Développement larvaire des Hyménoptères parasites
Apanteles glomeratus L.
et *Phanerotoma flavitestacea* F.
chez des Chenilles infectées
par *Bacillus thuringiensis* Berliner

par D. MARCHAL-SEGAULT

I.N.R.A., Station de Lutte biologique, La Minière, F 78000 Versailles

Résumé.

Bacillus thuringiensis entraîne, chez des chenilles parasitées par des Hyménoptères, un allongement du cycle des chenilles survivantes et de leurs parasites. L'importance de cet allongement, consécutif à la réduction de la consommation des chenilles, est liée à la concentration bactérienne et à la durée du contact. Cependant, la durée du développement ne peut dépasser une limite sans provoquer la mort des chenilles et de leurs parasites.

D'autre part, les larves entomophages ne peuvent se nymphoser que si les chenilles-hôtes ont vécu assez longtemps pour leur permettre d'achever leur évolution endophage et d'avoir des glandes séricigènes fonctionnelles.

Summary.

Larval development of Hymenoptera parasites *Apanteles glomeratus* L. and *Phanerotoma flavitestacea* F. in caterpillars infected with *Bacillus thuringiensis* Berliner.

The treatment of parasited caterpillars with a preparation of *Bacillus thuringiensis*, causes an identical lengthening of the parasites and host' cycle, that is due to the reduction of consumption by the caterpillars.

The premature death of the caterpillars-hosts carries the death of the immature parasites larvae. Only can survive the parasites that have reached the 3rd instar, and whose silk glands are able to produce the nymphosis cocoon silk.

Introduction

L'intérêt de la bactérie *Bacillus thuringiensis* est lié à la sélectivité de son action à l'encontre de certains Lépidoptères, et à son inocuité vis-à-vis de plusieurs catégories d'auxiliaires prédateurs et parasites. Nous avons mis récemment en évidence un seuil de tolérance très élevé des adultes d'*Apanteles glomeratus* et *Phanerotoma flavitestacea* vis-à-vis du complexe spores-cristaux de *Bacillus thuringiensis* Berliner (Marchal-Ségault, 1974).

Cependant, une action indirecte sur ces entomophages et des incidences plus ou moins importantes sur leurs populations peuvent être envisagées à la suite de l'infection bactérienne de la chenille-hôte. Biliotti, 1956, observait que les larves d'*A. glomeratus* répondaient par un développement accéléré à la mort prématurée de leur hôte *Pieris brassicae* L., intoxiqué par *B. thuringiensis*, et donnaient des adultes apparemment normaux si les chenilles survivaient assez longtemps.

Dans ce travail, nous avons étudié plus particulièrement les répercussions de l'infection bactérienne de l'hôte sur le développement et la croissance larvaire du parasite, lorsque la chenille survit à l'infection microbienne.

Matériel et techniques

Les deux complexes parasitaires utilisés présentent des différences concernant, d'une part, la biologie et l'éthologie des chenilles-hôtes, *Anagasta kuehniella* Zell. (Lepidoptera, Pyralidae) et *Pieris brassicae* L. (Lepidoptera, Pieridae), ainsi que leurs réactions à l'infection bactérienne, d'autre part, le comportement parasitaire des Hyménoptères *Phanerotoma flavitestacea* F. (Braconidae, Cheloninae) et *Apanteles glomeratus* L. (Braconidae, Microgasterinae).

P. flavitestacea, parasite ovo-larvaire des chenilles d'*A. kuehniella*, évolue en larve solitaire, tandis qu'*A. glomeratus* pond dans les chenilles du premier stade de *P. brassicae* et présente une vie larvaire grégaire.

L'évolution des deux larves endophages est comparable, chacune d'elles atteignant son troisième et dernier stade juste avant de sortir du corps de son hôte, à la fin du développement larvaire de celui-ci.

Cependant, la durée du développement larvaire de *P. flavitestacea*, parallèlement à celle d'*A. kuehniella*, est susceptible de variations beaucoup plus importantes que chez *A. glomeratus*.

Les souches de *P. flavitestacea* et *A. kuehniella*, en provenance du Centre national de la Recherche agronomique (I.N.R.A., Versailles), sont maintenues en élevage

permanent selon les techniques utilisées par Biliotti et Daumal, 1969. L'élevage de masse d'*A. kuehniella*, réalisé selon les techniques employées par Yamvrias, 1962, s'est effectué sur du blé broyé.

La souche de *P. brassicae* provient de la Station de Lutte biologique de La Minière, où les travaux de Grison et De Sacy, 1956, Dusaussay et Delplanque, 1964, ont permis la mise au point d'un élevage permanent.

La souche d'*A. glomeratus* est obtenue par le parasitisme naturel de jeunes chenilles de *P. brassicae*.

Les traitements ont été effectués avec une préparation commerciale de *Bacillus thuringiensis* Berliner, sérotype I, la « Bactospéine », de référence VT 2725 CL 7232, titrant 700 UB par mg de poudre et contenant des spores et des cristaux associés à une charge inerte à base de Bentonite.

Les chenilles d'*A. kuehniella* sont contaminées à l'éclosion et au début du 5^e stade par la méthode de la libre ingestion d'aliment traité, mise au point par Burgerjon et Yamvrias, 1959, 1960.

Les chenilles de *P. brassicae* sont traitées au début des 3^e et 5^e stades, par ingestion libre de rondelles de chou pulvérisées avec différentes concentrations de suspension bactérienne, selon le procédé décrit par Burgerjon, 1956. La réduction de consommation provoquée par l'intoxication bactérienne peut être facilement mesurée chez *P. brassicae* par la technique mise au point par Burgerjon, 1962.

L'étude histologique de *P. brassicae* parasitée a été réalisée après fixation des chenilles dans les liquides de Carnoy ou de Bouin, sur des coupes colorées à l'Hémalun ou à l'Héματοxyline de Groat, suivis d'un picro-indigo-carmin, et à l'Azan de Heidenhain.

Résultats

1) Conséquences de l'infection bactérienne de l'hôte sur la durée du développement larvaire du parasite.

Nous avons envisagé l'influence des doses utilisées et de la durée du contact des chenilles avec l'aliment traité, en fonction du stade atteint par les parasites au moment du traitement.

Les courbes de nymphose d'*A. kuehniella* et *P. flavitestacea* représentées par la figure 1 ont été obtenues après contamination des chenilles au premier stade larvaire des parasites. Les chenilles sont maintenues, depuis l'éclosion jusqu'à la nymphose, sur l'aliment traité aux concentrations de 1, 2 et 4/10 000 de « Bactospéine », à la température de 20 °C.

On observe, dans les différents lots traités ou non, un parfait synchronisme de développement entre la chenille et son parasite, les nymphes d'*Anagasta* et de *Phanerotoma* apparaissant simultanément.

FIG. 1. — Durée du développement des chenilles d'*Anagasta kuehniella* (Ak) et des larves de *Phanerotoma flavitestacea* (Pf), en fonction du traitement des chenilles par une préparation commerciale de *Bacillus thuriengiensis*.

Mais on constate un retard de la nymphose des deux insectes dans les lots traités par rapport aux témoins, retard qui s'accroît avec la concentration bactérienne, comme le montre le tableau I.

TABLEAU I. — Durée de développement et survie des chenilles d'*Anagasta* et de leurs parasites

Traitement	Témoin	1/10 000	2/10 000	4/10 000
Lots				
Non parasité :				
% nymphose ...				
<i>Anagasta</i>	78	84	81	76
Parasité :				
% nymphose ...				
<i>Phanerotoma</i>	88	86	83	79
Age des chenil-				
les	36 jours	56 jours	76 jours	86 jours
Retard observé ..	0	20 jours	40 jours	50 jours
Non parasité :				
% chrysalides ...	71	71	71	38
Parasité :				
% cocons	68	62	73	47

L'ingestion prolongée de « Bactospéine », à des doses subléthales, provoque chez la chenille une réduction de consommation et un ralentissement du métabolisme général, entraînant une augmentation de la durée du développement, à laquelle correspond un allongement identique du cycle de la larve endophage.

Cependant, la durée du développement des chenilles et de leurs parasites n'est pas très différente dans les lots traités aux concentrations 2 et 4/10 000 : dans les deux cas, les dernières chrysalides et les derniers cocons se forment au bout de 100 jours. Il semble que cette limite ne puisse être dépassée sans perturber de façon irréversible le développement des chenilles et des parasites. Cette interprétation est confirmée par l'observation, chez les individus soumis à la concentration 4/10 000, d'un taux de chrysalides et de cocons nettement inférieur à ceux des autres lots traités, par rapport au nombre initial de chenilles.

Les concentrations de 1 et 2/10 000 ne provoquent pas la mortalité larvaire d'*Anagasta* : les taux de chrysalides et de cocons obtenus sont sensiblement égaux et identiques à ceux des lots témoins.

A la concentration de 4/10 000, la mortalité totale des chenilles dépasse 50 % : le nombre de cocons de *Phanerotoma* obtenus décroît dans la même proportion que le nombre de chrysalides d'*Anagasta* ; un test χ^2 ne montre pas de différence significative entre eux.

Les larves parasites ne survivent pas à la mort de la chenille, mais les chenilles survivantes à l'intoxication bactérienne libèrent des parasites viables, capables de se nymphoser.

Nous avons obtenu des résultats comparables en traitant des chenilles de *P. brassicae* parasitées par des larves d'*A. glomeratus* du 1^{er} stade. Les chenilles contaminées au début du 3^e stade sont maintenues sur le chou traité à la concentration de 3,8 mg pour 10 ml de suspension bactérienne, à 20 °C, pendant 24 heures seulement.

La dose utilisée a entraîné une mortalité importante des chenilles et de leurs parasites. Chez les survivants, les courbes de nymphose indiquent un allongement relativement faible du cycle larvaire des chenilles et des parasites, conséquence d'un contact bref avec l'aliment traité, provoquant chez la chenille un arrêt d'alimentation momentané (fig. 2).

Nous avons observé des résultats identiques lorsque nous avons traité les chenilles d'*Anagasta* et de *Pieris* au début du 5^e stade, au moment où les parasites sont au 2^e stade larvaire : à des concentrations léthales pour la chenille, les larves parasites meurent en même temps ou peu après les chenilles-hôtes. Nous n'avons jamais observé la survie des entomophages après la mort prématurée de leur hôte ; à des concentrations subléthales, les chenilles et leurs parasites subissent un allongement de leur cycle, identique mais de faible importance, du fait de l'intervention tardive du traitement.

2) Etude de la taille des larves parasites en fonction du traitement bactérien des chenilles-hôtes.

Afin de préciser à quel moment apparaissent les perturbations du cycle des parasites, nous avons étudié statistiquement la longueur des larves entomophages prélevées dans des chenilles d'un âge connu.

FIG. 2. — Durée du développement des chenilles de *Pieris brassicae* (Pb.) et des larves d'*Apanteles glomeratus* (Ag.), en fonction du traitement des chenilles par une préparation commerciale de *Bacillus thuringiensis*.

Des chenilles parasitées d'*A. kuehniella*, contaminées dès l'éclosion et maintenues sur l'aliment traité à la concentration de 1/10 000, sont prélevées et fixées au liquide de Carnoy, 21, 25, 29 et 37 jours après le début du traitement, en même temps que des chenilles parasitées, non traitées. Après dissection des chenilles, la longueur des larves parasites est mesurée à la loupe binoculaire.

L'analyse de variance met en évidence une liaison négative significative à moins de 1/1 000 entre le traitement des chenilles et la taille des larves entomophages.

La diminution de la taille des parasites en fonction du traitement pourrait être provoquée par le ralentissement du développement des chenilles, puisque l'évolution du parasite est étroitement liée à celle de son hôte. En fait, les corrélations entre la présence du germe bactérien et le stade de développement des chenilles sont trop

faibles pour être décelées ici. Par conséquent, elles n'interfèrent pas avec la liaison mise en évidence entre le traitement des chenilles et la taille des larves parasites.

D'autre part, dans nos conditions expérimentales, l'analyse statistique montre que la taille des larves et celle des chenilles sont deux variables indépendantes, de même que la taille des chenilles à un moment précis de leur développement est indépendante du traitement subi.

En résumé, la taille des larves de *Phanerotoma* s'accroît du 21^e au 37^e jour du traitement, en fonction de l'âge et du stade atteints par les chenilles, mais il existe une liaison hautement significative entre la longueur des larves entomophages et le traitement bactérien des chenilles, pour un stade et un âge donnés de celles-ci, indépendamment de la taille des hôtes.

L'action continue de *B. thuringiensis*, à des doses très faibles, provoque des perturbations du développement des larves endophages de *P. flavitestacea*, avant que ne se manifestent les effets de l'infection bactérienne sur le développement des chenilles-hôtes.

Chez *P. brassicae*, notre étude se trouve compliquée par le multiparasitisme d'*A. glomeratus*.

Des chenilles, traitées au début du 5^e stade aux concentrations de 1,9, 3,0, 4,8 et 7,7 mg pour 10 ml de suspension bactérienne, sont fixées au liquide de Carnoy, 16 et 48 heures après le début du traitement.

L'analyse des résultats montre que deux variables indépendantes, le nombre de larves par chenille, d'une part, et la concentration bactérienne, d'autre part, interviennent dans les variations de taille des larves d'*Apanteles*.

Les courbes de la figure 3 représentent la longueur des larves entomophages en fonction du nombre de parasites par chenille et de la concentration du traitement bactérien. La réduction de la croissance des larves parasites, en fonction du traitement de la chenille-hôte, ne se manifeste plus quand le nombre de larves par chenille dépasse 40 environ. La liaison existant entre la longueur et le nombre des larves devient dominante et masque l'effet du traitement bactérien.

D'autre part, pour un nombre de larves inférieur à 40 par chenille, la courbe de croissance des parasites et la courbe de consommation des chenilles-hôtes ont la même allure générale.

Le ralentissement de la croissance des larves endophages, qui se traduit par un allongement final du cycle larvaire, semble résulter d'un appauvrissement du milieu nutritif que constitue la chenille-hôte. Cet appauvrissement peut être lié à la présence d'un nombre élevé de parasites par chenille ou provoqué par la réduction de consommation de la chenille et le ralentissement de son métabolisme, consécutifs à l'ingestion de *B. thuringiensis*.

Il est intéressant de noter la rapidité de la réponse du parasite, conséquence d'une interdépendance physiologique entre la chenille et l'entomophage.

3) Conséquences du traitement bactérien sur le développement des glandes séricigènes d'*A. glomeratus*.

Une étude histologique des chenilles parasitées 16 et 48 heures après le début du traitement au 5^e stade met en évidence une nouvelle manifestation de l'allongement du cycle larvaire d'*Apanteles* concernant l'évolution des glandes séricigènes.

Seize heures après le début du traitement, ces glandes ont un aspect identique dans les lots témoins et traités : en forme de tubes, s'étendant tout le long du corps, elles occupent un faible volume de la cavité générale et possèdent une lumière étroite,

FIG. 3. — Longueur des larves d'*Apanteles glomeratus* et consommation des chenilles de *Pieris brassicae*, 16 heures après le début du traitement des chenilles du 5^e stade par une préparation commerciale de *Bacillus thuringiensis*.

dépourvue de produits de sécrétion. Au contraire, 48 heures après le début du traitement, une différence très nette apparaît entre les lots témoins et traités : alors que, chez les larves issues de chenilles traitées ou privées de nourriture, les glandes séricigènes n'ont pas évolué, chez les larves issues des lots témoins, les glandes séricigènes, très contournées, occupent presque toute la cavité générale. La lumière centrale, très importante, contient des produits de sécrétion.

Nous avons pu quelquefois observer la sortie de larves parasites, de chenilles du 5^e stade présentant tous les symptômes de l'intoxication bactérienne. Ces larves se desséchaient et mouraient sans avoir tissé le cocon de nymphose, bien qu'aucun substrat particulier ne soit nécessaire à la confection du cocon, chez *A. glomeratus*. L'étude des coupes histologiques nous incite à penser que les larves mortes ainsi, incapables de se nymphoser, sont sorties précocement, avec des glandes séricigènes non fonctionnelles.

Nous n'avons pas pu mettre en évidence d'autres modifications dans la structure des tissus des larves d'*Apanteles* après contamination des chenilles-hôtes : il n'y a pas d'action directe de *B. thuringiensis* sur les tissus des larves entomophages, mais seulement une action indirecte, liée aux perturbations du développement et du métabolisme des chenilles-hôtes.

Conclusion

Le traitement avec une préparation de *Bacillus thuringiensis* de chenilles parasitées par des Hyménoptères provoque un ralentissement du développement des chenilles survivantes, et par conséquent de leurs parasites. Ce ralentissement présente les mêmes caractéristiques que la réduction de consommation observée chez les chenilles : il se manifeste très rapidement après l'infection bactérienne, et son importance est liée à la concentration de la préparation et surtout à la durée du contact.

Si celle-ci est courte, la réduction de consommation n'est que momentanée ; les chenilles sensibles à l'intoxication bactérienne meurent rapidement, ce qui provoque la mort des parasites. Les chenilles survivantes libèrent normalement leurs parasites, et le retard acquis en fin d'évolution reste peu important.

Si le contact avec la préparation bactérienne est prolongé, le ralentissement de l'évolution larvaire des Lépidoptères s'accroît, mais la durée du développement atteint une limite au-delà de laquelle les chenilles et les parasites ne peuvent survivre. Aux faibles doses, les chenilles sensibles meurent plus ou moins rapidement, mais les larves parasites dont l'évolution est inachevée sont incapables de survivre.

Seules peuvent se nymphoser les larves dont les chenilles-hôtes ont vécu assez longtemps pour leur permettre d'atteindre leur troisième et dernier stade, et d'accumuler dans les glandes séricigènes la soie nécessaire à la confection de leur cocon de nymphe. Laigo et Tamashiro, 1966, et Laigo, 1967, ont établi des conditions de survie identiques pour les larves d'*Apanteles marginiventris* et *Apanteles glomeratus*, parasites de chenilles atteintes de viroses.

Chez *A. glomeratus* et *P. flavitestacea*, le 3^e stade larvaire, très court, survient à la fin de la vie endophage, au cours du dernier stade de la chenille, ce qui explique l'incapacité pour les parasites de survivre à la mort prématurée de leur hôte.

Bibliographie

- BILIOTTI (E.), 1956. — Entomophages et maladies des Insectes. *Entomophaga*, 1, 45-53.
BILIOTTI (E.), 1956. — Relations entre agents pathogènes et Entomophages. *Entomophaga*, 1, 101-103.
BILIOTTI (E.) et DAUMAL (J.), 1969. — Biologie de *Phanerotoma flavitestacea* F. (Hymenoptera, Braconidae). Mise au point d'un élevage permanent en vue de la lutte biologique contre *Ectomyelois ceratoniae* Zell. *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 1, 379-394.

- BURGERON (A.), 1956. — Pulvérisation et poudrage au laboratoire par des préparations pathogènes insecticides. *Ann. Epiphyties*, 7, 677-686.
- BURGERON (A.), 1962. — Relation entre l'intoxication provoquée par *Bacillus thuringiensis* Berliner et la consommation chez *Pieris brassicae* L. *Ann. Epiphyties*, 13, 59-72.
- BURGERON (A.) et YAMVRIAS (G.), 1959. — Tirage biologique des préparations à base de *Bacillus thuringiensis* Berliner vis-à-vis de *Anagasta kuehniella* Zell. *C.R. Acad. Sci. (Paris)*, 249, 2871-2872.
- BURGERON (A.) et YAMVRIAS (G.), 1960. — Méthode de titrage biologique des préparations à base de *Bacillus thuringiensis* avec *Anagasta kuehniella* Zell. *XI^e Cong. Intern. Entom.*, Vienne.
- DUSAUSOY (G.) et DELPLANQUE (A.), 1964. — L'élevage de *Pieris brassicae* en toutes saisons. Accouplement et ponte en conditions artificielles. *Rev. Pathol. Veg.*, 43, 119-134.
- GRISON (P.) et DE SACY (R.-S.), 1956. — L'élevage de *Pieris brassicae* pour les essais de traitements microbiologiques. *Ann. Epiphyties*, 4, 663-676.
- LAIGO (F.-M.), 1967. — Interrelationships between the entomogenous pathogen and entomophagous parasites of the imported cabbageworm *Pieris rapae* L. *Purdue University*, Order 67, 16-670.
- LAIGO (F.-M.) et TAMASHIRO (M.), 1966. — Virus and insect parasite interaction in the lawn-armyworm, *Spodoptera mauritia acronyctoides* Guenée. *Proc. Hawaiian Entomol. Soc.*, 19, 233-237.
- MARCHAL-SÉGAULT (D.), 1974. — Sensibilité des Hyménoptères Braconides *Apanteles glomeratus* L. et *Phanerotoma flavitestacea* F. au complexe spores-cristaux de *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Ann. Zool. Ecol. anim.*, 6, 521-528.
- 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 kuehniella* Zell. *Entomophaga*, 7, 101-160.
-