

ÉVALUATION DE LA TOXICITÉ DE *BACILLUS THURINGIENSIS* SUR *SPODOPTERA FRUGIPERDA*

J. L. LUIS HERNANDEZ (*)

Laboratoire de Lutte Biologique II, Institut Pasteur,
25, rue du Dr. Roux, 75724 Paris Cedex 15, France

Cinquante deux souches de *B. thuringiensis* appartenant à 13 sérovars ont été testées sur des chenilles néonates de *Spodoptera frugiperda* en contaminant la surface du milieu semi-synthétique d'élevage. Deux souches du sérovar *kenyae* et une autre du sérovar *tolworthi* provoquent le plus de mortalité, suivies par les souches des sérovars *aizawai* et *kurstaki*. Les souches les moins actives appartiennent aux sérotypes *alesti*, *dendrolimus*, *sotto* et *colmeri*. L'action des souches sur le développement larvaire a aussi été abordée. Les souches des sérovars *kenyae*, *aizawai* et *kurstaki* ont ralenti le développement des chenilles, tandis que les souches des sérovars *alesti*, *sotto* et *colmeri* n'ont eu aucun effet.

MOTS CLÉS : *Bacillus thuringiensis*, *Spodoptera frugiperda*, bioessais, toxicité, sérovariétés.

Spodoptera frugiperda (Smith) est une noctuelle (*Lepidoptera*, *Noctuidae*) polyphage et typiquement néotropicale, son aire de répartition s'étendant du Chili à la Floride (Angulo & Jana 1982 ; Wood *et al.*, 1981). Au cours de la saison chaude du continent Nord-Américain les populations de cet insecte sont observées jusqu'au Canada (Foot & Timins, 1982) ; toutefois elles ne résistent pas au froid de l'hiver. (Wood *et al.*, 1981 ; Perelle & Harper, 1986).

Au Mexique, c'est le principal ravageur sur maïs et sorgho et les dégâts peuvent aller jusqu'à la perte totale de la récolte si des mesures de contrôle ne sont pas prises. Dans la majorité des cas, on lutte contre *S. frugiperda* à l'aide de produits chimiques (organophosphorés) (S.A.R.H., 1984). Cependant des phénomènes de résistance ont été observés (Wood *et al.*, 1981). Il existe également des préparations commerciales à base de la bactérie entomopathogène *B. thuringiensis* du sérotype H3a, 3b (var. *kurstaki*) utilisables contre ce ravageur (Sandoz, 1974) mais leur efficacité reste faible. Par ailleurs, depuis quelque temps au Mexique on traite de façon préventive en procédant à des lâchers de *Trichogramma* spp. parasite des œufs, mais là encore les résultats ne sont pas satisfaisants (Loya Ramirez, 1978).

Devant toutes ces difficultés, nous avons recherché si d'autres souches de *B. thuringiensis* appartenant à divers sérotypes se révélaient plus toxiques pour *Spodoptera frugiperda* dans le but d'une éventuelle application.

(*) Adresse permanente : Universidad de Colima. Apodo Postal N° 88, 28100 — Tecoman Colima, Mexique.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

SOUCHES BACTÉRIENNES

Les 52 souches de *Bacillus thuringiensis* utilisées proviennent du Laboratoire de Lutte Biologique II de l'Institut Pasteur qui est un Centre de Références O.I.L.B. et O.M.S. Elles appartiennent à 13 sérovariétés (sérovarys).

La culture des bactéries est faite en milieu Usuel Glucosé (UG), (de Barjac & Lecadet, 1976) à 30 °C pendant 48 h avec agitation. Après centrifugation des milieux de culture, les culots bactériens sont lavés 2 fois à l'eau déminéralisée stérile puis remis en suspension aqueuse dans un tiers du volume initial. La numération bactérienne des 52 souches est de l'ordre de 10^8 cellules/ml avec 90 % de sporulation. La suspension finale utilisée pour les essais correspond donc à $3 \cdot 10^8$ cellules/ml.

MATÉRIEL ENTOMOLOGIQUE

La souche de *Spodoptera frugiperda* originaire du Mexique est élevée sur milieu semi-synthétique à base de chou (Poitou & Bues, 1970) et les chenilles sont utilisées au stade néonate.

TECHNIQUE DE CONTAMINATION

La technique suivie est celle décrite par Kalfon & de Barjac (1985) pour l'étude des souches séparées. Pour chaque souche 2 dilutions sont réalisées à partir des volumes récoltés : 1/10 et 1/50 et 2 boîtes sont faites par dilution. 100 µl par dilution sont étalés à la surface du milieu dans chaque boîte de Pétri. Après séchage, 20 chenilles sont placées dans chaque boîte maintenues à 25 °C pendant 72 h. Des lots de chenilles non traitées servent de témoins.

LECTURE

La mortalité est le 1^{er} critère de jugement, les résultats étant exprimés en pourcentages. Avec deux des 3 souches les plus actives une CL50 a été calculée selon la méthode d'analyse de probits de Finley (1971). Pour ne pas alourdir l'écriture, les pentes et les CL90 ne seront pas mentionnées. Le retard de développement larvaire est le 2^e critère.

EFFET DES SOUCHES DE *B. THURINGIENSIS* SUR LE DÉVELOPPEMENT LARVAIRE DE *S. FRUGIPERDA*

Un critère arbitraire a été utilisé pour cette analyse comparant le stade larvaire des témoins à celui des chenilles survivantes dans les lots traités avec le classement suivant :

- Arrêt du développement larvaire (ADL) : ne se développant plus, les chenilles restent au stade L1 et meurent en général avant le 7^e jour.
- Retard du développement larvaire (RDL) : les chenilles ont un RDL par rapport au témoin.
- Développement normal (DN) : bien qu'ayant ingéré du milieu contaminé, les chenilles ont un stade identique à celui des larves témoins après 72 h.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

MORTALITÉ PROVOQUÉE

Les figures 1, 2 et 3 regroupent les pourcentages de mortalité des larves néonates de *S. frugiperda* soumises à l'activité toxique du complexe spore-cristaux de 52 souches de *B. thuringiensis*.

On peut voir que les souches donnant 100 % de mortalité aux 2 dilutions utilisées sont seulement au nombre de 3, 2 appartenant au sérovar *kenyae* et la 3^e au sérovar *tolworthi*.

Les souches donnant une mortalité de 90 % ou plus à la dilution 1/10^e sont au nombre de 29, distribuées dans 6 sérovarys : *thuringiensis*, *kurstaki*, *kenyae*, *galleriae*, *subtoxicus* et *aizawai*. Par contre, les souches, au nombre de 14, qui donnent une mortalité inférieure à 50 % se trouvent placées dans 7 sérovarys : *dendrolimus*, *kenyae*, *subtoxicus*, *morrisoni*, *alesti*, *sotto* et *colmeri*.

Pour la dilution 1/50^e les souches du sérovar *kenyae* apparaissent comme les plus toxiques suivies de *galleriae*, *aizawai* et *tolworthi* donnant une mortalité supérieure à 90 %. Par contre les souches qui donnent moins de 50 % de mortalité sont au nombre de 20 appartenant à 9 sérovarys différents.

D'autres auteurs ont montré que les souches des sérovarys *aizawai*, *kenyae* et *entomocidus* étaient très toxiques pour *S. littoralis* (Salama & Foda, 1982 ; Kalfon & de Barjac, 1985 ; Oron *et al.*, 1985). Sur *S. frugiperda*, espèce voisine, les souches du sérovar *kenyae* apparaissent également comme les plus actives.

Tolworthi est le 2^e sérovar très toxique sur *S. frugiperda* mais ce sérovar ne présente pas la même activité sur *Bombyx mori* (Fast & Angus, 1965) et sur *S. littoralis* (Moore & Navon, 1973) sur lesquels l'activité semble plus modérée.

Les souches d'*alesti* ne sont pas actives sur *S. frugiperda* mais sont actives et même parfois très toxiques pour d'autres Lépidoptères (Angus & Norris, 1968 ; Somerville *et al.*, 1970). Ce même comportement est observé pour les souches de *sotto* inactives sur *S. frugiperda*, mais très toxiques pour *B. mori* (Fast & Angus, 1965 ; Fast & Donaghy, 1971).

Le sérovar *thuringiensis* qui a des souches toxiques pour *Ostrinia nubilalis*, *S. frugiperda* (Raun *et al.*, 1966) et *S. littoralis* (Kalfon & de Barjac, 1985) se montre aussi très toxique ici.

Actuellement 2 souches de *B. thuringiensis* ont été isolées de *S. frugiperda* : seule a été testée la souche du sérovar *galleriae* isolée par Biache en 1985* ; celle-ci a montré une activité larvicide très élevée comparable à celle des souches de *kenyae* et de *tolworthi*.

Les souches testées du sérovar *morrisoni* se comportent sur *S. frugiperda* d'une manière inverse de celle qui a été trouvée sur *S. littoralis* (Kalfon & de Barjac, 1985).

La souche-type du sérovar *colmeri* a donné 25 % de mortalité à la dose la plus forte. Cette souche a été décrite comme inactive sur d'autres espèces de Lépidoptères (De Lucca *et al.*, 1984). Cependant une souche d'origine mexicaine appartenant à ce même sérotype, qui avait été testée sur *S. frugiperda*, a donné 68 % de mortalité à 500 µg/ml de poudre acétonique mélangée avec le milieu d'élevage (observations personnelles).

* Catalogue de souches de *B. thuringiensis*, 1986. Laboratoire Lutte Biologique II, Institut Pasteur, Paris.

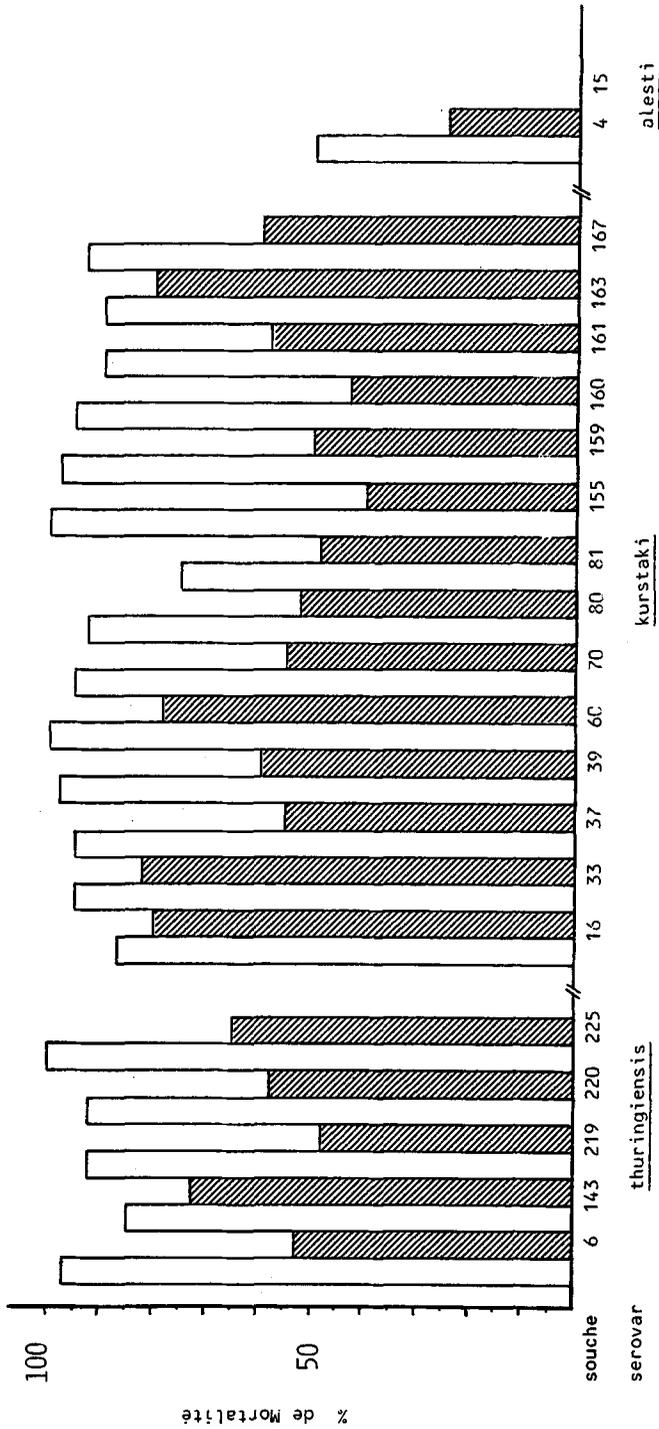


Fig. 1. Toxicité de *B. thuringiensis* serovar : *thuringiensis*, *kurstaki* et *alesti* sur les larves néonates de *S. frugiperda* (□ dil. 1/10 et ▨ dil. 1/50).

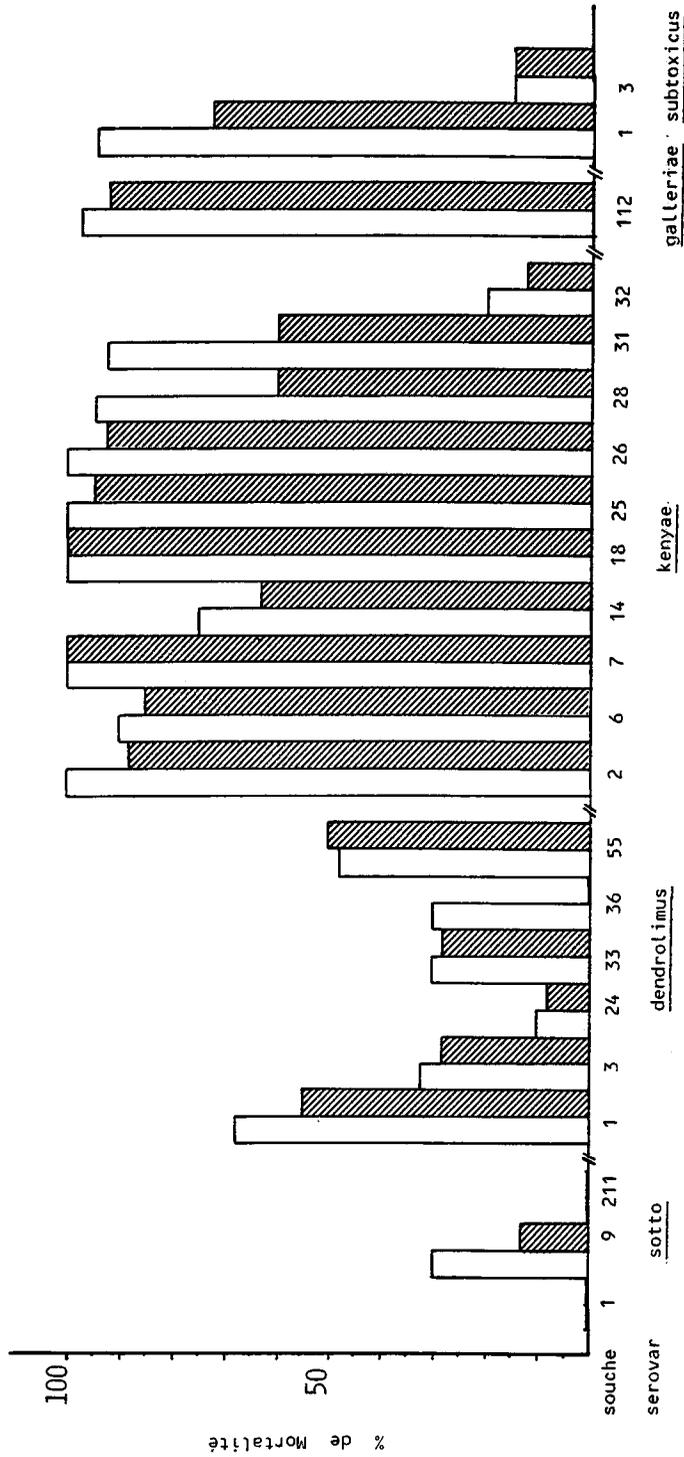


Fig. 2. Toxicité des souches de *B. thuringiensis* serovar : sotto, dendrolimus, kenyae, galleriae et subtoxicus sur les larves néonates de *S. frugiperda* (□ dil. 1/10 et ▨ dil. 1/50).

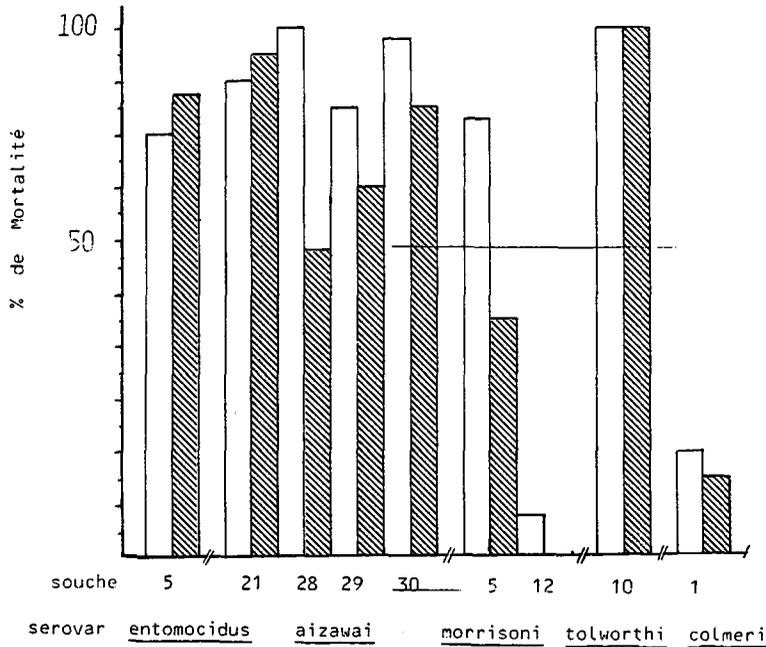


Fig. 3. Toxicité des souches de *B. thuringiensis* serovar : *entomocidus*, *aizawai*, *morrisoni* et *colmeri*, sur les larves néonates de *S. frugiperda* (□ dil. 1/10 et ▨ dil. 1/50).

Un calcul de la DL50 a été fait avec les souches *kenyae* 7 et *tolworthi* 10. Les DL50, exprimées en dilution du volume de culture récolté, sont respectivement $5,3 \times 10^{-4}$ (intervalle de confiance $2,95 - 9,50 \times 10^{-4}$) et $1,09 \times 10^{-3}$ (I.C. : $0,72 - 1,60 \times 10^{-3}$) pour les souches *kenyae* 7 et *tolworthi* 10. Ces résultats rapportés à la teneur en protéines dosée par la technique de Lowry dans le complexe spore-cristaux, donnent les CL50 suivantes : $9,89 \times 10^{-3} \mu\text{g}/\text{cm}^2$ (I.C. : $7,04 - 13,80 \times 10^{-3}$) pour la souche *kenyae* et $1,41 \times 10^{-2} \mu\text{g}/\text{cm}^2$ (I.C. : $1,05 - 1,90 \times 10^{-2}$) pour la souche *tolworthi*.

L'activité des souches de *B. thuringiensis* sur les larves de *S. frugiperda* est présentée dans le tableau 1.

A la dilution 1/10^e, l'ADL est surtout très marqué dans les sérovats *thuringiensis* (4 des 5 souches testées) ; *kurstaki* (12 des 14) ; *kenyae* (5 des 10), *subtoxicus* (2 des 2) et *aizawai* (4 des 5). Le DN est surtout observé chez *alesti* (2 des 2 souches), *sotto* (2 des 3), *dendrolimus* (2 des 6), *morrisoni* (1 des 2) et *colmeri* (1 de 1), dans la dilution au 1/10^e.

A la dilution 1/50^e le RDL est plus marqué chez les sérovats : *thuringiensis* (3 des 5 souches), *kurstaki* (7 des 14), *kenyae* (5 des 10). Ainsi dans cette dilution le DN se trouve chez *alesti*, *sotto*, *dendrolimus* (2 des 6 souches), *morrisoni* (1 des 2) et *colmeri*.

Le retard du développement larvaire doit être considéré car ce phénomène peut favoriser le parasitisme par d'autres insectes (Wallner et al., 1983).

REMERCIEMENTS

Je remercie Messieurs **J. Maillet** et **R. Lezama** pour m'avoir fourni la souche de *S. frugiperda*.

Je remercie également le Pr. **H. de Barjac** pour m'avoir permis de réaliser cette étude dans son Laboratoire de l'Institut Pasteur à Paris et pour la révision de mon manuscrit.

Mes remerciements s'adressent aussi aux Dr. **I. Thiéry** et **J. F. Charles** pour leurs conseils et critiques lors de la rédaction et de la révision de ce manuscrit.

SUMMARY

Evaluation of toxicity of *Bacillus thuringiensis* on *Spodoptera frugiperda* (Smith)

Fifty-two strains of *Bacillus thuringiensis* belonging to 13 serovars were tested on neonates of fall armyworm [*Spodoptera frugiperda* (Smith)] by contamination of the surface of a semi-synthetic diet. Two strains of *B. thuringiensis* var. *kenyae* and one of *B. thuringiensis* var. *tolworthi* caused the highest mortality, followed by other strains from *kenyae*, *aizawai* and *kurstaki* serovars. The less toxic strains belonged to the *alesti*, *dendrolimus*, *sotto* and *colmeri* serovars. The sublethal activity of the *kenyae*, *aizawai* and *kurstaki* serovars delayed development of fall armyworm larvae. The *alesti*, *sotto* and *colmeri* serovars, however, did not produce this effect.

KEY-WORDS : *Bacillus thuringiensis*, *Spodoptera frugiperda*, bioassay, toxicity, serovars.

Reçu le : 30 Décembre 1986 ; Accepté le : 23 Février 1987.

RÉFÉRENCES

- Angulo, A. O. & Jana, S. C.** — 1982. [The pupa of *Spodoptera* Guenée, 1852, in the North of Chili (*Lepidoptera* : *Noctuidae*)]. La pupa de *Spodoptera* Guenée, 1852 en el norte de Chile [*Lepidoptera* : *Noctuidae*]. — *Agricultura Técnica*, 42, 347-349.
- Angus, T. A. & Norris, J. R.** — 1968. A comparison of the toxicity of some varieties of *Bacillus thuringiensis* Berliner for silkworm larvae. — *J. Invertebr. Pathol.*, 11, 289-295.
- De Barjac, H. & Lecadet, M. M.** — 1976. Dosage biochimique de l'exotoxine thermostable de *B. thuringiensis* d'après l'inhibition d'ARN-polymérase bactériennes. — *C. R. Acad. Sci.*, Paris. 282, Série D, 2119-2122.
- De Lucca II, A. J., Palmgren, M. S. & de Barjac, H.** — 1984. A new serovar of *Bacillus thuringiensis* from grain dust : *Bacillus thuringiensis* serovar *colmeri*. — *J. Invertebr. Pathol.*, 43, 437-438.
- Fast, P. G. & Angus, T. A.** — 1965. Effects of parasporal inclusions of *Bacillus thuringiensis* var. *sotto* Ishiwata on the permeability of the gut wall of *Bombyx mori* (Linnaeus) larvae. — *J. Invertebr. Pathol.*, 7, 29-32.
- Fast, P. G. & Donaghue, T. P.** — 1971. The δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis*. II. — On the mode of action. — *J. Invertebr. Pathol.*, 18, 135-138.
- Finley, D. J.** — 1971. Probit analysis. 3rd ed. *Cambridge University Press*, Cambridge, England.

- Foot, W. H. & Timins, P. R. — 1982. Injury of grain corn by the Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* [Lepidoptera : Noctuidae] in Southwestern Ontario 1977 to 1981. — *Proc. Entomol. Soc. Ontario*, 113, 17-20.
- Garcia, M. A., Simoes, M. & Habib, M. E. M. — 1982. Possibles reasons of resistance in larvae of *Spodoptera frugiperda* (Abbot & Smith, 1797) infected by *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*. — *Rev. Agric. Piracicaba, Brazil*, 57, 215-222.
- Kalfon, R. A. & de Barjac, H. — 1985. Screening of the insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* strains against the Egyptian cotton leaf worm *Spodoptera littoralis*. — *Entomophaga*, 30, 177-186.
- Loya, Ramirez, J. — 1978. Estudio sobre el gusano cogollero, *Spodoptera frugiperda* (Smith) en Morelos. — *Inf. tec. Coord. Nat. del Apoyo Entomol.*, 3, 45-55.
- Moore, J. & Navon, A. — 1973. Studies of the susceptibility of cotton leaf worm *Spodoptera littoralis* (Biosd.) to various strains of *Bacillus thuringiensis*. — *Phytoparasitica*, 1, 23-32.
- Oron, U., Sokolover, M., Yawetz, A., Broza, M., Sneh, B. & Honigman, A. — 1985. Ultrastructural changes in the larval midgut epithelium of *Spodoptera littoralis* follow ingestion of δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* var. *entomocidus*. — *J. Invertebr. Pathol.*, 45, 353-355.
- Perelle, A. H. & Harper, J. D. — 1986. An evaluation of the impact of sublethal dosages of nuclear polyhdrosis virus in larvae on pupae, adult and adults progeny of the Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*. — *J. Invertebr. Pathol.*, 47, 42-47.
- Poitou, S. & Bues, R. — 1970. Elevage de plusieurs espèces de Lépidoptères Noctuidae sur milieu artificiel riche et sur milieu artificiel simplifié. — *Ann. Zool. Ecol. Anim.*, 2, 79-91.
- Raun, E. S., Sutter, G. R. & Ravelo, M. A. — 1966. Ecological factors affecting the pathogenicity of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* to the European Corn Borer and Fall Armyworm. — *J. Invertebr. Pathol.*, 8, 365-375.
- Salama, H. S. & Foda, M. S. — 1982. A strain to *Bacillus thuringiensis* var. *entomocidus* with high potential activity on *Spodoptera littoralis*. — *J. Invertebr. Pathol.*, 39, 110-111.
- Sandoz. — 1974. Thuricide H.P. Insecticide biologique. Agro-Dok F-4058/D.G. (Publicité).
- S.A.R.H. — 1984. Manual de plaguicidas autorizados para 1984. — *Dir. Gen. de Sanid. Veg., Secr. de Agric. y Recursos Hidraul.* México D.F. Mex.
- Somerville, H. J., Tanada, Y. & Omi, E. M. — 1970. Lethal effect of purified spore and crystal endotoxin preparations of *Bacillus thuringiensis* on several Lepidopteran insects. — *J. Invertebr. Pathol.*, 16, 244-248.
- Wallner, W. E., Dubois, N. R. & Grinberg, P. S. — 1983. Alteration of parasitism by *Rogas lymantriae* [Hymenoptera : Braconidae] in *Bacillus thuringiensis*, stressed Gypsy moth [Lepidoptera : Lymantriidae] hosts. — *J. Econ. Entomol.*, 76, 275-277.
- Wood, K. A., Wilson, B. H. & Graves, J. B. — 1981. Influence of host plant on the susceptibility of the Fall Armyworm to insecticides. — *J. Econ. Entomol.*, 74, 96-98.