

COMPARAISON DE TROIS MILIEUX NUTRITIFS ARTIFICIELS POUR L'ÉLEVAGE D'*Heliothis armigera* Hubn.

par

P. VANDAMME et **A. ANGELINI**

Entomologistes à l'I.R.C.T.
Station Centrale de BOUAKÉ (Côte d'Ivoire)

Heliothis armigera (Hubn.) peut être considéré comme le ravageur dominant de la culture cotonnière en Moyenne Côte d'Ivoire. Il apparaît 60 jours environ après la germination, c'est-à-dire au début de la floraison. Certaines années, on a pu dénombrer jusqu'à un million d'œufs à l'hectare.

L'épandage régulier d'insecticides chimiques (DDT principalement) est indispensable pour limiter au maximum tout développement dangereux de ce ravageur.

Cette méthode de lutte classique, largement pratiquée, est susceptible toutefois, dans un avenir plus ou moins lointain, de provoquer l'apparition de races résistantes.

La possibilité de limiter les pullulations d'*Heliothis* en utilisant des germes entomopathogènes a donc été envisagée.

Une expérimentation poussée est actuellement en cours à BOUAKÉ. Elle intéresse les germes suivants :

- Une virose nucléaire d'*Heliothis zea*. Cette virose, détruisant les noyaux des cellules sanguines, a été introduite des U.S.A. (IGNOFFO) et adaptée sur *H. armigera* par nous-mêmes.
- Une virose cytoplasmique se développant aux dépens des cellules du méso-intestin.
- Divers types de bacilles ainsi qu'une mycose à *Spicaria rileyi*.

L'étude pathologique et la multiplication de ces divers germes exigent des élevages parfaitement sains et d'origine connue.

L'élevage sur milieu naturel, à base de fruits de cotonniers, est couramment pratiqué (CALLAGHAN). Il s'avère toutefois onéreux, fastidieux et de peu d'intérêt dans le cadre d'élevage sur grande échelle. Il demande, en outre, un matériel végétal abondant, des manipulations nombreuses, entraînant des risques de contamination non négligeables.

La multiplication des germes pathogènes d'origine virale ne se faisant que sur tissus vivants, la recherche et la mise au point de milieux nutritifs artificiels

appropriés ont été d'un grand intérêt pour les entomopathologistes.

VANDERZANT (1962) décrit un milieu semi-synthétique pour *Heliothis zea* très voisin de celui mis au point pour l'élevage de *Platyedra gossypiella* ; l'alginate de sodium est remplacé par l'acide ascorbique indispensable à la croissance des larves d'*Heliothis*. BERGER (1963) et IGNOFFO (1963) mettent également au point un milieu semi-synthétique pour *Heliothis zea* à base de germes de blé, avec de la caséine libre et un complexe de vitamines.

MOORE et NAVON (1964) utilisent comme éléments de base la farine de soja et de trèfle avec addition de « brewers yeast ». BOR (1966) pour *Heliothis armigera* préconise l'emploi de germes de blé, de caséine libre et introduit la levure sèche en remplacement du complexe de vitamines.

L'utilisation de ces différents milieux nous a donné peu de résultats ; la présence de la caséine libre retarde fortement le développement larvaire et nuit à la nymphose.

Les quelques adultes obtenus sont mal formés, les femelles très peu fécondes ; de plus, malgré la présence d'anticryptogamiques (méthyl parahydroxybenzoate et chlortétracycline) de nombreuses moisissures contaminent le milieu.

Après expérimentation, la « vitamin free casein » a été éliminée et nous décrivons ci-après les résultats obtenus avec 3 milieux artificiels.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

a) Composition des milieux

Le tableau 1 donne la composition qualitative et quantitative des milieux.

Le complexe vitaminé est celui décrit par VANDERZANT (1962). Il comprend : 600 mg de niacine et de pantothénate de calcium, 300 mg de riboflavine, 150 mg de thiamine, pyridoxine et acide folique, 12 mg de biotine et 1,2 mg de vitamine B 12 et 100 ml d'eau distillée.

Tableau 1

		Milieu I	Milieu II	Milieu III
Germes de blé	g	11	11	11
Saccharose	g	—	—	12
Brewers yeast	g	10	10	10
Alphacel	g	1,8	1,8	1,8
Salt Wessen's	g	3,6	3,6	3,6
Choline chloride (0,1 g/ml d'eau)	cm ³	3,6	3,6	3,6
Complexe vitaminé	mg	—	1	1
Méthyl parahydroxybenzoate (15 % dans l'alcool à 95 %)	cm ³	3,6	3,6	3,6
Acide ascorbique	g	1,5	1,5	1,5
Chlortétracycline	cm ³	50	50	50
Agar-agar	g	9	9	9
Eau	cm ³	310	310	310

La fabrication du milieu doit s'opérer de la façon suivante :

- Dissoudre les éléments solides, à l'exception de l'acide ascorbique et de la chlortétracycline, dans 110 cm³ d'eau distillée. Mélanger dans le « Waring blender » durant deux minutes environ.
- Ajouter le méthyl parahydroxybenzoate, la choline chloride et la solution vitaminée. Mélanger deux minutes.
- Verser l'agar, préalablement dissous dans 200 cm³ d'eau distillée bouillante.
- Ajouter en dernier lieu l'acide ascorbique et la chlortétracycline.

Le tout est fortement mélangé durant 3 à 4 minutes. Le milieu, encore chaud, est alors versé dans une pompe, type pompe à graisse, ce qui permet une répartition, relativement aisée, dans des tubes en polystyrène de 70 × 33 mm. Chaque tube doit contenir environ 15 ml de milieu, cette quantité doit être suffisante pour nourrir l'insecte durant tout son cycle larvaire.

La stérilisation des tubes est obtenue par deux bains successifs : 24 heures dans un mélange à 20 % d'eau de javel et 24 heures dans une solution à 20 % de formol.

b) Poids

Les chrysalides sont stockées dans des pots en carton et placées en salle conditionnée à 27°C et 85 % d'humidité.

À l'éclosion, les papillons sont disposés dans des poids à raison de 20 couples par cage.

Le poids est une cage vitrée de 50 × 50 × 40 cm ; les parois sont tapissées de tulle moustiquaire à mailles de 2 mm². Une solution miellée permet l'alimentation des papillons.

Les œufs, pondus sur le tulle, sont prélevés quotidiennement et placés, après désinfection, dans des incubateurs à 27°C et 85 % d'humidité.

c) Désinfection des œufs et inoculation des milieux

La désinfection des œufs a lieu 24 h avant l'éclosion. Le tulle avec les œufs est immergé dans une solution à 0,2 % d'hypochlorite de soude durant 10 minutes ; cette solution, outre son action désinfectante, facilite le détachement des œufs ; ceux-ci sont récoltés sur du papier filtre stérile, abondamment lavés à l'eau stérile et disposés ensuite en incubateurs jusqu'à l'éclosion.

Les larves néonates sont prélevées au moyen d'un pinceau stérile et placées sur le milieu à raison de deux par tube.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Quatre générations successives ont été élevées suivant la méthode décrite ci-dessus.

La ponte débute trois jours après l'éclosion des adultes et se poursuit pendant 5 jours ; à partir du 8^e jour, la mortalité devient importante et est totale le 10-11^e jour.

Le volume de ponte est très voisin de celui obtenu en laboratoire avec des élevages naturels. Il est d'environ 1 500 œufs par femelle, quelle que soit l'origine de l'individu ; sur l'ensemble des populations, il n'a été relevé que des cas isolés d'œufs non fécondés.

La durée du cycle larvaire d'*Heliothis armigera* est sous l'étroite dépendance des facteurs température et humidité relative. TAYLOR, en Rhodésie, trouve 15 jours pour une température de 23°C et 90 % d'humidité, COAKER, en Uganda, trouve 14 à 29 jours durant les mois les plus chauds ; SCHMITZ en 1962, avec des élevages réalisés en laboratoire sur la Station I.R.C.T.

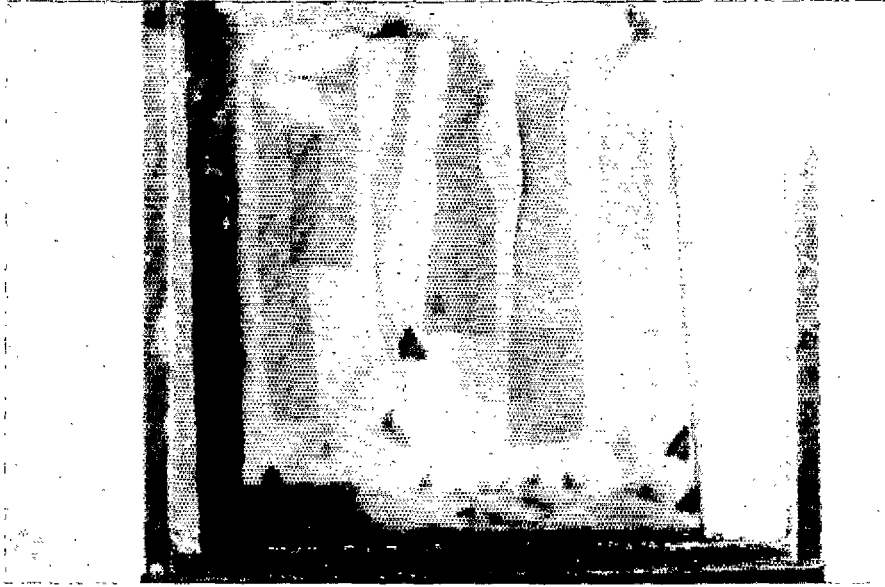


Fig. 1. - Pondeoir d'*Heliothis armigera*.

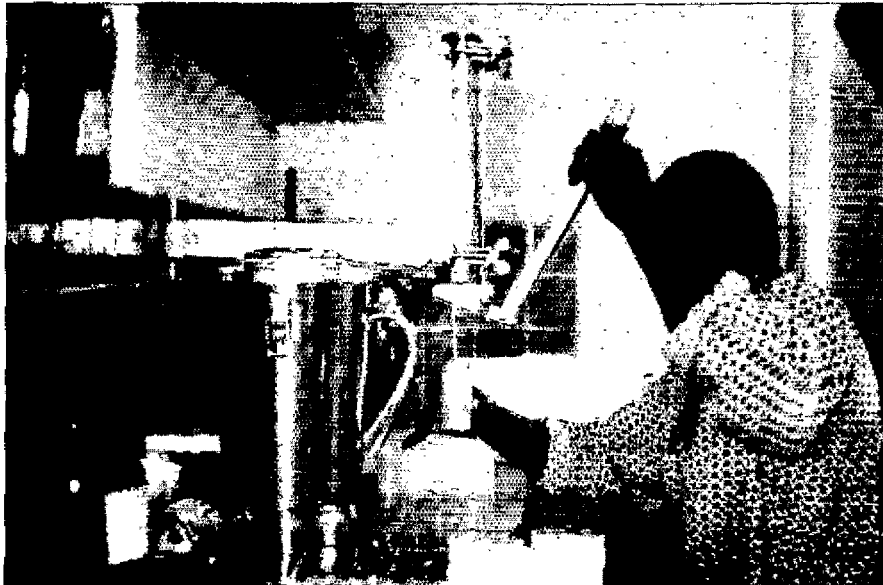


Fig. 2. - Remplissage des tubes en polystyrène au moyen de la pompe à graisse.

de BOUAKÉ, trouve respectivement 15,5 jours pour le cycle larvaire et 12,5 jours pour la période nymphale.

Tous nos élevages ont été réalisés à 27 °C et 85 % d'humidité.

Cinq jours après l'infestation des milieux, le pourcentage de larves vivantes était le suivant :

Tableau 2. — Pourcentage de larves vivantes

	Milieu I	Milieu II	Milieu III
	Nombre de tubes au jour 1	383	329
% de tubes avec larves vivantes au 5 ^e jour ..	92,5	91,4	93,2

L'inoculation de deux larves par tube assure un rendement voisin de 100 % au 5^e jour.

Les larves se nourrissent de façon homogène sur les différents milieux.

Les accidents d'élevage dus à des contaminations bactériennes entraînent entre le 5^e jour et la fin du cycle larvaire une mortalité de 8 à 12 % ; ceci est surtout apparent avec le milieu III. Ces accidents peuvent être beaucoup plus importants si certaines précautions d'aseptie ne sont pas maintenues.

Ainsi que sur les élevages témoins, certains individus ont un développement fortement ralenti ; ceci ne représente toutefois que quelques cas isolés sans relation avec l'élément nutritif.

Les variations de dates observées quant au début de la prénymphe, stade où la larve pénètre entièrement dans le milieu, arrête son alimentation et prépare sa loge nymphale, sont données dans le tableau 3 et le graphique 1 annexe.

82 % des larves présentes au 5^e jour ont terminé leur cycle larvaire au 16^e jour pour le milieu I. L'addition du complexe vitaminé (milieu II) n'améliore pas le pourcentage des prénymphe.

La présence de sucre, sous forme de saccharose (milieu III) a un effet dépressif. On constate dans ce milieu l'apparition, dès le 10^e jour, de moisissures qui freinent ou arrêtent le développement de nombreuses larves.

La date limite pour l'entrée en prénymphe, dans les conditions de notre expérimentation, semble être le 16^e jour. En effet, la majorité des individus qui n'ont pas encore confectionné leur loge nymphale à cette date ne parviennent que rarement au stade nymphé et dans ce cas nous n'avons obtenu que des adultes mal formés et peu fertiles.

Au 13^e jour, 60 % des larves ont terminé leur développement ; le résultat est comparable aux chiffres obtenus avec nos élevages témoins et prouve donc le bon équilibre nutritif des différents milieux, spécialement du milieu I.

L'émergence des adultes a lieu 10-11 jours après la nymphose pour les trois milieux.

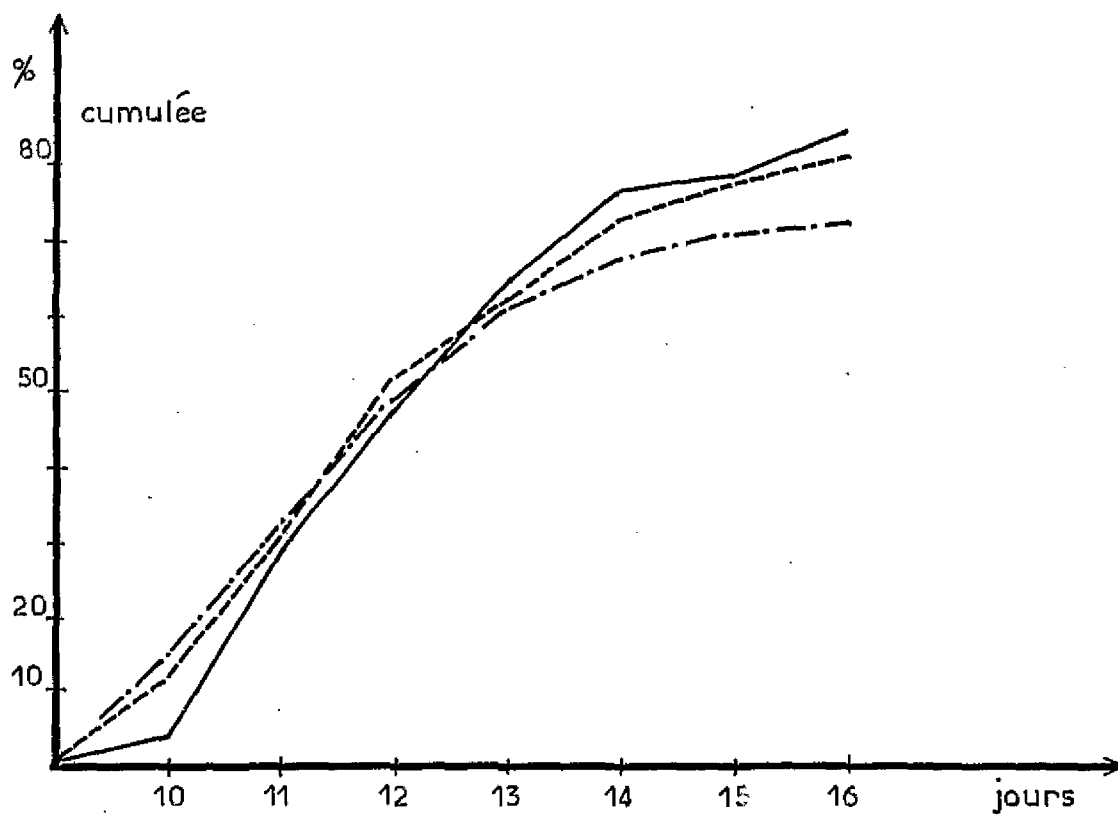
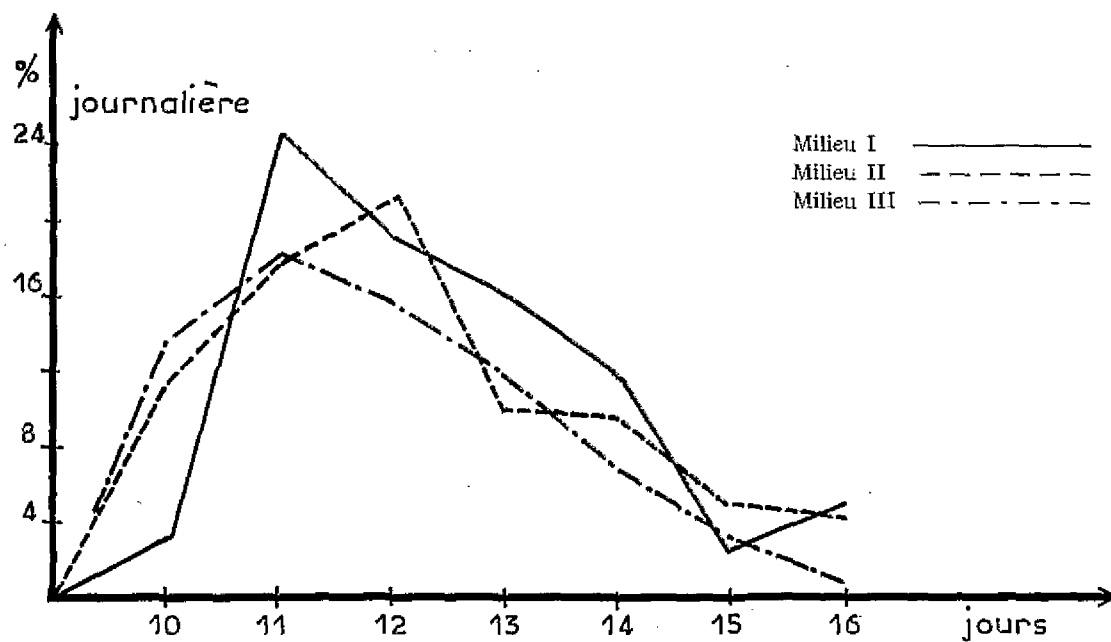
De l'éclosion des œufs à la sortie des adultes, nous obtenons, en prenant pour durée larvaire 13 jours (date à laquelle 60 % de la population est entrée en prénymphe), une longueur de cycle de 26,8 jours pour le milieu I, de 27,2 pour le milieu II et de 27,4 pour le milieu III, résultats comparables à ceux de SCHMITZ (1962) avec des élevages sur boutons floraux et capsules de cotonniers.

De l'analyse globale des résultats, il ressort que l'addition de sucre ou d'un complexe de vitamines n'augmente pas la valeur nutritive du milieu de base (milieu I) où nous trouvons comme éléments essentiels le germe de blé et le « brewers yeast. »

Ce milieu, sur les quatre générations successives, a montré une excellente homogénéité, tant dans la croissance larvaire, la nymphose, que la fécondité des adultes.

Tableau 3. — Variations dans la durée du cycle larvaire

Durée	Milieu I		Milieu II		Milieu III	
	% journ.	% cumulé	% journ.	% cumulé	% journ.	% cumulé
10 jours	3,4	3,4	11,7	11,7	13,9	13,9
11 jours	24,6	28,0	17,7	29,4	18,2	32,1
12 jours	19,1	47,1	21,4	50,0	15,7	47,8
13 jours	16,0	63,1	10,1	60,9	11,7	59,5
14 jours	11,9	75,1	9,7	70,6	6,9	66,4
15 jours	2,4	77,5	5,2	75,8	3,3	69,7
16 jours	5,1	82,6	9,4	79,4	0,7	70,4



Graphique 1. - Evolution de la nymphose d'*Heliothis armigera* en fonction du milieu nutritif.

Il offre l'intérêt d'être économique, facile à préparer et ne présente aucune altération après un stockage de plusieurs jours à la température de 20°C.

Il a été retenu comme milieu pour l'élevage en masse des larves d'*Heliothis armigera* destinées à la multiplication de la polyhédrose nucléaire.

Tableau 4. — Evolution de la nymphose

	Milieu I	Milieu II	Milieu III	
% de nymphes obtenues	71	63	67	
Durée moyenne de la pré-nymphose	3,8	4,2	4,4	
Poids des nymphes	♂ ♀	328 329	302 319	319 327

RÉSUMÉ

Trois milieux nutritifs artificiels ont été comparés sur quatre générations successives d'*Heliothis armigera*.

Les comparaisons ont porté sur la durée du cycle larvaire, le nombre et le poids des nymphes, la fécondité des adultes.

Des résultats, il ressort que les éléments de base doivent être constitués par le germe de blé et le « brewers yeast ».

L'addition de sucre et de vitamines est sans intérêt.

Le milieu I a été retenu pour la multiplication en masse des larves d'*Heliothis armigera*.

BIBLIOGRAPHIE CITÉE

- ADKISSON P.L., D.L. BULL et W.E. ALLISON. — 1960. A comparison of certain artificial diets for laboratory culture of the pink bollworm. *J. econ. Ent.*, LIII, 3, 791-793.
- BERGER R.S. — 1963. Laboratory techniques for rearing *Heliothis* species on artificial medium. *U.S.D.A. ARS* 33-84, 4 p.
- BOT J. — 1956. Rearing *Heliothis armigera* Hubn. and *Prodenia litura* F. on an artificial diet. *S. Afr. J. agric. Sci.*, IX, 3, 535-538.
- COAKER T.H. — 1960. Investigation on *Heliothis armigera* in Uganda. *Bull. ent. Res.*, L, 487-506.
- CALLAHAN P.S. — 1962. Techniques for rearing the corn earworm *Heliothis zea*. *J. econ. Ent.*, LV, 4, 453-457.

IGNOFFO C.M. — 1965. The nuclear polyhedrosis virus of *Heliothis zea* and *Heliothis virescens* (Part. I-II). *J. Invert. Pathol.*, VII.

MOORE I. et A. NAVON. — 1964. An artificial medium for rearing *Prodenia litura* F. and two other noctuids. *Entomophaga*, IX, 2, 131-135.

VANDERZANT E.S., M.C. POOL et C.D. RICHARDSON. — 1962. The role of ascorbic acid in the nutrition of three cotton insects. *J. Insect Physiol.*, VIII, 3, 287-297.

VANDERZANT E.S., C.D. RICHARDSON and S. W. FORT Jr. — 1962. Rearing of the bollworm on artificial diet. *J. econ. Ent.*, LV, 1, 140.

SCHMITZ G. — 1963. Rapport annuel section entomologie BOUMÉ, 1962-1963, *I.R.C.T.*, 73 p.

TAYLOR J.S. — 1932. Report on cotton insect and disease investigation. *Sci. Bull. Dept. Agr. Union S. Afr.*, n° 113.

VANDAMME P. et A. ANGELINI. — 1966. Un complexe pathogène chez *Heliothis armigera* (Hub.) en Côte d'Ivoire. *Cot. Fib. trop.*, XXI, 4, 333-338.

SUMMARY

Three artificial nutritive media were compared over four successive generations of *Heliothis armigera*.

Comparisons applied to the duration of the larval cycle, the number and weight of pupae, adult fertility.

From the results, it appears that the basic elements must be made of wheat germ and brewers yeast.

Adding sugar and vitamins does not offer any interest.

Medium I was retained for mass culturing of *Heliothis armigera* larvae.

RESUMEN

Se han comparado tres medios nutritivos artificiales en cuatro generaciones sucesivas de *Heliothis armigera*.

Las comparaciones se han efectuado sobre la duración del ciclo larvario, el número y el peso de las ninfas y la fecundidad de los adultos.

De los resultados se deduce que los elementos de base deben estar constituidos por el germen de trigo y el « brewers yeast ».

La adición de azúcar y de vitaminas carece de interés.

El medio I se ha retenido para la multiplicación en masa de las larvas de *Heliothis armigera*.