

INSTITUT SCIENTIFIQUE ET TECHNIQUE
DES PECHES MARITIMES

Nantes, le 14 août 1981

Laboratoire Effets Biologiques
des Nuisances (1)

PL/MA

RESULTATS D'ANALYSE TOXICOLOGIQUE SUR DES INSECTICIDES
SELECTIFS ET LEURS SOLVANTS

(Travail réalisé en collaboration avec Mr J.M. ROBERT) (2)

INTRODUCTION

L'activité du *Bacillus thuringiensis* vis-à-vis des chenilles processionnaires du pin a fait l'objet de nombreux travaux (de BARJAC, 1968), 1970 - LECADET, 1965). L'innocuité de cet insecticide "biologique" a été démontrée pour les vertébrés (MARTOURET, 1967) de même que pour les espèces marines (ALZIEU, de BARJAC et MAGGI, 1975). Les formulations commerciales sont présentées sous forme de granulés ou de poudres mouillables (Bactos-peine, Dipel, Thuricide, etc.). Des variétés de ce Bacille se sont également révélées actives sur les larves de moustiques, tels que l'*Aedes aegypti* (PANBANGRED, PANTUWATANA et BHUMIRATANA, 1979) et les *Culex* (HALL et Coll., 1977). En ce qui concerne le serotype H 14, des tests avaient déjà été réalisés par le laboratoire EBN en 1979 sur la souche *B. thuringiensis israelensis*, active pour *Aedes aegypti* et *Anopheles stephensi*. Ces essais concluaient également à la faible nocivité de ce produit envers plusieurs espèces marines (rapport I.S.T.P.M.). Par contre le solvant utilisé dans certaines formulations : le TWEEN 80, était nettement toxique à partir de 0,5 mg/l.

.../...

(1) Le laboratoire EBN comprend deux chercheurs : Mme LE BAUT, M. LASSUS, et quatre techniciens : Melle BARDOUIL, MM. BOCQUENE, LE DEAN et TRUQUET.

(2) Maître Assistant à l'Université de Nantes, UER des Sciences de la Nature.

De même, les travaux de MOULINIER et Coll. (1980) font état de la non toxicité de *B. thuringiensis israelensis* sur des larves d'huîtres, facteur important puisque les zones de traitement insecticide recourent parfois la frange côtière conchylicole.

Ces résultats étant acquis, il était séduisant d'envisager une collaboration entre les fabricants et les laboratoires testant l'activité de ce bacille sur les Culicidés (et parallèlement sa nocivité sur les espèces non-cibles des biotopes voisins.). C'est ce qui a pu se réaliser en ce qui concerne la recherche d'un solvant approprié. Les résultats présentés ici auront donc essentiellement trait aux toxicités comparées du BT 14, seul (poudre) ou en solution dans l'huile de pin et des émulsifiants, d'un organophosphoré, comme l'Abate et d'un extrait végétal comme la Décaméthrine afin de déterminer les concentrations efficaces, quoique non toxiques, de solvants.

RESULTATS EXPERIMENTAUX

1ère série d'essais

Nous avons préalablement exécuté des tests de toxicité aiguë en 96 h (à 16° C et en eau de mer à 30‰) avec 3 organismes marins :

- . la crevette blanche (*Palaemonetes varians*)
- . l'épinoche (*Gasterosteus aculeatus*)
- . la larve d'anguille, ou civelle (*Anguilla anguilla*).

Les produits expérimentés ont été les suivants :

- BT 14 à 3000 U (poudre mouillable),
- BT 14 et mélange d'huile de pin et d'émulsifiants (un anionique à 10 % et un non ionique à 10 %),
- Le mélange huile de pin + émulsifiants,
- Décaméthrine et huile de pin + émulsifiants,
- Abate 500 E à 50 % de matière active.

../..

Les premiers résultats obtenus ont été regroupés dans le tableau 1.

Ils sont calculés à partir de 10 individus par concentration.

	BT 14	Huile de pin	HP + BT 14	HP + Decamethrine	Abate 500 E
Densités	Poudre	1 ml=0,917 g	1 ml=0,917 g = 50 mg de BT 14	1 ml=0,917 g = 0,21 mg de decamethrine	50 % matière active
Solutions- mère	1 000 mg/l	1 000 mg/l	200 mg/l de BT 14 et 3 668 mg HP	100 mg/l de Decamethrine et 476 000 mg/l de HP	100 mg/l
Concentrations en huile de pin des dilutions	0 0 0	0,2 2 20	3,66 36 366	43,6 436 4360	0 0 0
Dilutions (mg/l du composé)	0,02 0,2 2	0,2 2 20	0,2 2 20	0,01 0,1 1	0,01 0,1 1
Mortalités 96 h Crevet- tes blanches	0 0 0	0 90 100	0 100 100	100 100 100	0 10 100
Mortalités 96 h Epinoches	0 0 0	0 0 100	0 100 100	100 100 100	0 0 20
Mortalités 96 h Civelles	0 0 0	0 0 50	0 80 100	100 100 100	0 0 0

Tableau 1 : Caractéristiques d'utilisation des différentes formulations et pourcentages de mortalités en 96 heures aux 3 concentrations testées.

Alors que l'huile de pin additionnée d'émulsifiants n'a pas d'effet sur les *Caroborus* (diptères) elle semble ici toxique, en particulier sur les crustacés. Bien entendu, les concentrations élevées en solvant, liées aux teneurs expérimentées en BT 14 et Decamethrine, couvrent la toxicité réelle de ces produits.

Par ailleurs, le BT 14 seul est inoffensif, ce qui est d'autant mieux révélé par les mortalités constatées avec des teneurs deux fois plus faibles en Abate 500 E.

Nous avons donc momentanément arrêté les tests sur les formulations comportant de l'huile de pin et des émulsifiants, pour nous limiter à l'influence de l'Abate et du BT 14 sur des organismes planctoniques.

Nous avons retenu :

- . l'artémie (*Artemia salina*),
- . un copépode (*Tigriopus brevicornis*).

Les résultats sont consignés dans le tableau 2. Ils sont calculés à partir de 30 individus par concentration.

	ABATE 500 E	BT 14
Dilutions (mg/l du composé)	0,1 0,5 1	0,2 2 10
Artémies	16 26 40	0 6 93
Copépodes	53 60 90	0 3 13

Tableau 2 : Pourcentages de mortalité en 96 h aux 3 concentrations testées pour *Artemia salina* et *Tigriopus brevicornis*.

Il apparaît, en première analyse, que l'Abate reste très toxique vis-à-vis des crustacés, alors que le BT 14 ne l'est pratiquement pas, à des concentrations 2 à 10 fois plus élevées.

Notons cependant que les résultats obtenus sur *Artemia* avec 10 mg/l de BT 14 sont très certainement imputables à des effets mécaniques occasionnés par la texture du produit en solution dans l'eau de mer.

2ème série d'essais

Nous avons réitéré les tests précédents sur l'épinoche, la civelle et la crevette blanche, à partir des solvants proposés, mais moins concentrés en émulsifiants. Les formulations testées étaient donc :

- . huile de pin pure,
- . huile de pin et 2 % d'émulsifiants,
- . émulsifiants EM 33 et EM 531 à raison de 1 pour 10. Les résultats sont consignés dans le tableau 3 selon le même protocole que précédemment.

	HP pure	HP + 2 % Emulsifiants	Emulsifiants (EM 33/EM 531)
Solutions mères	1 g → 1 l 1 000 mg/l	1 g → 1 l 1 000 mg/l	0,2 g - 1,8 g 2 000 mg/l
Concentrations en huile de pin des dilutions	0,2 2 20	0,17 1,76 17,6	0 0 0
Dilutions (mg/l des composés)	0,2 2 20	0,2 2 20	0,004 0,04 0,4
Crevettes	0 0 0	0 0 20	0 0 0
Epinoches	0 0 0	0 0 0	0 0 0
Civelles	0 0 0	0 0 0	0 0 0

TABLEAU 3 : Pourcentages de mortalités en 96 h pour les différents solvants.

L'absence de toute nocivité de ces composés, aux concentrations indiquées, permet d'envisager leur utilisation comme solvants pour le BT 14, dans la mesure où l'efficacité de cet insecticide n'est pas réduite.

3ème série d'essais

Grâce à la collaboration de J. M. ROBERT nous avons pu tester comparativement les effets du BT 14 et de l'Abate 500 E sur le développement d'une diatomée : *Navicula ostrearia*.

Cette espèce, cultivée avec succès par ROBERT en conditions de laboratoire, présente l'intérêt d'être caractéristique des biotopes de certaines claires ostréicoles. En outre, elle est responsable du "verdissement" de l'huître, facteur non négligeable dans la valeur marchande de ces mollusques. Il était donc appréciable, après avoir conclu à l'innocuité du BT 14 sur les larves d'huître, de pouvoir évaluer des effets nocifs éventuels par voie indirecte, à savoir sur les relations trophiques.

Dans ce but, des cultures de la Navicule en eau de mer enrichie (1) ont été réalisées stérilement à 14° C avec ou non adjonction de BT 14 ou d'Abate 500 E à 3 concentrations : 0,1 ; 0,5 ; 1 mg/l et 0,2 ; 2 et 20 mg/l respectivement.

Le ballon de culture était doublé pour chaque essai, de même que les témoins. Les courbes de croissance correspondent donc aux moyennes des nombres de cellules vivantes (observations à la cellule Nageotte) comptées journellement. Nous avons représenté ces développements en échelle semi logarithmique sur la figure 1. On constate rapidement que le taux de croissance est particulièrement ralenti avec 1 mg/l d'Abate dans le milieu tandis qu'avec 0,5 mg/l la phase de latence est augmentée. Des "bleuissements" prématurés des cellules étaient observables à ces deux concentrations.

En revanche, le BT 14 n'a eu aucun effet significatif sur la croissance même jusqu'à 20 mg/l. Les seules modifications observées à cette concentration élevée ont été des développements de petits flagellés en fin de croissance, probablement corrélés à des contaminations bactériennes issues du BT 14 lui-même (sa présentation sous forme de poudre représente un support bactérien efficace).

.../...

(1) Eau de claire filtrée ramenée à 28 ‰ enrichie en sels minéraux et vitamines et tamponnée à pH : 7,8.

•	TEMOIN
○	ABATE 0.1
△	ABATE 0.5
*	ABATE 1
x	BT14 0.2
□	BT14 2
+	BT14 20

N. CFLL. ML

NAVICULA OSTREARIA

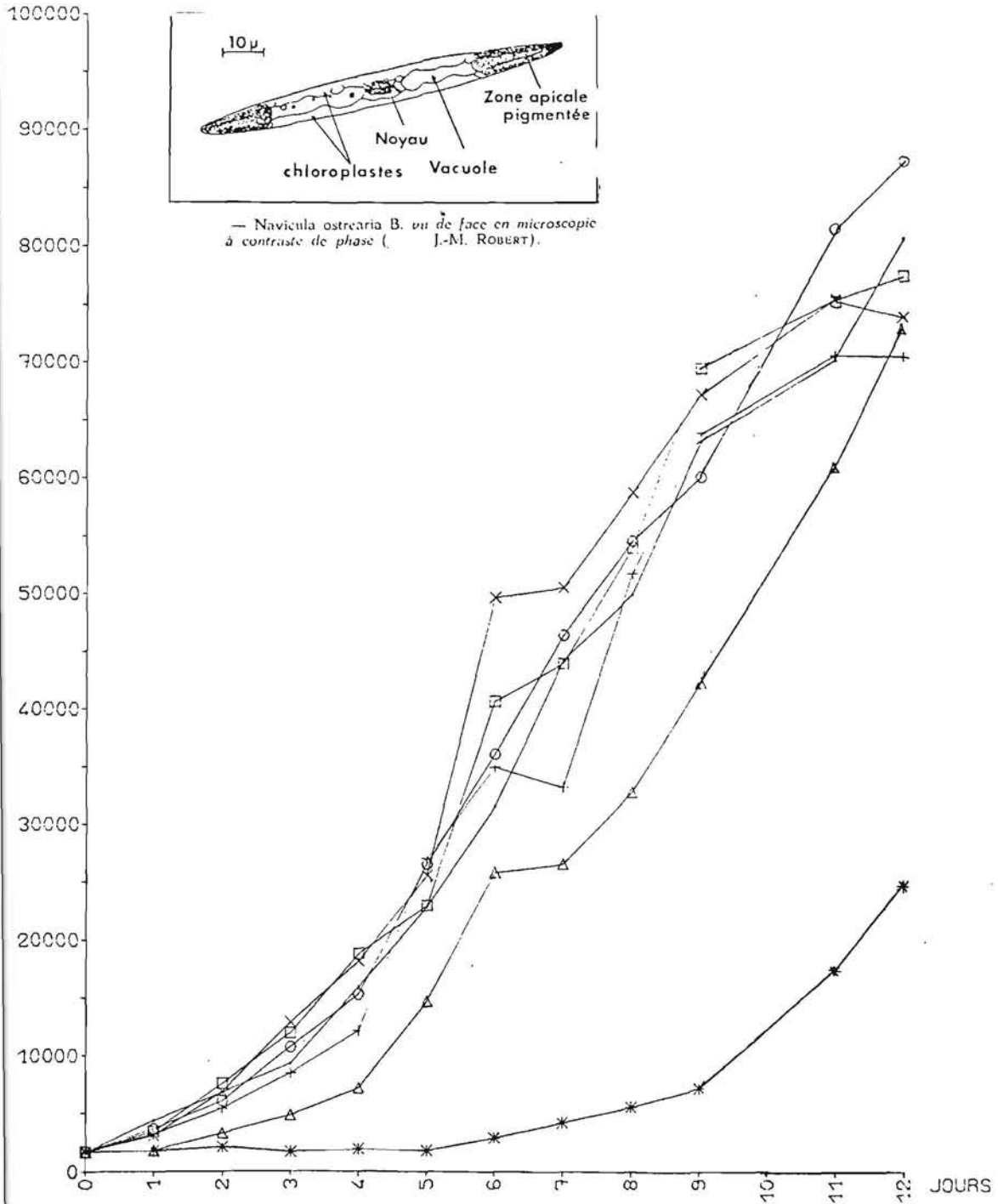


FIG 1 : CROISSANCE A 14 DEG

CONCLUSIONS

Ces différents essais permettent de confirmer l'innocuité du BT 14 sur la flore et la faune marine à des concentrations pour lesquelles des insecticides classiques sont très toxiques. Par ailleurs, une présentation liquide de ce produit est possible avec les solvants proposés, à condition de respecter une proportion d'émulsifiants dans l'huile de pin de l'ordre de 2 %.

BIBLIOGRAPHIE

- ALZIEU (Cl.), de BARJAC (H.) et MAGGI (P.), 1975. - Tolérance de la faune marine à *Bacillus thuringiensis*. - Science et Pêche, Bull. Inst. Pêches marit., n° 250 : 11 - 18.
- de BARJAC (H.), 1968. - Les toxines de *Bacillus thuringiensis*. - Rev. Pathol. comparée. 5 - 2 - 795 : 89 - 94.
- de BARJAC (H.), 1970. - Insecticides et luttés biologiques : Un cas particulier, celui de *Bacillus thuringiensis* - Documents 4 : 17 - 21.
- HALL (I.M.), ARAKAWA (K.Y.), DULMAGE (H.T.) et CORREA (J.A.), 1977. - The pathogenicity of strains of *Bacillus thuringiensis* to larval of *Aedes aegypti* and to *Culex* mosquitoes. Mosquito News, 37 : 246 - 251.
- LECADET (M.M.), 1965. - Isolement et caractérisation de deux protéases des chenilles de *Pieris brassicae* L. et étude de leur action sur l'inclusion parasporale de *Bacillus thuringiensis*. Thèse Doct. es Sciences - Paris.
- MARTOURET (D.), 1967. - Etat de nos connaissances sur l'activité des toxines de *Bacillus thuringiensis* sur les vertébrés. Phytratrie, Phytopharmacie 16 : 75 - 82.
- MOULINIER (Cl.), MAS (J.P.), MOULINIER (Y.), GIAP (G.) et COUPRIE (B.), 1980. - Etude de la sensibilité des larves d'huitre au *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*.
- PANBANGRED (W.), PANTUWATANA (S.), BHUMIRATANA (A.), 1979. - Toxicity of *Bacillus thuringiensis* toward *Aedes aegypti* larvae. Journal of Invertebrate Pathology. 33 : 340 - 347.
- Rapport interne I.S.T.P.M. 2.2.1981. - Résultats d'analyses toxicologiques sur le R. 153-78. Bilan des essais réalisés en 1979 Laboratoire Effets Biologiques des Nuisances.
-