

507

**ÉTUDE PRÉLIMINAIRE
D'UN MARQUEUR PHYSIOLOGIQUE EXTERNE
DE LA DIAPAUSE CHEZ *DINARMUS ACUTUS*
(HYM. PTEROMALIDAE) PARASITE
DE *BRUCHUS AFFINIS* (COL. BRUCHIDAE)**

Catherine REYMONET (*), Gérard FABRES (**), Vincent LABEYRIE (*)

(*) IBEAS, UA CNRS 340, Avenue de l'Université, F - 64000 Pau.

(**) ORSTOM, IBEAS, Avenue de l'Université, F - 64000 Pau.

Mots-clés : *Hymenoptera*, *Pteromalidae*, *Dinarmus acutus*, entomophages, diapause, marqueur biologique.

Résumé. — *Dinarmus acutus* Thomson est un entomophage dont les larves se développent en parasites externes sur plusieurs espèces de *Bruchidae* et notamment *Bruchus affinis* Frölich dans le sud-ouest de la France. Il présente une diapause larvaire au cours de laquelle les larves diapausantes émettent une substance orangée. Nous avons vérifié qu'il existait une étroite corrélation entre cette sécrétion et l'arrêt du développement mettant ainsi en évidence un marqueur physiologique de la diapause.

Summary. — *Preliminary study of an external physiological marker in the diapause of Dinarmus acutus* (Hym. Pteromalidae), a parasite of *Bruchus affinis* (Col. Bruchidae). — *Dinarmus acutus* Thomson is an ectoparasitoid species of several Bruchid species and specially *Bruchus affinis* Frölich (Col. Bruchidae) in south of France. It shows a larval diapause during which diapausing larvae produce a particular "orange" substance. A strong positive correlation between diapause and the production of "orange" material makes this substance a very good physiological marker.

Dinarmus acutus Thomson est un parasitoïde de diverses espèces de Bruches (Parker, 1957; Léonide, 1960, 1962; Delucchi, 1962; de Luca 1962, 1965, 1970, 1977, 1980; Leong & Dickason, 1975). Ses larves se développent en ectoparasites solitaires sur les larves et les nymphes de l'hôte (Leong & Dickason 1975). Dans le sud-ouest de la France, nous l'avons obtenu à partir de *Bruchus affinis* Frölich dont les larves se développent à l'intérieur des graines de *Lathyrus sylvestris* L. et *L. latifolius* L. et consomment les cotylédons en croissance. Le développement du parasite s'effectue à l'intérieur de la galerie ou de la loge ménagée par la larve-hôte.

Dans le sud-ouest de la France, la récolte de gousses de *L. latifolius* et *L. sylvestris*, effectuée de fin août à fin octobre 1984, et la mise en éclosoir de ces gousses ou des graines qu'elles contenaient, a permis d'obtenir des adultes de *D. acutus* sortis en deux temps : le même automne (de septembre à novembre) puis le printemps suivant (de mi-avril à fin juin 1985). Cette observation est proche de celle faite par Leong & Dickason

Manuscrit accepté le 29-X-1986.



Fonds Documentaire 2^e R D

Cote : B* 23113

Ex :

Exemplaire unique

(1975) dans l'Oregon (côte ouest des États-Unis, 40 à 45° N) après récolte de gousses et de graines de *Vicia villosa* Roth et *V. dasycarpa* Tenor parasitées par *Bruchus brachialis* F. : une sortie de *D. acutus* entre fin mai et début juillet puis une autre de fin août à fin septembre.

Dès les débuts de l'élevage mené aux conditions du laboratoire (novembre-décembre 1984), il est apparu entre les individus de grandes différences de durée du développement. Nous nous sommes demandés si nous pouvions rapprocher cette observation de laboratoire des résultats obtenus par la mise en éclosoir des graines de *Lathyrus* provenant du terrain; tous deux pouvant s'expliquer par l'existence d'une diapause analogue à celle rapportée par Leong & Dickason (1975).

Ces auteurs mentionnent la production par les larves diapausantes (larves du dernier stade) d'une « substance orange », qui ne se retrouve pas chez les larves à développement direct. Pour contrôler si la substance orange pouvait être un marqueur intéressant de la diapause, nous avons examiné au laboratoire si sa présence était liée à la longueur du développement.

Matériel et méthode

a) Élevage de l'hôte.

B. affinis comme les autres espèces du genre *Bruchus* est univoltine. Dans les peuplements de *L. sylvestris* et *L. latifolius*, elle ne pond que sur les jeunes gousses plates et vertes (Leonide, 1962; Labeyrie & Hossaert 1985). De ce fait, nous ne pouvions élever toute l'année au laboratoire *D. acutus* sur son hôte naturel. Comme il s'est avéré possible d'assurer son développement sur *Callosobruchus maculatus* F., nous avons choisi cette espèce polyvoltine comme hôte de substitution. Elle présente l'avantage de s'élever facilement au laboratoire sur des graines de *Vigna radiata* (L.) Wilczek. Nous nous écartons donc de la situation existant dans le Sud-Ouest, par l'utilisation d'un hôte d'un genre très différent, qui évolue sur des graines mûres au lieu de graines en croissance.

Les adultes de *C. maculatus* et leurs larves en développement dans les graines de *V. radiata* ont été élevés sous une photopériode et une thermopériode couplées (12 h/12 h; 28 ± 1 °C/ 23 ± 5 °C). Afin qu'il ne se développe pas plus d'une à deux larves de Bruche dans chaque graine, nous présentions 300 graines à 50 Bruches adultes mâles et femelles confondus, pendant 24 heures.

Comme *C. maculatus* colle ses œufs à la surface des graines, l'observation de ces dernières permet de reconnaître celles qui sont attaquées, donc utilisables pour notre élevage. La jeune larve éclot directement vers l'intérieur de la graine, et l'œuf devient blanc opaque. Le développement de la larve est invisible de l'extérieur mais la larve âgée prépare sous la surface de la graine une loge qui se révèle par un opercule rond et légèrement translucide, devenant sombre lorsque la nymphe est âgée. Pour le choix du stade offert au parasitoïde nous avons utilisé à la fois ces marqueurs et des repères correspondant au temps de développement de la larve de *C. maculatus* dans nos conditions expérimentales.

Les larves de Bruche ont été soumises aux parasites généralement aux stades larve âgée, prénymphe ou nymphe. Nous avons utilisé dans la plupart des cas ces deux derniers stades : ce sont les stades hôtes préférentiels (Leong & Dickason, 1975) et ils sont facilement identifiables par l'expérimentateur.

b) Élevage du parasite.

La souche de *D. acutus* élevée au laboratoire provenait d'adultes sortis des gousses de *L. sylvestris* et *L. latifolius* récoltées dans différentes stations de la région, à l'automne 1983 et 1984. Elle a été constituée à partir de 20 adultes en 1983, et de 36 adultes en 1984.

De novembre 1984 à juin 1985, nous avons élevé les femelles préalablement fécondées, soit seules, soit avec un mâle, aux conditions du laboratoire. Chaque jour, chaque femelle a été mise en contact avec 5 à 10 graines contenant chacune 1 à 2 larves âgées, prénymphe ou nymphes de Bruche. Les graines ont été changées toutes les 24 heures et stockées dans des boîtes de polystyrène transparent de 45 mm de diamètre (une boîte par femelle et par jour). Les émergences du parasite ont été contrôlées chaque jour : le sexe et la durée de développement de chaque individu étaient alors notés. La dissection de la graine qui l'avait contenu permettait de constater la présence ou l'absence de substance orange. Celle-ci se présente comme des déjections orange vif,

translucides, émises sous forme de-gouttelettes liquides qui durcissent rapidement et sont très facilement visibles. Ces déjections présentent un aspect très différent de celui du méconium, grisâtre et opaque, qui est émis juste avant la nymphose.

c) Contraintes expérimentales.

Sans dissection de la graine, il est impossible de séparer les différents stades de développement du parasite, puisque celui-ci s'effectue à l'intérieur de la galerie ou de la loge préparée par la larve de Bruche. En particulier, un certain laps de temps peut s'écouler entre la mue imaginale et le moment où l'imago est parvenu à sortir de la graine par un trou découpé dans l'opercule. Dans ce travail, nous avons donc considéré que la « durée du développement » était le temps qui s'écoulait entre la date de ponte et la date d'émergence. Nous avons ainsi évité de disséquer les graines, et donc de modifier les conditions de développement du parasite.

Cependant, dans le cas de développements très longs, nous avons parfois dû ouvrir les graines pour en vérifier le contenu. Ceci nous a permis de constater que, dans tous les cas, les développements longs s'expliquaient par un arrêt au dernier stade larvaire. Il nous a semblé également que la durée de nymphose était légèrement allongée, mais nous ne l'avons pas vérifié expérimentalement.

Les parasites ont été élevés dans des conditions qui ont varié selon l'époque. La moyenne des températures (à 2 °C près) était de l'ordre de 20 °C en décembre, quand nous avons débuté nos élevages, et s'établissait à 27 °C vers la fin de nos expérimentations (mars-juin). Cependant, l'analyse des résultats montrera que ceci n'a pas eu d'influence notable sur la relation étudiée entre arrêt de développement et production de substance orange.

RÉSULTATS

La figure 1 montre la distribution des durées de développement de 2 261 individus dans des classes de 5 jours. Ces données regroupent l'ensemble des durées de développement de tous les *D. acutus*, indépendamment de la date de ponte au cours de l'année (et donc des conditions d'élevage à l'intérieur du laboratoire).

Le développement a une durée très variable, de 15 à 170 jours. Cependant les parasites ne sont pas répartis n'importe comment dans les différentes classes. En effet l'histogramme présente deux modes : un vers 20-25 jours, et un second vers 80-85 jours. Ainsi, il y a bien deux types de développement : un « développement court » et un « développement long ». Ce résultat est tout à fait analogue à celui obtenu à partir de la récolte des gousses sur le terrain avec un lot d'adultes sortis en automne et un lot sorti au printemps suivant.

Nous avons ensuite cherché à mettre en évidence une éventuelle corrélation entre la durée de développement de ces individus élevés en conditions de laboratoire et la présence ou l'absence de substance orange. Sur la figure 1, nous avons distingué les individus ayant produit la substance orange et ceux qui en étaient dépourvus. L'examen de cette figure appelle deux remarques :

— on peut noter que les individus ayant produit de la substance orange sont regroupés presque exclusivement dans l'ensemble des « parasites à développement long ». Il y a donc une corrélation entre développement long, avec arrêt de développement, et production de substance orange ;

— les distributions des deux catégories de *D. acutus* sont presque gaussiennes, avec pour les individus sans substance orange une moyenne et un écart-type de 28 ± 6 jours, et pour ceux en ayant produit une moyenne et un écart-type de 85 ± 24 jours.

Le chevauchement des deux courbes ne doit pas être interprété comme la sortie simultanée des deux types d'individus. En décembre, le « développement court » durait environ 30 jours, alors qu'en juin il était de 15 jours seulement. On peut concevoir que si les élevages avaient été menés constamment dans les mêmes conditions, les deux histogrammes auraient été plus écartés, avec des variances plus faibles (elles sont ici respectivement de 31,99 et 573,44).

Cette hypothèse est confirmée par les résultats de l'élevage simultané de 8 femelles

dans les conditions suivantes : L/D 16h/8h, température 27 ± 2 °C/ 20 ± 1 °C (fig. 2). Ces femelles ont produit 410 descendants dont 390 ont un développement court : 23 ± 3 jours, et 20 un développement long : 76 ± 13 jours. Les deux histogrammes sont très nettement séparés. Un seul individu à déjections oranges figure dans l'histogramme «développement court», ce qui ne modifie pas sensiblement les moyennes et écart-types : respectivement 23 ± 3 et 74 ± 16 jours pour les individus sans et avec déjections oranges.

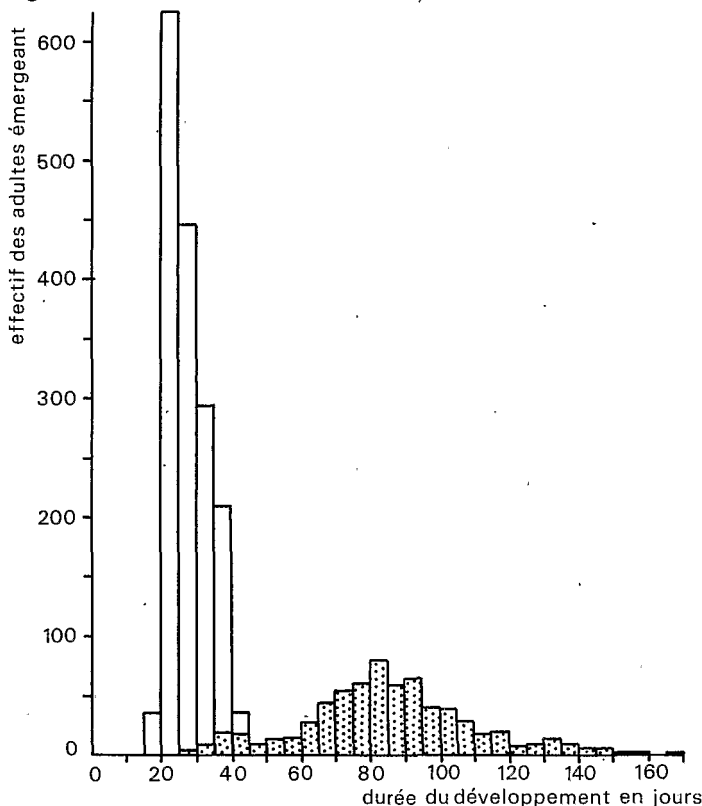


Fig. 1, Distribution des adultes de *D. acutus* en fonction de la durée de développement et de la présence de l'excrétat (en pointillé); n = 2261.

On peut donc considérer que l'émission de substance orange (et sa découverte *a posteriori*), est en étroite corrélation avec la diapause chez *D. acutus*. Ce marquage physiologique est d'une bonne fidélité puisqu'il se révèle ici indépendant de l'instabilité des conditions d'élevage, en particulier des variations de la température.

DISCUSSION

La présence d'un marqueur de la diapause offre un grand avantage pour l'étude de celle-ci. Dans le cas de *V. radiata* par exemple, dont l'opercule est translucide, il est possible de voir par transparence si la larve a émis de la substance orange et donc de savoir si elle est diapausante. On peut ainsi évaluer très tôt, dès l'émergence des adultes non diapausants et sans disséquer les graines, la fréquence des individus diapausants.

En plus de son intérêt pratique pour l'analyse de la population de *D. acutus*, l'existence de cette substance soulève plusieurs questions :

— La production de cette substance est-elle en relation avec la nature de l'hôte et des graines dans lesquelles il se développe? Quelques dissections de graines de *L. sylvestris* et *L. latifolius* attaquées par *B. affinis* et ayant libéré des parasites dia-

pausants (sortis au printemps) nous a permis de retrouver cette substance. En élevage nous avons également obtenu quelques descendants de *D. acutus* sur *Acanthoscelides obtectus* Say élevé dans des graines de haricot *Phaseolus vulgaris*. Sur cet hôte aussi, les individus diapausants ont produit des déjections orange.

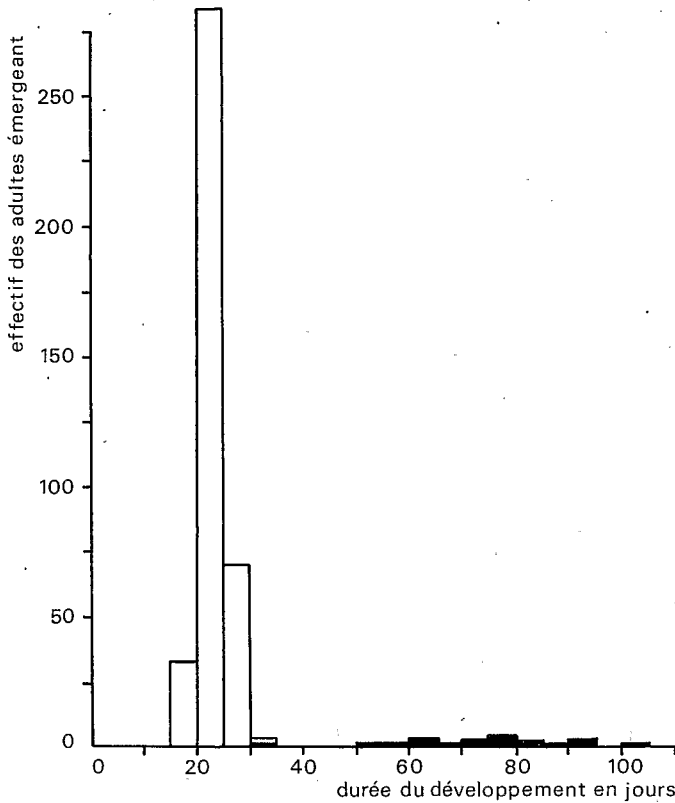


Fig. 2. Distribution des adultes de la descendance de 8 femelles élevées en conditions contrôlées, en fonction de la durée de développement et de la présence de l'excrétat (en noir).

Ainsi, l'émission de substance orange par les diapausants semble indépendante de trois catégories de facteurs.

1° L'espèce végétale dont se nourrit la larve-hôte : il a été possible d'obtenir des larves de *D. acutus* à substance orange dans les graines de quatre genres différents de Légumineuses : *Lathyrus*, *Phaseolus*, *Vicia* et *Vigna*. Ces graines diffèrent très certainement par de nombreuses substances allélochimiques.

2° L'état de maturation de la graine consommée : dans le cas des *Bruchus*, il s'agit de graines en maturation (*Lathyrus* et *Vicia*), dans le cas de *C. maculatus* et *A. obtectus*, il s'agit de graines mûres (*V. radiata* et *P. vulgaris*). Le type d'alimentation de la larve-hôte n'affecte apparemment pas la production de substance orange.

3° L'espèce hôte et son cycle : *D. acutus* parasite des espèces aux cycles bien différents. Les *Bruchus* sont univoltins, avec l'impossibilité de se reproduire dès l'émergence qui a lieu en automne (diapause reproductive). Par contre, *C. maculatus* et *A. obtectus* dans nos conditions d'élevage sont polyvoltins, ne présentent pas de diapause larvaire et se reproduisent rapidement après l'émergence.

Il semblerait donc n'y avoir aucun lien entre les caractéristiques des graines et des larves-hôtes utilisées, et l'émission de substance orange.

— Cette substance existe-t-elle chez d'autres espèces du genre *Dinarmus*? Deux espèces (*D. basalis* et *D. vagabundus*) ont été étudiées (Gomez Alvarez, 1980;

Eslami, 1985) mais les auteurs ne précisent pas si elles peuvent entrer en diapause dans certaines conditions et produire alors une substance particulière.

— Quelles sont l'origine et la composition de cette substance? Si elle est un résultat de la digestion, on peut penser qu'elle se retrouverait mélangée au méconium, et serait émise en même temps que lui, à la reprise du développement. Or cette substance est émise dès le début de la diapause, on peut donc penser qu'elle provient des tubes de Malpighi.

Il serait de ce fait intéressant de connaître la composition biochimique de ces déjections oranges, ainsi que celle de l'hémolymph des deux types de larves.

— Cette substance est-elle émise seulement avant l'entrée en diapause ou tout au long de celle-ci? La première hypothèse est celle de Leong & Dickason (1975), qui n'apportent cependant aucune confirmation expérimentale, tandis que nos propres observations nous poussent vers la seconde. En effet, nous avons trouvé dans un lot pour lequel la durée de développement des individus non diapausants était de 20 jours, une larve en diapause âgée de 31 jours, en phase d'émission de la substance orange. Néanmoins ce point reste à vérifier par des observations complémentaires.

— Quelle hypothèse peut-on formuler pour expliquer la relation entre arrêt de développement et émission de la substance orange? On peut imaginer que la diapause chez *D. acutus* serait en partie le fruit d'un blocage chimique (d'autres facteurs, tels photopériode, thermopériode ne devant pas être négligés). La substance responsable serait progressivement métabolisée et éliminée sous forme de déjections oranges. Une fois la molécule complètement éliminée, la larve pourrait reprendre son développement, c'est-à-dire se nymphoser.

De nombreux auteurs ont étudié les modifications métaboliques ou hormonales dues à la diapause que l'on observe chez de nombreuses espèces (revue in Chippendale, 1977). Cependant, aucun d'eux ne paraît avoir trouvé de manifestation physiologique externe de ces modifications qui soit comparable aux déjections oranges produites par *D. acutus*. Il semble donc que nous nous trouvions en présence d'un phénomène tout à fait original, digne d'études ultérieures plus fines.

AUTEURS CITÉS

- CHIPPENDALE, G.M., 1977. — Hormonal regulation of larval diapause. — *A. Rev. Ent.*, 22 : 121-138.
- DELUCCHI, V., 1962. — Hyménoptères Chalcidiens du Maroc. — *Al Awania, Rabat*, 2 : 113-135.
- ESLAMI, S.J., 1985. — Comportement de ponte, fécondité et descendance de l'Hyménoptère grégaire *Dinarmus vagabundus*. — Thèse Université François-Rabelais, Tours, 71 p.
- GOMEZ ALVAREZ, L.E., 1980. — Étude de quelques aspects de la biologie d'un Chalcidien *Dinarmus basalis* (Rondani) (ectoparasite de Bruchidae) nécessaires à l'étude du taux sexuel. — Thèse Université François-Rabelais, Tours, 96 p.
- LABEYRIE, V. & HOSSAERT, M., 1985. — Ambiguous relations between *Bruchus affinis* and the *Lathyrus* group. — *Oikos*, 44 : 107-113.
- LEONG, K.L. & DICKASON, E.A., 1975. — Biology of *Dinarmus acutus*, a Chalcidoïd parasite of the vetch bruchid. — *Ann. ent. Soc. Am.*, 68 (6) : 000-000.
- LEONIDE, J.-C., 1960. — Notes sur les zoocénoses des gousses de certaines Légumineuses. — *Bull. Soc. ent. Fr.*, 65 : 274-281.
- 1962. — Contribution à l'étude des parasites des gousses de certaines Légumineuses. — *Bull. Mus. Hist. nat. Marseille*, 22 : 49-79.
- LUCA, Y. de, 1962. — Contribution aux Bruchides (Col.) d'Algérie. Leurs hôtes. Leurs parasites. Leurs stations, 2^e note. — *Annls Ec. nat. Agric. Alger*, 3 (6) : 1-16.
- 1965. — Catalogue des Métazoaires parasites et prédateurs de Bruchidae (Coleoptera). — *J. stored Products Res.*, 1 : 51-98.
- 1970. — Catalogue des Métazoaires parasites et prédateurs de Bruchidae (Coleoptera). — *Annls Soc. Hort. Hist. nat. Hérault*, 110 (2, 3, 4) : 1-23.
- 1977. — Catalogue des Métazoaires parasites et prédateurs de Bruchidae (Coleoptera). — *Bull. Soc. Étude Sci. nat. Nîmes*, 55 : 5-22.
- 1980. — Catalogue des Métazoaires parasites et prédateurs de Bruchidae (Coleoptera). — *Bull. Soc. Étude Sci. nat. Nîmes*, 86 : 37-55.
- PARKER, H.L., 1957. — Notes sur quelques Bruches et leurs parasites élevés des graines de Légumineuses. — *Bull. Soc. ent. Fr.*, 62 : 168-179.