes observés lors des traitements biologiques comme la mortalité différée (FARGUES, 1972) peuvent être rattachés au problème des survivants. Si en effet nous considérons le cas du *Chilo suppressalis*, on peut continuer, à la suite d'un traitement larvaire, d'observer la mortalité dûe au champignon bien après la mue nymphale. Ceci veut dire que l'action du pathogène entrainant la mort de l'hôte ne se limite pas au stade traité seulement. C'est ce qu'on a qualifié du terme de mortalité différée.

Les insectes survivants au traitement sont ceux qui ont continué leur vie apparamment normalement en muant et en s'alimentant. La survie de certains individus est liée à une guérison (VEY et VAGO, 1969) dans laquelle intervient probablement certaines réactions cellulaires anticryptogamiques (VEY, 1971) ; mais les insectes sont généralement malades s'ils sont entrés en contact avec l'inoculum. L'action du pathogène ne se traduit pas immédiatement par la mort qui intervient dans certains cas avant la vie adulte suivant le symptôme classique de la momification. Cette action est, souvent, lorsque les doses sont subléthales, une perturbation des fonctions principales de l'organismes notamment de la fonction reproductrice qui se traduit par un affaiblissement de l'insecte (VEY et VAGO, 1969).

S'il est important sur un plan strictement économique d'obtenir une mort immédiate des insectes traités, il n'en est pas moins utile, sur le plan écologique , surtout dans un cadre de lutte biologique, ou de lutte intégrée, de pouvoir apprécier l'étendue des dégâts que l'on fait subir à la fraction survivante de la population traitée et à sa descendance.

Nous nous proposons d'étudier ici l'action directe du champignon sur les insectes traités, sur les survivants au traitement dont nous examinerons la fécondité et la fertilité.

Les mécanismes d'action de l'agent pathogène, ainsi que son mode de transmission à la descendance tout au moins celui de la perturbation créée à celle-ci sont autant de sujets d'investigations qu'il ne nous sera pas possible d'examiner dans le cadre de ce travail.

B. MATERIEL ET METHODES D'ETUDE

On peut répartir en 3 groupes les insectes utilisés dans cette étude des effets secondaires.

- larves diapausantes du dernier stade

Selon FUKAYA (1950), des larves de *Chilo suppressalis* élevées dès leur éclosion à une température inférieure à 22°C entrent en diapause. Tenant compte de cette observation, nous avons élevé des larves venant d'éclore à la température de 20°C, 16 heures sur 24 de photopériode et 90 à 100 % HR. Au bout de 35 à 45 jours on obtient des larves pleinement développées présentant tous les caractères apparents de larves normalement élevées à 25°C. Ces larves sont ensuite portées à la température de 25°C pendant 20 jours avant le traitement. Il nous a semblé très intéressant sur le plan pratique d'avoir une appréciation de l'effet secondaire du champignon sur de telles larves qui rappellent singulièrement la troisième génération du borer qui passe l'hiver en état de larve diapausante du 5e stade. Il va de soi que de l'importance de cette génération et de la fertilité de sa ponte dépendra l'importance de la première génération de l'année suivante qui cause de gros dégâts au riz.

- larves normales du dernier stade

Ce sont des larves issues d'insectes élevés à 25°C et elles-mêmes élevées en élevage artificiel à 25°C dès leur éclosion. Ces larves arrivent à leur dernier stade au bout d'une trentaine de jours en moyenne. Elles se chrysalident généralement 10 à 15 jours après la fin de leur temps d'alimentation.

- les chrysalides

Ce sont des chrysalides âgées de 24 à 30 heures formées à 25°C et qui vont être élevées à cette température après le traitement. Pour les trois groupes considérés, la photopériode sera de 16 heures d'éclairement sur 24 et l'hygrométrie de 80 à 100 % d'HR.

Compte tenu des faibles nombres d'insectes dont nous pourrons disposer, nous n'avons pas étudié la ponte en utilisant des lots de 30 à 40 couples comme pour la souche de *Chilo suppressalis* mais nous avons pris en considération les remarques de KAMANO (1971) en ne retenant que des lots d'au moins 5 couples.

Nous avons préféré en ce qui concerne l'étude de la fécondité et de la fertilité partir du nombre total d'oeufs pondus plutôt que de nous restreindre aux oeufs pondus dans les ooplaques de plus de 20 oeufs comme l'ont fait certains auteurs japonais (KAMANO, 1971). Ceci permettra d'apprécier plus justement ces critères.

Les études ont porté sur l'action du *Beauveria bassiana* seul. Les larves diapausantes ainsi que les larves normales ont été traitées

à la dose unique de 3.10^7 spores par millilitre de suspension par pulvérisation directe à la tour de traitement. Dans les deux cas une population de 300 larves élevées par lots de 30 individus a été étudiée.

Pour ce qui est des chrysalides nous avons retenu 3 doses de traitement : $3,3.10^5$; 1.10^6 ; $3,3.10^6$ spores/ml. A chaque dose, 15 chrysalides mâles et 15 chrysalides femelles ont été contaminées par pulvérisation directe.

Après traitement les insectes sont élevés à la température de 25°C, 16 heures de photopériode sur 24 et 80-100 % HR.

C. PRINCIPAUX RESULTATS OBTENUS

1. Etude des larves diapausantes

Ces larves présentent au moment du prélèvement, comme nous l'avons déjà signalé, tous les caractères apparents des larves normales du dernier stade prêtes à se nymphoser. Cet état apparent est malgré tout un état de diapause induit par la température (FUKAYA, 1959). Les larves élevées dès leur éclosion à 25°C (larves normales) prises dans ces conditions se chrysalident au bout de 10 à 15 jours en général ; par contre certaines des larves diapausantes vont survivre près de 200 jours.

Après un séjour de 20 jours à 25°C nous avons effectué le traitement d'un lot de 300 larves. Les résultats observés nécessitent certaines remarques :

1ère remarque : Les premières larves tuées par le champignon apparaissent dès le 5ème jour après le traitement et sont toutes entièrement mélanisées. Ce ne sera qu'au 7ème jour après le traitement qu'apparaître la mortalité par mycose de type classique avec des larves roses, momifiées par le champignon (photo 4). On peut donc penser que certains individus se sont trouvés dans un état d'hypersensibilité et ont présenté une réaction générale de tout leur organisme vis-à-vis de l'infection. Les frottis effectués ont révélé la présence d'une grande quantité de blastospores et de bacuéries.

2ème remarque : La formation des chrysalides qu'on observe aussi bien dans le lot traité que dans la souche diapausante dès le 5ème jour après le traitement se poursuit jusqu'au 17ème jour après celui-ci avant de s'arrêter. Les larves survivantes à ce moment se sont toutes nichées dans les logettes du papier gaufré placé dans les nymphoseirs en cessant toute activité.

3ème remarque : La nymphose ne reprendra que 44 jours après le traitement soit 68 jours après le début de l'élevage à 25°C. De plus la mortalité par mycose baisse dès le 35ème jour après le traitement et tous les insectes morts à partir de ce moment ont présenté le faciès septicémie avec dans certains cas présence de blastospores.

4ème remarque : A partir du 32ème jour après le traitement la plupart des larves se sont remises en activité, en quittant leurs logettes et en s'alimentant à nouveau. Ces larves ont mué une ou deux fois avant de se nymphoser entre le 62ème jour et le 89ème après le traitement.

On voit donc que la chrysalidation de la population s'est effectuée en 2 périodes différentes et nettement séparées. Nous en ferons donc

deux types différents pour mieux comprendre le phénomène et étudier la descendance. Le type n° 1 correspondra donc aux chrysalides formées dans la première période et les adultes qui vont éclore de ces chrysalides. Le type n° 2 sera composé de toutes les chrysalides formées pendant la deuxième période. Le schéma suivant récapitule l'ensemble de ces observations.

a. Effet direct du traitement sur les larves et évolution de la population traitée

Le tableau 12 donne l'effet direct du traitement sur les larves en tenant compte de l'évolution de la population dans le temps.

L'examen de ce tableau nous amène à constater :

- que la majeure partie des chrysalides s'est formée pendant la 2ème période de chrysalidation,
- que la mortalité différée par mycose sur chrysalides et sur adultes est nulle,
- que la mortalité larvaire par mycose est trop faible pour la dose de 3.10^7 spores/ml utilisée alors que par contre la mortalité larvaire par septicémie nous semble trop élevée.

On peut donc remarquer que ce traitement agit plus comme une dose réduite que comme une dose léthale 50 %. Mais ceci voudrait-il dire que les larves diapausantes sont moins sensibles que les larves normales sur lesquelles nous avons effectué les études préliminaires ? On pourrait être tenté de le penser.

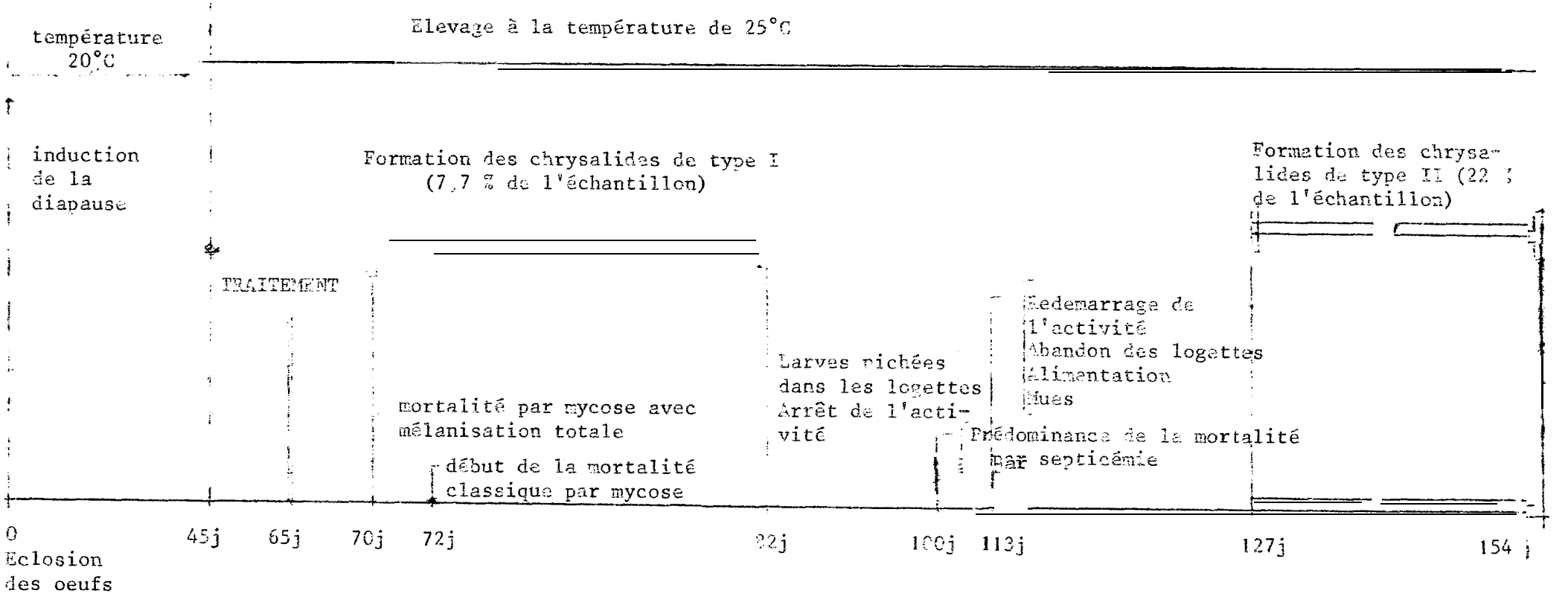
b. Evolution des chrysalides formées et étude de la ponte de la génération traitée.

La chrysalidation s'est étalée sur un temps assez long et s'est déroulée en deux périodes bien distinctes. Nous avons formé, compte tenu de l'apparition des adultes, 6 couples au niveau des imagos du type n° 1 et 2 lots de 10 et 13 couples au niveau des imagos du type n° 2. Le tableau 13 indique l'évolution des chrysalides des deux types sur lesquelles la ponte a été étudiée.

TABLEAU 13 : Eclosion des adultes et formation des lots de ponte au niveau des 2 types d'imagos enregistrés après un élevage de larves diapausantes traitées avec une suspension de *Beauveria bassiana* titrant 3.10^7 spores/ml.

	Nb chrys. formées	NB IP éclos	Nb femelles	Nb mâles	Nb couples formés	Nb chrys. mortes	% IP éclos
Type n° 1	23	20	12	8	6	3	87
Type n° 2	67	52	23	29	23	15	77,7

Schéma récapitulatif de l'évolution des larves diapausantes traitées avec une dose de 1.10^7 spores/ml d'une suspension de *Beauveria bassiana*



HR : 90-100 %

Photopériode : 16 heures d'éclairement sur 24

TABLEAU 12 : Résultats obtenus à la suite du traitement de 300 larves diapausantes à la dose de 3.10^7 spores/ml. Ces résultats sont exprimés en pourcentage par rapport à l'échantillon de départ pour les trois périodes considérées.

	Mort.larvaire par mycose	Mort.larvaire par septicémie	Chrysal. formées	mort.nymphale par mycose	IP formés	% mort.totale par mycose	% Mort.totale par septicémie
observations sur la 1ère période de chrysalidation	11	4	7,7	0	6,7	11	4
observations sur la 2e période de chrysalidation	5,3	18	22,3	0	17,3	5,3	18
Résultat sur ensemble du test	32,3	37,7	30	0	24	32,3	37,7

Malgré le faible nombre de chrysalides formées, on observe une forte proportion de nymphes qui donneront des adultes. On peut remarquer qu'entre les deux types de chrysalides formées, la différence n'est pas grande.

En ce qui concerne maintenant la ponte, nous allons tenir compte comme dans les autres expériences des critères suivants :

- nombre d'ooplaques de plus de 20 oeufs
- nombre total d'ooplaques déposées
- nombre total d'oeufs pondus (fécondité)
- nombre total de larves écloses (fertilité)
- nombre d'oeufs morts au stade capsule noire
- nombre d'oeufs morts sans aucun développement.

Le dénombrement des oeufs se fait à la loupe binoculaire soit au stade capsule noire, soit après l'éclosion de tous les oeufs. Dans ce deuxième cas, les pontes sont maintenues pendant 48 heures en condition d'incubation pour permettre l'éclosion de toutes les larves vivantes. Dans les deux cas le dénombrement est relativement facile à faire à un grossissement de 1,5 à 2 fois.

Les résultats obtenus sont exposés dans le tableau 14 comparativement aux pontes de 4 lots de six couples de la souche normalement élevées à 25°C, 16 heures de photopériode sur 24, 80-100 % HR. Ces résultats sont tous ramenés à la ponte d'une femelle, ce sont donc des moyennes.

TABLEAU 14 : La ponte enregistrée au niveau des deux types d'adultes en comparaison avec celle d'une souche normalement élevée.

	Nb ooplaques de + de 20 oeufs/femel.	Nb total d'oeufs/ femelle	Nb L1 écloses/ femelle	Nb oeufs morts au st.capsule noire	Nb oeufs morts sans développ^{t}	Fertilité des femelles
souche	2,5	122	73	-	-	60 %
ponte des IP du type n° 1	1,4	99	52	12	35	52 %
ponte des IP du type n° 2	1,9	105	63	7	33	60 %

On constate que aussi bien du point de vue du nombre d'ooplaques de plus de 20 oeufs que du point de vue du nombre total d'oeufs pondus et du nombre de larves par femelle, on enregistre une diminution dans les lots traités par rapport à la souche. Dans tous les cas les adultes du type n° 1, c'est à dire issus des chrysalides les premières formées, accusent une réduction plus importante. Lorsqu'on exprime la fertilité en pourcentage d'oeufs éclos par rapport au nombre total d'oeufs pondus, on peut remarquer que les adultes du type n° 2 se trouvent au même niveau que les adultes issus de la souche. Ceci veut dire que le pourcentage d'oeufs qui éclosent est le même malgré la différence observée au niveau de la fécondité (nombre d'oeufs pondus). Ce qui traduit une réduction des capacités de l'espèce à survivre

dans la mesure où la viabilité d'une espèce d'insecte peut se mesurer par le nombre d'oeufs éclos.

La réduction de la ponte est inférieure au quart du témoin dans les deux cas.

Nous avons mis en élevage les larves écloses pour poursuivre l'étude sur la descendance.

c. Etude de la première génération

Aucune des larves issues des adultes de type n° 2 n'a pu survivre. Nous ne parlerons donc ici que de la descendance des adultes du type n° 1. 502 larves ont été mises en élevage dès l'éclosion en même temps que 200 larves de la souche utilisées comme témoin. Un premier contrôle 20 jours après la mise en élevage nous a donné respectivement 153 larves vivantes dans le lot étudié soit 30 % environ de la population de départ et 192 larves dans le témoin soit 96 %. Le tableau 15 résume les autres observations effectuées sur ces deux catégories de larves.

On constate donc que le pourcentage de chrysalidation des larves de première génération issues des adultes de type 1 est très faible (25 % du total). Ce pourcentage est de 82 % sur les larves qui ont pu passer le cap des premiers stades de leur développement. La mortalité larvaire par septicémie bactérienne s'est manifestée sur les larves les plus jeunes.

TABLEAU 15 : Principales caractéristiques des larves et des chrysalides de la première génération issue des adultes de type n° 1.

	Nb larves considérées	Temps alimentation larvaire	% chrysalidation	Poids des chrysalides en mg		
				minimum	moyen	maximum
témoin	200	26 jours	90	22,9	46,7	74,5
F1 issues des adultes du type 1	502	28 jours	25	30	54,9	110

La partie de l'échantillon étudié qui a survécu est sans doute la partie la plus résistante. De façon générale ces larves s'alimentent plus longtemps que la souche et les premières chrysalides apparaissent plus tard. En déterminant les poids des chrysalides sur les 122 premières formées pour le témoin et les 105 premières formées pour le lot étudié, nous avons constaté comme le montre le tableau 15 que les chrysalides du lot traité pèsent plus lourd que les chrysalides issues de la souche.

Ceci présente-t-il une signification ? Certainement pas, bien que de façon générale les chrysalides femelles pèsent plus lourd que les mâles. L'éclosion de ces chrysalides a donné 54 femelles réparties en 3 groupes de ponte lié à l'âge des adultes. Le tableau 16 donne les observations faites à ce niveau.

TABLEAU 16 : Fécondité et fertilité de la première génération de papillons issus de larves diapausantes traitées au *Beauveria bassiana*

	Nb total oeufs pondus	Nboopplaques de + de 20 oeufs	Nb total ooplaques	Nb oeufs morts au stade capsule noires	Nb oeufs morts sans aucun développement
ponte totale enregistrée	9694	149	242	1245	1667
moyenne par femelle	179	2,75	415	23	31

Si l'on compare les résultats du tableau 16 à ceux du tableau 14 on constate qu'en l'espace d'une génération la fécondité et la fertilité des adultes sont revenues à la normale et même dépassent légèrement nos premières observations. Ces résultats nous ont amené à penser que l'effet du champignon s'est estompé. En effet dans cette première génération nous n'avons pas observé d'insectes atteints de mycose, ce qui semble se justifier compte tenu du fait que les oeufs n'ont pas été contaminés et que pratiquement seules des larves suffisamment vigoureuses ont pu survivre et se développer.

Si nous essayons de rapprocher cette question à ce qui se passe dans la nature, à la suite d'une épizootie, le niveau de la population est très bas mais le parasite ne trouvant plus aussi facilement son hôte ne se développe plus ou peu. Par contre le niveau de la population de l'hôte a tendance à remonter. C'est ce qui explique probablement l'importance de la ponte enregistrée ici.

4527 larves ont pu être mises en élevage comme constituant la 2ème génération mais nous l'avons considérée comme une souche car l'effet du champignon a totalement disparu. La descendance de cette population sera encore plus importante si aucun traitement n'est réalisé. Dans les conditions d'élevage artificiel, il n'y a pas de problème pour observer ce développement exceptionnel de l'hôte. Mais dans les conditions de la nature la maladie se remet à causer de grands ravages sur cette population.

2. Etude des larves normales

Pour cette étude comme dans le cas des larves diapausantes, nous avons traité une population de 300 larves. Nous avons essayé de déterminer l'effet du *Beauveria bassiana* sur les insectes directement contaminés, sur les survivants au traitement et sur leur descendance. L'évolution de cet échantillon va être très différente de ce qu'on a pu observer chez les larves diapausantes dont le cas est exposé ci-dessus. Aussi la façon d'aborder la question et d'exploiter les résultats sera quelque peu différente.

Signalons que dans ce cas où l'aspect extérieur des larves reflète beaucoup mieux leur état physiologique, les individus échantillonnés se sont chrysalidés dans leur grande majorité dans un temps relativement court permettant de réaliser des lots de ponte assez importants.

Les nymphes ont commencé à se former dès le 4ème jour après le traitement et 57 % des larves infectées se sont chrysalidées entre le 4ème et le 15ème jour. Compte tenu de ces observations nous avons constitué des classes déterminées de chrysalides en relation avec leur âge. Ainsi la classe I comprend toutes les chrysalides formées entre les 4ème et 5ème jours après le traitement ; la classe II les chrysalides formées entre les 6ème et 7ème jours ; la classe III les chrysalides des 8ème au 11ème jour et la classe IV les chrysalides des 11ème au 15ème jour.

a. Effet direct sur les larves traitées

L'évolution globale de la population larvaire au cours des 2 mois qui ont suivi le traitement est résumée dans le tableau 17.

TABLEAU 17 : Résultats exprimés en pourcentage observés à la suite du traitement de 300 larves normales du dernier stade de *Chilo suopressalis* à la dose de 3.10^7 spores/ml.

Temps après traitement	larves + nymphes mortes de mycose	Nb chrysalides formées	larves mortes septicémie	larves survivantes
15 jours	17,3	57,3	1	23,3
1 mois	21,3	59,7	6,3	12,7
2 mois	23,6	64,3	8	4

On peut constater comme indiqué plus haut que plus de la moitié des larves traitées s'est nymphosée dans les 15 premiers jours qui ont suivi le traitement. Ceci nous a permis de disposer de suffisamment de chrysalides du même âge assurant une éclosion d'adultes suffisamment groupée pour qu'on puisse former des couples de ponte pour l'étude de la fertilité et de la fécondité des adultes.

Les larves (23 %) qui ont survécu au 15ème jour, sans se chrysalider, tout en n'étant pas immédiatement mortes du *Beauveria bassiana* vont constituer un lot de larves attardées, malades, dont certaines vont se nymphoser et de nombreux autres mourir de mycose. Nous avons pu observer chez certains individus une mue supplémentaire et accompagnée d'une reprise de nourriture mais aucune larve n'est entrée en inactivité en se nichant dans les logettes du papier qui tapisse les parois des nymphosoirs sans se chrysalider ou mourir de mycose.

A partir du 15ème jour la chrysalidation s'étale et il n'y aura pas d'arrêt de ce phénomène dans la partie restante des larves jusqu'à l'évolution totale de tous les insectes. Aucune étude de ponte n'a de ce fait été possible sur cette partie de notre échantillon.

Les larves (4 %) qui ont survécu 2 mois après le traitement ont encore été élevées pendant 40 jours avant que toutes ne se soient nymphosées ou tuées par la mycose ou par septicémie. Ces larves ont vécu au total 100 jours.

L'étude de la ponte ne se fera que sur les adultes issus des chrysalides formées entre le 4ème et le 15ème jour après le traitement.

Le tableau 18 indique l'évolution de ces chrysalides et l'effet du *Beauveria bassiana* sur ces dernières.

TABLEAU 18 : Détermination des lots de ponte et effet du *Beauveria bassiana* sur les stades nymphal et imaginal après traitement des larves du dernier stade. Les nombres de chrysalides atteintes de mycose et mortes par septicémie et les nombres d'IP éclos et atteints de mycose sont exprimés en pourcentage du nombre de chrysalides formées.

	Nb tot. chrysal. formées	% chrys. mortes de mycose	% chrys. septicémie	% IP éclos	Nb couples utilisés pr étude de la ponte	% IP morts de mycose	% mortalit totale par mycose
*Classe I	70	22,9	12,9	64,3	20	40	62,9
Classe II	39	23	5	69	12	20,5	43,5
passe III	44	11,4	0	77,3	16	34	45,4
Classe I V	19	15,8	0	84	9	5,3	21,1
Témoin (chrysalides formées pdt la période 1)	15	0	0	100	5	-	-

Les quatre classes considérées ne sont pas formées du même nombre de chrysalides car dans chacun des cas nous avons retenu l'ensemble des nymphes. L'examen du tableau 18 et de la figure 10 permet d'émettre l'hypothèse d'une relation entre la classe des chrysalides et la mortalité totale par mycose de ces dernières.

L'approfondissement d'une telle hypothèse doit permettre d'établir un rapport entre le temps qui s'écoule entre le traitement des larves du dernier stade et la formation des chrysalides. Le nombre très réduit des 4 classes formées nous empêche de faire le calcul de la corrélation qui pourrait exister entre le temps et la mortalité par mycose sur les lots de ponte que nous avons constitués. Mais en répartissant les chrysalides formées en 8 classes sur l'ensemble du test comme l'indique le tableau 19 un tel calcul devient possible.

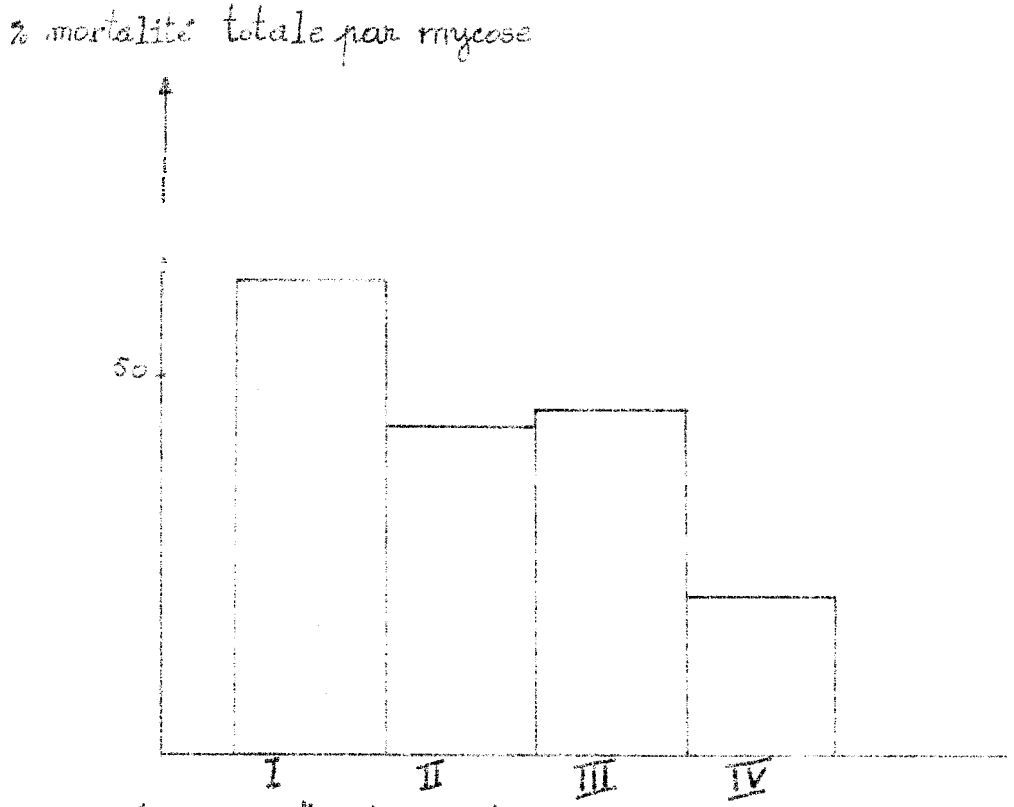


Fig. 10. Mortalité totale par mycose observée sur chrysalides issues de larves normales traitées à $3 \cdot 10^7$ spores/ml. Les observations correspondent aux différentes classes constituées sur les nymphes formées pendant les 10 premiers jours qui suivent le traitement.

TABLEAU 19 : Pourcentage de mortalité totale observée après 12 formation des chrysalides sur des lots d'âge différent.

Classes	I	II	III	IV	V	VI	VII	VII
temps après trait. en jours	5	7	9	12	16	27	60	100
pourcentage de mortalité observé sur chrys. après formation	62,9	43,5	25	20,4	21,4	0	0	0

Le calcul de la corrélation entre le temps qui sépare le traitement et la formation des chrysalides de la classe considérée et le pourcentage de mortalité totale par mycose sur les chrysalides et les adultes du lot donne un coefficient de corrélation égal à r = -- 0,6857.

Ceci veut dire que lorsque le temps qui s'écoule après le traitement augmente, le pourcentage relatif de mortalité par mycose observé diminue. Cette valeur n'est pas significative au risque d'erreur de 5 % mais elle est tout juste significative à 10 %. Nous ne pouvons donc pas en déduire qu'il existe une relation entre ces deux facteurs. Néanmoins on peut retenir que les chrysalides les premières formées présentent une plus grande probabilité de mort par mycose que celles qui se forment en dernier lieu.

b. Effet sur la ponte des adultes survivants

Les résultats obtenus, en procédant comme dans le cas précédent des larves diapausantes pour le dénombrement des larves sont exposés dans le tableau 20.

L'examen de ce tableau montre qu'aussi bien du point de vue de la fécondité (nombre d'oeufs par femelle et nombre d'ooplaques de plus de 20 oeufs) que de la fertilité (nombre de larves écloses par femelle), on enregistre les résultats les plus faibles avec les insectes de la classe I. On observe par contre une excellente fécondité au niveau des femelles de la classe II. On peut remarquer que la partie du témoin qui s'est nymphosée en même temps que les insectes constituant la classe I accuse une légère réduction de fécondité. Aucun des lots n'a cependant une fertilité que l'on peut rapprocher au 71 % du témoin. Ceci veut dire que dans l'ensemble la réduction de la fertilité des insectes traités est très nette. Elle varie de 100 % pour les adultes des classes I et VI à quelque 86 % pour la classe II. Cette réduction pourrait être moindre pour les adultes issus des larves attardées dont nous avons parlé plus haut en nous référant aux observations faites sur le type n° 2 des larves diapausantes.

TABLEAU 20 : Effet du traitement larvaire au *Beauveria bassiana* sur la fécondité et la fertilité des femelles de *Chi lo suppressalis*.

	Nb total ooplaques	Nb ooplaques ≥ 20	Nb total oeufs pondus	Nb total oeufs éclos	Nb ooplaques de + de 20 par femelle	Nb oeufs pondus par fem.
Classe I	16	6	507	0	0,3	25
Classe II	70	20	1353	187	1,6	113
Classe III	42	9	577	10	0,56	36
Classe IV	32	11	735	0	1,22	82
Témoin (correspondant à la classe I)	8	8	528	373	1,6	105

On peut également remarquer qu' au niveau de. 1 ' importance des ooplaques déposées, alors que les femelles du témoin pondent de3 ooplaqués très importantes de plus de 20 oeufs, nu niveau des insectes traités, le nombre de petites ooplaques domine largement. De façon générale, le nombre d'ooplaques de plus de 20 oeufs a subi une réduction très nette surtout au niveau des femelles de la classe I.

En conclusion, on peut dire que le *Beauveria bassiana* agit sur l'activité de ponte de *Chilo suppressalis* en provoquant une réduction très nette de la fertilité et de la fécondité des femelles lorsqu'on traite les larves du dernier stade à des doses voisines de la DL 50.

Les chrysalides formées après le traitement présentent une sensibilité à la mycose qui se traduit par leur mort. Nous avons déjà parlé de ce problème plus haut. L'évolution globale de la population traitée semble peu perturbée aux stades larvaire traité et prénymphe, où on n'observe qu'une mortalité globale de l'ordre de 24 % provoquée par la mycose.

La mortalité totale est assez importante. Ceci fait que la reconstitution de la population peut prendre beaucoup de temps, s'il n'y a aucun apport extérieur.

Parmi les 197 larves des classes II et III qui ont pu éclore, 83 seulement seront mises en élevage les autres étant mortes. Mais aucune de ces larves ne pourra survivre. Aussi la descendance de ces larves normales traitées n'a pas été étudiée. Cependant les larves issues des pontes du lot témoin se sont développées très normalement.

Dans le cas d'échantillons plus importants et plus nombreux, il eut été possible, comme dans la nature lorsque l'action du pathogène est supprimée, de régénérer la population. Le cadre de notre travail ne nous aura pas permis de développer tous les aspects de cette question, ce qui reste bien sûr à faire. Disons seulement que le problème de l'évolution de la descendance est d'une importance pratique primordiale.

3. Etude des chrysalides

Dans le cas des chrysalides nous avons opéré un traitement en 3 doses comme nous l'avons indiqué plus haut. A chaque dose 30 chrysalides ont été infectées. Les couples d'adultes sont formés dès l'éclosion et mis en pondoirs. Un lot de 10 couples sera étudié pour chaque dose, en ce qui concerne la ponte sauf pour le témoin qui ne comptera que 5 couples.

a. Effets du *Beauveria bassiana* sur les insectes traites

Le tableau 21 donne l'effet direct du champignon sur les chrysalides et les adultes issus de ces derniers. Les pourcentages indiqués se rapportent à l'ensemble du test et pas seulement aux couples utilisés pour la ponte.

TABLEAU 21 : Effet direct du *Beauveria bassiana* sur chrysalides et adultes de *Chilo suppressalis* après traitement des jeunes chrysalides.

Doses	Chrys. mortes mycose	Chrys. septicémie	IP éclos	IP morts mycose	Longévité des adultes en jours	Nb de couples formés	Activité ponte
1 (3.10^5)	13,3	3,3	83,3	40	7	10	++
2 (1.10^6)	13,3	0	86,7	46,7	7	10	+
3 (3.10^6)	6,7	0	93,3	80	6	10	+
témoin	0	3,3	96,7	0	9	5	+++

Aussi bien dans le témoin que dans les lots traités, les chrysalides ont normalement évolué et ont donné lieu à l'éclosion d'imagos. La majeure partie de la mortalité par mycose observée est une mortalité différée au stade adulte.

On peut aussi constater sur ce tableau que la durée de vie moyenne des adultes est très réduite au niveau de la dose 3 où se manifeste la plus importante mortalité imaginale par mycose.

En ce qui concerne le témoin signalons que malgré l'importance de l'éclosion, 5 couples seulement pourront être formés et malheureusement nous, n'avons observé qu'une seule ooplaque très grande (cf. tableau 22) mais nous n'en tiendrons pas compte.

b. Effet du champignon sur la ponte lorsqu'on traite les insectes au stade chrysalide

Le dénombrement des oeufs pondus ayant été effectué de la même façon que dans les 2 cas précédents, les résultats obtenus se trouvent exposés dans le tableau 22.

L'action du champignon qui s'est manifestée sur la mortalité totale des insectes traités se constate au niveau de la ponte.

La fécondité et la fertilité. des femelles sont très réduites et leur diminiition semble pouvoir être liée à la dose de spores.,

TABLEAU 22 : Effet secondaire du *Beauveria bassiana* sur l'activité de ponta de *Chilo suppressalis* traité au stade chrysalide.

Lots	Nb total ooplaques	Nb ooplaques de + de 20 oeufs	Nb total oeufs pondus	Nb oopl. atteintes mycose	Nb oeufs éclos	Nb oopl. de + 20/ femelle	Nb total oeufs par femelle
témoin	-	1	135	0	135	1	135
dose 1	65	7	753	25	148	0,7	75
dose 2	31	5	609	10	0	0,5	61
dose 3	20	5	313	20	0	0,5	31

Ce qui peut se justifier compte tenu de l'importante mortalité enregistrée au niveau des doses les plus fortes.

Le nombre d'ooplaques déposées ainsi que 1;. nombre d'ooplaques de plus de 20 oeufs est très réduit. Aucun oeuf n'a Eclos aux doses de 1.10^6 et 3.10^6 spores/ml. Ceci est lié à l'importance de l'attaque secondaire ***du*** *Beauveria bassiana* sur les oeufs. En effet à la dose de 3.10^6 spores/ml où les adultes sont morts très vite, le champignon a eu le temps de fructifier et de s'attaquer aux pontes . Les enceintes d'élevage des adultes étaient suffisamment petites pour permettre une dispersion des spores du champignon. Xl est donc possible d'obtenir, lorsque les adultes morts persistent sur les lieux de ponte, des infections secondaires des oeufs ou même des jeunes larves nouvellement écloses. Cette observation nous a amené à effectuer un traitement des oeufs (voir Chapitre III) pour essayer de préciser le mode d'infection de ces derniers.

Seule la dose de 3.10^5 spores/ml a permis d'obtenir l'éclosion de larves qui ont été mises en élevage. Cette dose est la plus proche de la DL 50 ($2 . 10^5$ spores/ml) que nous avons déterminée plus haut . Ceci nous amène à panser que les doses de traitement des chrysalides doivent être au plus égales à la DL SO lorsqu'on veut disposer de suffisamment de larves issues des pontes pour étudier la descendance. L'effet direct du champignon sur les chrysalides est trop fort aux fortes doses pour permettre l'existence d'une descendance iinportante. L'explication est sans doute donnée par la plus grande sensibilité de ces dernières à La mycose (voir Chapitre III).

c. Etude de la première génération

Seuls les oeufs pondus par les insectes traités à la dose de 3.10^5 spores/ml ont donné lieu à l'éclosion de larves. 131 des larves

écloses ont donc été mises en élevage. 50 de ces larves ont pu se nymphoser, toutes les autres, soit 62 % des larves élevées, sont mortes avant d'atteindre le stade chrysalides. Le temps d'alimentation de ces larves est de 30 jours ; les chrysalides formées présentent les caractéristiques suivantes =

poids maximum : 98,6 mg
poids moyen : 57,6 mg
poids minimum : 33,5 mg

Elles sont réparties en 29 mâles et 21 femelles soit un sexe-ratio de 58 % par rapport aux mâles. 20 couples ont été formés pour l'étude de la ponte. Le tableau 23 résume les résultats obtenus.

TABLEAU 23 : Fécondité et fertilité de la première génération issue de chrysalides traitées.

Nb total oeufs pondus	Nb oeufs morts au st.capsule noire	Nb oeufs morts sans aucun développement	Nb total ooplaques	Nb oopl. ≥ 20 oeufs	Nb oopl. de + 20 oeufs / femelle	Nb oeufs par femelle
3391	268	1246	112	48	2,4	169

Le tableau 23 indique une augmentation. assez nette de 1.3 fertilité et de la fécondité au niveau de la première génération issu:: des chrysalides traitées. La perte a été très importante au niveau des larves du premier stade mais les insectes les plus résistants qui ont pu survivre ont pratiquement retrouvé leur potentiel reproducteur.

LES résultats obtenus Ici se rapprochent beaucoup des observations faites sur la première génération d'insectes issus des larves diapausantes.

En considérant les chrysalides obtenues on peut remarquer l'augmentation de poids de ces dernières par rapport à la souche (voir tableau 15).

Pour conclure sur l'effet de la mycose sur les chrysalides disons que l'action directe sur les insectes traités est trés nette. Cette action se manifeste par la mortalité des individus qui sont entrés en contact avec le champignon par la réduction de la fertilité et Je la fécondité des survivants au traitement, La première génération issue des survivants est très atteinte au niveau larves du premier stade mais l'action de la mycose ne semble pas se poursuivre au-delà, car aussi bien le poids des chrysalides formées que la fertilité et la fécondité des adultes de cette première génération accuse une augmentation non négligeable.

4. Interprétation des résultats

Les principales études consacrées à la fécondité de *Chilo suppressalis* menées par des auteurs japonais sur les populations naturelles, ont fourni des résultats qualque peu contradictoires (KUWANA, 1929,

KABURAKI et al., 1939). Ces auteurs donnent pour la pyrale du riz une fécondité moyenne de l'ordre de 300 oeufs et des possibilités pouvant atteindre 3000 oeufs par femelle et 20 coplaques de plus de 20 oeufs.

GOMEZ-CLEMENTE (1948) indique une fécondité moyenne de l'ordre de 150 oeufs par femelle dans les conditions de la nature en Espagne. C'est luiqui semblese rapprocher le plus des résultats indiqués par KAMANO (1971) qui observe en élevage artificiel une fécondité de 2 à 3 ooplaques de plus de 20 oeufs, tout en fixant un nombre moyen d'oeufs par ooplaque égal à 50.

Nous avons obtenu dans notre élevage une fécondité de l'ordre de 120 à 130 oeufs par femelle, dénombrés sur l'ensemble des ooplaques déposés et non estimée à partir des ooplaques de plus de 20 oeufs. Ceci étant, les résultats obtenus peuvent dans certain? cas sembler s'écarter des chiffres indiqués plus haut.

La sensibilité particulièrement importante des chrysalides au *Beauveria bassiana* nous a amené à étudier l'effet du champignon sur cette partie de la population. Ce fait l'intérêt pratique que peut présenter une possibilité d'intervention sur les larves diapausantes qui, à de nombreux points de vue, peuvent être rapprochées de la 3ème génération naturelle hivernante et diapausante, explique l'étude menée sur des larves de ce type.

Sur les larves diapausantes, en plus du choc thermique qui a provoqué dès les premiers jours d'élevage à la température de 25°C l'apparition de chrysalides, on a pu constater un effet direct du champignon qui a tué les insectes au stade: Larvaire. La partie de la population qui a survécu n'a pas été profondément perturbée de façon directe par le champignon. Mais aussi bien les adultes formés dans la première période que ceux formés dans la dernière, ont accusé une réduction nette de leur fertilité et de leur fécondité.

Les larves normales ont beaucoup plus souffert de l'action du champignon qui a tué des larves au stade même du traitement, des chrysalides qui ont réussi à se former et des adultes qui sont issus de certaines chrysalides. C'est une action de mortalité différée que nous avons déjà signalée. Les adultes formés ont réussi, dans tous les cas où des couples ont pu être formés, à pondre. La fécondité et la fertilité de tels adultes ont été très limitées par rapport aux capacités de la souche. Si on ne peut pas définir une corrélation bien nette entre l'âge des chrysalides issues des larves traitées et la sensibilité de tels insectes à la mycose, il semble bien que les premiers insectes qui arrivent à se chrysalider après le traitement meurent davantage de mycose que les autres. Dans l'ensemble. les larves normales semblent très sensibles au *Beauveria* même à une dose moyenne (3.10^7 spores/ml). L'effet secondaire sur la population est très net à ce niveau. Dans l'ensemble au niveau de la ponte, les résultats observés sont inférieurs à ceux obtenus sur les larves diapausantes. Ceci pourrait signifier que les larves normales, c'est à dire correspondant aux première et deuxième générations naturelles, sont plus sensibles aux effets de la mycose que les larves diapausantes. Il serait cependant très hasardeux de l'affirmer. Il suffirait d'un test comparatif pour le déterminer, permettant ainsi de définir le moment privilégié pour intervenir contre la pyrale.

En ce qui concerne les chrysalides, la sensibilité 3 la mycose est bien nette à tous les niveaux nous n'y insisterons pas davantage.

Une synthèse de l'ensemble de nos observations sur la ponte 'e *Chilo suppressalis* nous a permis, malgré l'importante perte d'information enregistrée à ce niveau de constater des corrélations très hautement significatives au risque d'erreur de 1 %, entre d'une part le nombre total d'oeufs pondus par femelle et d'autre part le nombre d'oeufs éclos et le nombre d'ooplaques de plus de 20 oeufs déposées. La corrélation établie entre le nombre d'oeufs par femelle et le nombre de couples par boite est non significative confirmant les observations de KAMANO selon lesquelles lorsque le nombre de couples est supérieur ou égal à 5 il. n'y a pas d 'incidence sur la ponte de *Chilo suppressalis*.

Les deux études menées sur la première génération issue des survivants au niveau des larves diapausantes et des chrysalides ont permis d'observer une mortalité larvaire non négligeable au 1er stade. Mais les larves qui ont pu se développer normalement ont vu leur potentiel biotique légèrement augmenté par rapport à la souche. 11 serait là aussi intéressant de poursuivre 1 'étude pendant plusieurs générations pour mieux saisir l'effet de la mycose. Il est fort probable cependant que si un autre traitement n'intervient pas l'insecte retrouve rapidement son niveau initial. Le tableau 24 récapitule les principaux résultats enregistres nu cours de cette étude.

L'action du champignon se présente ici comme une action éphémère qui se limite surtout aux insectes directement mis en contact avec les spores. Dans la nature, après une épizootie, l'insecte hôte se trouvant à un niveau de population très bas, le développement du parasite est freiné, parce qu'il. est plus ou moins lié à la "nourriture" disponible, donc à l'importance de la population de l'hôte dans le milieu. Un apport artificiel du germe pathogène peut mettre ce dernier en contact avec son insecte hôte quel que soit le niveau de celui-ci dans l e milieu considéré. Les méthodes de lutte biologique s'inspirent beaucoup de telles considérations.

Disons donc: pour ce qui concerne le *Chi lo suppressalis* qu'une éventuelle utilisation des champignons entomopathogènes , dans la lutte contre ce ravageur devra veiller à te qu'un contact puisse s'établir entre l'hôte et le parasite utilisé.

D. DISCUSSION ET CONCLUSIONS

L'action subléthale des insecticides chimiques a déj à fait l'objet de nombreuses mises au point dont celle particulièrement importante de MORIARTY en 1969 . Mais pour ce qui concerne les produits biologiques on peut constater, comme du reste nous l'avons déjà signalé, la rareté des travaux sur leurs effets secondaires sur les insectes survivants à l 'infection.

MORIARTY (1969) distingue trois types d'effets écologi ques causés par les insecticides chimiques :

- un effet sur la capacité de survie des insectes traités.
- un effet sur le potentiel reproducteur de ces derniers.
- un effet sur la constitution génétique ries futures générations.

TAMASHIRO et al. (1955) ont défini la toxicité latente des insecticides comme étant "a phenomenon in which the full lethal effect of an insecticide although applied to a larvae does not become manifest until after the insect becomes an adult".

TABLEAU 24 : Récapitulation des principaux résultats enregistrés

Types d'insectes traités	Groupes étudiés pour la ponte	Effet sur la ponte selon les groupes	Effet sur la fertilité	Existence d'une descendance élevée	Effet de mortalité différée	Observations particulières sur l'ensemble de l'échantillon
Larves diapausantes	Imagos du Type I	Forte réduction	Réduction	+	pas de mortalité différée	Deux périodes bien différentes de formation des chrysalides, séparées par une période d'inactivité assez longue
	Imagos du Type 2	réduction moins importante	Pas de réduction	-		
Larves normales du dernier stade	Classe I	Très forte R	pas d'éclos.	-	mortalité différée sur chrysalides et sur adultes survivants	mortalité de toutes les larves néonates écloses des oeufs pondus par les insectes contaminés au stade larvaire
	Classe II	pas de R	très forte R	--		
	Classe III	Très forte R	presque nulle	-		
	Classe IV	réduction	pas d'éclosion	-		
	Reste de la population	pas de ponte enregistrée		-	pas de mortalité différée	l'étalement de la chrysalidation n'a pas permis une étude de la ponte
Jeunes chrysalides	Dose 1(3.10^5)	++ réduction	forte réduction	+	mortalité différée sur adultes importante et liée à la dose	Effet net de la dose sur la fécondité et sur la fertilité des adultes survivants issus des chrysalides infectées
	Dose 2(1.10^6)	+ très forte R	pas d'éclosion	-		
	Dose 3(3.10^6)	+ très forte R	pas d'éclosion	-		

Ces quatre types d'effet englobent l'ensemble des questions qui peuvent se poser au niveau des survivants à un traitement ou de leur descendance.

1. Le problème de la capacité de survie des insectes traités

Cette question pose le problème de l'efficacité du produit insecticide utilisé et celui de la sensibilité des insectes traités.

La sensibilité des insectes aux produits chimiques comme aux substances biologiques insecticides est presque toujours liée à la dose utilisée. Nous en avons donné une nette démonstration en étudiant la sensibilité du borer du riz au *Beauveria bassiana*. Cet aspect est le plus souvent considéré comme une action directe de l'insecticide dans la mesure où elle se traduit par la mort de l'insecte. Mais la sensibilité de l'insecte au produit est aussi un facteur lié aux capacités de résistance de l'insecte à l'infection pathogène ou à l'insecticide chimique. Ici intervient la souche de pathogène utilisée ou la nature chimique du produit.

Les effets subléthaux, du point de vue des chimistes, concernent tous les effets de l'insecticide chimique mis à part la mort immédiate ou à terme de l'insecte traité. A ce niveau RAMADE (1967) relève certaines confusions de terme en ce qui concerne le sens de "doses subléthales" car alors que certains auteurs désignent par là toute dose à laquelle un insecte a survécu, même s'il s'agit de DL 95, d'autres restreignent ce terme aux doses faibles, causant au plus 10-15 % de mortalité dans une population. Il sera donc plus simple dans ces conditions de parler d'effets secondaires des produits sur les survivants plutôt que d'utiliser le terme effets subléthaux.

Les insectes qui vont survivre, compte tenu de ces remarques, seront donc soit des insectes suffisamment résistants, soit des insectes qui ont reçu une faible quantité de la substance insecticide. Dans les deux cas cette substance peut agir dans le sens d'une modification sur les principales fonction de l'insecte.

En ce qui concerne les produits biologiques, VEY et VAGO (1969) ont montré que la survie à l'action des champignons entomopathogènes est souvent liée à des phénomènes de guérison dans lesquels interviennent des réactions hémocytaires aboutissant notamment à la formation de granulomes.

2. Le problème de la toxicité latente

La toxicité latente telle que TAMASHIRO et al. l'ont définie ne fait intervenir la mort de l'individu contaminé ou intoxiqué qu'au stade adulte. Ce phénomène compris à la lumière des observations de FARGUES (1972) sur le doryphore et des résultats que nous avons exposés ici sur le *Chilo suppressalis* peut être défini comme une mortalité différée. Les insectes intoxiqués par un produit chimique ou contaminés par un champignon peuvent continuer à vivre apparemment normalement. Dans ces cas la mort avec tous les symptômes normaux de la mort par le produit (chimique ou biologique) utilisé peut se manifester aux stades de développement ultérieurs au traitement.

C'est une action directe du traitement sur la population traitée, MORIARTY (1969) l'indique en disant que la toxicité latente ne concerne que les survivants au traitement.

On peut donc dire qu'aussi bien en ce qui concerne. les insecticides de synthèse qu'en ce qui concerne les substances microbiologi - ques entomopathogènes, l' action du produit peut se manifester avec un certain retard dû très probablement à une moins grande ef ficaci té sur les individus concernes.

3. Effet sur le potentiel reproducteur des insectes survivants

C'est l'aspect le plus étudié parce que le plus directement intéressant la lutte contre le ravageur.

Pour ce qui concerne les insecticides de synthèse cet effet est très variable dans la mesure où selon les conditions d'utilisation, selon les doses employées et selon le moment de l'application, on peut observer soit une augmentation, soit une baisse de la fécondité des femelles survivant au trni tement. MORIARTY (1969) signale en citant KUIPERS (1962) que des applications de DDT à des moments différents sur le doryphore peuvent entrainer soit une baisse soit une augmentation. de la ponte des femel les. Il indique que les corps allates des femelles intoxiquées sont légèrement plus gros que ceux: des témoins mais pas de façon signifi cative et il pense que l'insecticide induit une production hormonale. Dans de nombreux autres cas cités par MORIARTY il a été constaté une réduction de la fécondité des femelles survivant à des insecticides.

Pour ce qui est des substances biologiques, la plupart des études effectuées par les auteurs soviétiques ont: fait intervenir des champignons entomopathogènes surtout: de l'espèce *Beauveria bassiana* et presque dans tous les cas en association avec des insecticides chimiques.

Le champignon employé seul provoque dans tous les cas des réductions de ponte (BAJAN et al., 1972 ; SIKURA et SIKURA, 1967 ; PRIMAK, 1967). Alors que ZIGAEV (1967) et SIKURA et al. (1967) ont observé une augmentation de ponte consécutive à un traitement de femelles de doryphore au DDT seul. D'après ces mêmes observations le mélange DDT-*Beauveria bassiana* réduit la fécondité des adultes mais dans de moindres proportions que le champignon employé seul. MULLER-KOGLER (1970) et DJADECHKO et al. (1963) ont observé les mêmes résultats.

Ces observations confirment pour ce qui est de l'effet du DDT seul les résultats de KUIPERS.

Nos propres observations sur la fécondité de *Chilo suppressalis* soumise au *Beauveria bassiana* montrent une réduction très nette de la ponte des femelles traitées par rapport aux témoins.

D'autre part sur *Chilo suppressalis*, la première génération issue des insectes traités avec le *Beauveria bassiana* retrouve entièrement son potentiel reproducteur.

Le champignon n'étant pas transmis directement à la descendance par les oeufs au moment de l'ovogenèse, son action sur la ponte est surtout le résultat des diverses interactions avec les différentes fonctions métaboliques de l'insecte qui secondairement affectent la fonction reproductrice. DIEHTIAROVA (1967) a constaté des modifications du métabolisme protéoglucidique chez des larves de doryphore traitées avec le mélange *Beauveria*-

DDT. Ces modifications sont le signe de perturbations de certains mécanismes physiologiques qui seront ressenties par l'insecte tout au long de sa vie. Une réduction de ponte au niveau des adultes témoigne de telles perturbations.

4. Effet sur la constitution génétique des futures générations

C'est certainement l'effet le plus difficile à mettre en évidence. L'utilisation massive des insecticides chimiques a créé chez certaines populations d'insectes des variétés résistantes au produit utilisé. Cette résistance est dans de nombreux cas une accoutumance à l'insecticide dans la mesure où une interruption d'utilisation permet de rétablir la sensibilité de la population. Si cette résistance apparaît à la suite de mutations, elle s'installe définitivement contre le produit.

Des substances qui peuvent agir sur les méioses au niveau de la gamétogénèse peuvent facilement provoquer des mutations au niveau d'une population, ce qui n'est pas le cas pour des produits provoquant uniquement une action physiologique.

Si donc comme le pense MORIARTY l'effet secondaire du traitement chimique sur la constitution génétique des futures générations est certain, on ne saurait avoir la même certitude pour ce qui concerne l'effet des champignons entomopathogènes, puisque leur action principale intéresse la physiologie de l'insecte.

En conclusion, on peut constater à travers les divers aspects de l'effet des produits insecticides que nous venons de soulever, combien importante peut être cette question des effets secondaires d'un traitement sur une population de ravageurs. Nos connaissances dans ce domaine sont encore insuffisamment développées surtout pour ce qui est des effets secondaires des insecticides microbiologiques dont l'importance en défense des cultures augmente de plus en plus.

CONCLUSIONS GENERALES

Il est important à la fin de ce travail, de faire le bilan des divers résultats obtenus, d'attirer l'attention sur un certain nombre de problèmes et de poser les questions qui se dégagent nettement.

L'étude de la sensibilité du *Chilo suppressalis* aux *Fungi Imperfecti*, dans les conditions du laboratoire a tout d'abord nécessité la maîtrise de l'élevage de l'insecte. La méthode proposée à cet effet par GUENNELON et SORIA en 1973 nous a donné pleine satisfaction car il nous a été possible de disposer dans les délais souhaités de la quantité d'insectes voulue pour nos différentes expériences. L'autre problème qui se rattache à celui-ci est que, compte tenu de la longueur du cycle de la pyrale (soixante jours environ), une bonne coïncidence devait être établie entre le développement du champignon multiplié sur milieu synthétique et celui de l'insecte.

Nous avons donc pu mettre en évidence la sensibilité de *Chilo suppressalis* aux champignons imparfaits dans les conditions du laboratoire. Nous avons également constaté que le parasitisme de *Beauveria bassiana* sur la pyrale du riz est liée à la dose de spores utilisée, au stade de l'insecte contaminé, à la souche du champignon et à la température ambiante. Il faut donc dire à la suite de ces observations que tout essai d'utilisation ultérieure des champignons entomopathogènes contre cet insecte devra tenir compte de ces observations et les approfondir pour atteindre une efficacité maximale.

L'effet du champignon *Beauveria bassiana* sur le *Chilo suppressalis* ne se traduit pas uniquement par une mort présentant tous les symptômes normaux de la mycose. Une importante action de mortalité différée a été mise en évidence sur les insectes traités (larves ou chrysalides) qui a permis de révéler les possibilités de transmission de la maladie des adultes tués par la mycose aux oeufs pondus par ces derniers. C'est une question importante dans la mesure où elle laisse entrevoir une possibilité de réduction de la population de la génération suivante. Un effet secondaire caractérisé par la réduction de la fécondité et de la fertilité des adultes issus de larves ou de chrysalides traitées a également été mis en évidence. Cet effet semble relativement limité quant à son prolongement sur la descendance car les insectes de première génération que nous avons étudiés n'ont pas paru affectés par la maladie cryptogamique de leurs parents.

Ces questions nous amènent directement à nous poser le problème de l'utilisation des champignons entomopathogènes en lutte biologique. Disons qu'il y a déjà des exemples à la suite des travaux de FERRON sur le ver blanc et des chercheurs soviétiques sur le doryphore. Les différents problèmes soulevés : multiplication des germes pathogènes, connaissance des facteurs déterminant les rapports insecte-hôte champignon entomopathogène etc. font encore aujourd'hui l'objet de grands thèmes de recherche.

La sensibilité du *Chilo suppressalis* aux *Fungi Imperfecti* telle que nous venons de la mettre en évidence pose immédiatement les possibilités d'utilisation de ces microorganismes dans la lutte contre cet insecte qui comme on le sait cause encore aujourd'hui de graves dégâts à la culture du riz dans de nombreux pays du monde.

Cet insecte vit en borer dans les tiges du riz. L'infection de tous les stades de son développement (oeufs, larves, chrysalides, adultes) par le champignon *Beauveria bassiana* permet de pouvoir espérer l'atteindre dans la nature. C'est de toute façon une question qui doit faire l'objet d'investigations précises et qui va dans la logique du travail que nous avons entrepris.

Mais l'utilisation d'un microorganisme sur une grande échelle c'est à dire concrètement en tant que insecticide microbiologique nécessite qu'on remplisse un certain nombre de conditions que DUNN et MECHALAS (1963) ont indiquées :

1. L'organisme doit être en mesure de réduire les populations d'insectes d'importance économique.

2. L'organisme doit être non pathogène et non toxique aux animaux à sang chaud, en particulier à l'homme.

3. L organisme doit produire une quantité qui peut être sur le plan pratique et sur le plan économique, utilisée sur une échelle commerciale pour une lutte efficace contre les ravageurs.

On constate donc que malgré les résultats acquis de nombreuses questions restent posées et qu'il faut résoudre avant que des suspensions à base de *Beauveria bassiana* ne soient utilisées dans les rizières pour lutter contre le *Chilo suppressalis*.

RESUME

La mise au point d'un élevage permanent de masse de la pyrale du riz (*Chilo suppressalis*) effectuée par GUENNELON et SORIA (1973) a permis d'entreprendre l'étude de la sensibilité de cet insecte aux *Fungi Imperfecti* ainsi que celle des effets secondaires d'une souche particulièrement virulente de *Beauveria bassiana* sur les survivants à une infection avec ce champignon.

Il se dégage de cette étude qu'aussi bien les larves, les chrysalides que les adultes et les oeufs de la pyrale du riz sont sensibles à la mycose à *Beauveria bassiana*. Mais les larves et les chrysalides présentent une forte sensibilité à l'agent de la muscardine verte *Metarrhizium anisopliae* ainsi qu'au *Paecilomyces fumoro-roseus*.

L'action du *Beauveria bassiana* aussi bien sur las larves que sur les chrysalides est liée à la dose de spores utilisées et à la température.

En ce qui concerne les effets secondaires du *Beauveria bassiana* sur la pyrale du riz, l'étude a porté sur des larves diapausantes, sur des larves normales et sur de jeunes chrysalides. Une action de mortalité différée aux stades ultérieurs au traitement est nettement décelable. Dans l'ensemble de cette étude on peut constater une réduction de la fécondité et de la fertilité des insectes traités, une action indirecte de mortalité par septicémie bactérienne sur les larves néonates issues des insectes traitées, mais aussi un rétablissement de la fécondité et de la fertilité normales, chaque fois que la descendance a pu survivre.

La discussion de ces résultats a été faite à la lumière des travaux effectués sur les effets sublétheaux des insecticides chimiques que MORIARTY (1969) a synthétisés dans un important article et de ceux effectués par les chercheurs soviétiques sur les effets du *Beauveria bassiana* sur la fécondité du doryphore et d'autres ravageurs des cultures.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

ALIOSHINA, O.A., ILYICHEVA, S.N., KONONOVA, E.V. et KOLIADA, N.A., 1972. Main criteria applied to breeding *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. strains to be used in industry. Micologia i Fitopatulogia, 6, 341-344

ANGUS, T.A. and KEIMPEL, A.M., 1960. The bacterial control of insects. Proc. Entomol. Soc. Ontario 90, 13-21.

ARNAUD, M., 1927. Recherches préliminaires sur les champignons entomophytes. Ann. Epiphyties, 13, p.1.

BALACHOWSKY, A, S. 1972. Traité d'Entomologie Appliquée à l'Agriculture. Tome 2, vol. 2, pp. 1214-1223.

BAJAN, C. et KMITOWA, K., 1968. Possibilités d'utilisation du champignon entomopathogène dans la lutte contre les insectes. Pospoty Nauk. Roln., 3, 21-25.

" " 1969. Pathogenicity of entomogenous fungi isolated from hibernating imagines of the colorado beetle (*Leptinotarsa decemlineata* SAY). Ekol. Pol., 17, 409-420.

" " 1972. The effect of entomogenous fungi *Paecilomyces farinosus* (DICKS.) BROWN et SMITH and *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. on the oviposition by *Leptinotarsa decemlineata* SAY females, and on the survival of larvae. Ekol. Pol., 20, 423-432.

" " 1373. Changes in the pathogenicity of the entomopathogenic fungi under the influence of the method of culture and infection. Ekol. Pol., 2 1 731-742.

BASYOUNI (EL), S.H., BREWER, D. et VINING, L.C., 1968. Pigments of the genus *Beauveria*. Canad. Journ. Bot., 46, 441-448.

BOUNIAS, M., 1972. La pyrale du riz : *Chilo suppressalis* (Lépidoptère, *Pyralidae*, *Crambinae*). Mise au point bibliographique. Rapport multigraphié.

BUCHER, G.E., 1956. General summary and review of utilisation of disease to control insects. Proc. Intern. Congr. Entomol. Montreal, 4,695-701. (1958).

BURGERJON, A., 1956. Pulvérisation et poudrage au laboratoire des préparations pathogènes insecticides. Ann. Epiphyties, 4, 1677-1626.

BURGES, H.D. et HUSSEY, N.W., 1971. Microbial control of Insect and Mites. Academic Press London - New York.

BUSNEL, R.G., 1939. Etudes physiologiques sur *Leptinotarsa decemlineata* SAY. Thèse Le François ed. Paris 207 pp.

CATROUX, G., CALVEZ, J., FERRON, P. et BLACHERE, H., 1970. Mise au point d'une préparation entomopathogène à base de blastospores de *Beauveria tenella* (DELACR.) SIEMASZKO pour la lutte biologique contre le ver blanc (*Melolontha melolontha*). Ann. Zool. ecol. anim., 2, 281-296.

DE WILDE, J., 1950. Développement embryonnaire et postembryonnaire du doryphore (*Leptinotarsa decemlineata* SAY) en fonction de la température. Proc. VIIIth Intern. Congr. Entomol. Stockholm, p. 310-321.

DIEHTIAROVA, E.N., 1967. Modifications protéo-glucidiques des larves de doryphore sous l'action du champignon *Beauveria bassiana* et du DDT. Zacht. Rast. Kiev , 4, 110-113.

DIOMANDE, T., 1969. Contribution à l'étude du développement de la muscardine verte à *Metarrhizium anisopliae* (METSCH.) SOROKIN (*Fungi Imperfecti*) des larves d'*Oryctes monoceros* Ol. (Coléoptère, *Scarabaeidae*). Bulletin de l'I.F.A.N., 21, Ser. A, 1381-1405.

DJADECHKO N.P., et SIKURA, A.I., 1963. Durée d'action de la biopréparation de Beauverine et son influence sur la fécondité du doryphore. Naouki Pratsi t. XII, 81-84 Kiev. (en Ukrainien).

DOKE, N., 1936. Effects of temperatures and humidities on the biology of the rice stem borer (1). Jap. Journ. Appl. Zool. 8 (2), 87-93.

DUNN, P.H. and MECHALAS, B.T., 1963. The potentiel of *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. as a microbial insecticide. Journ. Inst. Pathol., 5, 451-459.

FARGUES, J., 1972. Sensibilité à *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. (*Fungi Imperfecti*, Moniales) des larves de doryphore, *Leptinotarsa decemlineata* SAY (Coléoptère, *Chrysomelidae*) soumises à des doses réduites d'insecticide chimique. Thèse de doctorat de 3e Cycle, Paris.

FARGUES, J., 1972a. Etude des conditions d'infection des larves de doryphore *Leptinotarsa decemlineata* SAY, par *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. (*Fungi Imperfecti*). Entomophaga, 17, 319-337.

FERRON, P., 1966. Observations écologiques sur la mycose à *Beauveria tenella* (DELACR.) SIEMASZKO des larves de hanneton commun, *Melolontha melolontha*. Thèse de doctorat de 3e Cycle, Paris.

" 1967. Les champignons entomopathogènes. Ann. Epiphyties, 18 (3) 361-382.

" 1967. Etude au laboratoire des conditions écologiques favorisant le développement de la mycose à *Beauveria tenella* du ver blanc. Entomophaga, 12, 257-293.

" 1970. Conceptions et modalités pratiques d'application des préparations entomopathogènes à base de champignons en agriculture. Symposium OILB Amsterdam, 12-13 mars 1970.

FERRON, P. et DIOMANDE, T., 1969. Sur la spécificité à l'égard des insectes de *Metarrhizium anisopliae* (METSCH) SOROKIN (*Fungi Imperfecti*) en fonction de l'origine des souches de ce champignon. C.R. Acad. Sci., Paris, 268, 331-332.

FISHER, R.A. and YATES, F., 1963. Statistical tables for biological, agricultural and medical research. HAFNER publishing Co. Inc. New York, 146 pages.

FRANZ, J.M., 1961. Biological Control of pest insects in Europe. Ann. Rev Entomol., 6, 183-200.

FUKAYA, M., 1950. On the factor inducing the dormancy of the rice stem borer *Chilo simplex* BUTLER. Proc. 8th Internat. Congr. Entomol. Stockholm, 1948, pp. 223-225.

" et KAMANO, S., 1964. Mass rearing of the rice stem borer. IRRI. Johns Hopkins Press. Baltimore Maryland (1967).

" , KONO, M. et NAKATSUKA, K., 1954. The fundamental study on the forecast of the rice stem borer *Chilo suppressalis* 16. On the factor concerning the occurence of the rice stem borer in the first generation. I. (en Japonais, résumé en Anglais). Jap. J. Appl. Zool., 19, 101-111.

GABRIEL, B.P., 1959. Fungus infection of insects via the alimentary tract. Journ. Insect. Pathol., 1, 319-330.

GOMEZ-CLEMENTE, F., 1948. Estudio biologico del lepidoptero (*Chilo simplex* BUTLER) en los arrozales valencianos. Bol. Pat. Veg. Ent. Agric., 16, 1-22. in Rev. Appl. Entomol., 1952, 40, p. 210.

GORAL, V.M., 1971. Méthode d'obtention des conidies du champignon *Beauveria bassiana*. Brevet d'invention n° 301 142 (U.R.S.S.).

GUENNELON, G. et SORIA, F., 1973. Mise au point au laboratoire d'un élevage permanent de la pyrale du riz, *Chilo suppressalis* WALKER (*Lepidoptera, Pyralidae*) sur milieu artificiel. Ann. Zool. Ecol. Anim., 5, (4), 533-546.

HARUKAWA, C., TAKATO, K. et KUMASHIRO, S., 1931. II. Biological studies on the rice stem borer : Effects of constant temperatures on growth and development of the borer (en Japonais). Rep. Ohara Inst. Agric. Res., 17, 165-183. (cité par FUKAYA, M., 1964 in Physiology of Rice Stem borers including hibernation and diapause. Johns Hopkins Press, Baltimore, Maryland, 1967, 213-227).

HIRANO, C., 1964. Nutritional relationship between larval of *Chilo suppressalis* WALKER and rice plant with special reference to role of nitrogen in the nutrition of larvae. Bull. Natl. Inst. Agri. Sci. Japan, Ser. (C), 17, 103-181.

HUBER, J., 1958. Untersuchungen zur physiologie insektenototender pilze. Arch. microbiol., 29, 257-276.

HURPIN, B., 1961. La lutte microbiologique contre les insectes. Cahier des Ingénieurs agronomes, 154, 21-27.

HURPIN, B., 1968. L'emploi des germes pathogènes pour la lutte contré les **insectes**. Rev. Pathol. Comp. Medec. exp., 5 (1), 95-99.

" 1973. La spécificité des microorganismes entomopathogènes et son rôle en lutte biologique. Ann. Zool. Ecol. anim., 5 (2), 283-304.

" 1973. Lutte microbiologique et lutte intégrée. Proc. FAO Conférence Ecol. in Relation to plant pest Control, 207-247.

ISHII, S., 1971. Nutritional studies of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* WALKER and its mass rearing. Entomophaga, 16 (2), 165-173.

IYATOMI, K. et YAMASHITA, S., 1936. Notes on the oviposition of *Trichogramma japonicum* Ashm. Kontyû, n° 1-2, p. 146-149 Tokyo 1930. (en Japonais). Cité par BOUNIAS, 1972.

KABURAKI, T., KAMIT, A., IWASA, T., IYATOMI. K., DOKE, N., SUGIYAMA, S. and AINO, S., 1939. Studies on rice borers. III. The biology of the rice borer *Chilo simplex* BUTLER, with special reference to phototaxis and chemotaxis (en Japonais, résumé en Anglais). Nozikiryosiryo, 140, 1-178.

KAMANO, S., 1971. Studies on artificial diets of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* WALKER. Bull. Natl. Inst. Agric. Sci. Ser. C, n° 25, 1-43, Tokyo.

" 1973. Studies on artificial diets and laboratory rearing methods suitable for successive generations of the rice stem borer, *Chilo suppressalis* WALKER. Plant pathol. Entomol., n° 27, 1-51.

" and INOUE, H., 1955. On the parasitization of *Isaria farinosa* upon the hibernating rice stem borer. Okyo Kontyn. II, 49-52, Tokyo.

KATSUMATA, K., 1934. Results of breeding experiments with *Chilo simplex* BUTLER especially on the duration of the larval instars and the thermal constant 1 et 2 (en Japonais, résumé en Anglais). Journal Plant Protection, 21 (2-3), p. 35-48, Tokyo.

KAWAKAMI, K., 1960. On the changes of characteristics of the silkworm muscardines through successive cultures. Bull. Seric. Exp. Station. Tokyo, 16, p. 83-89.

KIRITANI. K. et IWAO, S., 1964. The biology and life cycle of *Chilo suppressalis* WALKER and *Tryporyza (Schoenobius) incertulas* WALKER in temperate climate areas. Johns Hopkins Press. Baltimore Maryland, 1967, p. 45-70.

KOIDSUMI, K., 1957. Antifungal action of cuticular lipid in insects. Journ. Inst. Physiology, 1, 40-51.

KONDRYATIEV, N.N., ALIOSHINA, O.A., ILITCHEVA, S.N., PERIKHANOVA, A.G., SINITSINA, L.P., OUSPENSKAIA, L.A. et CHAGOV, E.M., 1971. Méthodes d'obtention du matériel entomopathogène du champignon *Beauveria bassiana*. Brevet d'invention n° 313 531 (U.R.S.S.).

KUWANA, S., 1929. Important insect pests of rice crops in Japan. Proc. IV Pacific Sci. Congr., 4, 209-215, Java 1929.

LEFEBVRE, C.L., 1934. Pénétration and development of the fungus *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. in the tissues of the corn borer. Ann. Bot., 48, 441-452.

LEPESME, P., 1938. Recherches sur une aspergillose des acridiens. Bull. Soc. Hist. Nat. Afr. Nord, 29, p. 372-384.

LISON, L., 1968. Statistique appliquée à la biologie expérimentale. La planification de l'expérience et l'analyse des résultats. Gauthier Villars. Paris.

METSCHNIKOFF, E., 1879. Diseases of the larvae of the grain Weevil. Insects harmful to agriculture. Series : Issue III, the grain Weevil. Published by the Commission attached to the Odessa Lemstvo office for the investigation of the problem of insects harmful to agriculture. Odessa, 32 p. (cité par STEINHAUS, 1949).

MORIARTY, F., 1968. The toxicity and sublethal effects of p, p'-DDT and Dieldrin to *Aglais urticae* L. *(Lepidoptera, Nymphalidae)* and *Chorthippus bruneus* (Thunberg) *(Saltatoria, Acrididae)*. Ann. Appl. Biol., 62, 371-393.

MORIARTY, F., 1969. The sublethal effects of synthetic insecticides on insects. Biol. Rev., 44, pp. 321-357.

MORIMOTO, N., 1960. Effect of density of larval population on some characters of larva, pupa and adult in rice stem borer, *Chilo suppressalis*. Jap. Journ. Appl. Ent. Zool., 4, 197-202.

MORIMOTO, N. and SAKO, Y., 1962. Synchrony of hatching within an egg mass and its effects on the formation of larval group of the rice stem borer *Chilo suppressalis*. Jap. Journ. Appl. Ent. Zool., vol. 6, n° 3, p. 195. (en Japonais, résumé en Anglais).

MUELLER, K.E., 1970. Field problems of tropical rice (including notes on insect pests and their control). The International Rice Res. Inst. Los Banôs, 95 p.

MÜLLER-KÖGLER, E., 1965. Pilzkrankheiten bei Insekten. Anwendung zur biologischen Schädlingsbekämfung und Grundlagen der Insekten mykologie. Paul Parey Ed., Berlin et Hamburg, 411 p.

MÜLLER-KÖGLER, E. et STEIN, W., 1970. Gewachshausversuche mit *Beauveria bassiana* (BALS.) VUILL. Zur Infection von *Sitona lineatus* L. (Coleopt. Curcul.) in Boden. Z. Agew. Ent., 65, 59-76.

NICKEL, J.L., 1964. Biological control of rice stem borer : A feasibility study. Tech. Bull. IRRI. n° 2. Los Banôs. Philippines.

ONO, H., YASUDA, S. et TAKAYA, M., 1961. Investigations on the yellow aureodine disease of the paddy borer, *Chilo suppressalis* WALKER and *Schoenobius incertulas* WALKER in relation to forecasting. (en japonais, résumé en Anglais). Jap. Journ. Appl. Entomol. Zool., 5, 109-113.

PAILLOT, A., 1933. L'infection chez les insectes. G. BATISSIER, TREVOUX, 53 pp.

PATHAK, M.D., 1969. Insect pests of rice. IRRI, Los Banôs, Laguna, Philippines

POITOUT, S. et BUES, R., 1970. Elevage de plusieurs espèces de Lépidoptères *Noctuidae* sur milieu artificiel riche et sur milieu artificiel simplifié. Ann. Zool. Ecol. Anim. 2 (1), 79-91.

PRIMAK, T.A., 1967. Influence du champignon de la muscardine blanche sur la survie et la fécondité de *Carpocapsa pomonella*. Zacht. Rast., n° 5, pp. 25-28, Kiev.

PRISTAVKO, V.P. et GORAL, V.M., 1966. Sur la production industrielle de la préparation du champignon *Beauveria bassiana*. Proc. Conference de Samarcande, 148-149. Inst. Recher. Sci. Protec. Veg. d'Ukraine, Kiev.

RAMADE, F., 1967. Contribution à l'étude du mode d'action de certains insecticides de synthèse plus particulièrement du lindane et des phénomènes de résistance à ces composés chez *Musca domestica* L. Ann. Inst. Nat. Agronom., 5, pp. 287, Paris.

RAO, V.P., 1964. Record of three insect pathogens from the far east. Tech. Bull. of the Comm. Inst. Biol. Control.

ROBINSON, R.K., 1966. Studies on penetration of insect integument by fungus. P.A.N.S., sect. B, 12, p. 131-142.

SANNASI, A., 1969. Studies of an Insect mycosis. II. Biochemical changes in the blood of the Queen of Mound-building termite (*Odontotermes obesus*). Journ. Invert. Pathol., 13, 4-10.

SATO, Y., 1964. A simple technique for mass rearing the rice stem borer on rice seedlings. Jap. Journ. Appl. Ent. Zool., 8, 6-10 (en Japonais, résumé en Anglais).

SEKURINA, T.A., 1960. Influence de la préparation "Beauverin" sur la fécondité de la "punaise nuisible des champs". Zacht. Rast., 5, 35-36.

SHEPARD, H.H., 1960. Methods of testing chemicals on insects. vol. 2, BURGES, Publ. Co, pp. 243.

SIKURA, A.I. et SIKURA, L.V., 1967. Fécondité du doryphore sous l'influence de *Beauveria bassiana*. Zacht. Rast. Kiev, 4, 77-99.

SIKURA, L.V., 1968. Influence de *Beauveria bassiana* et de doses subléthales du DDT sur la fécondité du doryphore (*Leptinotarsa decemlineata* SAY). in Méthodes de lutte biologique contre les insectes nuisibles des plantes. Riga, 321-324.

SMITH, O.E., 1961. Control of the european corn borer with the fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana*. Diss. IOWA state Univ. Sci. Techn. (d'après Diss. Abstr. 22, 686).

STEINHAUS, E.A., 1949. Principles of insect pathology, 757 p. Mc GRAW HILL, New York.

STEINHAUS, E.A., 1960. The duration of viability and infectivity of certain insect pathogens. Journ. Inst. Pathol., 2, 225-229.

TAMASHIRO, M. and SHERMAN, M., 1955. Direct and latent toxicity of insecticides to oriental fruit fly larvae and their internal parasites. Journ. Econ. Ent., 48, 75-9.

TANADA, Y., 1965. Factors affecting the susceptibility of insects to viruses. Entomophaga, 10 (2), p. 139-150.

TATEISHI, I., MURATA, T. et HISANO, S., 1951. On the parasitism of muscardine to larvae of *Chilo simplex*. Kyushu Agr. Res. 8, p.93-94. (en Japonais cité par NICKEL, 1964).

TATEISHI, I., MURATA, T. and TYOTOKU, N., 1955. On the parasites of the rice stem borer (*Chilo suppressalis*). (en Japonais cité par NICKEL, 1964) KYUSHU Agric. Res. 15, p. 105.

TELENGA, N.A., 1959. Die Anwendung der Müskardinenpil ze un Vereir mit Insektiziden für die Bekämpfung der Schädlingsinsekten. Trans. 1. Intern. Conf.Inst. Pathol. Biol. Cont. (PRAHA, 1958)PP.155-168.

TELENGA, N.A. et GOPAL, V.M., 1966. Nouveauté dans la culture du champignon de la muscardine blanche en milieu liquide. Conférence de Samarcande (171-73) Inst. de Rech. SC. Protec. Veg. d'Ukraine, Kiev.

VAGO, C., 1959. Enchaînement des maladies chez les insectes. Ann. Epiphyties n° hors série, Seric C, 181 pp.

VEY, A., 1971. Etude des réactions cellulaires anticryptogamiques chez *Galleria melonella* L.:Structure et ultrastructure des granulomes à *Aspergillus niger* v. TIEGH. Ann. Zool. Ecol. anim., 3 (1),17-30

VEY,A. et VAGO, C., 1969. Recherches sur la guérison dans les infections cryptogamiques d'insectes. Infection à *Aspergillus niger* v. TIEGH chez *Galleria melonella* L. Ann. Zool. Ecol. Anim., 1 (2), 121-136.

WADA, Y., 1957. Experimental studies on the factors affecting the infection of the yellow muscardine fungus to the overwintering rice stem borer. Jap. Journ. Appl. Entomol. Zool., 1, 54-59.

WALSTAD, J.D., ANDERSON, R.F. and STAMBAUGH, W.J., 1970. Effects of environmental conditions on two species of muscardine fungi *Beauveria bassiana* and *Metarrhizium anisopliae*. Journ. Invert. Pathol., 16, 221-226.

YAGI, A. and KATSUMATA, K., 1935. On the determination of the larval instars of *Chilo simplex* BUTLER by the Breadth of the head and mandibles. (en Japonais). Oyo Dobutsugaki Zasshi 7 (1), p. 35-42 Tokyo.

YAMAZAKI, S. et HATAÏ, N., 1960. Studies on the behaviour of rice stem borer (*Chilo suppressalis*) in regard to some factors concerning insecticidal experiments. Bull. Natl. Inst. Agric. Sci. Sec C (Phytopathol Entomol.). 11, 1-36.

YASUMATSU,K. et TORII, T., 1968. Impact of parasites, predators and diseases on rice pests. Ann. Rev. Entomol., 13, 195-324.

ZIGAEV, G.N., 1963. Influence de la Beauverine sur la fertilité du doryphore. Zacht. Rast., n° 2, p. 46, Kiev.

ZIGAEV, G.N., 1967. Fécondité de *Botynoderes punctiventris* contaminé par le champignon blanc de la muscardine, *Beauveria bassiana*. in Protection des Plantes, Min. Agric. URSS Kiev Seri n° 4, p. 128-130.