

601

Fonds Documentaire IRD  
Cote: B\* 23110 Ex: Unique

ENTOMOPHAGA 36 (1), 1991, 121-129

Exemplaire unique

# L'INDUCTION MATERNELLE DE LA DIAPAUSE LARVAIRE CHEZ *DINARMUS ACUTUS* [HYM. : PTEROMALIDAE]

G. FABRES (\*) & C. REYMONET (\*\*)

(\*\*) IBEAS, URA CNRS 1339, Campus universitaire, 64000 Pau  
(\*) ORSTOM-IBEAS, Campus universitaire, 64000 Pau

Dans la région béarnaise, la récolte des gousses mûres de *Lathyrus sylvestris* et de *Lathyrus latifolius*, avant la déhiscence, puis la mise en éclosoir de leurs graines, permet l'obtention des adultes de la bruche *Bruchus affinis* et de son ectoparasite larvaire *Dinarmus acutus*. Ces derniers sortent en petits nombres à l'automne de la même année puis de façon massive au printemps de l'année suivante, après une diapause au dernier stade larvaire.

Un élevage en continu, de nombreuses générations successives, en conditions semi naturelles de température et de photopériode, a montré la présence simultanée d'individus diapausants et non diapausants tout au long de l'hiver, et l'absence totale de diapausants dès le mois de mai. Les larves diapausantes produisent une substance orangée qui marque l'arrêt de développement.

Compte tenu de la biologie de la bruche et de son parasite larvaire : développement larvaire à l'intérieur des graines et vie des adultes à l'extérieur, nous avons choisi d'étudier l'influence des conditions thermiques sur les larves et de la photopériode sur les adultes du parasite.

Les résultats obtenus montrent que les températures basses n'induisent pas d'arrêt de développement. Par contre, une photopériode jours courts, appliquée aux adultes, provoque l'entrée en diapause d'un fort pourcentage des larves de la descendance. Les résultats présentent une certaine variabilité selon la descendance et le rang de la ponte.

Le détail des résultats est examiné dans le cadre de l'induction maternelle de la diapause larvaire et de l'hypothèse d'une horloge chimique à l'origine du marquage des diapausants (substance orangée) et de la variabilité enregistrée.

MOTS CLÉS : *Dinarmus acutus*, diapause, induction maternelle, photopériode.

Dans la région béarnaise, la récolte des gousses mûres de *Lathyrus latifolius* L. et de *Lathyrus sylvestris* L. avant leur déhiscence, et la mise en éclosoir des graines qu'elles contiennent, permettent d'obtenir l'émergence des adultes de la bruche *Bruchus affinis* Frölich et de son parasite larvaire *Dinarmus acutus* Thompson.

A partir des graines récoltées en août, on obtient des parasites qui éclosent presque tous en automne. Des graines récoltées en septembre-octobre et qui sont conservées dans les mêmes conditions, on obtient 2 lots d'adultes : un petit nombre apparaît à l'automne de la même année, puis la majorité des individus au printemps de l'année suivante.

Comme il est impossible d'élever *B. affinis* en permanence au laboratoire car c'est une espèce univoltine qui ne pond que sur des gousses vertes (Bashar et al., 1987), l'élevage de



*D. acutus* est conduit sur un hôte plurivoltin qui peut se reproduire en présence de graines sèches. Nous avons choisi *Callosobruchus maculatus* F. dont les larves se développent dans des graines de *Vigna radiata* (L.) Wilczek. Dans ces conditions d'élevage du parasite, nous avons montré l'existence d'un arrêt de développement au stade larve âgée, analogue à la diapause rapportée par **Leong & Dickason** (1975) pour cette même espèce (**Reymonet et al.**, 1987).

Au cours de la diapause, les larves du dernier stade éliminent une « substance orange » dont la présence peut être exploitée comme un marqueur physiologique externe de la diapause (**Reymonet et al.**, 1987). L'objectif de notre étude fut de mettre en évidence, en utilisant cet outil qu'est le marqueur externe de l'arrêt de développement, les mécanismes responsables de l'induction de la diapause et de formuler des hypothèses sur le déroulement de ce processus adaptatif chez *D. acutus*.

Comme l'arrêt de développement peut être observé en présence d'hôtes qui présentent eux-mêmes une diapause imaginale (*B. affinis*) ou qui n'en présentent pas, comme *C. maculatus* ou *Acanthoscelides obtectus* Say, pour lequel nous avons fait une petite expérimentation annexe, nous n'avons pas pris en compte les possibles relations hormonales entre l'hôte et son parasite. Par contre, comme les températures nocturnes deviennent plus fraîches, et les jours plus courts, au moment où ce mécanisme se met en place dans les populations naturelles (automne), c'est à l'étude des facteurs thermopériode et photopériode que nous nous sommes surtout attachés.

Bien qu'ectoparasites des larves de *B. affinis*, les larves de *D. acutus* se développent à l'intérieur des graines occupées par les bruches, graines qui sont elles-mêmes contenues dans les gousses. Bien que chez certains endoparasites, des larves relativement protégées soient sensibles à la longueur du jour (**Claret**, 1973), nous avons écarté l'hypothèse d'une influence directe de la photopériode sur le développement des larves, pour nous intéresser à une éventuelle induction maternelle de la diapause larvaire. Des cas d'induction maternelle de diapause larvaire ont été répertoriés chez de nombreux insectes dont des Chalcidiens (revue in **Danks**, 1987). C'est la raison pour laquelle l'influence de la seule thermopériode a été testée chez les larves alors que l'influence de la photopériode a été étudiée sur les adultes parentaux.

#### OBSERVATIONS PRÉLIMINAIRES

Nous avons travaillé à partir de parasites éclos au printemps, de gousses (et graines) ramassées à l'automne de l'année précédente (20 adultes la première année et 36 l'année suivante). Ils sont sortis indifféremment de graines de *L. sylvestris* ou de *L. latifolius* ayant hébergé des larves de *B. affinis*. Les premiers parasites obtenus ont été identifiés par **J. R. Steffan**. Sachant que la cohabitation de *D. acutus* avec une autre espèce (*Dinarmus italicus* Masi) est théoriquement possible dans notre région (**J. Y. Rasplus**, comm. pers.) nous avons vérifié que nous n'avions élevé que *D. acutus*. L'identité de la nervation alaire dans des séries de ♀♀ ou de ♂♂ ainsi que l'absence d'une stérilité anormalement élevée chez les couples expérimentés, nous ont convaincu de la présence d'une seule espèce en élevage.

Au cours de 2 années consécutives de récolte de graines, nous avons systématiquement dénombré les adultes de *D. acutus* émergeant des gousses récoltées sur le terrain, soit à l'automne de la même année soit au printemps de l'année suivante, et nous avons examiné leur situation au regard de la diapause (développement relativement court ou long) en fonction de la date de récolte des gousses. En accord avec les observations des années précédentes, on note que les récoltes les plus précoces fournissent en majorité des adultes à développement court, éclosant à l'automne de la même année, alors que des graines

récoltées tardivement sortent en majorité des adultes à développement long (tableau 1). Les changements dans les facteurs périodiques qui différencient les périodes de récolte des gousses, et sont susceptibles d'avoir une signification au plan évolutif (mise en place d'un mécanisme d'adaptation comme la diapause) sont de 2 types : diminution des températures nocturnes (alors que les températures diurnes varient peu), et réduction de la longueur du jour (tableau 2). On notera en particulier que c'est au mois de septembre-octobre, au moment de l'équinoxe, que l'on enregistre les plus grandes amplitudes dans la diminution de la longueur du jour d'un mois à l'autre.

TABLEAU 1

*Adultes de D. acutus éclos de 3 562 graines récoltées à intervalles réguliers dans les stations à Lathyrus, en 1984*

Date de récolte	Nombre de <i>Dinarmus</i> sortis des graines			Fréquence de diapause
	en automne	au printemps	total	
15.08/30.08	24	1	25	0,08
15.09/30.09	9	74	83	0,89
01.10/15.10	3	21	24	0,87
16.10/30.10	0	33	33	1,00

TABLEAU 2

*Durée moyenne de la longueur du jour par quinzaines à la latitude de Pau et températures minimales absolues, par décades, à la station météorologique de Puyoo*

Mois	Quinzaine	Août		Sept.		Oct.	
		I	II	I	II	I	II
Durée du jour en :	h.	14	13	12	12	11	10
	min.	15	36	53	08	22	40
Amplitude de la variation en	min.	39	43	45	46	42	
Températures minimales en décades	1	11.0		7.8		5.4	
	2	12.1		8.6		8.0	
	3	14.0		9.0		6.1	

Entre le mois de décembre et le mois de juin, dans les conditions de température du laboratoire (22 °C s'élevant graduellement jusqu'à 27 °C en juin) et de photopériode naturelle, nous avons suivi en continu le développement des différentes générations issues d'un lot originel de 20 adultes. Les nouveaux adultes ont été systématiquement appariés dès l'émergence des graines et la totalité de la descendance a été suivie couple par couple pour connaître le temps de développement larvaire. 2 260 individus ont ainsi été étudiés. La constitution des couples s'est faite sans tenir compte du temps de développement et le brassage des lignées qui s'en est suivi a empêché la sélection involontaire d'une souche à développement court.

La figure 1 donne une image synthétique de ce que nous avons pu observer : 1) présence permanente d'individus à développement court, entre 11 et 45 jours, proportionnellement peu abondants en décembre mais très nombreux dès le début mai, 2) présence simultanée d'individus à développement long, entre 45 et 168 jours, proportionnellement plus nombreux en décembre-janvier puis en février, mais disparaissant totalement au mois de mai, 3) grande variabilité de la durée de l'arrêt de développement.

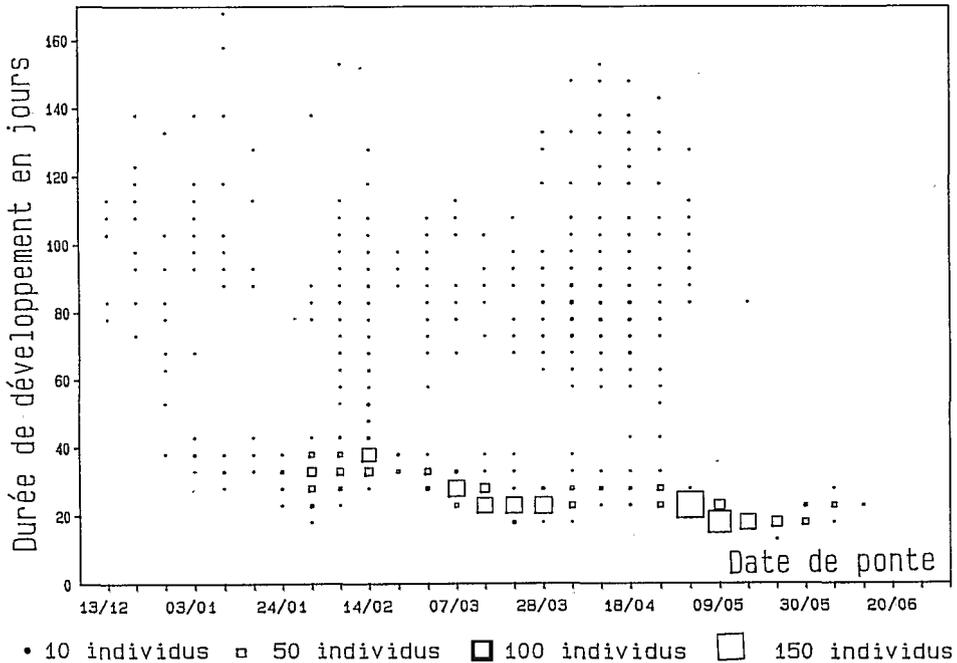


Fig. 1. Durée du développement, de la ponte à l'émergence de l'adulte, en fonction de la date de la ponte. Le côté des carrés est proportionnel au nombre des individus.

On peut retenir de ces observations l'absence d'individus à développement court en décembre et celle d'individus à développement long dès le mois de mai. Nous pouvons formuler pour la première période l'hypothèse de l'influence de jours courts (9 h de jour en moyenne en décembre), associés à des températures plus basses au laboratoire, et pour la seconde celle de température plus élevées avec allongement de la durée du jour (entre 14 h 55 et 15 h 09 de jour fin mai-début juin), comme cela a été souvent évoqué par de nombreux auteurs (**De Wilde**, 1962 ; **Beck**, 1963 ; **Saunders**, 1966 ; **Danks**, 1987). La grande variabilité de la durée de l'arrêt de développement fera l'objet d'un commentaire en discussion.

C'est à la suite de ces observations, et des hypothèses qu'elles autorisent à formuler, que nous avons conduit les essais suivants.

## EXPÉRIMENTATION EN CONDITIONS CONTRÔLÉES

## ELEVAGE

La contamination des graines de *V. radiata* par *C. maculatus* se fait par mise en présence de 300 graines et 50 bruches des 2 sexes pendant 24 h ce qui permet d'obtenir un maximum de graines avec une ou deux larves de bruche à l'intérieur. Le développement des larves se fait à une photopériode 12-12 couplée à une thermopériode de 28-23 °C.

Les ♀♀ de *D. acutus* sont placées avec un mâle au contact de 5 ou 6 graines hébergeant une bruche. Comme nymphes et prénymphe semblent les stades de prédilection du parasite (Leong & Dickason, 1975) ce sont les stades que nous avons utilisés pour l'expérimentation. Ils sont facilement identifiables de l'extérieur grâce à l'opercule préparé par la larve âgée pour la sortie de l'adulte.

Les graines sont changées toutes les 24 heures et stockées séparément. Les émergences de parasites sont contrôlées chaque jour. On détermine alors le sexe du parasite, le temps de développement de la larve et on contrôle la présence ou l'absence de « substance orange ».

## INFLUENCE DE LA THERMOPÉRIODE SUR LES LARVES

La ponte des ♀♀ de *D. acutus* se fait en photopériode L/D : 16/8 et avec une thermopériode de 29-22 °C. Au bout de 16 jours suivant la ponte des ♀♀, temps correspondant au développement des premières larves jusqu'au dernier stade larvaire, les séries de graines sont partagées en 2 lots, l'un restant aux mêmes conditions, l'autre étant placé en photopériode L/D : 16/8 mais avec une thermopériode de 29 °C-5 à 8 °C. Chaque série, correspondant à la descendance d'une femelle, contient ainsi tous les stades de développement larvaires, ce qui peut permettre une éventuelle détermination du ou des stade(s) sensible(s) à ce changement de thermopériode. Cette expérience a été conduite avec 12 descendance complètes de femelles différentes, correspondant à 623 individus éclos.

## INFLUENCE DE LA PHOTOPÉRIODE SUBIE PAR LES ADULTES SUR LE DEVENIR DE LEUR DESCENDANCE

Toute la phase de ponte se fait à une thermopériode unique de 29-22 °C et sous 2 photopériodes L/D : 16/8 et L/D : 8/16. Le développement des larves est obtenu en photopériode L/D : 16/8. Dans cette expérience, 15 descendance ont été suivies soit 1 245 individus.

## RÉSULTATS

## INFLUENCE DE LA THERMOPÉRIODE SUR LES LARVES

Les résultats obtenus sont représentés sur la figure 2. Mises à part les larves issues d'œufs pondus précocement (rang 1), la fréquence des diapausants ne dépasse pas 5 % dans le lot témoin et 13 % dans le lot expérimental. Les pourcentages moyens dans les 2 lots sont respectivement de 4,5 % et 6,9 %, avec une différence qui n'est pas significative ( $\chi^2 = 1,72$ ).

On observe que les rares larves diapausantes correspondent presque systématiquement aux œufs pondus les premiers dans la vie de la femelle. On enregistre alors des valeurs qui atteignent globalement 80 % des individus de rang 1 pour le lot expérimental (13 larves) et 45 % pour le lot témoin (11 larves), ces valeurs n'étant pas significativement différentes l'une de l'autre.

Fréquence de diapausants

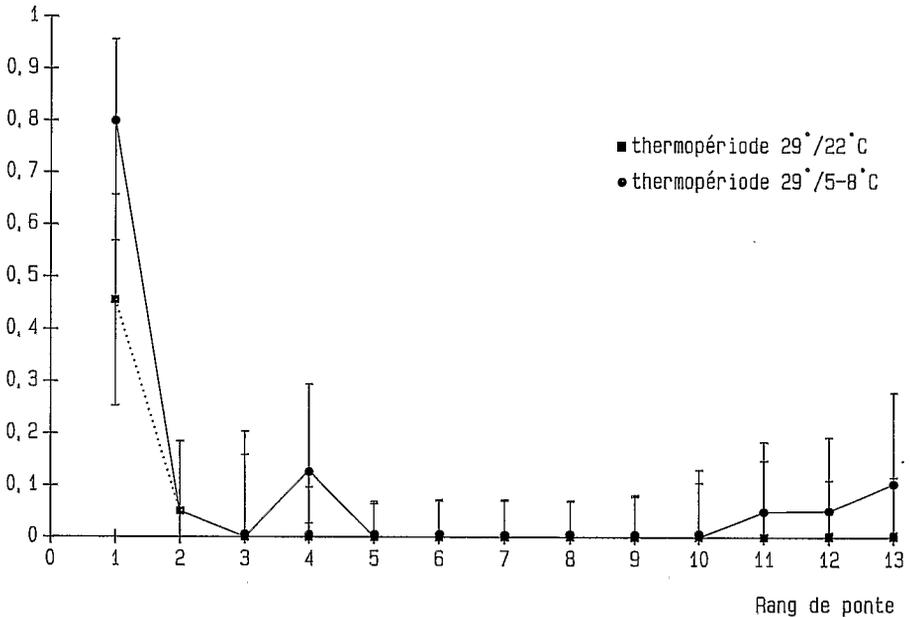


Fig. 2. Fréquence des diapausants, fonction du rang de la ponte, selon la thermopériode appliquée expérimentalement. Les traits verticaux représentent l'intervalle de confiance à 5 %.

#### INFLUENCE DE LA PHOTOPÉRIODE, DIFFÉRÉE AU NIVEAU LARVAIRE, APRÈS EXPOSITION DES ADULTES

Les résultats sont représentés figure 3. Les ♀♀ élevées en jours longs ont produit, selon les descendance de 0 à 4 % de diapausants (1,3 % sur 699 individus) alors que les ♀♀ élevées en jours courts donnaient des descendance avec 45 à 94 % de diapausants (73,9 % sur 546 individus).

Là encore on peut noter que les descendants diapausants apparus dans la descendance de ♀♀ élevées en jours longs sont issus des premiers œufs pondus. On trouve globalement 32 % de diapausants dans les descendance de rang 1, correspondant à 9 individus.

#### DISCUSSION

La mise en évidence de l'influence de la photopériode sur les femelles de *D. acutus* et de l'induction, par effet maternel, d'un phénomène de diapause chez la larve, ne fait que confirmer l'existence, chez une autre espèce de Chalcidien, d'un mécanisme mis en évidence pour la première fois par Ryan (1965) chez le *Braconidae Coeloides brunneri* Vier. et par Saunders (1965) sur le *Pteromalidae Nasonia vitripennis* (Walker). Dans le cas de *D. acutus*, cette adaptation aux facteurs périodiques au travers du stade de développement le plus sensible aux variations de la photopériode semble tout à fait en accord avec le cycle biologique du parasite. Celui-ci fait alterner des formes adultes libres et des stades larvaires

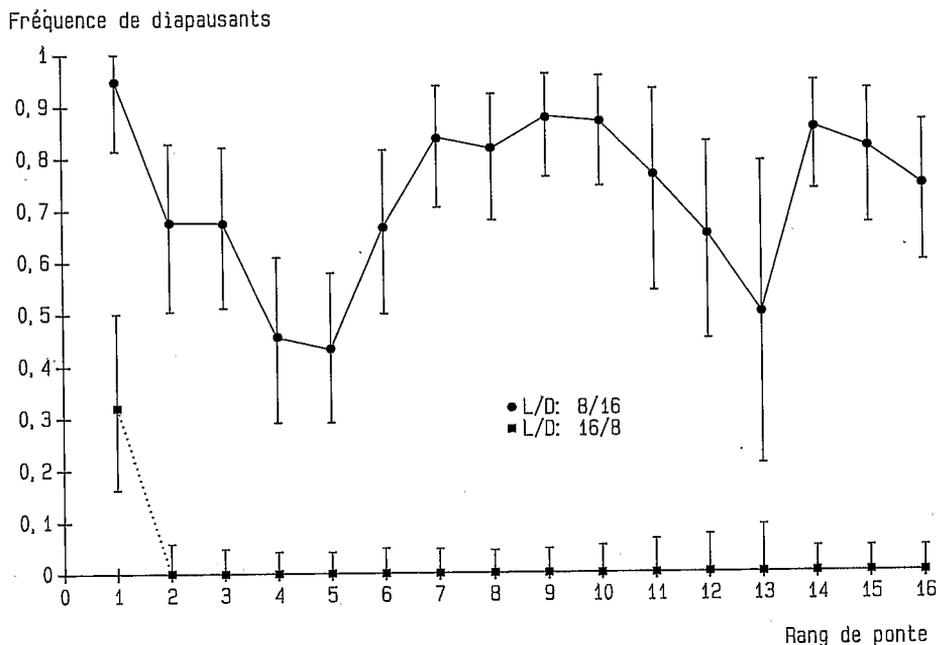


Fig. 3. Fréquence des diapausants, fonction du rang de la ponte, selon la photopériode appliquée expérimentalement. Les traits verticaux représentent l'intervalle de confiance à 5 %.

dont la totalité du développement se déroule à l'intérieur de graines, elles-mêmes prisonnières de gousses, qui n'éclateront que tard dans l'année c'est-à-dire au début du mois d'octobre dans les stations de *Lathyrus* (Bashar, 1988).

Par analogie avec la diapause embryonnaire du ver à soie, *Bombyx mori* (L.) (Fukuda, 1951 ; Hasegawa, 1957), Ryan & Saunders ont fait l'hypothèse de la production d'une hormone par la femelle du Chalcidien (soumise à certaines conditions de photopériode), du passage de cette hormone dans les œufs puis dans les larves, et de son action inhibitrice sur le déroulement de la dernière mue larvaire. Chez le ver à soie, les œufs diapausants sont pigmentés, marquage pigmentaire qui matérialise la présence de cette substance.

Avec *D. acutus*, et sans nous interroger sur les mécanismes intimes de l'intervention de cette substance à action hormonale, nous pouvons supposer la mise en place d'un mécanisme analogue à celui observé chez des parasitoïdes par Ryan et par Saunders : une « hormone » est produite par la femelle, elle est présente dans la larve au cours du développement des premiers stades et elle est responsable du blocage de la mue nymphale. Nous avons de plus un « marqueur » pigmentaire (comme dans les œufs du ver à soie) sous la forme d'une sécrétion orangée, émise par les seules larves diapausantes (Reymonet *et al.*, 1987).

La substance responsable du blocage de la dernière mue, et présente dans l'œuf puis dans les différents stades larvaires, serait lentement dégradée, chez le dernier stade, au cours de la phase d'arrêt de développement. La levée de la diapause coïnciderait avec la dégradation complète et l'élimination totale de cette substance.

Sa dégradation s'accompagnerait de la production de déchets métaboliques progressivement éliminés par la larve (substance orangée) et il y aurait une relation entre la quantité de déchets excrétés et la quantité originelle de substance produite chez la femelle. La dissection d'un grand nombre de graines ayant hébergé des larves de *C. maculatus* et *B. affinis* parasitées par *D. acutus* a montré une grande variabilité de la quantité de substance orangée déposée.

Cette substance serait produite en quantités variables par la femelle, selon l'importance du stimulus photopériodique, et sa dégradation serait plus ou moins longue. On aurait là un phénomène d'horloge chimique (Saunders, 1982), à l'origine de la variabilité de la durée de la diapause et de l'absence de synchronisme de sa levée.

Elle passerait dans les œufs, au fur et à mesure de la ponte et jusqu'à son complet épuisement, ce qui expliquerait que de petites quantités, émises dans des conditions de stimuli faibles, puissent induire un arrêt de développement pour une partie seulement de la descendance, à savoir les premiers œufs pondus. Ce point est à rapprocher de l'observation de Saunders (1965), sur l'influence du rang de la ponte pour l'apparition des formes diapausantes.

On a souvent observé une relation entre le caractère facultatif de la diapause et son induction chez la mère (Saunders, 1982). On peut penser que la diapause larvaire de *D. acutus* est facultative et que le parasitoïde a, dans la nature, un cycle plurivoltin. Il serait intéressant, dans ces conditions, de déterminer si ce multivoltinisme se développe exclusivement sur *B. affinis* ou si d'autres bruches (sur d'autres *Lathyrus* ou d'autres légumineuses), sont également exploitées tout au long de la saison.

#### REMERCIEMENTS

Nous remercions J. R. Steffan (MNHN) pour l'identification des Chalcidiens parasites associés à *B. affinis*, J. Y. Rasplus (INRA) pour ses conseils à propos de l'identité de *D. acutus* et Mme G. Tortay (IBEAS) pour sa collaboration. Nous remercions également M. Canard, (Université de Toulouse) qui a bien voulu assurer la lecture critique du manuscrit.

#### SUMMARY

##### Maternal induction of larval diapause in *Dinarmus acutus* [Hym. : Pteromalidae]

In the Béarn region, adults of the bruchid species *Bruchus affinis* and its larval ectoparasite *Dinarmus acutus* can be obtained by harvesting mature pods of *Lathyrus sylvestris* and *Lathyrus latifolius* before dehiscence and by incubating them in the laboratory. The ectoparasites emerge in small numbers in autumn of the same year and then abundantly in spring of the following year after a diapause in the last larval stage.

Continuous breeding of many successive generations under semi-natural conditions of temperature and photoperiod revealed the simultaneous presence of diapausing and non diapausing individuals throughout winter, and a total absence of diapausing individuals in spring. Diapausing larvae produced an orangish substance that marked the arrest of the development.

Because of the life cycle of the bruchid and its larval parasite, i.e. larval development within seeds and adult life outside, we studied the influence of thermal conditions on larvae and of the photoperiod on adults of the parasite. We found that low temperatures did not stop development, whereas a short day photoperiod applied to adults induced a diapause in a large percentage of the larvae of the descendants. There was a certain variability in the results.

The results are discussed in terms of maternal induction of larval diapause and the hypothesis that diapause length and its variability is controlled by a chemical clock.

KEY-WORDS : *Dinarmus acutus*, diapause, maternal induction, photoperiod.

Reçu le : 25 juillet 1989 ; Accepté le : 15 décembre 1989.

### BIBLIOGRAPHIE

- Bashar, A.** — 1988. Etude des activités imaginaires de *Bruchus affinis* [Col. : Bruchidae] : Répercussions sur la biologie de ses populations. — Thèse, Université de Pau et des Pays de l'Adour, Pau : 229 pp.
- Bashar, A., Fabres, G., Hossaert, M., Valero, M. & Labeyrie, V.** — 1987. *Bruchus affinis* and the flowers of *Lathyrus latifolius* : an example of the complexity of the relations between plants and phytophagous insects. In : Insects-Plants (V. Labeyrie, G. Fabres & D. Lachaise, eds.) — W. Junk Publ., Dordrecht, 189-194.
- Beck, S. D.** — 1963. Physiology and ecology of photoperiodism. — *Bull. Entomol. Soc. Am.*, 9, 8-16.
- Claret, J.** — 1973. La diapause facultative de *Pimpla instigator* [Hymenoptera, Ichneumonidae]. I. Rôle de la photopériode. — *Entomophaga*, 18, 409-418.
- Danks, H. V.** — 1987. Insect dormancy : an ecological perspective. — *Biological Survey of Canada*, 439 pp.
- De Wilde, J.** — 1962. Photoperiodism in insects and mites. — *Annu. Rev. Entomol.*, 7, 1-26.
- Fukuda, S.** — 1951. Production of the diapause eggs by transplanting the sub-oesophageal ganglion in the silkworm. — *Proc. Imp. Acad. Japan*, 27, 672-677.
- Hasegawa, K.** — 1957. The diapause hormone of the silkworm, *Bombyx mori*. — *Nature*, 179, 1300-1301.
- Leong, K. L. & Dickason, E. A.** — 1975. Biology of *Dinarmus acutus*, a Chalcidoid parasite of the vetch bruchid. — *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 68, 943-948.
- Reymonet, C., Fabres, G. & Labeyrie, V.** — 1987. Etude préliminaire d'un marqueur physiologique externe de la diapause chez *Dinarmus acutus* [Hym. : Pteromalidae] parasite de *Bruchus affinis* [Col. : Bruchidae]. — *Annls. Soc. Entomol. Fr. (N.S.)*, 23, 241-246.
- Ryan, R. B.** — 1985. Maternal influence on diapause in a parasitic insect, *Coleoides brunneri* Vier [Hymenoptera, Braconidae]. — *J. Insect Physiol.*, 11, 1331-1336.
- Saunders, D. S.** — 1965. Larval diapause induced by a maternally-operating photoperiod. — *Nature*, 206, 739-740.
- Saunders, D. S.** — 1966. Larval diapause of maternal origine. II. The effect of photoperiod and temperature on *Nasonia vitripennis*. — *J. Insect Physiol.*, 12, 4569-4581.
- Saunders, D. S.** — 1982. Insect clocks, 2<sup>nd</sup> ed. — Pergamon Press, Oxford, 1-409.

