

Effets démographiques du diflubenzuron sur la mouche tsétsé

Jacqueline MOURET ⁽¹⁾

Résumé

Le diflubenzuron, 1-(4-chlorophenyl)-3-(2,6-difluorobenzoyl) urée, est connu depuis plusieurs années pour son pouvoir insecticide, son utilisation sur le terrain posant encore de nombreuses questions. Des expériences en laboratoire montrent que les applications topiques de ce produit dans l'acétone affectent la reproduction des glossines à un degré qui est fonction directe de la dose. Nous avons repris ces analyses sur *Glossina palpalis gambiensis* Vanderplank en examinant les conséquences démographiques de cet insecticide.

Le diflubenzuron n'a pas d'effet sur la longévité des femelles ou, aux faibles doses, sur le nombre de pupes produites ; mais la plupart d'entre elles présentent un puparium déformé d'où les adultes n'émergent pas.

Ce composé, qui affecte le développement des stades immatures de nombreuses espèces d'Arthropodes, est généralement considéré comme un inhibiteur de la biosynthèse de la chitine.

Mots-clés : Diflubenzuron — *Glossina palpalis* — Reproduction.

Summary

DEMOGRAPHIC EFFECTS OF DIFLUBENZURON ON TSETSEFLY. Experiments are carried out to determine the effects of the insect growth regulator, diflubenzuron on adult female *Glossina palpalis gambiensis* Vanderplank. As already reported (Jordan et al., 1979), we find that the proportion of survivals among females is not decreased by the pesticide. For average doses, the pupae are produced in normal quantity, but the emergence is often inhibited. Males do not suffer from treatment and females only have to be treated. Pupae show a strong loss of weight, which probably corresponds to evaporation across a modified cuticle. The dense laminated procuticle of normal pupa is transformed into a loose lattice in the abnormal specimens. Measurements of length and width show large fluctuations, whereas these dimensions are very constant in normal pupae. The origin of these defects in the integument seems to be linked to the absence of sclerotization, and to the looseness of the fibrous material in the procuticle. It is generally assumed that chitin synthesis is inhibited by diflubenzuron, but our observations support a different hypothesis, considering certain cuticular proteins as the possible target of this pesticide.

Key words : Diflubenzuron — *Glossina palpalis* — Breeding.

(1) Entomologiste I.E.M.V.T., 10 rue Pierre-Curie, 94700 Maisons-Alfort.

Introduction

Les propriétés insecticides du diflubenzuron et de ses principaux analogues ont été évaluées et examinées de manière comparée chez les larves de plusieurs espèces appartenant aux Diptères, Lépidoptères, Coléoptères, Hémiptères et notamment chez les Glossines (Jordan et Trewern, 1978 ; Jordan *et al.*, 1979).

Le diflubenzuron présente à la fois des effets ovicide et larvicide qui apparaissent après contamination des stades immatures ou adultes par ingestion ou contact direct.

En général, tous les stades larvaires peuvent être contrôlés par cet insecticide dont l'action se manifeste au moment de la mue qui suit le traitement, la larve étant alors incapable de s'extraire de l'exuvie. Appliqué sur des œufs ou des femelles gravides, il empêche l'émergence de la larve qui se développe normalement à l'intérieur de l'œuf mais ne peut en sortir, bien que parfois elle parvienne à en briser la paroi (Grosscurt, 1978).

Chez les Glossines, larvipares, l'éclosion des œufs *in utero*, l'embryogénèse et le développement larvaire ont lieu normalement jusqu'à la pupaison, toujours imparfaite (Jordan et Trewern, 1978).

Nous étudions ici les effets du diflubenzuron sur des populations de *Glossina palpalis gambiensis*, et tentons de préciser l'origine des anomalies présentées par les pupes issues de femelles traitées, par une analyse biométrique de la taille et du poids de ces pupes.

Matériel et méthodes

Glossina palpalis gambiensis Vanderplank, provient d'un élevage entrepris au laboratoire d'entomologie de l'IEMVT à Maisons-Alfort.

Les adultes sont exclusivement nourris sur oreilles de lapins, six jours par semaine.

Les femelles reproductrices sont maintenues à une température de $25^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et une humidité relative d'environ 80 % (± 5 %). Les pupes placées dans des tubes de verre stériles, sont stockées jusqu'à éclosion dans une pièce isolée à $24^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ et à 80-85 % d'humidité relative.

La photopériode est de 12 heures de jour — 12 heures d'obscurité.

Le diflubenzuron (fig. 1) se présente à l'état pur sous forme de cristaux blancs très peu solubles dans l'eau (0,2 ppm à 20°C) et relativement solubles dans les solvants organiques. L'acétone, le

plus généralement utilisé, permet au composé, en dissolvant les cires, de traverser la cuticule.

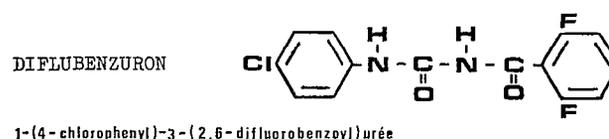


FIG. 1. — Structure du diflubenzuron.

Pour nos expériences, les solutions de diflubenzuron dans l'acétone sont préparées à partir d'un concentré émulsionnable à 5 %. Chaque individu est traité par application topique : une goutte de solution de 0,36 μl environ est déposée sur le thorax, côté dorsal, au moyen d'un applicateur capillaire.

Nous avons étudié la descendance de divers lots d'adultes en captivité, en comparant des populations traitées et des témoins. Chaque série d'expériences porte sur 20 femelles accouplées à l'âge de trois jours avec 20 mâles âgés de sept jours.

Les mouches sont mises à s'accoupler pendant 3 jours au terme desquels on effectue les tests sur les femelles seules.

Les mouches sont alors endormies au gaz carbonique et une goutte de diflubenzuron en solution est appliquée sur chacune d'elle. Pour les témoins, on dépose seulement une goutte du solvant pur.

Les glossines reprennent vie dans l'air et sont mises en observation dans des cages de type Roubaud ($14 \times 8,5 \times 5$ cm) placées sur des récipients de verre. Les larves pondues tombent dans les récipients où elles se transforment en pupes.

Les larves de troisième stade sont expulsées 17 à 19 jours après l'accouplement. Lorsque les femelles sont traitées, la pupaison a lieu en général, mais avec de visibles anomalies et beaucoup de pupes n'éclosent pas.

Nous avons étudié les taux de survie des individus traités en les comparant aux témoins, et dénombré les pupes produites normales ou anormales et, éventuellement celles d'entre elles ayant abouti à l'éclosion.

Les pupes ont fait l'objet de certaines mesures (longueur, largeur, poids, perte de poids à partir du jour de la larviposition) et les variances correspondantes ont été calculées.

Résultats

Le taux de survie (ou longévité) et le nombre de descendants (larves et pupes) ont été suivis

Effets du diflubenzuron sur la mouche tsétsé

chez des lots de 20 femelles de *Glossina palpalis gambiensis*. Nous avons représenté sur la figure 2 en A et B, le comportement d'une population témoin et d'une seconde population traitée par le diflubenzuron à la dose de 0,225 µg/mouche.

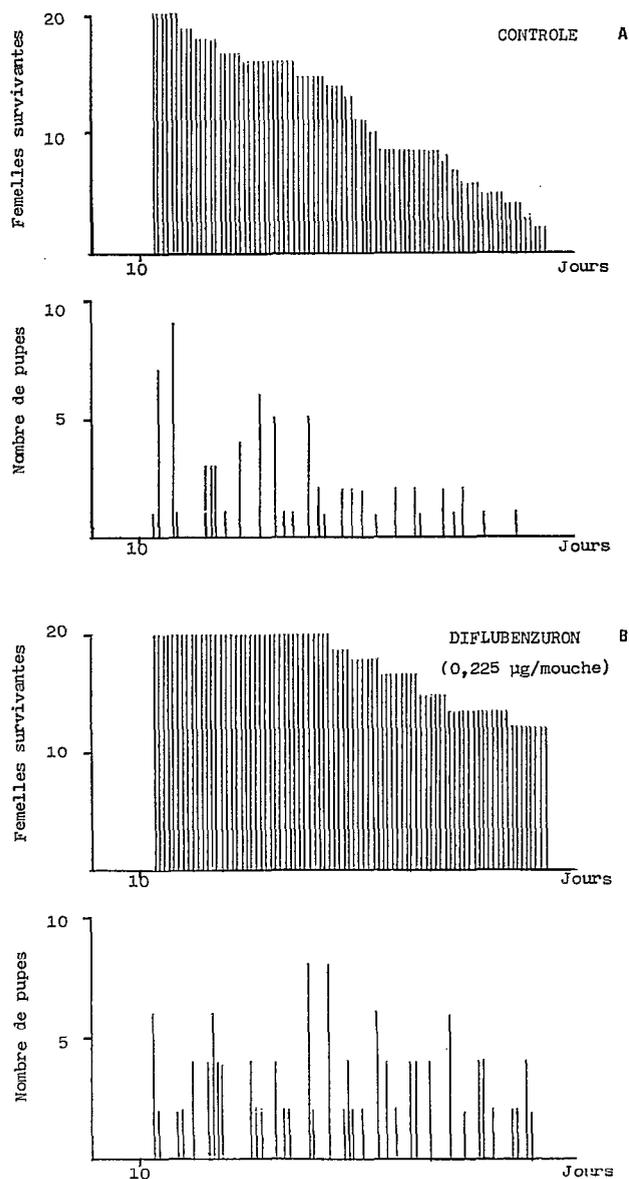


FIG. 2. — Effectif des femelles et nombre de pupes recensées chaque jour, d'une population de *G. palpalis gambiensis* traitée à la dose de 0,225 µg de DFB par mouche adulte

L'effectif des femelles témoins, recensées chaque jour, décroît assez régulièrement à partir du quinzième jour pour disparaître complètement au bout de cent jours. La production quotidienne de pupes va en diminuant de manière parallèle.

Il est intéressant d'observer que dans la population traitée par le diflubenzuron, la proportion de femelles survivantes reste nettement plus élevée que chez les témoins. La production en pupes est corrélativement meilleure.

Notons que cette longévité plus importante n'est pas générale. On l'observe parfois, mais nous ne connaissons pas d'exemple de diminution de la longévité sous l'action du diflubenzuron.

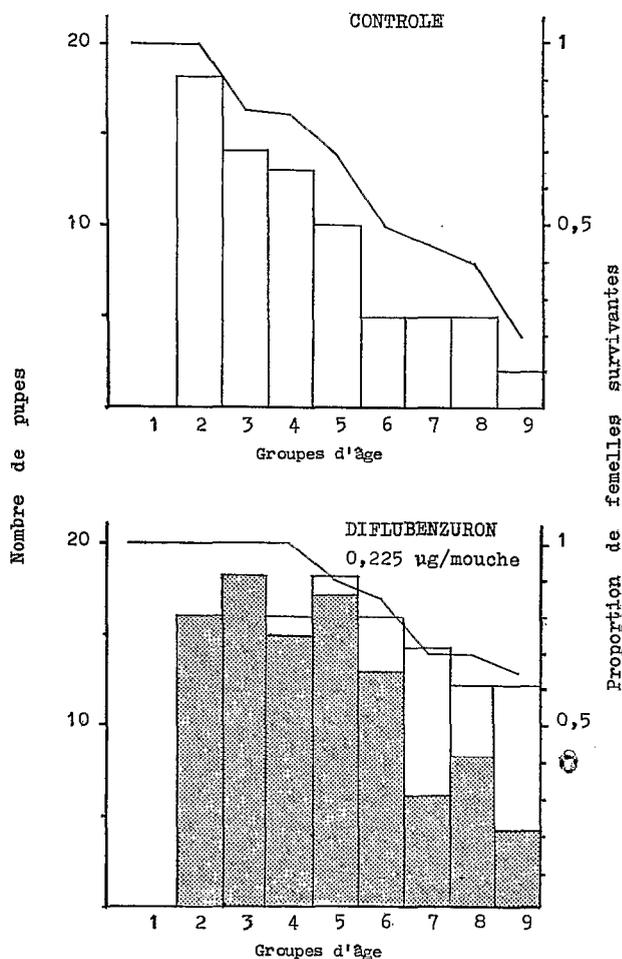


FIG. 3. — Longévité (graphe) et production de pupes apparemment normales (histogramme ouvert) et anormales (histogramme ombré) par des femelles de *G. palpalis gambiensis* traitées par application topique de DFB à la dose de 0,225 µg/mouche

Le rythme des pontes n'est pas altéré par l'insecticide et tourne autour d'une larviposition tous les 9 à 10 jours, la première se produisant 15 à 18 jours après l'accouplement. Il est donc commode de présenter la production des pupes en fonction de groupes d'âge échelonnés sur des périodes de 10 jours qui correspondent à un cycle d'ovulation théorique. On établit un histogramme où l'on somme l'ensemble des larves et pupes obtenues dans chaque tranche successive de 10 jours. Toutes les mouches de la population étant contemporaines, cela donne sensiblement l'effectif de la première ponte, puis celui d'ordre 2, 3, etc... Selon ce principe, les résultats directs de la figure 2 sont transposés dans la figure 3.

Les effectifs des femelles survivantes étant recensés tous les dix jours, on indique dans chaque tranche de l'histogramme le nombre de pupes apparemment normales (en blanc) qui d'ailleurs ne donneront pas forcément lieu à éclosion, et anormales (en ombré). Sont comptées dans ce nombre les larves de troisième stade n'ayant pu pupé.

On constate que l'effet de l'insecticide diminue au cours du temps : le diflubenzuron est totalement efficace sur les deux premiers cycles d'ovulation mais des pupes normales apparaissent dès le troisième cycle. Pour 0,255 µg/mouche, la moitié des pupes de septième génération donne lieu à éclosion, et à la dixième ou onzième génération toutes les pupes produisent des adultes normaux.

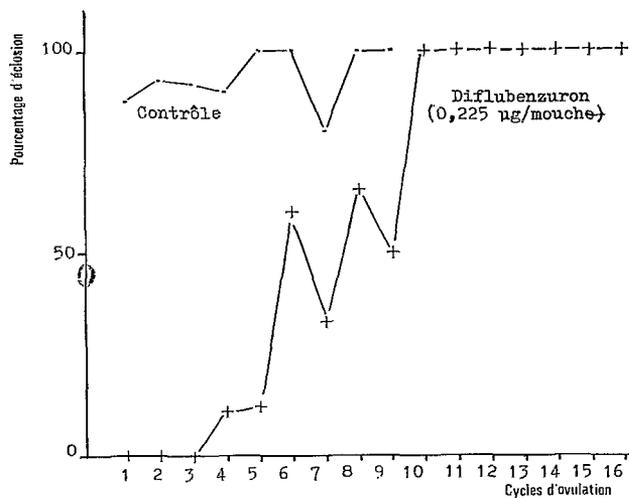


FIG. 4. — Phénomène d'échappement à l'action du DFB au cours des cycles d'ovulation chez *G. palpalis gambiensis*

Ce phénomène d'échappement à l'action du diflubenzuron au cours des cycles d'ovulation successifs est représenté sur la figure 4 en comparant la population contrôle et la population traitée de la figure 2. Au lieu de recenser les pupes normales ou anormales, nous avons enregistré les pourcentages d'éclosion, ce qui ne change pas qualitativement les résultats.

Nous avons répété avec la même espèce de glossine des expériences similaires en utilisant le diflubenzuron à la plus forte dose, 3,6 µg/mouche (fig. 5). La longévité, dans ce cas, semble affectée,

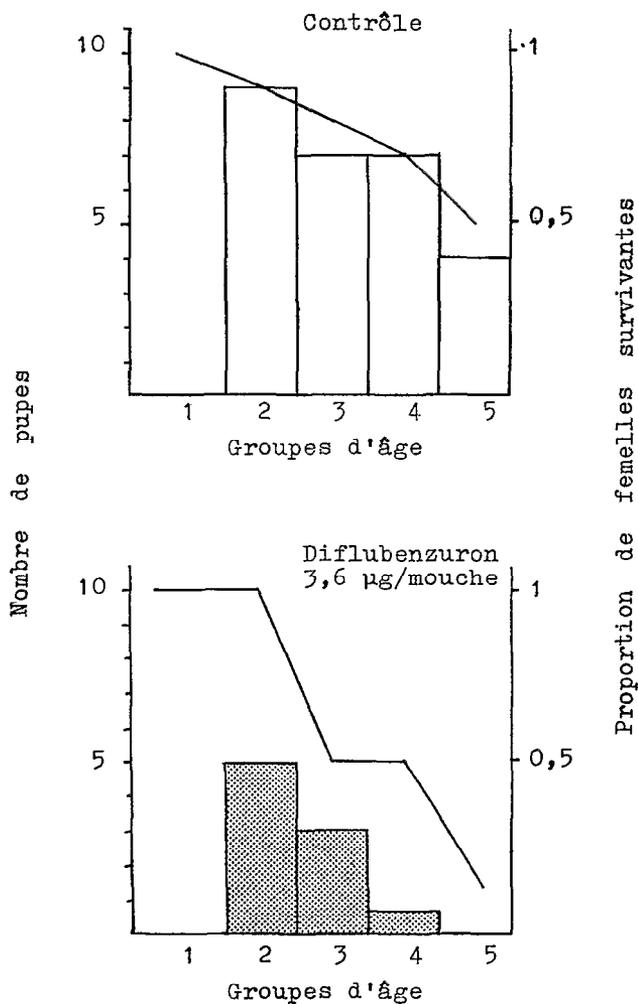


FIG. 5. — Longévité (graphe) et production de pupes apparemment normales (histogramme ouvert) et anormales (histogramme ombré) par des femelles de *G. palpalis gambiensis* traitées par application topique de DFB à la dose de 3,6 µg/mouche

Effets du diflubenzuron sur la mouche tsétsé

la proportion de femelles survivantes diminuant rapidement au cours des 5 cycles d'ovulation observés. Les pontes sont parallèlement très faibles et profondément altérées, certains cycles (ici le cinquième) pouvant ne produire aucune descendance. Celle-ci, surtout au cours des premiers cycles comporte essentiellement des larves de 3^e stade qui ne parviennent pas à traverser les mailles de la cage

d'observation pour tomber dans le récipient où se fait généralement la pupaison. Toutes meurent avant de pouvoir s'empuper. Les pupes produites par la suite sont très déformées avec des intumescences importantes.

Nous avons porté dans le tableau I, pour chaque lot, le nombre de pupes produites, le pourcentage d'éclosion et le sex-ratio.

TABLEAU I

Taux d'éclosion de pupes produites par des femelles de *G. palpalis gambiensis* traitées par des applications topiques de DFB aux doses de 0,225 et 3,6 µg/mouche, et évaluation de leur productivité (P) (temps d'observation : 43 jours après l'accouplement)

	Dose (µg/mouche)	Nombre de pupes produites	Pourcentage d'éclosion	Sex-ratio ♀/♂	Valeur de P
Lots de 20 ♀	0,225	50	0	-	0,083
	Contrôle	45	91	21/20	0,087
Lots de 10 ♀	3,6	9	0	-	0,062
	Contrôle	26	50	8/5	0,117

3^e col. en bas, 50 : pourcentage anormalement bas (voir texte).

Pour les populations témoins, les pourcentages d'éclosion sont toujours supérieurs à 90 % (excepté pour un des lots de dix *G. palpalis gambiensis* dont le pourcentage est de 50 % et que nous supposons dû à une variation brusque des conditions d'élevage, température ou humidité, ou bien à l'introduction accidentelle d'une substance toxique dans la salle d'élevage).

Chez les populations traitées, même à des doses faibles de diflubenzuron, aucune éclosion n'est observée, du moins au cours des premiers cycles d'ovulation car le phénomène d'échappement fait apparaître des pourcentages de plus en plus élevés en fonction du temps d'observation des lots de mouches.

L'étude des sex-ratio nous indique que d'une

manière générale, les femelles sont produites en plus grand nombre que les mâles.

Nous savons que les pupes de glossines perdent progressivement du poids au cours de la vie pupale. Jusqu'au 5^e jour après la larviposition, la pupa proprement dite n'est pas encore formée et la larve de 4^e stade, à l'intérieur du puparium, perd beaucoup d'eau. Après le 5^e jour et jusqu'à l'éclosion, les pertes sont minimales (Bursell, 1958).

Des pupes produites par des femelles de *G. palpalis gambiensis* traitées par des applications topiques de DFB à la dose de 0,225 µg/mouche, ont été pesées deux fois au cours du stade pupal : entre le 5^e et le 7^e jour, puis quelques jours avant leur éclosion (le 35^e jour environ).

Les pertes de poids, rapportées aux poids des larves au moment de la larviposition, ont été calculées pour les 7 premiers jours de la vie pupale (fig. 6 A), et pour l'ensemble de la vie de la pupa (fig. 6 B).

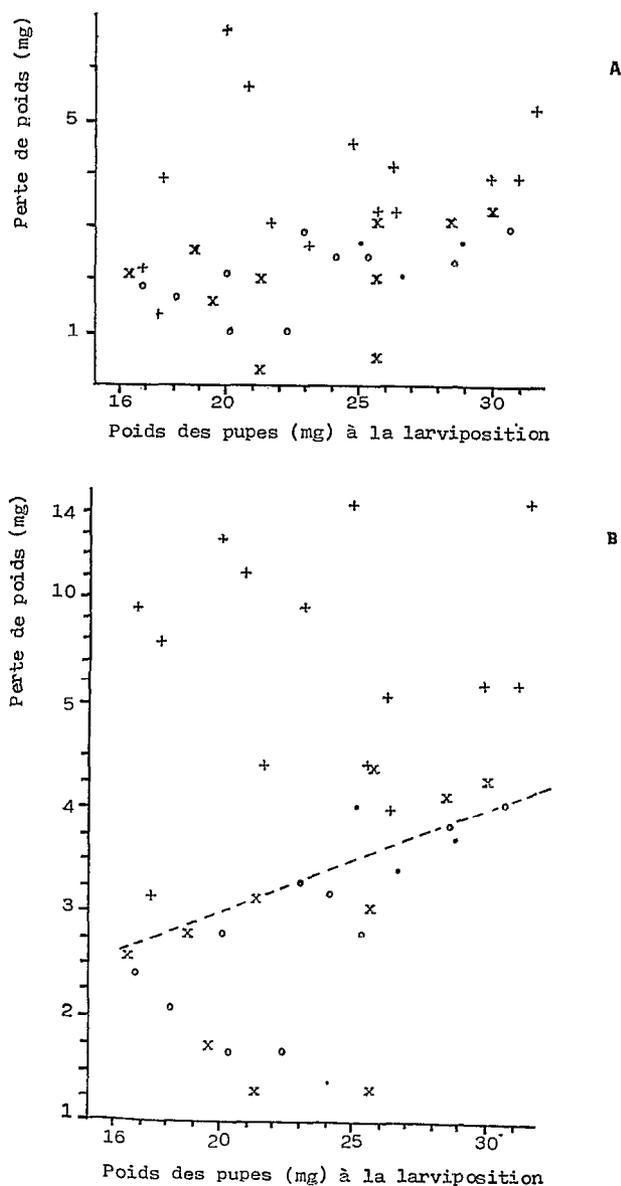


FIG. 6. — Perte de poids des pupes de *G. palpalis gambiensis* en fonction de leur poids le jour de la larviposition. A : durant les 7 premiers jours de la vie pupale ; B : durant toute la vie pupale (° = pupes témoins écloses ; × = pupes témoins non écloses ; . = pupes traitées (0,225 µg/mouche) écloses ; + = pupes traitées non écloses ; droite en tirets : limite de la perte de poids tolérée)

Il apparaît nettement que les pertes de poids sont beaucoup plus fortes pour les pupes produites par les individus traités et notamment les pupes qui ne donneront pas lieu à éclosion.

La diminution de poids correspond chez des pupes normales à une perte d'eau, et il est probable que le DFB, en altérant la structure tégumentaire des pupes selon l'hypothèse généralement admise, facilite et augmente la déshydratation.

Il est possible de définir une limite de tolérance (fig. 6 B) au-delà de laquelle la perte de poids trop importante empêche toute éclosion.

Les pupes produites par des femelles traitées étant souvent très déformées, nous avons également comparé la taille des pupes traitées à celle des pupes témoins de l'expérience précédente.

Nous avons mesuré leur longueur totale, lobes polypneustiques compris, et leur largeur, qui correspond au plus grand diamètre, avec un objectif 0,6, coefficient micrométrique 154. Les variances correspondantes ont été calculées (tabl. II).

La longueur moyenne des pupes obtenues à partir de femelles traitées, est légèrement supérieure à celle des pupes témoins. La différence est plus faible pour la largeur. S'il y a peu de variation entre les mesures directes, on constate des variances beaucoup plus élevées chez les pupes issues d'individus traités. La fluctuation passe du simple au double pour une concentration de 0,225 µg de DFB par mouche femelle.

Ces fluctuations plus fortes sont probablement liées à diverses anomalies morphologiques que présentent les pupes produites par les femelles traitées. De couleur sombre comme les pupes normales, leur puparium est plus souple et moins cassant. Leur contour externe demeure profondément ridé, chaque sillon correspondant à l'articulation entre deux segments. La forme ellipsoïdale du puparium est moins régulière et on observe souvent des intumescences latérales. L'importance des déformations pupales est fonction de la concentration de diflubenzuron appliquée.

En dernier lieu, nous avons calculé pour chaque lot la productivité des femelles (tabl. I). On l'évalue par la relation suivante :

$$P = \frac{\text{Nombre de pupes}}{\text{Nombre de femelles reproductrices} \times \text{jours}}$$

Le nombre de femelles reproductrices × jours est obtenu en additionnant le nombre de mouches vivantes chaque jour, à partir du jour de l'expulsion de la première larve. La longévité d'une glosine étant de 100 jours environ, et son cycle d'ovu-

TABLEAU II

Taille des pupes de *G. palpalis gambiensis* provenant d'un lot témoin et d'un lot de femelles traitées au DFB (0,225 µg/mouche) en application topique

Lots de: Effectif:	Pupes traitées			Pupes témoins		
	17			20		
	min.	max.		min.	max.	
	m		m			
LONGUEUR (mm)	5,08	5,72	6,31	5,08	5,48	6,00
Variance	0,170			0,082		
Ecart-type	0,412			0,286		
LARGEUR (mm)	2,46	2,82	3,23	2,54	2,88	3,15
Variance	0,045			0,031		
Ecart-type	0,212			0,176		
COMPARAISON DES MOYENNES (test \underline{t})	Longueur : $\underline{t} = 2,05$ Différence significative au seuil 5% . Largeur : $\underline{t} = 0,98$ Différence significative au seuil 40% .					

lation de 10 jours, P a une valeur théorique égale à 0,1.

Les chiffres obtenus dans l'ensemble des populations sont extrêmement variables.

En fait, la productivité peut être ramenée à une autre relation :

$$P = \frac{1}{\text{Durée du cycle d'ovulation}}$$

Or, pour une même mouche la durée des cycles successifs varie considérablement, allant de 7 à 11 jours (observations faites sur des femelles de *G. palpalis gambiensis* isolées). On comprend alors aisément la variabilité des valeurs de la productivité calculées pour des groupes de 10 ou 20 individus. La seconde relation permet de déterminer par conséquent la durée moyenne des cycles d'ovulation pour le lot considéré. Les valeurs faibles de la

productivité indiquent que la durée des cycles est supérieure à 10 jours, et les valeurs dépassant le chiffre théorique de 0,1, une durée moyenne inférieure à 10 jours.

La première relation reste évidemment la seule applicable pour l'évaluation de la productivité de populations de glossines, et la comparaison des groupes traités avec les groupes témoins semble montrer une légère baisse de la fécondité sous l'action du diflubenzuron.

Nous avons représenté graphiquement (fig. 7) ces variations de longueur et de largeur à partir des mesures directes. Si pour les pupes témoins les valeurs restent proches de la moyenne, on observe pour les pupes traitées un étalement des mesures de part et d'autre de la valeur moyenne, notamment pour les longueurs, conformément aux variances obtenues.

moins pour une dose moyenne de 0,225 µg par mouche). Cette dose suffit à empêcher la sclérisation et la procuticule se dilue en un réseau lâche. Rien n'indique que la chitine soit absente. C'est le réseau qui est modifié.

La sclérisation est un processus qui intéresse les protéines et non la chitine. Il a été montré que le dépôt des protéines dans les zones cuticulaires sclérisées est légèrement affecté par le diflubenzuron (Hillerton et Vincent, 1979 ; Ker, 1977). L'hypothèse retenue est que les protéines n'étant pas stabilisées par le tannage, l'incorporation de nouvelles protéines est inhibée. Plus précisément, Clarke *et al.* (1977), en étudiant les effets du diflubenzuron sur la production de la membrane péritrophique chez *Locusta migratoria*, ont observé tout d'abord une augmentation de l'apparence fibreuse de cette membrane chez les individus traités et ensuite une réduction en poids. Ils expliquent cette production réduite de la membrane péritrophique par les insectes traités par une incapacité de cette structure cuticulaire à stabiliser les protéines.

Il apparaît, en conclusion, que les effets du diflubenzuron sur la cuticule des insectes ne peu-

vent être ramenés à une action directe et isolée de l'insecticide sur la synthèse de la chitine. Son action parallèle sur les protéines cuticulaires est évidente et se manifeste par un défaut de sclérisation.

Indépendamment de leur intérêt sur un plan fondamental, ces analyses en laboratoire ont pour but de rechercher les moyens de limiter de manière plus spécifique l'emploi de cet insecticide. En effet aux fortes concentrations, le diflubenzuron inhibe complètement la reproduction de nombreuses espèces.

On peut donc s'attendre à long terme à des conséquences néfastes pour de nombreux écosystèmes de la faune arthropodienne. Par contre, on peut raisonnablement envisager l'utilisation de cet insecticide dans un cadre limité.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à remercier ici M. J. Itard d'avoir mis à notre disposition toutes les glossines nécessaires à nos expériences, ainsi que M. Y. Bouligand qui a bien voulu nous aider dans la rédaction de notre manuscrit.

Manuscrit reçu au Service des Éditions de l'O.R.S.T.O.M.,
le 4 mars 1983.

BIBLIOGRAPHIE

- BURSELL (E.), 1958. — The water-balance of tsetse pupae. *Phil. Trans. R. Soc. (B)*, 241 : 179.
- CLARKE (L.), TEMPLE (G. H. R.) et VINCENT (J. V. F.), 1977. — The effect of a chitin inhibitor — dimilin — on the production of peritrophic membrane in the locust, *Locusta migratoria*. *J. Insect Physiol.*, 23 : 241-246.
- GROSSCURT (A. C.), 1978. — Diflubenzuron : some aspects of its ovicidal and larvicidal mode of action and an evaluation of its practical possibilities. *Pest. Sci.*, 9 : 373-386.
- HILLERTON (J. E.) et VINCENT (J. F. V.), 1979. — The stabilisation of insect cuticle. *J. Insect Physiol.*, 25 : 957-963.
- JORDAN (A. M.) et TREWERN (M. A.), 1978. — Larvicidal activity of diflubenzuron in the tsetse fly. *Nature*, 272 : 719-720.
- JORDAN (A. M.), TREWERN (M. A.), BORKOVEC (A. B.) et DE MILO (A. B.), 1979. — Laboratory studies on the potential of three IGRs for control of the tsetse fly, *Glossina morsitans* Westwood (Diptera : Glossinidae). *Bull. Ent. Res.*, 69 : 55-64.
- KER (R. F.), 1977. — Investigation of locust cuticle using the insecticide diflubenzuron. *J. Insect Physiol.*, 23 : 39-48.
- ZOMER (E.) et LIPKE (H.), 1981. — Tyrosine metabolism in *Aedes aegypti*. II. Arrest of sclerotization by MON 0585 and diflubenzuron. *Pest. Biochem. Physiol.*, 16 : 28-37.