EFFETS DE *BACILLUS THURINGIENSIS* BERLINER (CRISTAUX- SPORES ET TOXINE THERMOSTABLE) SUR LE POTENTIEL BIOTIQUE DE *ZEIRAPHERA DINIANA* Gn.

A. BURGERJON et P. GRISON

*Station de Recherches de Lutte biologique et de Biocoenotique, I.N.R.A.,
La Minière, 78 — Versailles*

AVANT-PROPOS

*Les résultats des recherches rapportées ici ont un objet précis : celui d'apporter un élément d'interprétation des effets différés sur le potentiel de croissance des populations de la Tordeuse du Mélèze ayant subi le traitement expérimental de 1967 dans la vallée de Névache avec une préparation à base de *Bacillus thuringiensis*.*

Les expériences de laboratoire fournissent peut-être une explication sur la diminution de la vitalité des descendants que paraît traduire, deux ans après le traitement, l'accentuation de la divergence des courbes de progression qui croissent plus rapidement dans les zones témoins que dans les zones traitées (GRISON, MARTOURET et AUER, 1971).

Mais ils répondent par ailleurs à deux préoccupations scientifiques : l'une écologique, l'autre technologique dont la portée ne peut laisser indifférent le forestier malgré la motivation spécifiquement entomologique.

*Du point de vue écologique, la dispersion sur de vastes espaces, bien qu'à doses infinitésimales, d'une toxine bactérienne pose des problèmes qui ont toujours retenu notre attention (GRISON, MARTOURET et SERVAIS, 1965) et qui confèrent aux cultures de *Bacillus thuringiensis*, inoffensives pour les Vertébrés, un rôle « simulateur » intéressant pour les recherches épidémiologiques. Néanmoins nous connaissons peu de choses sur les effets de leur introduction dans les chaînes alimentaires, hormis la constatation de la survie des parasites (BILIOTTI, 1955, 1956) ou des prédateurs (BURGERJON et BIACHE, 1966) s'attaquant aux Insectes phytophages tués par les spores de *B. thuringiensis* ou par l'une de ses toxines.*

*Du point de vue technologique, la plupart des laboratoires des U.S.A., d'U.R.S.S., du Japon et d'ailleurs poursuivant des investigations approfondies sur la biologie du germe, sur la structure biochimique des toxines et sur la toxicologie des différents constituants des cultures, considèrent que la toxine thermostable de *B. thuringiensis* peut être à l'origine d'une famille d'insecticides sélectifs de l'avenir vers lesquels tendent les efforts de la technologie industrielle*

moderne. On sait que des espoirs semblables sont fondés sur les substances « naturelles » en provenance de l'insecte lui-même ou de l'environnement (phéromones, hormones juvéniles, attractifs, répulsifs, activateurs ou inhibiteurs de la prise alimentaire...)

Nous pouvons affirmer que les laboratoires industriels, qui coopèrent aux recherches de l'I.N.R.A., observent la prudence nécessaire, particulièrement en matière toxicologique, et qu'ils demandent aux biologistes de poursuivre patiemment et objectivement l'exploration des potentialités physiologiques et écologiques des germes entomopathogènes. Tant il est vrai que des recherches fondamentales convenablement « orientées » ne sont jamais vaines ni stériles.

RÉSUMÉ

Trois formules de préparations à base de *B. thuringiensis* : complexe cristaux-spores, toxine thermostable et cristaux-spores + toxine thermostable, sont expérimentées au laboratoire sur les 3^e, 4^e et 5^e stades larvaires de *Zeiraphera diniana* Gn.

En utilisant des doses subléthales, les imagos, survivant au traitement effectué au dernier stade larvaire (5^e), ont une fécondité nettement réduite par rapport aux imagos du témoin. Les imagos, survivant au complexe cristaux-spores, ne présentent pas d'anomalies morphologiques, tandis qu'un pourcentage important d'imagos survivant à la toxine et à la préparation contenant cette toxine et le complexe cristaux-spores, même après traitement au 4^e stade larvaire, présente des symptômes tératologiques caractéristiques, notamment l'atrophie des pièces buccales. Les conséquences de ces résultats sont discutées dans le cadre de la lutte microbiologique.

I. — INTRODUCTION

Depuis la mise en évidence de l'action tératologique de la toxine thermostable (T.T. dans le texte) de *Bacillus thuringiensis* (BURGERJON et BIACHE, 1967 a) et l'étude détaillée de quelques modalités des effets léthaux et tératologiques chez *Pieris brassicae* (BURGERJON et BIACHE, 1967 b) il a semblé opportun d'étendre ces études à des insectes ravageurs des forêts. En effet, à priori, l'ensemble des nouvelles données révélées sur *Pieris brassicae* devrait pouvoir s'exploiter le plus utilement dans une biocoenose où d'une part l'intervention de l'homme doit être sélective et spécifique et où d'autre part cette intervention ne présente pas toujours l'urgence d'un effet immédiat.

Dans cette intention nous avons procédé à des études préliminaires au laboratoire vis-à-vis de la Tordeuse du Mélèze, *Zeiraphera diniana* Gn., espèce dont les « gradations » font l'objet de recherches écologiques poursuivies depuis bientôt 20 ans par les entomologistes suisses (BOVEY, 1966) auxquels ceux de la Station de Recherches de Lutte biologique et de Biocoenotique de La Minière viennent de s'associer (1).

Or, sur *Pieris brassicae*, il a été démontré que, d'une part la capacité de reproduction des individus tératologiques peut être réduite à 2 % et que d'autre part, dans certaines conditions, de tels individus peuvent constituer la totalité des descendants de la population larvaire soumise à certains traitements de T.T. de *Bacillus thuringiensis*.

(1) Actuellement le groupe de travail suisse est dirigé par le Professeur P. BOVEY de l'Institut d'Entomologie de l'École Polytechnique Fédérale de Zürich; son activité s'étend sur l'ensemble de l'arc alpin. La participation française est limitée au Briançonnais et est orientée essentiellement vers l'écopathologie et la lutte microbiologique.

Notre première préoccupation était de nous rendre compte des effets tératologiques de la toxine thermostable de *Bacillus thuringiensis* sur la Tordeuse du Mélèze à la fois qualitativement (effets sur la morphologie et sur la fécondité des survivants) et quantitativement (pourcentage d'individus tératologiques en fonction du stade larvaire traité).

Ensuite nous désirions apprécier l'effet tératologique de la toxine thermostable quand celle-ci se trouve incorporée au complexe cristaux-spores. Cet aspect n'a pas été étudié dans les travaux cités ci-dessus et devait être comparé avec les capacités biologiques de l'insecte soumis à un traitement par le complexe cristaux-spores seul. L'étude actuelle concerne quelques résultats d'expériences préliminaires se rapportant à ces divers aspects sur *Zeiraphera diniana* dont la manipulation relativement difficile au laboratoire ne permet pas une expérimentation aussi facile que dans le cas de *Pieris brassicae*. La nature préliminaire des expériences découle aussi du fait que le résultat de la comparaison entre l'activité du complexe cristaux-spores et celle de la toxine thermostable est fortement dépendante des conditions (période de traitement dans l'intermue) expérimentales choisies (BURGERJON et BIACHE, 1967 b), ce qui nécessite de faire varier celles-ci pour obtenir des résultats plus complets.

II. — MATÉRIEL ET MÉTHODE

Deux préparations provenant de l'Institut Pasteur de Paris de *B. thuringiensis* var. Berliner (Sérotype I, DE BARJAC et BONNEFOI, 1962) de la variété productrice de T. T. (BURGERJON et DE BARJAC, 1962) ont été utilisées dans les expériences : l'une à base du complexe cristaux-spores, sous forme d'une poudre titrant 1 000 Unités Toxicologiques *Pieris brassicae* (1) (2) ou U.T.P.; l'autre à base de la toxine thermostable, sous forme d'un surnageant autoclavé d'une culture bactérienne. Ces deux préparations correspondent respectivement à ce que nous avons défini comme les types I et V, tandis que leur mélange représente le type II (BURGERJON, 1962b) (3). Nous redésignons, pour plus de clarté, les trois formes de préparations utilisées de la façon suivante :

Forme Cr-Sp : produit à base du complexe cristaux-spores,

Forme T.T. : produit à base de toxine thermostable,

Forme Cr-Sp + T.T. : produit à base du complexe cristaux-spores plus la toxine thermostable.

Les deux premières préparations de base mélangées, dans une proportion pondérale respectivement de 1 pour la première et 100 pour la seconde constituent la troisième préparation, dans laquelle la récupération des deux toxines (cristaux et T.T.) est optimale par rapport à leur élaboration dans un volume de culture bactérienne identique, puisque la préparation du type I a été transformée en une poudre pesant 100 fois moins que la culture bactérienne d'origine.

Des œufs de *Zeiraphera diniana*, provenant d'un élevage de l'Institut d'Entomologie de l'École Polytechnique Fédérale de Zürich (4), nous ont fourni les chenilles au fur et à mesure de leur éclosion. Les chenilles nouvelles nées ont été élevées sur mélèze en pots à fleurs jusqu'à leur emploi.

Aux stades d'utilisation, les chenilles ont été élevées individuellement sur une « rosette » d'aiguilles de mélèze, prélevée de la plante et placée dans des tubes en polystyrène aérés dans leurs couvercles; gardés à une hygrométrie relative de 100, les rosettes se maintiennent fraîches pendant quelques jours. A chaque contrôle les rosettes sont remplacées par de nouvelles. La première série de rosettes d'aiguilles est celle qui a subi au préalable une pulvérisation avec la préparation bactérienne dans notre appareil de traitement (BURGERJON, 1956).

(1). BURGERJON, 1962a, 1965.

(2). Proceedings of the International Colloquium on Inst. Path. and Micr. Contr. Wageningen, Sept. 5-10, 1966, p. 337.

(3). Les préparations des types III et IV semblent avoir disparu depuis la publication de BURGERJON (1962 c) dans la gamme des produits industriels.

(4). Nous remercions vivement le Prof. P. BOVEY et ses collaborateurs de l'intérêt qu'ils portent à nos travaux et de leur précieuse contribution à ceux-ci.

La figure 1 montre la disposition de ces rosettes, épinglées avec des aiguilles minuties, sur le disque qui reçoit la pulvérisation au fond de la tour.

FIG. 1. — *Disposition des rosettes de mélèze pour la pulvérisation des préparations.*
FIG. 1. — *Arrangement of larch needle cluster for the spraying of the preparations.*

FIG. 2. — *Gros plan du dépôt de pulvérisation, sous forme de gouttelettes, sur une rosette d'aiguilles de mélèze.*
FIG. 2. — *Close up of a spraying deposit forming droplets on a needle cluster.*

La pulvérisation de 10 ml de liquide additionné d'un mouillant à base d'un alcool terpénique sulfoné à 2 %, laisse un dépôt sur les aiguilles, sous forme de gouttelettes, jusqu'au cœur des rosettes (fig. 2) et équivaut à une pulvérisation de 500 litres/ha.

L'élevage des imagos, en vue de déterminer leur longévité et leur fécondité fut effectué conformément à la technique mise au point par les collègues suisses.

III. — RÉSULTATS

Un premier essai a été réalisé sur chenilles au cinquième et dernier stade larvaire avec les trois formes de préparations. Les résultats sont consignés dans le tableau 1 : pourcentage

TABLEAU 1 — TABLE 1

*Effet léthal et tératologique de 3 formes de préparations de
B. thuringiensis sur chenilles au dernier stade larvaire
(L5) de Z. diniana Gn.*

*Lethal and teratological effect of 3 B. thuringiensis
preparation types on last larval instar of Z. diniana Gn.*

Préparations	Dilutions	Nombre de chenilles L5	% mortalité		% de survie des adultes		
			L5 et prénymphes	chrysa- lides	Total	tératolo.	normaux
T.T.	2.10 ⁻²	33	3	3	94	91	3
Cr-Sp +	2.10 ⁻⁴	34	38	0	62	47	15
T.T.	2.10 ⁻²	33	18	6	76	0	76
Cr-Sp	2.10 ⁻⁴	30	3	0	97	0	97
Témoin							

de mortalité larvaire et nymphale et pourcentage de survie. Parmi les survivants il y a des différences qualitatives en fonction de chacune des préparations à cause de la proportion plus ou moins grande d'individus tératologiques dont le caractère le plus fréquent est l'absence des palpes et de la trompe (fig. 3). De tels individus sont déjà décelables au stade nymphal d'une façon semblable à un autre Tortricidae tel *Tortrix viridana* (fig. 4).

La fécondité des imagos apparemment normaux, issus du traitement « Cr-Sp » et celle des imagos tératologiques, issus des traitements des formes « T.T. » et « Cr-Sp + T.T. », ont été comparées simultanément en conditions expérimentales identiques (poids à 15° C; hygrométrie relative 80 %). La fécondité comparée des différents lots, exprimée par le nombre d'œufs pondus en moyenne par femelle, se lit dans le tableau 2, dans lequel ne figure pas le détail de chaque lot-pondoir pour plus de clarté.

Deux autres essais furent réalisés respectivement sur chenilles des 3^e et 4^e stades larvaires. Une assez forte mortalité dans les lots témoins provoquée par le développement d'une « granulose » ne permet pas de donner des informations précises sur l'effet de la T.T.

FIG. 3. — *Imagos de Zeiraphera diniana Gn.*
à gauche : normal;
au milieu : absence de la trompe;
à droite : absence de la trompe et des palpes;
FIG. 3. — *Imagos of Zeiraphera diniana Gn.*
on the left : normal;
in the center : without proboscis;
on the right : without proboscis and palps.

FIG. 4. — *Chrysalides de Tortrix viridana L.*
à gauche : normal;
à droite : absence de la trompe et des palpes.
FIG. 4. — *Tortrix viridana L. chrysalises.*
on the left : normal;
on the right : missing proboscis and palps.

TABLEAU 2 — TABLE 2

Fécondité des survivants de l'expérience figurant au tableau 1
Fecundity of the survivors mentioned in table 1

Type de préparation	Cristaux-spores	Toxine thermostable et type mixte	Témoin
Nombre de papillons femelles	10	13*	10
mâles	13	24*	13
Mortalité au 17 ^e jour	44 %	78 %	22 %
Longévité maximale	27 jours	22 jours	27 jours
Nombre d'œufs pondus	205	331	1 025
Nombre d'œufs par femelle	20,5	25,5	102,5

* Seuls les individus tératologiques sont placés en pondoir.

appliquée précocement au cours du développement larvaire. La mortalité immédiate fut pratiquement identique pour les trois formules de préparations.

Cependant nous avons pu noter la tendance d'une survie trois ou quatre fois plus faible que chez les témoins après les traitements effectués au 3^e stade larvaire sans qu'aucun adulte anormal n'ait été observé parmi les survivants (ni avec la forme mixte ni avec la T.T. seule). Lorsque le traitement est effectué au 4^e stade larvaire, il y a deux ou trois fois moins de survivants que dans le lot témoin et parmi eux une forte proportion d'adultes tératologiques est notée dans le lot traité à la formule mixte « Cr-Sp + T.T. » (la T.T. seule ne fut pas expérimentée).

IV. — DISCUSSION ET CONCLUSION

Les résultats préliminaires du fait du nombre restreint d'essais, prennent leur signification en fonction des données déjà acquises sur *Pieris brassicae*. Contrairement à ce qui a été constaté chez la Piéride, la T.T. appliquée au 3^e stade larvaire de *Z. diniana* n'a pas provoqué d'individus atrophiés mais la forte mortalité des chenilles témoins, due à une granuloïse (MARTIGNONI, 1957), a nécessité l'utilisation de doses assez faibles de T.T. susceptibles de masquer l'effet tératologique dont les symptômes se mettent d'autant plus facilement en évidence que la population d'insectes est en bon état sanitaire. Dans ce cas, la dose subléthale peut être relativement élevée et l'effet tératologique est d'autant plus net.

Il est évident que les quelques expériences présentées ici sur *Zeiraphera diniana* ne mettent pas en évidence laquelle des trois formes de préparation de *B. thuringiensis* présente les effets les plus désavantageux pour l'espèce.

La sensibilité certaine de *Z. diniana* aux cristaux-spores rend aléatoire le rôle effectif de la récupération de la toxine thermostable dans un produit de formule mixte. Ceci est différent avec les espèces d'insectes moins ou pas sensibles aux cristaux-spores, telles que *Lymantria dispar*, *Pristiphora pallipes* et autres tenthrèdes, *Leptinotarsa decemlineata*, diptères et noctuides etc... (BURGERJON et DE BARJAC, 1960) et les expériences effectuées sur *Zeiraphera diniana* peuvent servir de modèle pour celle-ci. En effet, si actuellement l'effort de

l'industrie concerne avant tout l'exploitation du complexe cristaux-spores, il n'est pas du tout illusoire de croire à une utilisation éventuelle de la T.T.; étant donné la mise en évidence de l'effet particulier et spécifique de celle-ci vis-à-vis des insectes (BURGERJON, 1970) et les travaux toxicologiques récents (KRIEG et HERFS, 1963; BENZ, 1966; DE BARJAC et RIOU, 1969) qui devront cependant s'intensifier à cause de la nature nucléotidique de la T.T. (DE BARJAC et DEDONDER, 1965, 1968).

La fécondité des imagos tératologiques est diminuée d'environ 75 % d'œufs pondus par rapport à celle des imagos du lot témoin. Cependant, les imagos apparemment normaux, survivant au traitement du complexe cristaux-spores, ont également une fécondité aussi réduite, ainsi que YAMVRIAS (1962) l'avait montré sur *Anagasta kuehniella*. Il reste encore à démontrer si la fécondité serait également réduite chez les adultes survivants à une intoxication par la toxine thermostable au 4^e stade larvaire, tandis qu'il pourrait ne pas en être de même dans le cas d'individus survivants au traitement cristaux-spores.

D'autres conditions expérimentales pourraient également modifier le rapport entre les potentiels biologiques résultant des actions respectives des cristaux-spores d'une part et de la toxine thermostable d'autre part. En effet, à doses identiques, l'effet des deux formes de préparation peut être différent selon la période d'intoxication choisie à l'intérieur d'une même intermue (BURGERJON et BIACHE, 1967 b).

Aussi nous ne présentons le graphique de la figure 5, établi avec les données des tableaux 1 et 2 qu'à titre de démonstration, en rappelant que la seule fécondité des individus tératologiques fut déterminée parmi les survivants provenant des traitements avec la toxine thermostable.

FIG. 5. — Effet de 3 formules de préparations de *B. thuringiensis* sur chenilles au 5^e stade de *Zeiraphera diniana* Gn.

FIG. 5. — Effect of three different preparation of *Bacillus thuringiensis* upon the 5th larval instar of *Zeiraphera diniana* Gn.

Les chiffres des œufs pour chacune des préparations sont calculés arbitrairement par rapport au pourcentage de survie de 97 pour le témoin (représentant théoriquement un total de 102,5 œufs $\times$ 97) et donnent :

- pour la préparation « Cr-Sp » un total de 20,5 œufs $\times$ 76 femelles survivantes;
- pour la préparation « T.T. » 25,5 œufs $\times$ 91 femelles tératologiques, plus 102,5 œufs $\times$ 3 femelles normales;
- pour la préparation mixte : 20,5 œufs $\times$ 62 femelles survivantes.

Cette figure démontre la grande différence d'effet des trois types de préparations par rapport au témoin en comparant d'une part la mortalité larvaire et nymphale seule (exprimée par le pourcentage d'imagos survivants) et d'autre part, la fécondité des survivants.

Dans l'utilisation pratique des diverses formulations de *Bacillus thuringiensis* il importe de ne pas juger seulement de l'effet sur la mortalité larvaire ou nymphale quel que soit le ou les stades larvaires traités. En effet, la *réduction de la fécondité des imagos survivants est importante aussi bien après un traitement avec le complexe cristaux-spores qu'après un traitement avec la toxine thermostable*. Dans le premier cas on peut penser à un « effet indirect de la sous-alimentation des chenilles, particulièrement au dernier stade larvaire au moment de la constitution des réserves » comme note YAMVRIAS (1962); dans le dernier cas il s'agirait également d'un effet indirect de la toxine thermostable, puisque celle-ci, par les atrophies qu'elle provoque chez les adultes, rend ceux-ci inaptes à s'alimenter (BURGERJON et BIACHE, 1967).

HITCHINGS (1967) constate également une diminution de la fécondité des survivants de *Prodenia eridiana* CRAMER à la suite des traitements avec « Bakthane », en l'attribuant à une toxine soluble dans l'eau. On peut vraisemblablement assimiler cette toxine à la toxine thermostable compte tenu de l'analyse qualitative de quelques produits industriels, parmi lesquels figure le « Bakthane » (BURGERJON, 1962 c; KRIEG, 1966).

Nous supposons que l'aspect tératologique des chrysalides et des imagos a échappé à l'observation de HITCHINGS qui a conduit ses essais sur le dernier stade larvaire d'une Noctuide (*Prodenia eridania* CRAMER). Or si les symptômes tératologiques sont très visibles sur les chrysalides de *Pieris brassicae* L., ils le sont moins chez d'autres lépidoptères, y compris un Noctuide tel *Barathra brassicae* L. (BURGERJON et BIACHE, 1967 b).

Notons encore que DAVID et VAGO (1967) constatent que la toxine soluble exerce un effet direct sur l'ovogénèse, quand l'intoxication s'opère au stade d'adultes.

Les expériences rapportées ici mettent en évidence que la conséquence pratiquement avantageuse de la plus grande sensibilité des plus jeunes stades peut être compensée par la moindre fécondité des survivants des traitements effectués aux derniers stades larvaires. Cet aspect doit retenir l'attention des expérimentateurs dans la nature puisque, d'une part, fréquemment la structure de la population du ravageur est représentée par plusieurs stades larvaires à un moment donné et, d'autre part, d'autres facteurs peuvent dicter l'époque d'intervention, tels que : la coïncidence phénologique, l'éthologie du ravageur, la survie des parasites, la possibilité matérielle de l'intervention, etc...

Il n'est donc pas nécessaire, dans tous les cas où les plus jeunes stades larvaires semblent être plus sensibles, que ceci constitue le seul facteur déterminant de la période d'intervention, à condition de prendre également en considération le potentiel biotique des individus survivants pour évaluer l'effet final et global d'une intervention avec les différentes formules de produits à base de *Bacillus thuringiensis* BERLINER.

ANGUS (1964), en ne considérant dans ces études que le complexe cristaux-spores,

envisage la possibilité qu'une infection larvaire tardive réduise la vigueur et la fécondité chez les adultes survivants; il conclut que cette hypothèse mérite des études supplémentaires. Le travail de YAMVRIAS (1962) avait déjà apporté des éléments à ce sujet, tandis que les résultats de BURGERJON et BIACHE (1967) ainsi que les présentes observations apportent de nouvelles confirmations.

Reçu pour publication en juillet 1971.

SUMMARY

« *BACILLUS THURINGIENSIS* » BERLINER EFFECTS
(MIXTURE OF THE SPORE CRYSTAL COMPLEX PLUS THE THERMOSTABLE TOXIN)
ON THE BIOTIC POTENTIAL OF « *ZEIRAPHERA DINIANA* » GN.

Three different kinds of *Bacillus thuringiensis* preparations have been studied on *Zeiraphera diniana* Gn. in laboratory conditions with special attention paid to the reproduction capacity of survival adults. A very reduced fecundity has been established when treating the last larval instar with sublethal doses of either the thermostable toxin or the mixture of the spore-crystal complex plus the thermostable toxin. The thermostable toxin provokes teratological adults, especially the proboscis is missing, even in the case of the mixed preparation, where the spore-crystal complex has a predominant lethal effect on this species of lepidoptera. The results are worth being retained, equally in considering biological control of other harmful forest insects. Effectively the response of other insects, regarding each of the three preparations may be different as a result of specific susceptibility for each of the two active materials (the spore-crystal complex and the thermostable toxin). Moreover the reproduction capacity of proboscis-missing adults may be different in species that do not need to feed.

ZUSAMMENFASSUNG

WIRKUNGEN VON « *BACILLUS THURINGIENSIS* » BERLINER
(KRISTALLE-SPOREN KOMPLEX UND THERMOSTABLES TOXIN)
AUF DEM BIOTISCHES POTENTIAL VON « *ZEIRAPHERA DINIANA* » GN.

Drei verschiedenen Präparate von *B. thuringiensis* : Kristalle-Sporen Komplex, Thermostabiles Toxin und Kristalle-Sporen + Thermostabiles Toxin, wurden im Laboratorium auf den dritten, vierten und fünften Larvenstadien von *Zeiraphera diniana* Gn. untersucht.

Die Anwendung von subletalen Dosen deutlich vermindert die Fruchtbarkeit der Imagines, welche die Behandlung am fünften Larvenstadium überlebten, gegenüber der Fruchtbarkeit der Kontroll-Imagines. Die Imagines, die der Behandlung mit den Kristalle-Sporen Komplex widerstehen, weisen keine morphologischen Anomalien auf, während ein wichtiger Anteil von Imagines, nach Behandlung mit Toxin und mit einem Gemisch von Toxin und Kristalle-Sporen selbst am vierten Larvenstadium, charakteristische teralogische Symptome, insbesondere eine Abzehrung der Mundwerkzeuge, zeigt. Aus den erzielten Ergebnissen wurden Folgerungen für die mikrobiologische Bekämpfung gezogen.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- ANGUS T. A., 1964. Mortality due to *Bacillus thuringiensis* in post larval stages of some *Lepidoptera*. Proc. ent. Soc. Ontario, 95, 133-134.
DE BARJAC H., BONNEFOI A., 1962. Essai de classification biochimique et sérologique de 24 souches de *Bacillus* du type *B. thuringiensis*, *Entomophaga*, 7, (1), 6-32.
DE BARJAC H., DEDONDER R., 1965. Isolement d'un nucléotide identifiable à la « toxine thermostable » de *Bacillus thuringiensis* var. Berliner. C.R. Acad. Sci. Fr., 260, (26), 7050-7052.

- DE BARJAC H., DEDONDER R., 1968. Purification de la toxine thermostable de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* et analyses complémentaires. *Bull. Soc. Chim. biol.*, 50, (4), 941-944.
- DE BARJAC H., RIOU, J. Y., 1969. Action de la toxine thermostable de *B. thuringiensis* var. *thuringiensis* administrée à des souris. *Rev. Pathol. Comp. Méd. Exp.*, 6, (6), 367-374.
- BENZ G., 1966. On the chemical nature of the heatstable exotoxin of *Bacillus thuringiensis*. *Experientia*, 32, 81-82.
- BILIOTTI, E. 1955. Vie endoparasitaire et diapause chez *Phryxe secunda* BB. *C.R. Acad. Sci. Fr.*, 240, 915-916.
- BILIOTTI, E. 1956. Entomophages et maladies des insectes. *Entomophaga*, 1, 45-53.
- BOVEY P., 1966. Le problème de la tordeuse grise du mélèze dans les forêts alpines. *Bull. de la Murithienne Soc. Valaisanne des Sciences Naturelles*, Fasc. LXXXIII, 1-33.
- BURGERJON A., 1956. Pulvérisation et poudrage au laboratoire par des préparations pathogènes insecticides. *Ann. Epiphyties*, 4, 675-684.
- BURGERJON A., DE BARJAC H., 1960. Essais préliminaires sur le rôle insecticide de la toxine thermostable produite par *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Congr. Int. Entom. Vienne*, 835-839.
- BURGERJON A., 1962 a. Relation entre l'intoxication provoquée par *Bacillus thuringiensis* Berliner et la consommation chez *Pieris brassicae* L. *Ann. Epiphyties*, 13 (1), 59-72.
- BURGERJON A., 1962 b. Les méthodes de titrages et la standardisation des préparations de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Coll. Int. Pathol. Insectes*, Paris. *Entomophaga*, Mémoire Hors Série n° 2, 1964, 255-262.
- BURGERJON A., 1962 c. Principes thermostables dans les préparations industrielles à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Coll. Int. Pathol. Insectes*, Paris. *Entomophaga*, Mémoire Hors Série n° 2, 1964, 227-237.
- BURGERJON A., DE BARJAC H., 1962. Étude de la toxine thermostable chez différentes souches de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Coll. Int. Pathol. Insectes*, Paris. *Entomophaga*, Mémoire Hors Série n° 2, 1964, 222-226.
- BURGERJON A., 1965. Le titrage biologique des cristaux de *Bacillus thuringiensis* Berliner par réduction de consommation au laboratoire de La Minière. *Entomophaga*, 10, (1), 21-26.
- BURGERJON A. et BIACHE G. 1966. Alimentation au laboratoire de *Perillus bioculatus* FABR. avec des larves de *Leptinotarsa decemlineata* SAY intoxiquées par la toxine thermostable de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Entomophaga*, 11, 3, 279-284.
- BURGERJON A., BIACHE G., 1967 a. Effets tératologiques chez les nymphes et adultes d'insectes dont les larves ont ingéré des doses subléthales de toxine thermostable de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *C. R. Acad. Sci. Fr.*, 264, 2423-2425.
- BURGERJON A., BIACHE G., 1967 b. Divers effets spéciaux et symptômes tératologiques de la toxine thermostable de *Bacillus thuringiensis* en fonction de l'âge physiologique des insectes. *Ann. Soc. entomol. Fr.*, 3, (4), 929-952.
- BURGERJON A., 1970. Les effets physiologiques de la toxine thermostable de *Bacillus thuringiensis* Berliner sur les insectes. (Sous presse). C. R. X^e Congrès international de Microbiologie. Mexico.
- DAVID J., VAGO C., 1967. Influence des toxines de *Bacillus thuringiensis* sur divers caractères physiologiques de drosophiles adultes. *Entomophaga*, 12, (2), 153-159.
- GRISON P., MARTOURET, D. et SERVAIS B. 1965. Lutte microbiologique avec *Bacillus thuringiensis* Berliner contre la Processionnaire du Pin (*Thaumetopoea pityocampa* SCHIFF) et modalités de la distribution des germes. *C. R. Acad. Agric. Fr.*, 51, 117-123.
- GRISON P., MARTOURET D., et AUER C., 1971. La lutte microbiologique contre la Tordeuse du Mélèze. (*Annales de Zoologie, Écologie animale*, 2, 2, 91-121).
- HITCHINGS D. L., 1967. *Bacillus thuringiensis* : A reproduction inhibitor for southern armyworm. *J. econ. Entomol.*, 60, (2), 596-597.
- KRIEG A., HERFS W., 1963. Empfindlichkeit verschiedener Insectenarten gegenüber dem « Exotoxin » von *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Z. Pflanzenkrankh.*, 70, 11-21.
- KRIEG A., 1966. Über den Biotest von *Bacillus thuringiensis* — Exotoxin mit *Drosophila melanogaster*. *Ent. exp. et appl.*, 9, (2), 185-190.
- MARTIGNONI M., 1957. Contributo alla conoscenza di una granulosa di *Eucosma griseana* (HUBNER) (*Tortricidae, Lepidoptera*) quale fattore limitante il pullulamento dell'insetto nella Engadina alta. *Mitt. schw. Anst. forstl. Versuchswesen*, 32, 371-418.
- YAMVRIAS C., 1962. Contribution à l'étude du mode d'action de *Bacillus thuringiensis* Berliner vis-à-vis de la teigne de la farine *Anagasta (Ephestia) kühniella* ZELLER — Lépidoptères — *Entomophaga*, 7, (2) 101-159.