



**HAL**  
open science

## **Influence de la temperature sur la croissance in vitro d'hyphomycetes entomopathogenes**

Jacques Fargues, N.K. Maniania, J.C. Delmas, Nathalie Smits

► **To cite this version:**

Jacques Fargues, N.K. Maniania, J.C. Delmas, Nathalie Smits. Influence de la temperature sur la croissance in vitro d'hyphomycetes entomopathogenes. *Agronomie*, 1992, 12 (7), pp.557-564. <hal-02712280>

**HAL Id: hal-02712280**

**<https://hal.inrae.fr/hal-02712280v1>**

Submitted on 1 Jun 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.



HAL Authorization

# Influence de la température sur la croissance *in vitro* d'hyphomycètes entomopathogènes

J Fargues<sup>1</sup>, NK Maniania<sup>2</sup>, JC Delmas<sup>1,3</sup>, N Smits<sup>1</sup>

<sup>1</sup> INRA, station de recherche de lutte biologique, La Minière, 78285 Guyancourt Cedex, France;

<sup>2</sup> International Center of Insect Physiology and Ecology, PO Box 30772, Nairobi, Kenya;

<sup>3</sup> Université Paris 7, UFR biologie et sciences de la nature, 2 Place Jussieu, 75251 Paris Cedex 05, France.

(Reçu le 16 décembre 1991; accepté le 22 avril 1992)

**Résumé** — L'influence de la température sur la croissance *in vitro* des principales espèces d'hyphomycètes entomopathogènes a été étudiée avec 31 isolats fongiques : 3 souches de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, 3 souches de *B brongniartii* (= *tenella*) (Saccardo) Petch, 8 souches de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, 1 souche de *M flavoviride* Gams et Rozsypal, 6 souches de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson et 10 souches de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown et Smith. L'analyse des vitesses de croissance radiale à 10 niveaux de température compris entre 8 et 37 °C montre une variabilité à la fois inter- et intraspécifique, liée à l'origine géoclimatique des isolats fongiques. Les champignons provenant de zones subtropicales humides sont relativement thermophiles avec des gammes d'activité significative de 11° et 32 °C (isolats de *N rileyi*) ou 35 °C (isolats de *M anisopliae*). Inversement, les souches originaires de zones tempérées et surtout du sol de ces régions (isolats issus d'insectes vivants dans le sol ou d'échantillons de sol) présentent une croissance non négligeable aux basses températures (8 °C pour les isolats de *B bassiana* et ceux de *B brongniartii*). Néanmoins, l'optimum thermique de croissance de la plupart des isolats (26 sur 31) se situe à 25 °C. Enfin, si certains isolats ont une gamme thermique d'activité végétative relativement étroite (chez *B brongniartii* et *P fumosoroseus*) d'autres sont très thermotolérants (la plupart des isolats de *M anisopliae*). La tolérance thermique des champignons entomopathogènes apparaît donc comme un critère de sélection des isolats fongiques candidats à la lutte microbiologique mieux adaptés au biotope de l'insecte-hôte visé.

**température / croissance *in vitro* / hyphomycète entomopathogène / sélection / lutte biologique**

**Summary** — **Influence of temperature on *in vitro* growth of entomopathogenic hyphomycetes.** Thirty-one isolates of 6 entomopathogenic hyphomycetes, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, *B brongniartii* (= *tenella*) (Saccardo) Petch, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, *M flavoviride* Gams et Rozsypal, *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson and *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown et Smith, were grown *in vitro* to determine growth rates and ranges of growth at 10 temperatures from 8 to 37 °C in the dark. Radial growth of surface colonies on semisynthetic nutrient agar was recorded by daily measurement of 2 cardinal diameters. Because radial measurements (from day 3 to 12) of surface colonies for each temperature fit a linear model ( $y = vt+b$ ), growth rates ( $v$  in mm x day<sup>-1</sup>) were used as the main growth parameter to evaluate the influence of temperature. The fungal isolates under study exhibited a wide diversity of responses to temperature according to their provenance. Isolates originating from tropical areas showed a remarkable growth at 35 °C (eg, *M anisopliae* isolates). By contrast, isolates originating from soil-inhabiting insects of temperate areas (eg *B brongniartii* isolates) exhibited high growth rates at 8 °C. However, the optimal growth was found at 25 °C for 26 isolates. Upper temperature limits of growth varied from 28–37 °C according to both fungal species and isolates. *M anisopliae* isolates exhibited an almost ideal combination of high growth rates and in particular a wide temperature range (8–11° to 35–37 °C); only one *B bassiana* isolate showed similar responses to temperature stimuli. Although the optimal temperature for fungal growth is not necessarily the same as that for fungal infection in insects, temperature ranges established according to *in vitro* growth data might be used for selecting fungal candidates for microbial control.

**temperature / *in vitro* growth / entomopathogenic hyphomycete / selection / microbial control**

## INTRODUCTION

La température est un des principaux facteurs du milieu qui limitent le développement des mycoses dans les populations naturelles d'insectes (Carruthers *et al*, 1985; Carruthers et Soper, 1987; Benz, 1987). Aussi, en lutte microbiologique, il convient de rechercher des champignons entomopathogènes dont la gamme de tolérance à l'égard de la température soit compatible avec les conditions climatiques de l'écosystème visé (Ferron *et al*, 1991). Ainsi, pour lutter contre les curculionides en zone tempérée, Doberski (1981) et Soares *et al* (1983) ont sélectionné des isolats fongiques dont l'activité pathogène se maintient à des températures inférieures à 15 °C. À l'opposé, Ignoffo *et al* (1976a) et Mohammed *et al* (1977) ont étudié l'effet des températures supérieures à 25 °C sur diverses souches de *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson inféodées aux noctuelles de l'agroécosystème soja dans le Sud-Est des États-Unis d'Amérique (Ignoffo *et al*, 1976b; Ignoffo, 1981).

L'influence de la température sur la croissance *in vitro* des principales espèces d'hyphomycètes entomopathogènes, *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin, *B. brongniartii* (Saccardo) Petch, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, *M. flavoviride* Gams et Rozsypal, *N. rileyi* et *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown et Smith, a été étudiée à 10 niveaux constants compris entre 8° et 37 °C. Trente et un isolats fongiques issus de différentes espèces hôtes, d'origines géoclimatiques diverses, ont été retenus en raison de leur activité pathogène à l'égard d'insectes d'intérêt agronomique tels que *Leptinotarsa decemlineata* Say (*Chrysomelidae*) (Fargues, 1972; 1976), divers *Scarabaeidae* (Ferron, 1967; Ferron *et al*, 1972; Fargues *et al*, 1976), des *Curculionidae* (Soares *et al*, 1983; Poprawski *et al*, 1985), *Plutella maculipennis* Curtis (*Hyponomeutidae*) (Robert et Marchal, 1980) ou *Ostrinia nubilalis* Hübner (*Pyralidae*) (Riba *et al*, 1983).

## MATÉRIELS ET MÉTHODES

Les essais ont été conduits avec 3 souches de *B. bassiana* (Bb), 3 souches de *B. brongniartii* (Bbr), 8 souches de *M. anisopliae* (Ma), 1 souche de *M. flavoviride* (Mf), 10 *P. fumosoroseus* (Pfr) et 8 *N. rileyi* (Nr).

Ces microorganismes, conservés à la mycothèque INRA de la station de recherches de lutte biologique du centre de Versailles, ont des origines géographi-

ques dont la diversité est variable selon les espèces considérées (tableau I). Ainsi, les souches de *M. anisopliae* proviennent de France, de Madagascar, de la Guadeloupe, etc., alors que toutes celles de *P. fumosoroseus* proviennent de France. Par ailleurs, toutes ont été isolées à partir de cadavres d'insectes atteints de mycose, à l'exception de la souche Bbr 74, issue d'un échantillon de sol (tableau I). Les cultures ont été faites sur milieu semi-synthétique gélosé (en g.l<sup>-1</sup> : 0,39 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,42 Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.12H<sub>2</sub>O, 0,60 MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O, 1,00 KCl, 10 glucose, 0,70 NH<sub>4</sub>HO<sub>3</sub>, 5 extrait de levure, 20 agar) à 25 ± 1 °C pendant 3 semaines avant de recueillir les inoculum sporaux.

L'influence de la température sur l'activité végétative des différents isolats fongiques a été analysée en mesurant la croissance radiale *in vitro* d'explantats calibrés (Rapilly, 1968). Des rondelles de culture non sporulée (3 j après ensemencement) ont été prélevées à l'aide d'un emporte-pièce et transférées sur milieu nutritif stérile à raison d'un explant (6 mm de diamètre) par boîte de Petri (50 mm de diamètre). Pour chaque température, 4 boîtes de Petri ont été placées en atmosphère saturée en humidité et à l'abri de la lumière. Dix niveaux de température ont été retenus : 8, 11, 15, 20, 25, 28, 30, 32, 35 et 37 °C ± 1. Deux axes orthogonaux ayant été tracés préalablement sur le fond de chaque boîte de Petri, les 2 diamètres de la colonie ont été mesurés quotidiennement suivant ces repères. Par isolat et par température, 4 séries de 2 mesures ont été effectuées quotidiennement. Chacune de ces séries de mesures a fait l'objet d'une analyse de régression ( $y = vt + b$ ) dans le but d'utiliser la vitesse de croissance (pente de la droite) comme critère d'estimation de l'effet de la température. Les vitesses de croissance radiale ont été soumises à l'analyse de variance à 2 facteurs : température (à 8 niveaux) et isolat fongique (nombre de niveaux variable suivant l'espèce entomopathogène considérée) (effets significatifs aux seuils de 5%\*, 1%\*\* ou 0,1%\*\*\*).

## RÉSULTATS

Dans les conditions expérimentales retenues, la croissance radiale des divers isolats fongiques s'est avérée linéaire entre le 3<sup>e</sup> et le 12<sup>e</sup> j d'incubation, avec des coefficients de corrélation compris entre 0,994 et 0,999 aux températures favorables (20°–30 °C) et entre 0,860 et 0,990 aux températures marginales (< 15 °C et > 32 °C). Les pentes des droites ainsi définies étant des constantes, les vitesses de croissance de chaque champignon, à chaque niveau thermique étudié, ont été présentées sous forme de données moyennes exprimées en mm.j<sup>-1</sup> (tableaux II et III) et elles ont été figurées en valeur relative (%) par rapport à la vitesse maximale ( $v_{\max} = 100\%$ ) au sein de chacun des isolats de *B. bas-*

Tableau I. Origine des souches fongiques entomopathogènes étudiées.

Espèce et isolat	Origine		
	Espèce hôte d'origine	Date d'isolement	Lieu d'isolement
<i>Beauveria bassiana</i>			
Bb 18	<i>Epinotia cedricida</i> Diak ( <i>Tortricidae</i> )	1968	France (Haute-Alpes)
Bb 93	<i>Laspeyresia pomonella</i> L ( <i>Tortricidae</i> )	1974	Autriche
Bb 147	<i>Ostrinia nubilalis</i> Hübner ( <i>Pyralidae</i> )	1978	France (Beauce)
<i>B brongniartii</i>			
Bbr 6	<i>Melonlontha melolontha</i> L ( <i>Scarabaeidae</i> )	1964	France (Sarthe)
Bbr 74	Echantillon de sol	1976	France (Doubs)
Bbr 76	<i>M melolontha</i>	1976	France (Cantal)
<i>Metarhizium anisopliae</i>			
Ma 32	<i>Cetonia aurata</i> L ( <i>Scarabaeidae</i> )	1967	France
Ma 51	<i>Oryctes rhinoceros</i> L ( <i>Scarabaeidae</i> )	1971	Madagascar
Ma 78	<i>Hoplochelus rhizotrogoides</i> Blanch ( <i>Scarabaeidae</i> )	1973	Madagascar
Ma 84	<i>Cosmopolites sordidus</i> Germar ( <i>Curculionidae</i> )	1974	Guadeloupe
Ma 115	<i>Mahanarva posticata</i> Stål ( <i>Miridae</i> )	1978	Brésil
Ma 120	Moustique non identifié	1978	États Unis
Ma 131	<i>M posticata</i>	1980	Brésil
Ma 139	<i>O nubilalis</i>	1980	France (Beauce)
<i>M flavoviride</i>			
Mf	<i>Otiorhynchus sulcatus</i> Fabr ( <i>Curculionidae</i> )	1974	France (Bretagne)
<i>Nomuraea rileyi</i>			
Nr 4	<i>Anticarsia gemmatalis</i> Hübner ( <i>Noctuidae</i> )	1974	États Unis (Caroline du Sud)
Nr 5	<i>A gemmatalis</i>	1974	États Unis (Floride)
Nr 6	<i>A gemmatalis</i>	1976	États Unis (Missouri)
Nr 7	<i>Bombyx mori</i> L ( <i>Bombycidae</i> )	1979	Japon
Nr 8	<i>Spilosoma</i> sp F23 ( <i>Arctiidae</i> )	1979	Japon
Nr 9	<i>A gemmatalis</i>	1980	Brésil
<i>Paecilomyces fumosoroseus</i>			
Pfr 4	<i>Mamestra brassicae</i> L ( <i>Noctuidae</i> )	1972	France (Ile-de-France)
Pfr 13	<i>Lycophotia</i> sp ( <i>Noctuidae</i> )	1972	France (Provence)
Pfr 24	<i>Chilo supressalis</i> Walker ( <i>Pyralidae</i> )	1974	France (Ile-de-France)
Pfr 28	<i>M brassicae</i>	1975	France (Ile-de-France)
Pfr 32	<i>Socita ipsilon</i> Hübner ( <i>Noctuidae</i> )	1976	France (Ile-de-France)
Pfr 35	<i>M brassicae</i>	1976	France (Ile-de-France)
Pfr 36	<i>Scotia segetum</i> Schiffermüller ( <i>Noctuidae</i> )	1976	France (Ile-de-France)
Pfr 39	<i>S segetum</i>	1976	France (Ile-de-France)
Pfr 40	<i>O nubilalis</i>	1977	France (Béarn)
Pfr 45	<i>Pieris brassicae</i> L ( <i>Pieridae</i> )	1978	France (Ile-de-France)

*siana* et *B brongniartii* (fig 1), de *M anisopliae* et *M flavoviride* (fig 2), de *N rileyi* (fig 3) et de *P fumosoroseus* (fig 4).

L'optimum de croissance de la plupart des isolats (25 sur 31) des 6 espèces fongiques étudiées se situe à 25 °C. Leurs vitesses maximales de croissance radiale sont comprises entre 3,0 et 4,5 mm.j<sup>-1</sup>, à l'exception de celles des isolats de *N rileyi* qui varient de 0,52 à 1,25 mm.j<sup>-1</sup>.

D'une manière générale, la gamme de températures favorables à la croissance fongique est relativement homogène pour chacune des espèces entomopathogènes (tableaux II et III). Les isolats les mieux adaptés aux faibles températures sont ceux de *B bassiana* (8 à 32 °C) (fig 1) et de *B brongniartii* (8 à 30 °C), ces 2 espèces étant les seules dont la croissance des souches n'est pas inhibée à 8 °C (fig 1). En dessous de

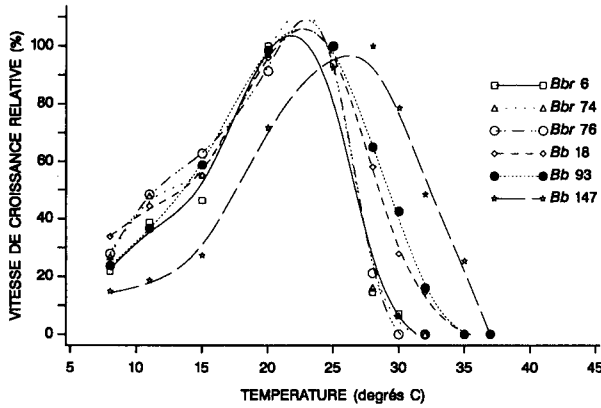


Fig 1. Influence de la température sur la croissance linéaire de diverses souches de *Beauveria bassiana* (Bb) et de *B. brongniartii* (Bbr) : vitesses exprimées en valeur relative par rapport à la vitesse de croissance maximale de chaque isolat.

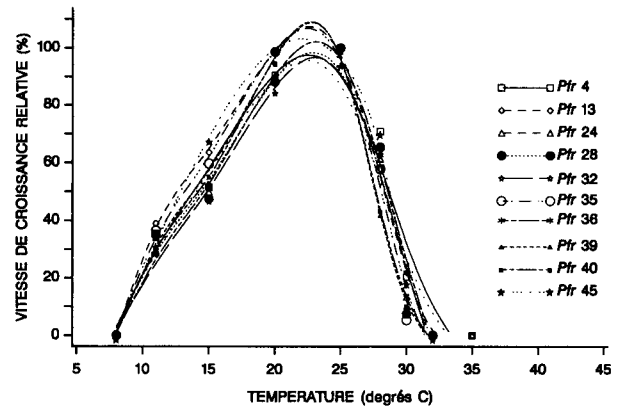


Fig 4. Influence de la température sur la croissance linéaire de diverses souches de *Paecilomyces fumosoroseus* (Pfr) : vitesses exprimées en valeur relative par rapport à la vitesse de croissance maximale de chaque isolat.

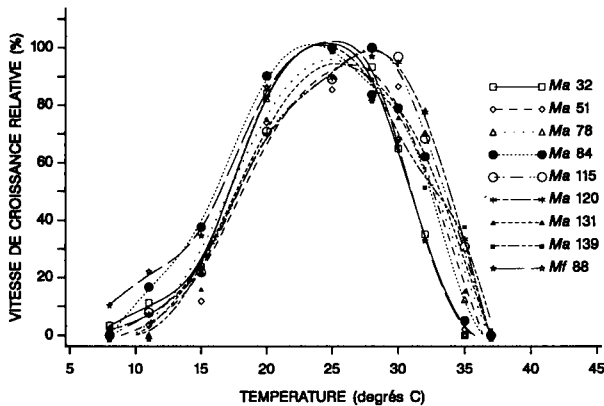


Fig 2. Influence de la température sur la croissance linéaire de diverses souches de *Metarhizium anisopliae* (Ma) et de *M. flavoviride* (Mf) : vitesses exprimées en valeur relative par rapport à la vitesse de croissance maximale de chaque isolat.

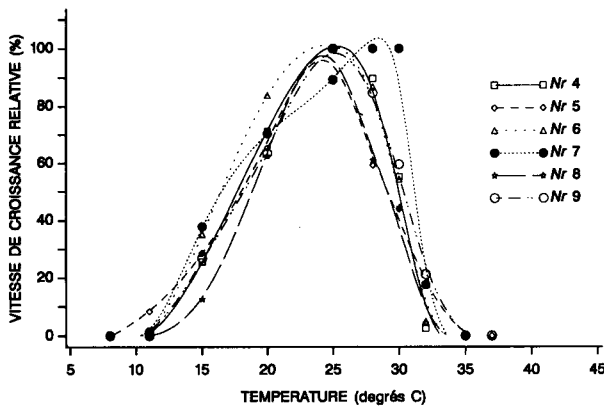


Fig 3. Influence de la température sur la croissance linéaire de diverses souches de *Nomuraea rileyi* (Nr) : vitesses exprimées en valeur relative par rapport à la vitesse de croissance maximale de chaque isolat.

11 °C, ce sont les isolats de *N. rileyi* qui sont les moins bien adaptés (15–32 °C) (fig 3). Les isolats de *P. fumosoroseus* sont relativement peu tolérants (11–30 °C) (fig 4). Si l'on considère l'effet des températures maximales, on peut noter que *P. fumosoroseus* est l'espèce pour laquelle la température d'inhibition de la croissance pour la majorité des souches est la moins élevée (32 °C). De plus, cette espèce est celle pour laquelle les courbes de vitesse de croissance des différentes souches sont les plus homogènes (fig 4). Les isolats de *M. anisopliae* présentent les gammes de température de croissance les plus larges (8/11–35/37 °C) (fig 2).

La variabilité infraspécifique de la vitesse de croissance des champignons étudiés résulte à la fois de l'aptitude de chaque isolat à croître sur le milieu nutritif semi-synthétique de référence et de sa réponse spécifique aux stimuli thermiques (effets « souche » et « interaction » très hautement significatifs) (tableaux II et III). Ainsi, au-delà des différences observées entre espèces fongiques, certains isolats présentent des comportements particuliers à l'égard de la température. L'optimum thermique de croissance des isolats *Bbr* 6 et *Pfr* 45 est de 20 °C, alors que celui des isolats *Bb* 147, *Ma* 51, *Ma* 115, *Ma* 120 et *Nr* 7 est de 28 °C. Aux faibles températures, l'isolat *Bb* 18 se distingue des autres souches de *Beauveria* sp par sa vitesse de croissance élevée à 8 °C (vitesse relative par rapport à l'optimum de 34%) (fig 1). En revanche, d'autres isolats tels que *Ma* 115 (vitesse relative de 31%–35 °C), *Ma* 120 (33% à 35 °C), *Ma* 139 (39%–35 °C) et *Bb* 147 (25% à 35 °C) sont particulièrement bien adaptés aux fortes températures (figs 1, 2).

**Tableau II.** Influence de la température sur la croissance linéaire, en milieu nutritif gélosé, de diverses souches de *Beauveria bassiana*, *Beauveria brongniartii*, *Metarhizium anisopliae* et *Metarhizium flavoviride*.

Souche fongique	Vitesse moyenne de croissance linéaire en $\text{mm} \cdot \text{j}^{-1}$ (*)									
	8 °C	11 °C	15 °C	20 °C	25 °C	28 °C	30 °C	32 °C	35 °C	37 °C
<i>B. bassiana</i> (a)										
Bb 18	1,42 ± 0,38	1,86 ± 0,24	2,32 ± 0,19	4,03 ± 0,08	4,20 ± 0,05	2,44 ± 0,28	1,17 ± 0,02	0,62 ± 0,02	0	0
Bb 93	0,93 ± 0,09	1,43 ± 0,17	2,30 ± 0,08	3,85 ± 0,08	3,91 ± 0,05	2,54 ± 0,15	1,66 ± 0,06	0,63 ± 0,08	0	0
Bb 147	0,64 ± 0,09	0,81 ± 0,07	1,17 ± 0,05	3,08 ± 0,12	3,97 ± 0,05	4,29 ± 0,02	3,37 ± 0,04	2,08 ± 0,74	1,09 ± 0,22	0
<i>B. brongniartii</i> (b)										
Bbr 6	0,93 ± 0,08	1,65 ± 0,07	1,97 ± 0,08	4,26 ± 0,10	4,01 ± 0,17	0,62 ± 0,08	0,30 ± 0,05	0	0	0
Bbr 74	0,88 ± 0,01	1,57 ± 0,03	1,81 ± 0,08	3,19 ± 0,05	3,28 ± 0,05	0,53 ± 0,08	0,21 ± 0,04	0	0	0
Bbr 76	0,87 ± 0,03	1,51 ± 0,13	1,96 ± 0,17	2,85 ± 0,05	3,12 ± 0,06	0,66 ± 0,01	0	0	0	0
<i>M. anisopliae</i> (c)										
Ma 32	0,11 ± 0,07	0,37 ± 0,09	0,78 ± 0,10	2,76 ± 0,09	3,28 ± 0,12	3,06 ± 0,14	2,13 ± 0,11	1,15 ± 0,12	0	0
Ma 51	0,09 ± 0,02	0,14 ± 0,07	0,45 ± 0,05	2,84 ± 0,02	3,28 ± 0,16	3,84 ± 0,05	3,32 ± 0,06	2,38 ± 0,04	0,08 ± 0,06	0
Ma 78	0	0	0,81 ± 0,18	3,02 ± 0,06	3,67 ± 0,15	3,03 ± 0,06	2,88 ± 0,05	2,58 ± 0,14	0,45 ± 0,02	0
Ma 84	0	0,70 ± 0,05	1,59 ± 0,03	3,79 ± 0,06	4,20 ± 0,04	3,51 ± 0,08	3,32 ± 0,02	2,61 ± 0,03	0,21 ± 0,04	0
Ma 115	0	0,38 ± 0,05	1,06 ± 0,06	3,44 ± 0,12	4,33 ± 0,02	4,86 ± 0,06	4,71 ± 0,12	3,32 ± 0,03	1,50 ± 0,07	0
Ma 120	0,10 ± 0,04	0,34 ± 0,04	1,11 ± 0,03	3,28 ± 0,08	4,20 ± 0,05	4,69 ± 0,11	4,45 ± 0,13	3,63 ± 0,11	1,56 ± 0,04	0
Ma 131	0	0	0,53 ± 0,10	2,36 ± 0,06	3,09 ± 0,05	2,56 ± 0,31	2,38 ± 0,11	2,46 ± 0,09	0,51 ± 0,20	0
Ma 139	0	0,05 ± 0,05	0,90 ± 0,06	3,30 ± 0,03	3,91 ± 0,05	3,54 ± 0,05	2,70 ± 0,05	2,07 ± 0,36	1,53 ± 0,12	0,13 ± 0,11
<i>M. flavoviride</i> (d)										
Mf 88	0,28 ± 0,05	0,60 ± 0,04	0,94 ± 0,08	2,34 ± 0,04	2,71 ± 0,18	2,63 ± 0,05	1,85 ± 0,10	0,89 ± 0,04	0	0

(\*) Vitesses moyennes de croissance mycélienne linéaire ( $y = vt + b$ ) établie à partir de 4 répétitions ( $V \pm SD$ ) par la technique des explantats calibrés en boîte de Petri; (a-d) Effets significatifs au seuil de 0,1% (\*\*\*) de l'analyse de variance : (a) Température = 499,69\*\*\*, Fsouche = 33,31\*\*\* et Finteraction = 56,25\*\*\*; (b) Température = 3174,86\*\*\*, Fsouche = 189,38\*\*\* et Finteraction = 50,33\*\*\*; (c) Température = 8968,29\*\*\*; Fsouche = 681,80\*\*\* et Finteraction = 85,16; (d) Température = 532,89

**Tableau III.** Influence de la température sur la croissance linéaire, en milieu nutritif gélosé, de diverses souches de *Nomuraea rileyi* et de *Paecilomyces fumosoroseus*.

Souche fongique	Vitesse moyenne de croissance linéaire en mm.j <sup>-1</sup> (x)								
	8 °C	11 °C	15 °C	20 °C	25 °C	28 °C	30 °C	32 °C	35 °C
<i>N rileyi</i> (a)									
Nr 4	0	0	0,32 ± 0,09	0,89 ± 0,04	1,25 ± 0,07	1,12 ± 0,10	0,69 ± 0,03	0,03 ± 0,03	0
Nr 5	0	0,08 ± 0,04	2,28 ± 0,03	0,64 ± 0,04	0,98 ± 0,04	0,58 ± 0,02	0,43 ± 0,03	0,18 ± 0,01	0
Nr 6	0	0	0,37 ± 0,05	0,88 ± 0,02	1,05 ± 0,01	0,91 ± 0,04	0,57 ± 0,05	0,05 ± 0,06	0
Nr 7	0	0,01 ± 0,01	0,28 ± 0,05	0,52 ± 0,04	0,66 ± 0,03	0,74 ± 0,16	0,74 ± 0,02	0,13 ± 0,05	0
Nr 8	0	0	0,09 ± 0,05	0,45 ± 0,08	0,72 ± 0,18	0,44 ± 0,05	0,32 ± 0,05	0,33 ± 0,04	0
Nr 9	0	0	0,14 ± 0,03	0,33 ± 0,06	0,52 ± 0,04	0,44 ± 0,06	0,31 ± 0,01	0,11 ± 0,04	0
<i>P fumosoroseus</i> (b)									
Pfr 4	0	1,46 ± 0,09	2,12 ± 0,04	3,72 ± 0,08	4,11 ± 0,04	2,91 ± 0,16	0,84 ± 0,16	0	0
Pfr 13	0	1,38 ± 0,11	2,25 ± 0,08	3,50 ± 0,06	3,54 ± 0,22	2,05 ± 0,16	0,77 ± 0,09	0	0
Pfr 24	0	1,38 ± 0,06	2,03 ± 0,06	3,61 ± 0,12	4,06 ± 0,06	2,49 ± 0,32	0,54 ± 0,05	0	0
Pfr 28	0	1,41 ± 0,02	1,92 ± 0,06	3,56 ± 0,06	4,04 ± 0,03	2,64 ± 0,17	0,30 ± 0,16	0	0
Pfr 32	0	1,27 ± 0,19	2,05 ± 0,04	3,71 ± 0,03	4,41 ± 0,07	2,82 ± 0,12	0,39 ± 0,40	0	0
Pfr 35	0	1,34 ± 0,26	2,19 ± 0,02	3,62 ± 0,05	3,67 ± 0,02	2,12 ± 0,15	0,19 ± 0,17	0	0
Pfr 36	0	1,38 ± 0,04	2,49 ± 0,04	4,37 ± 0,05	4,89 ± 0,05	3,06 ± 0,30	1,07 ± 0,28	0	0
Pfr 39	0	1,35 ± 0,21	2,39 ± 0,10	4,04 ± 0,11	4,22 ± 0,05	1,82 ± 0,08	0,41 ± 0,19	0	0
Pfr 40	0	1,51 ± 0,02	2,63 ± 0,04	4,67 ± 0,06	4,85 ± 0,10	2,17 ± 0,15	0,57 ± 0,15	0	0
Pfr 45	0	1,11 ± 0,07	2,37 ± 0,08	3,46 ± 0,35	3,29 ± 0,02	2,46 ± 0,15	0,66 ± 0,11	0	0

(x) Vitesses moyennes de croissance mycélienne linéaire ( $y = vt + b$ ) établie à partir de 4 répétitions ( $V \pm SD$ ) par la technique des explants calibrés en boîte de Petri; (a-d) Effets significatifs au seuil de 0,1% (\*\*\*) de l'analyse de variance : (a) Ftempérature = 766,89\*\*\*; Fsouche = 161,66\*\*\* et Finteraction = 24,68\*\*\*; (b) Ftempérature = 4 484,13\*\*\*; Fsouche = 72,64\*\*\* et Finteraction = 20,64\*\*\*

Enfin, certains isolats présentent une gamme thermique d'activité particulièrement large, notamment *Bb* 147 (15% à 8 °C et 25,4% à 35 °C) (fig 1) et *Ma* 120 (2,1% à 8 °C et 33,3% à 35 °C) (fig 2).

## DISCUSSION

Les 6 espèces d'hyphomycètes entomopathogènes étudiées sont, comme la plupart des champignons, des microorganismes mésophiles (Gray et Williams, 1971; Deacon, 1980) puisque leur gamme de croissance couvre des températures modérées (8–30 °C pour *B brongniartii* et 11–35 °C pour *M anisopliae*), dont l'optimum est compris entre 20 et 28 °C (25 °C pour la majorité des isolats). Ces données confirment que les températures les plus favorables aux champignons entomopathogènes se trouvent entre 15 et 30 °C (Roberts et Campbell, 1977; Hall et Papirok, 1982; Ferron *et al*, 1991).

Les essais de croissance *in vitro* des 31 isolats fongiques ont révélé une variabilité inter- et intraspécifique de la réponse de ces champi-

gnons aux stimuli thermiques. Les différences observées concernent essentiellement les niveaux des seuils minimaux et maximaux ainsi que l'étendue des gammes de température d'activité.

Les résultats montrent une relation étroite entre les seuils thermiques minimaux et maximaux de croissance et les conditions climatiques de l'environnement d'origine du champignon. Ainsi, les isolats les plus thermophiles proviennent des zones subtropicales humides de Madagascar (*Ma* 51 et *Ma* 78) ou d'Amérique (*Ma* 84, *Ma* 115, *Ma* 120, *Ma* 131; *Nr* 4, *Nr* 5, *Nr* 6 et *Nr* 9) (tableau I). Les isolats *Bb* 147 et *Ma* 139, dont les croissances sont encore significatives à 35 et à 37 °C, respectivement, apparaissent comme des exceptions, puisqu'ils ont été recueillis en région parisienne. Toutefois, l'origine méridionale récente de leur hôte d'isolement, *Ostrinia nubilalis* Hübner (Riba *et al*, 1983) peut être évoquée comme hypothèse explicative. Inversement, l'adaptation aux faibles températures des isolats de *B bassiana*, de *B brongniartii* et de *M flavoviride* est à rapprocher de leur origine tempérée dans des sites en altitude (Alpes françaises pour *Bb* 18 et autrichiennes pour *Bb* 93) et/ou dans le

sol (*Bbr* 6, *Bbr* 74 et *Bbr* 76 ainsi que *Mf* 88). Dans le même ordre d'idée, Arkhipova (1965, citée par Roberts et Campbell, 1977) rapporte que les souches de *B bassiana*, isolées au Nord de la Russie, sont moins thermophiles que les isolats recueillis dans le Sud de l'Union Soviétique.

En général, les optimums thermiques de croissance, déterminés par l'analyse macroscopique du développement de colonies fongiques *in vitro*, sont étroitement corrélés avec les optimums de germination et de sporulation (Roberts et Campbell, 1977; Hall et Papierok, 1982). Néanmoins, certains auteurs ont observé la germination des conidiospores de divers hyphomycètes à des températures inférieures (5–8 °C) aux seuils minimaux de croissance des souches étudiées (Ignoffo *et al*, 1976a; Kish et Allen, 1978). En dehors de quelques exceptions (Fargues, 1972; Fargues et Rodriguez-Rueda, 1980; Maniania et Fargues, 1992) la plupart des travaux ont aussi souligné la concordance entre l'optimum thermique de l'activité végétative du champignon et celui de l'infection fongique sur l'insecte hôte (Hall et Papierok, 1982; Ferron, 1985).

Certains isolats fongiques, tels que *Bb* 147, *Ma* 51, *Ma* 120 ou *Ma* 139, ont présenté des gammes thermiques de croissance particulièrement étendues (8–35 °C ou 11–37 °C) ce qui leur confère une remarquable adaptabilité. En effet, bien que les mécanismes de thermorégulation permettent aux insectes hôtes d'échapper en partie aux effets des températures extrêmes du milieu, les conditions thermiques de leurs habitats varient considérablement suivant l'espèce et l'agroécosystème considéré (Heinrich, 1981).

La tolérance thermique des isolats entomopathogènes apparaît donc bien comme un critère de sélection des hyphomycètes candidats à la lutte microbiologique (Goral, 1973; Isaenko *et al*, 1974; Ill'icheva *et al*, 1976). La variabilité de ce caractère permet en outre d'envisager l'amélioration des potentialités des souches les plus pathogènes par recombinaison (Yurchenko *et al*, 1974; Paris, 1977; Al-Aidroos, 1980; Messias et Azevado, 1980; Riba *et al*, 1984; Riba et Ravelojoana, 1984) avec des isolats sélectionnés pour leur tolérance à l'égard des conditions climatiques des agrosystèmes infestés par l'insecte cible.

## REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient H Vermeil de Conchard pour sa collaboration technique ainsi que P Cassier de

l'Université Paris VI et B Papierok de l'Institut Pasteur pour leur révision critique du manuscrit.

## RÉFÉRENCES

- Al-Aidroos K (1980) Demonstration of a parasexual cycle in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Can J Genet Cytol* 22, 771-775
- Benz G (1987) Environment. In: *Epizootiology of insect diseases* (Fuxa JR, Tanada Y eds) John, Wiley and Sons, New York, 177-214
- Carruthers RI, Soper RS (1987) Fungal diseases. In: *Epizootiology of insect diseases* (Fuxa JR, Tanada Y, eds) John Wiley and Sons, New York, 357-416
- Carruthers RI, Robson DS, Roberts DW (1985) *In vivo* temperature-dependent development of *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) mycosis of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Pyralidae). *J Invertebr Pathol* 46, 305-311
- Deacon JW (1980) Introduction to modern mycology. In: *Basic microbiology* (Wilkinson JF, ed) vol 7, Univ Edinburgh, 197 p
- Doberski JW (1981) Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the elm bark beetle *Scolytus scolytus*: effect of temperature and humidity on infection by *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*. *J Invertebr Pathol* 37, 195-200
- Fargues J (1972) Traitement mixte des larves de doryphore *Leptinotarsa decemlineata* Say par des spores du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill et des doses réduites d'insecticide. *Phytiatr-Phytopharm* 21, 170-183
- Fargues J (1976) Spécificité des champignons pathogènes imparfaits (hyphomycètes) pour les larves de Coléoptères (*Scarabaeidae* et *Chrysomelidae*). *Entomophaga* 21, 313-323
- Fargues J, Rodriguez-Rueda D (1980) Sensibilité des larves de *Spodoptera littoralis* (Noctuidae) aux hyphomycètes entomopathogènes *Nomuraea rileyi* et *Paecilomyces fumosoroseus*. *Entomophaga* 25, 43-54
- Fargues J, Robert PH, Vey A (1976) Rôle du tégument et de la défense cellulaire des Coléoptères hôtes dans la spécificité des souches entomopathogènes de *Metarhizium anisopliae* (*Fungi imperfecti*). *CR Séances Acad Sci Paris* 282, 2223-2226
- Ferron P (1967) Étude en laboratoire des conditions écologiques favorisant le développement de la mycose à *Beauveria tenella* du ver blanc. *Entomophaga*, 12, 257-293
- Ferron P (1985) Fungal Control. In: *Comprehensive insect physiology, biochemistry, and pharmacology* (Kerkut GA, Gilbert LI, eds) Pergamon Press, Oxford, vol 12, 313-346

- Ferron P, Hurpin B, Robert PH (1972) Sur la spécificité de *Metarhizium anisopliae* (Metch) Sor. *Entomophaga* 17, 165-178
- Ferron P, Fargues J, Riba G (1991) Fungi as microbial insecticides against pests. In: *Handbook of applied mycology. Humans, animals and insects* (Arora DK, Mukerji KG, eds). Marcel Dekker, New York, vol 2, 665-706
- Goral VM (1973) Influence de la température sur l'évolution du champignon *Beauveria* en culture profonde. *Zakh Rosl* 17, 48-51 (en russe)
- Gray TRG, Williams ST (1971) *Soil microorganisms* (Heywood VH, ed) Univ Reviews Bot, Edinburgh, 240 p
- Hall RA, Papierok B (1982) Fungi as biological control agents of arthropods of agricultural and medical importance. *Parasitology*, 84, 205-240
- Heinrich B (1981) *Insect thermoregulation*. John Wiley and Sons, New York, 328 p
- Ignoffo CM (1981) The fungus *Nomuraea rileyi* as a microbial insecticide. In: *Microbial control of pests and plant diseases, 1970-1980* (Burgess HD, ed) Acad Press, New York, 513-538
- Ignoffo CM, Puttler B, Hostetter DL, Dickerson WA (1976a) Susceptibility of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*, and velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatalis*, to several isolates of the entomopathogenic fungus *Nomuraea rileyi*. *J Invertebr Pathol* 28, 259-262
- Ignoffo CM, Marston NL, Hostetter DL, Puttler B, Bell JV (1976b) Natural and induced epizootics of *Nomuraea rileyi* in soybean caterpillars. *J Invertebr Pathol* 27, 191-198
- Ill'icheva SN, Alioshina OA, Kononova EA, Yurshe-nene YAE (1976) Effets de la température sur le développement du *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. *Mikrobiol Fitopatol* 10, 87-92 (en russe)
- Isaenko NI, Kozachenko VI, Kononova EV, Sarkisova NB, (1974) Influence de la température sur la productivité de différentes souches de *Beauveria bassiana*. In: *Méthode biologique dans la protection des plantes*. Thèses et Conférences des Jeunes Chercheurs. *Zash Rast, Kichinev*, 12-13 (en russe)
- Kish LP, Allen GE (1978) The biology and ecology of *Nomuraea rileyi* and a program for predicting its incidence on *Anticarsia gemmatalis* in soybean. *IFAS Univ Florida*, 48 p
- Maniania NK, Fargues J (1992) Susceptibility of *Mamestra brassicae* (L), and *Spodoptera littoralis* (Boisd) larvae (Lep Noctuidae) to the hyphomycetes *Paecilomyces fumosoroseus* (Brown et Smith) and *Nomuraea rileyi* (Samson) at two temperatures. *J Appl Entomol* 113, 518-524
- Messias C, Azevedo JL (1980) Parasexuality in the Deuteromycete *Metarhizium anisopliae*. *Trans Br Mycol Soc* 75, 473-477
- Mohamed AKA, Sikorowski PP, Bell JV (1977) The susceptibility of *Heliothis zea* larvae to *Nomuraea rileyi* at various temperatures. *J Invertebr Pathol* 21, 444-459
- Paris S (1977) Hétérocaryons chez *Beauveria tenella*. *Mycopathologia*, 61, 67-75
- Poprawski TJ, Marchal M, Robert PH (1985) Comparative susceptibility of *Otiorhynchus sulcatus* and *Sitona lineatus* (Coleoptera: Curculionidae) early stages to five entomopathogenic hyphomycetes. *Environ Entomol* 14, 247-253
- Rapilly P (1968) Les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Ann Epiphyt* 19, HS, 102 p
- Riba G, Ravelojoana AM (1984) The parasexual cycle in the entomopathogenic fungus *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) Brown and Smith. *Can J Microbiol* 30, 922-926
- Riba G, Marcandier S, Richard G, Larget I (1983) Sensibilité de la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*) (Lep: Pyralidae) aux hyphomycètes entomopathogènes. *Entomophaga* 28, 55-64
- Riba G, Glandard A, Ravelojoana AM, Ferron P (1984) Isolement de recombinaisons mitotiques stables de type «intermédiaire» chez *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) par hybridation de biotypes sauvages. *CR Séances Acad Sci Paris, Ser D* 291, 657-660
- Robert P, Marchal M (1980) Utilisation des larves de *Plutella maculipennis* (Lep, Hyponomeutidae) comme insecte test de divers Hyphomycètes entomopathogènes (*Fungi imperfecti*). *Entomophaga* 25, 83-89
- Roberts DW, Campbell AS (1977) Stability of entomopathogenic fungi. *Misc Publ Entomol Soc Am* 10, 1-80
- Soares GG Jr, Marchal M, Ferron P (1983) Susceptibility of *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae) larvae to *Metarhizium anisopliae* and *Metarhizium flavoviride* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) at two different temperatures. *Environ Entomol* 120, 1886-1890
- Yurchento I, Zakharov IA, Levitin MM (1974) Génétique et sélection du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. Étude de l'hétérocaryose. *Genetika* 10, 95-101 (en russe)