

Field Demonstration of the Use of *Metarhizium anisoplae* for Desert Locust Control Using the Release – Spray- Recapture Method

Mohamed El Hadi Ould Taleb¹
Diallo Amadou²

1. Project : GCP/INT/651/NOR, Nouakchott, Mauritania
2. Centre de Lutte Antiacridienne, Nouakchott, Mauritania



GCP/INT/651/NOR
EMPRES

Improving Pesticide Application
Techniques for Desert Locust
Control

March 2001

Improving Pesticide Application Techniques for Desert Locust Control

This report is prepared under GCP/INT/651/NOR, “Improving Pesticide Application Techniques for Desert Locust Control”, a collaborative project between FAO, the Centre National Lutte Antiacridienne, Nouakchott, Mauritania, and other countries of the EMPRES Western Region. The project is funded by Norway and executed by FAO.

The views expressed in this report of those of the authors alone, and do not imply any recommendation by FAO or other collaborators of any products mentioned in the report.

SOMMAIRE

- 1 Introduction
- 2 Méthodes
 - 2.1 Description du site
 - 2.2 Test de germination
 - 2.3 Paramètres d'application
 - 2.4 Méthodes d'échantillonnage
 - 2.4.1 Insectes présents sur la parcelle lors du traitement
 - 2.4.2 Rémanence du produit
 - 2.4.3 Témoins
 - 2.4.4 Collecte des données
- 3 Résultats
 - 3.1 Mortalité des insectes présents lors du traitement
 - 3.2 Rémanence du Green Muscle
 - 3.3 Température et Humidité relative
- 4 Discussion
- 5 Conclusion
- 6 Remerciements
- 7 Annexes
- 8 Références bibliographiques

1 Introduction

Dans le but de la recherche des méthodes alternatives à la lutte chimique, le projet LUBILOSA (Lutte Biologique contre les Locustes et les Sautériaux) a mis sur le marché un produit à base de champignon appelé "Green Muscle". Ce biopesticide consiste en des spores du champignon *Metarhizium anisoplae* var. *acridum* Gams & Rozsypal (Deuteromycotina : Hyphomycetes) en forme de poudre sèche (formulation TC) ou en forme de concentration huileuse des spores (Formulation OF).

L'un des objectifs du programme EMPRES est de promouvoir l'utilisation des méthodes de lutte respectueuses de l'environnement telle que le Green Muscle contre le Criquet pèlerin mais l'absence de populations acridiennes sur le terrain a constitué un obstacle devant l'exécution de cette activité.

Dans le cadre de l'atelier sur " Les techniques améliorées d'application et les nouvelles méthodes de prospection pour la lutte contre le Criquet pèlerin" tenu le 17-30 novembre 2001, le projet GCP/INT/651/NOR a réalisé un essai sur l'utilisation de ce biopesticide en présence des participants en provenance de l'Inde, Mauritanie, Pakistan , Soudan et Yémen.

Le but de cette démonstration est de montrer aux participants la méthodologie d'utilisation du Green Muscle et d'évaluation de son efficacité lors des traitements contre le Criquet pèlerin. Un expert de LUBILOSA (Mr Kpindou) a dirigé ce travail.

Les objectifs spécifiques de ce travail est de montrer :

- Comment préparer la formulation pour l'utilisation
- L'application du Green Muscle
- Méthodes d'échantillonnage
- Comment estimer la rémanence du Green Muscle sur le terrain

Afin que les participants puissent réaliser ce travail dans leurs pays selon une méthode standard.

2 Méthodes

En l'absence de populations acridiennes sur le terrain au moment de la démonstration, des insectes provenant de l'élevage du projet à Nouakchott ont été utilisés comme cibles. (Un grand élevage a été mis en place à Akjoujt pour produire des criquets pour ce travail mais malheureusement le stade de développement des insectes d'Akjoujt ne convenait pas pour ce travail. De cette façon, ce sont les criquets de Nouakchott qui ont été utilisés. Ainsi le long transport des insectes sur le terrain a provoqué une mortalité due au stress.

Les insectes ont été relâchés dans la parcelle , quelques minutes avant l'application. Après l'application à des temps variés, des insectes ont été capturés pour l'estimation de l'effet biologique. Cette méthode ne permet pas l'évaluation de la dynamique de la population car les insectes libérés subissent rapidement la pression des prédateurs.

2.1 Description du site

C'est un oued situé 50 km à l'ouest d'Akjoujt (19 37 759 N; 14 4 825W) qui a bénéficié d'un écoulement d'eau en provenance des collines situées au nord ouest d'Akjoujt. Le sol est sablo-argileux. Le pourcentage de couverture végétale est de 70%; la hauteur moyenne des plantes est de 40 cm et l'indice de la superficie foliaire est estimé à 4.

Le couvert végétal est composé essentiellement de *Farsetia ramossissima*. D'autres espèces sont présentes telles que : *Corchorus depressus*, *Heliotropium bacciferum*, *Psorella plicata*, *Indigofera sp*, *Gisekia pharmacoides*, *Panicum turgidum*, *Maerua crassifolia*, *Calotropis procera*, *Capparis decidua*, *Acacia raddiana* (photo 1).



2.2 Test de germination

Un échantillon du mélange est prélevé avant et après l'application pour déterminer le pourcentage de spores viables utilisées.

Cet échantillon est dilué avec le Gazoil pour avoir une concentration plus claire des spores afin de faciliter le comptage dans le milieu de culture. Deux ou trois gouttes sont déposées dans chacune des 3 boîtes de pétri contenant du Sabouraud Dextrose Agar (SDA) puis les boîtes placées dans une étuve à 26°C pendant 20 heures. Après l'incubation, le nombre de spores germées et non germées est noté en utilisant un microscope (x40).

Les résultats du test sont présentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Résultats du test de germination

Répétitions	Avant l' application			Après l' application		
	Spores Germées	Spores Non Germées	Total	Spores Germées	Spores Non Germées	Total
I	118	11		126	20	
II	122	6		103	19	
III	93	8		94	9	
Moyenne	111	8.33	119.33	107.66	16	123.66
%germination	93.02			87.06		

2.3 Paramètres d'application

Deux Micron ULVA + ont été utilisés simultanément

Formulation huileuse : (OF)

Dose : 50g spores/ha

Volume appliqué : 2litres (100ml de la formulation + 1900ml Gazoil)

Débit : 70ml/mn

Distance entre les passes : 6m (déterminée à l'aide d'un balisage avec des drapeaux).

Type d'appareil : Micron Ulva +

Nombre de piles : 5

Rpm : 1^{er} pulvérisateur : 6324; 2nd pulvérisateur : 6341

28 papiers oléosensibles sont été placés sur la diagonale de la parcelle traitée pour collecter les gouttelettes afin de déterminer le nombre par cm².

2.3.1 Conditions climatiques durant l'application

Paramètres	Avant	Après
Temps	9h36	9h48
Température	25	25
%RH	23	23
Vitesse du vent ms^{-1}	4,65	4,65

La direction du vent par rapport à la ligne du traitement est entre 70°-90° durant la période de l'application.

Environ 15 minutes avant l'application, approximativement 5000 criquets (stades L2-L5) ont été relâchés dans la parcelle.

2.4 Méthodes d'échantillonnage

2.4.1 - Insectes présents sur la parcelle lors du traitement :

Deux heures après la pulvérisation 80 larves (L2, L3, L4, L5) ont été collectées et réparties par groupe de 20 dans 4 petites cages (25cmx25cmx30cm). Les cages sont transportées au Laboratoire pour le suivi.

Trois jours après le traitement , 80 autres insectes ont été collectés de la parcelle traitée et placées dans 4 cages (20 par cage) pour observer le comportement du champignon après 3 jours.

Nous avons cherché à collecter des insectes le 6^{ème} jour après traitement mais nous n'avons pas localisé les insectes. Au 7^{ème} jour après traitement, deux larves ont été capturées de la parcelle traitée et placées en incubation. Elles sont mortes suite à l'action du champignon qui a sporulé sur leurs cadavres.

2.4.2 Rémanence du produit :

Pour étudier la persistance du champignon, 3 cages en toile de moustiquaire (70x70x80 cm) ont été placées sur la végétation dans la parcelle après l'application. Dans chaque cage 20 larves non traitées (L2, L3, L4, L5) sont introduites. Les insectes sont laissés dans les cages pendant 72 heures et puis ils sont récupérés dans des cages de laboratoire pour l'incubation. Ceci est répété 5 fois (Rémanence J0 : insectes placés en cage le jour du

traitement, Rémanence J3, J6, J9, J12). A chaque fois les cages sont déplacées vers d'autres endroits et alimentées par de nouveaux insectes.

2.4.3 Témoins :

Trois cages contenant chacune 20 larves non traitées sont utilisées comme témoin et mises en observation pendant 15 jours dans les mêmes conditions que les autres cages. Ce lot de 3 cages a servi de témoin pour les deux lots d'insectes prélevés sur le terrain (J0 et J3) et aussi pour les deux premières rémanences (J0 et J3).

En effet, dès les premiers jours du suivi, nous avons constaté une mortalité élevée qui est due à d'autres facteurs tels que la fatigue des insectes; Pour cela , nous avons pris un nouveau témoin (3 cages avec 20 criquets chacune) en provenance de l'élevage d'Akjoujt. Ce dernier témoin a été suivi avec les autres remanences (J6, J9 et J12).

2.4.4. Collecte des données

La température et l'hygrométrie sont enregistrées toutes les deux heures durant la journée à l'intérieur et à l'extérieur de la salle.

La mortalité est aussi notée chaque jour sur les fiches d'observation . Le nettoyage et le renouvellement de la nourriture se font quotidiennement.

Chaque jour, Les cadavres sont placés dans une boîte de pétri (9cm de diamètre) pour chaque cage et laissés pendant 24 heures pour sécher. Après les cadavres sont déposés dans la même boîte de pétri sur du papier imbibé pour incubation et la lecture est faite 24 h plus tard.

Les insectes sporulés sont notés avec la référence de leur cage d'origine.

3 Résultats

La moyenne du nombre de gouttelettes était de 16.9 par cm². Ce faible nombre résulte de la disparition du dépôt avec le temps. Pour des raisons opérationnelles, il n'était pas possible d'analyser les papiers oléosensibles que quelques jours après traitement.

3.1 Mortalité des insectes présents lors du traitement

3.1.1 Insectes collectés 2 heures après l'application

15 jours après l'application, les criquets qui étaient présents durant la pulvérisation et collectés 2 heures après le traitement ont subi une mortalité de 92.5%. Toutefois la mortalité chez le témoin s'est élevée jusqu'à 44.3% (Fig. 1). Cette mortalité est certainement due au stress provoqué par le transport. 15 jours après traitement, 37% des insectes ont montré les signes de la sporulation du champignon sur leurs cadavres.

3.1.2 Insectes collectés 3 jours après le traitement

La figure 2 présente ces données. Il doit être noté que les données du témoin portent sur les insectes qui sont morts suite au stress. Les insectes collectés le 3^{ème} jour après traitement (JAT) correspondent aux survivants dans la parcelle. C'est au 8 JAT, que la mortalité chez les traités devient plus importante que celle du témoin et atteint 77.5% le 18JAT. La sporulation apparaît au 7JAT et atteint 48.5% le 18 JAT.

3.2 Rémanence du Green Muscle

3.2.1 Insectes exposés immédiatement après l'application (J0)

La mortalité totale des criquets exposés immédiatement après traitement reste plus faible que celle des insectes présents au moment de la pulvérisation(Fig.3) et atteint 57%. Alors qu'en terme de sporulation la différence est faible entre les deux lots (environ 37% dans les deux cas).

3.2.2 Insectes exposés 3 jours après traitement (3 JAT)

Les résultats sont identiques au J0 ; Avec un maximum de mortalité de 59% et 37% pour la sporulation au 21 JAT – qui correspond à 18 jours d'exposition et 15 jours après leur collecte de la parcelle. (Fig. 4).

3.2.3 Insectes exposés 6 JAT :

Un nouveau témoin a été utilisé. La mortalité a atteint 51% au 24JAT alors que la sporulation a diminué jusqu'à 14% (Fig.5).

3.2.4 Insectes exposés 9 JAT:

La figure 6 montre que la différence entre la mortalité chez le témoin et le traité est de 10% (26% pour le témoin et 36% le traité 27JAT). Seulement 10% d'insectes ont montré un signe de sporulation.

3.2.5 Insectes exposés le 12 JAT

Il n'y a pas de différence entre le témoin et le traité. La sporulation est nulle au 30 JAT (Fig. 7).

Les résultats sont récapitulés sur la figure 8.

3.3 Température et Humidité relative :

La température et l'humidité relative ont été enregistrées chaque 2 heures à l'intérieur du laboratoire et à l'extérieur (comme indication sur les conditions du terrain). Ces données sont analysées sur la base de leur fréquence pour avoir une idée sur la variation durant la journée (Fig. 9 – 12). Il est clair qu'il y a moins de variation dans le laboratoire où 75% des valeurs sont entre 25 – 29 °C comparativement à 50% pour les données à l'extérieur. Aussi,

l'humidité relative restait stable dans le laboratoire avec 85% de valeurs entre 21 – 24% RH comparativement à 65% pour l'extérieur.

4 Discussion

La figure 8 est un récapitulatif des résultats. Concernant la mortalité, il est difficile de tirer une conclusion à cause de la mortalité élevée du témoin provoquée par le stress du au transport.

Toutefois, il est évident que des insectes ont montré la sporulation du champignon sur leurs cadavres. 37% des criquets présents lors de l'application et collectés 2 heures après traitement ont été infectés par le champignon. Ce chiffre atteint 48% pour les insectes laissés 3 jours dans la parcelle. Pour les criquets exposés seulement à la végétation traitée, le taux de sporulation est de 37% 3JAT et continue à décroître pour s'annuler le 12 JAT. Ceci indique que dans les conditions du travail, l'effet biologique du champignon a disparu au 12JAT certainement suite à la dégradation des spores soumises à l'action de la lumière et de la température.

Il n'est pas à exclure l'effet du faible nombre de gouttelettes obtenu lors de l'application. Les lectures des papiers oléosensibles n'est pas fiable vue la perte des traces avec le temps.

5 Conclusions

L'objectif de ce travail est de montrer les procédures d'utilisation du Green Muscle pour que les participants à l'atelier soient capables de réaliser des essais sur le terrain dans leurs propres pays. Il semble que s'était un exercice très utile. Il ne permet pas de donner une réponse définitive concernant l'efficacité biologique du champignon qui demande des essais à grande échelle sur des populations naturelles.

Quelques points ont été obtenus à l'issue de ce travail :

La viscosité de la formulation OF fait qu'il faut une dilution avec 1.9l de Gazoil pour avoir une solution pulvérisable. Toutefois, cette quantité apparaît très élevée comparativement aux volumes habituels de 05 à 1l/ha. Il est probable que c'est un lot exceptionnellement visqueux.

La mortalité chez les différents stades (L2-L5) du Criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* est bien incriminée à l'action du champignon qui a sporulé sur les cadavres.

Une réduction de l'activité biologique du GM est observée avec les données de la sporulation. Aucun cadavre n'a montré un signe de sporulation pour les insectes exposés au 12^{ème} jour après l'application.

6 Remerciements

Nous voulons remercier l'IITA pour avoir autorisé Mr Douro Kpindou à diriger ce travail.

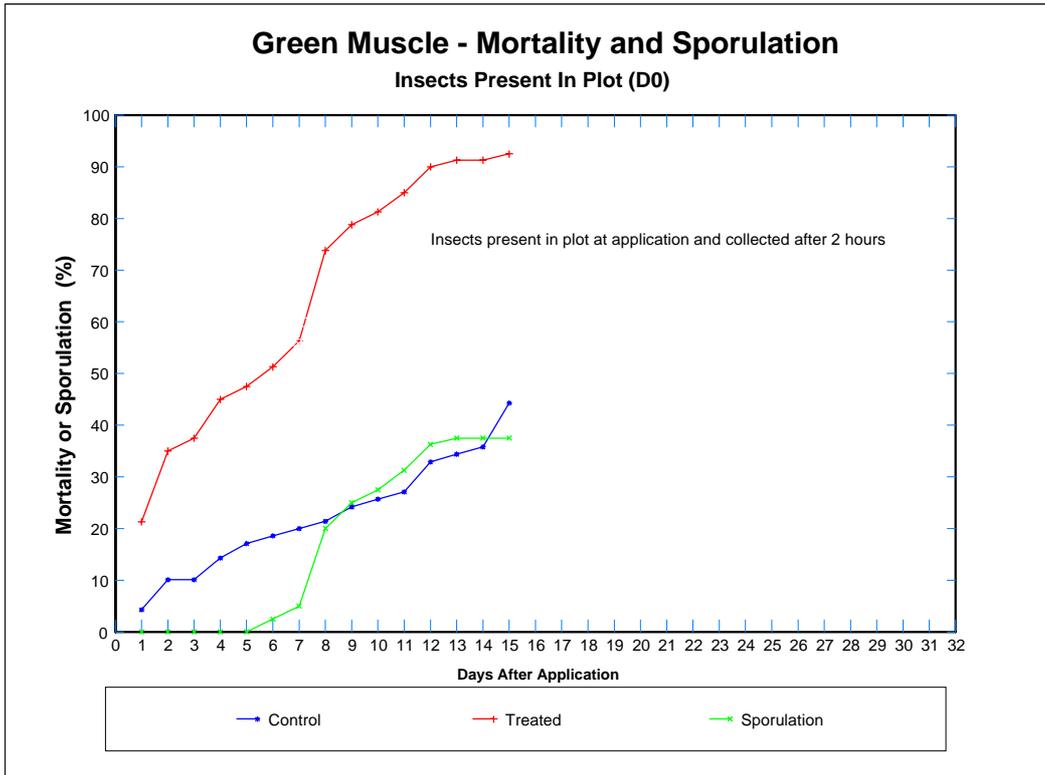


Figure 1

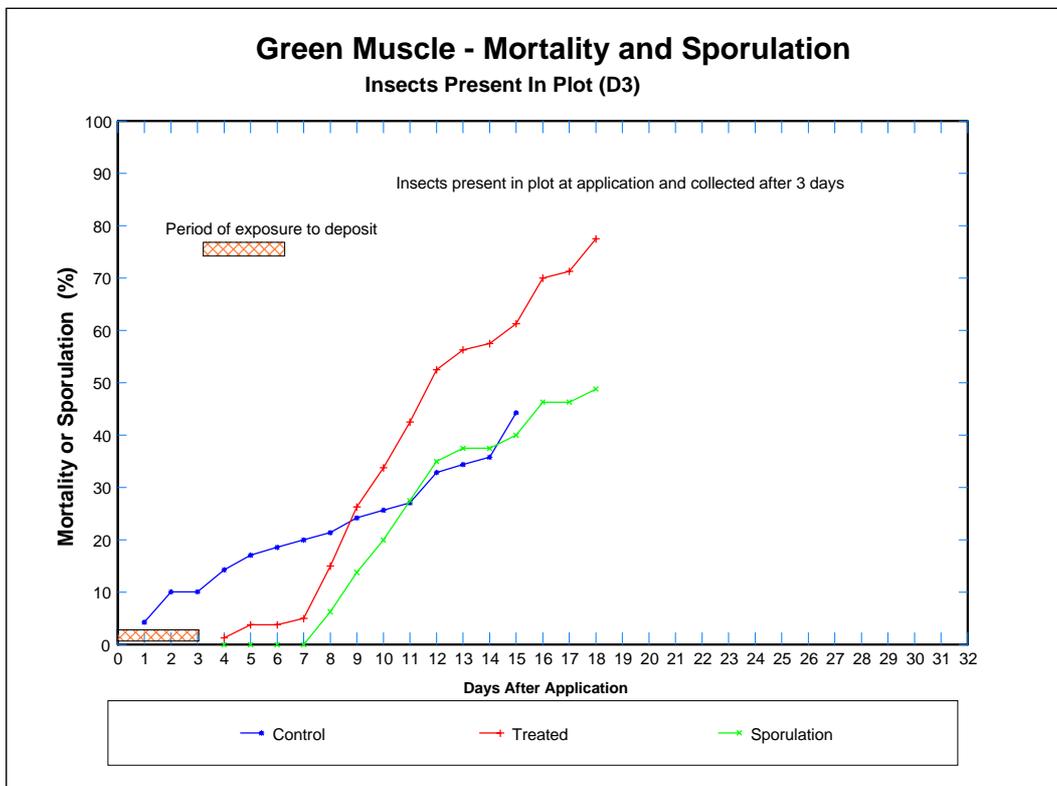


Figure 2

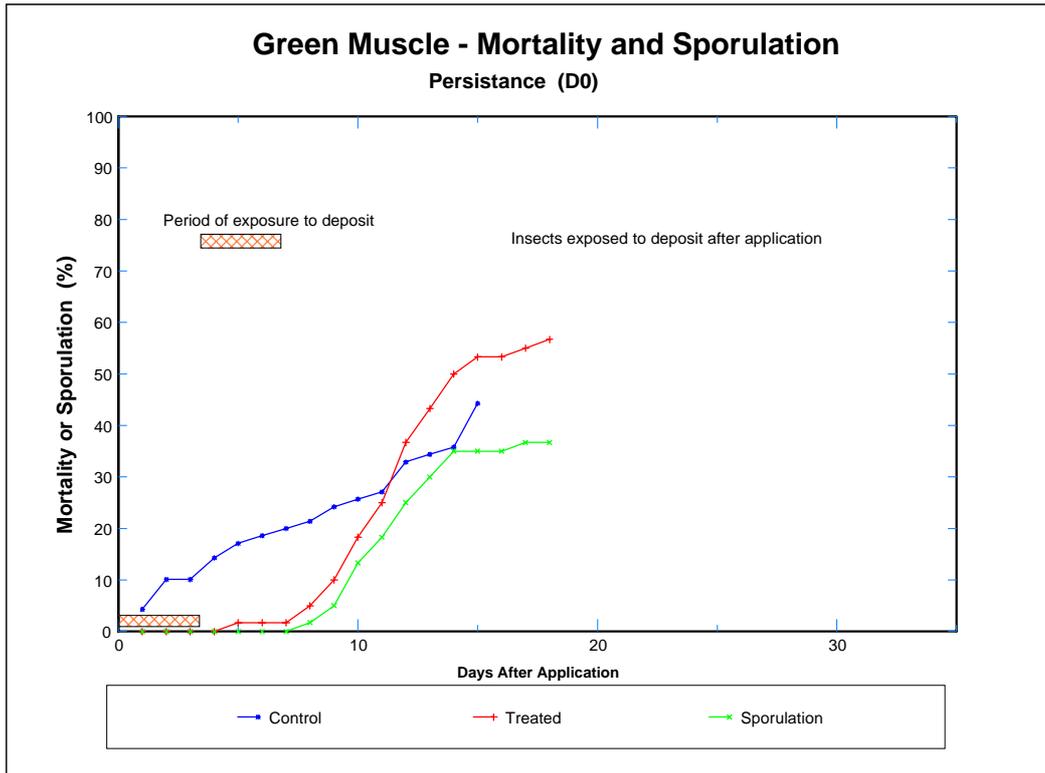


Figure 3

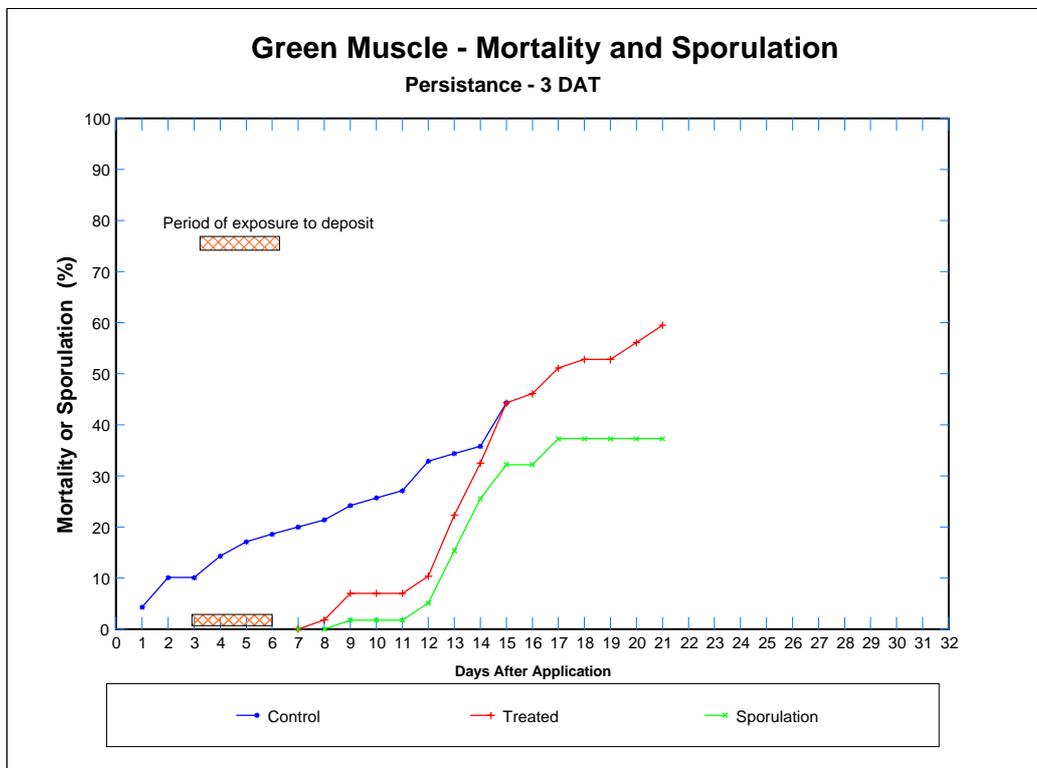


Figure 4

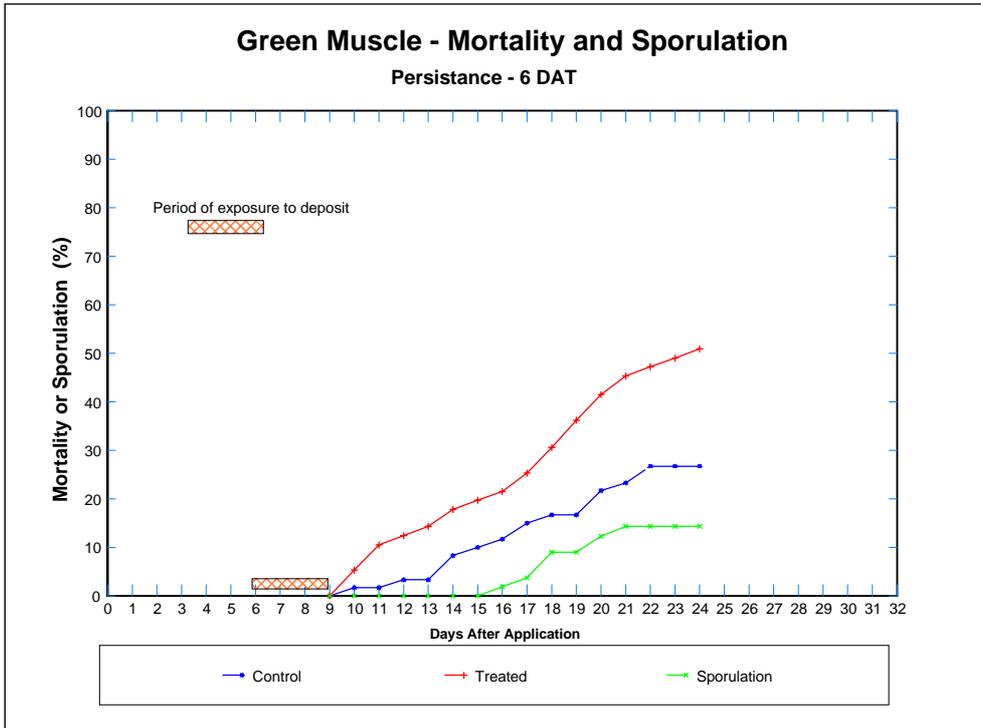


Figure 5

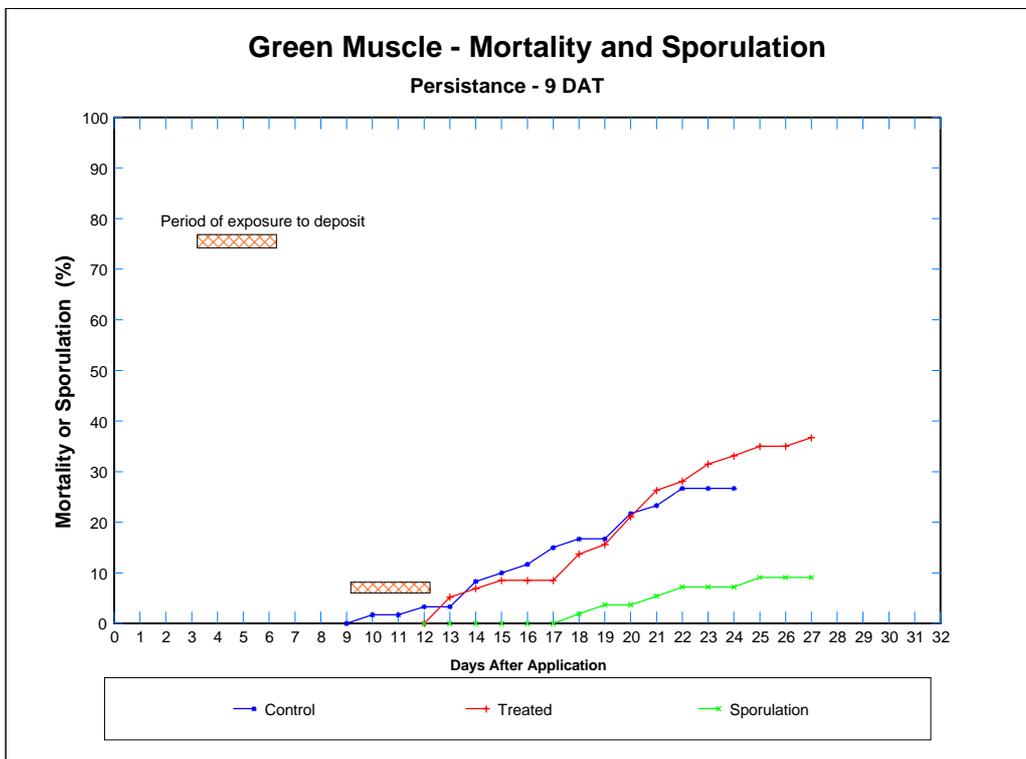


Figure 6

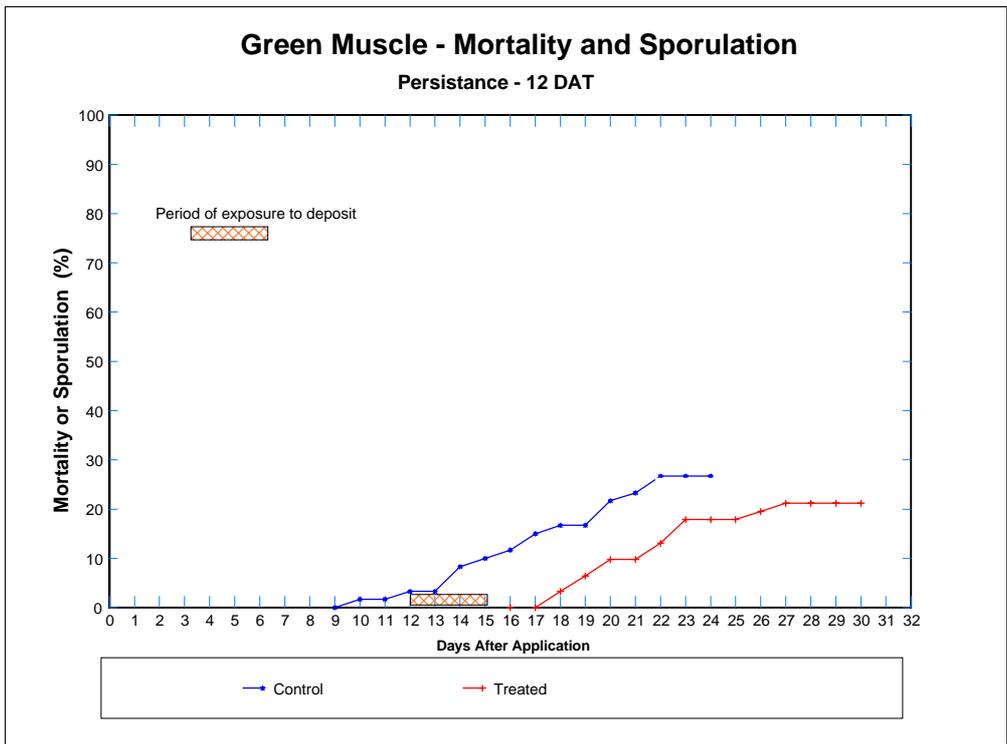


Figure 7

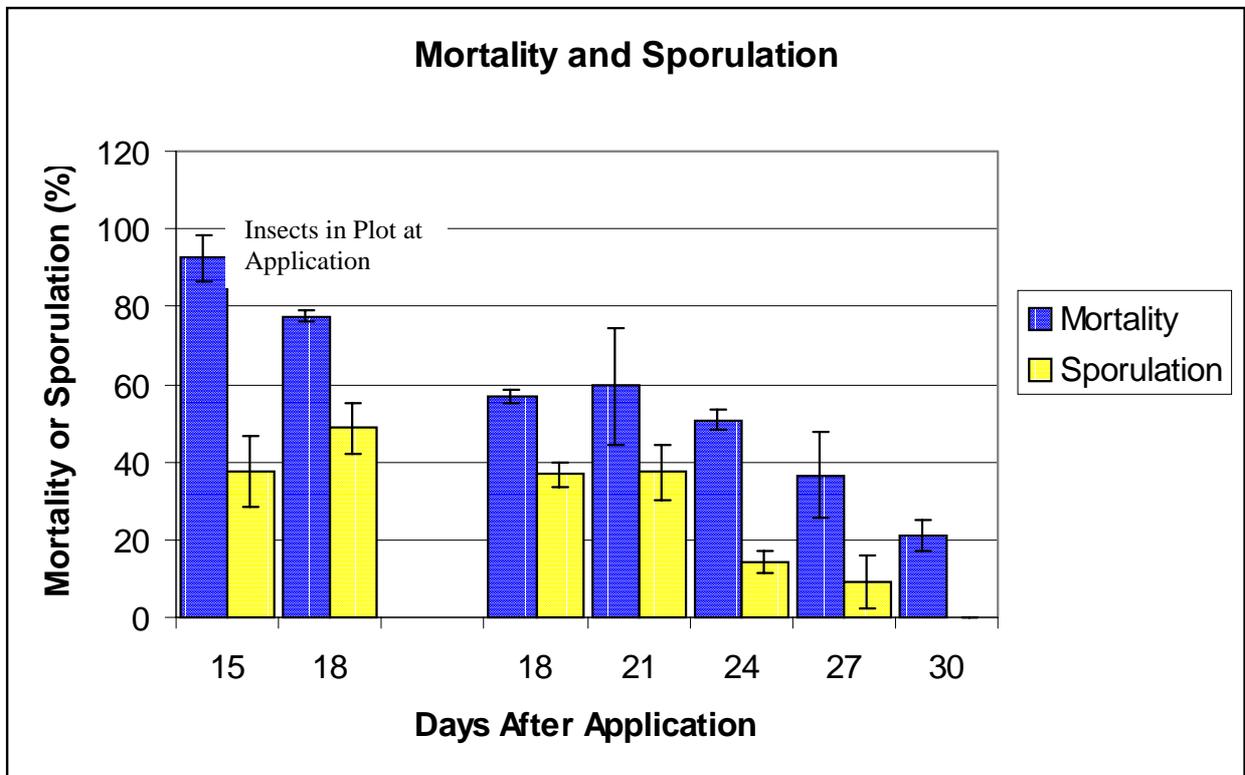


Figure 8

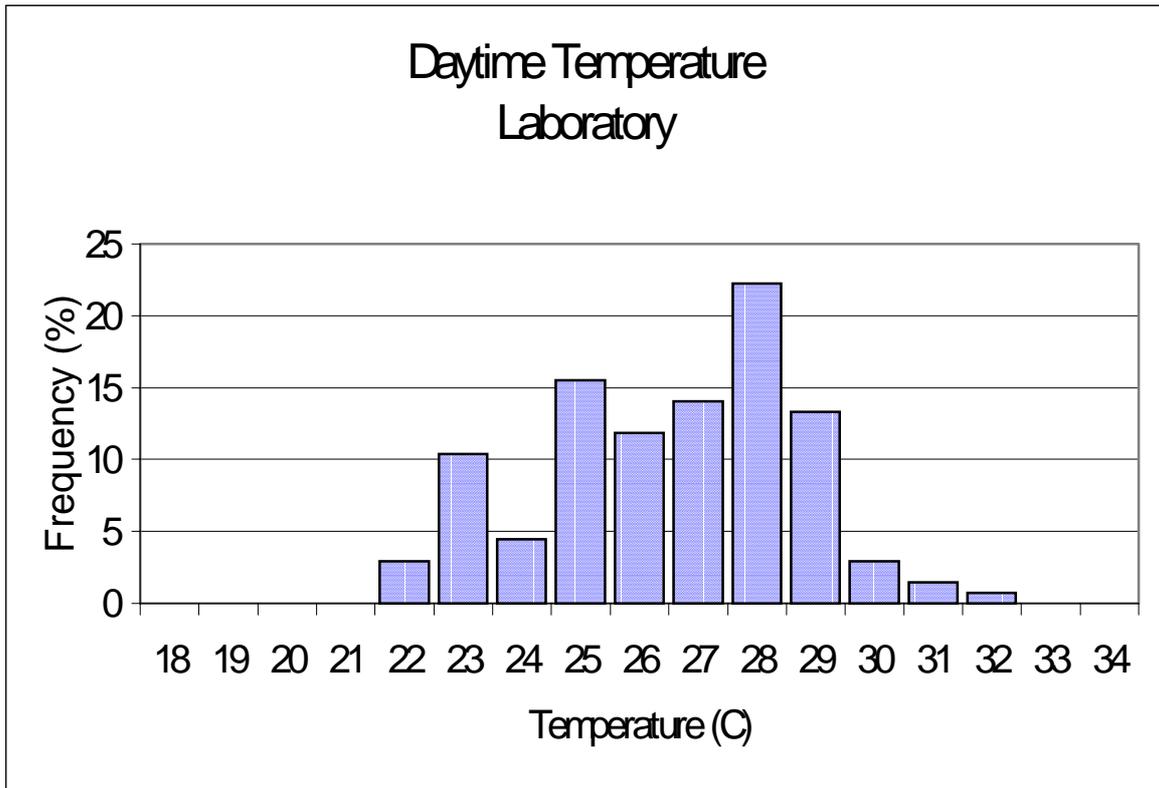


Figure 9

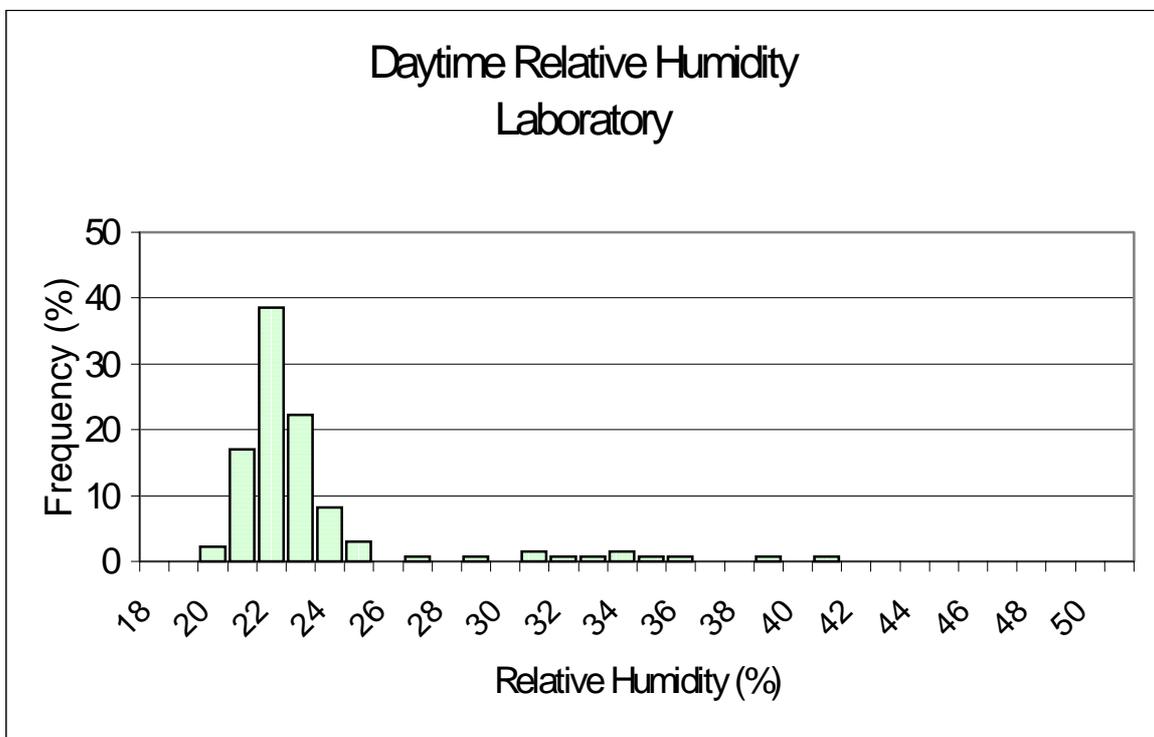


Figure 10

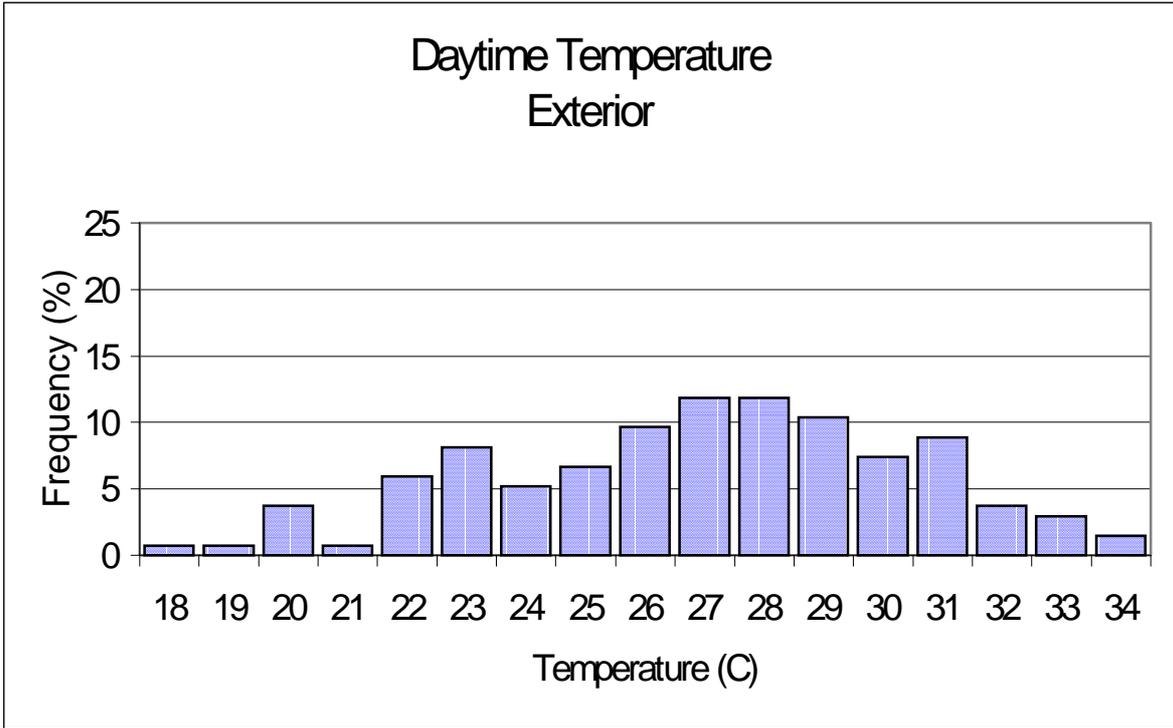


Figure 11

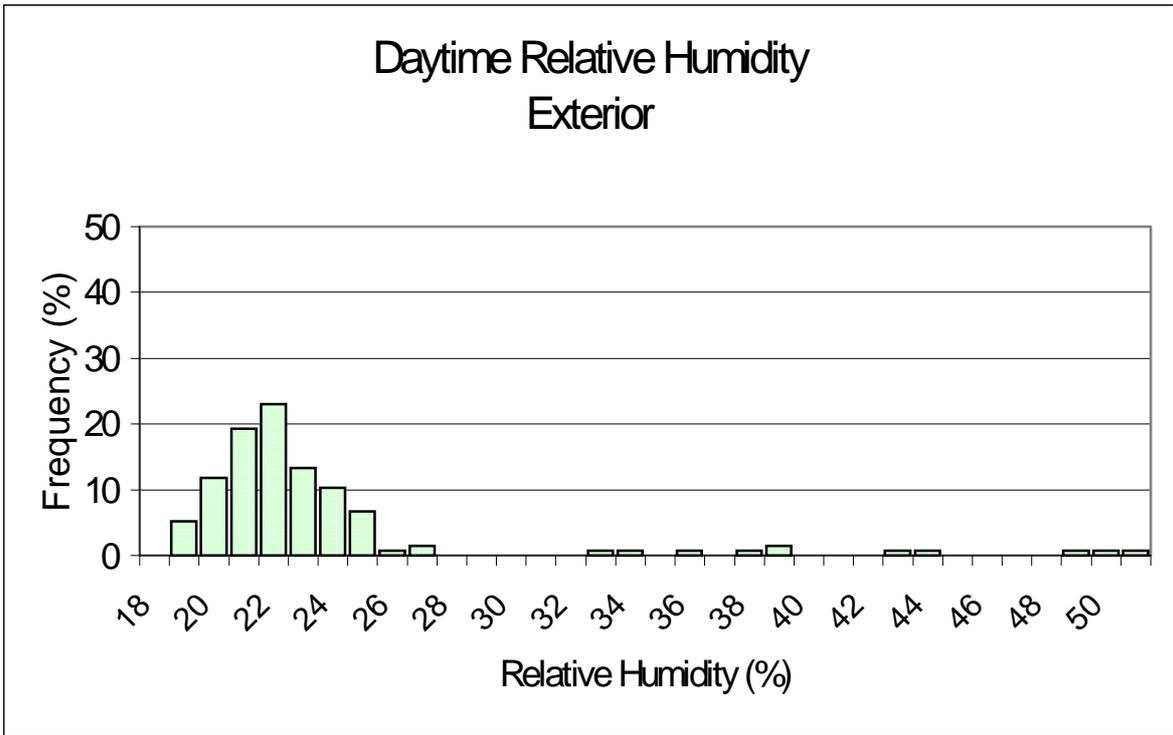


Figure 12

Références bibliographiques :

1. Langewald J., Kpindou D. et Zakaria O., 2000 : Green Muscle Manuel 2000. LUBILOSA, 12p.
2. LUBILOSA : Key Publications Cotonou 29/02/00.
3. Bateman R. et al., 1996 : A manual of insect pathology in seven parts. LUBILOSA Technical Bulletins 1 to 7.
- 7 Ouedraogo A., 1996 : Conditions d'infection des acridiens par l'hyphomycète entomopathogène, *Metarhizium flavovide* et variabilité de la tolérance aux contraintes climatiques des isolats fongiques candidats à la lutte antiacridienne. Thèse de Doctorat, Université Paris XI, INRA, URLB, IITA/BCCA Cotonou, 69p.
- 8 LUBILOSA ou la lutte biologique contre les acridiens, N° Hors série d'Agri-culture N° 01 août 2000.