

Parasitisme

RÔLE POSSIBLE DES SUBSTANCES EXCRÉTÉES PAR LES TRICHOGRAMMES ET ASSOMBRISANT LEURS HÔTES

par

Bernard PINTUREAU, Stéphane PETINON

et Christiane NARDON

Au stade prénymphe, les Trichogrammes (Hym. : Trichogrammatidae) secrètent une substance qui assombrit leurs hôtes (œufs d'Insectes). Diverses hypothèses ont été émises sur le rôle de cette substance. Nous en avons testé deux, celle supposant une protection contre les prédateurs et celle supposant une réduction de la durée de développement grâce à une augmentation de température. Les œufs d'*Ephestia kuehniella* (Lep. : Pyralidae) non parasités (clairs) ou parasités par *Trichogramma fuentesi* (noirs ou marrons selon la souche de parasitoïdes) sont autant consommés par les larves de *Chrysoperla carnea* (Pla. : Chrysopidae). La substance sombre n'a donc aucun intérêt pour la protection contre ce prédateur. Les Trichogrammes donnant des hôtes noirs se développent plus vite que les Trichogrammes donnant des hôtes marrons. La substance sombre permet donc d'accélérer le développement du parasitoïde et probablement, de façon indirecte, de réduire les risques de prédation.

Possible function of substances excreted by *Trichogramma* and darkening their hosts

When *Trichogramma* (Hym.: Trichogrammatidae) reach the prenymphe stage, they secrete a substance which darkens the hosts (insect eggs). Several hypotheses were expressed about the role of this dark substance. Two were tested, one assuming a protection against the predators, and one assuming a reduction of the developmental duration after temperature increase. *Ephestia kuehniella* (Lep.: Pyralidae) eggs whether non parasitized (clear) or parasitized (dark, i.e. black or brown) by *Trichogramma fuentesi* were consumed equally by *Chrysoperla carnea* (Pla.: Chrysopidae) larvae. Thus, the dark substance has no interest for the protection against this predator. *Trichogramma* giving black hosts have a faster development than *Trichogramma* giving brown hosts. Thus, the dark substance allows the acceleration of the parasitoid development and probably, in an indirect way, the reduction of predation risks.

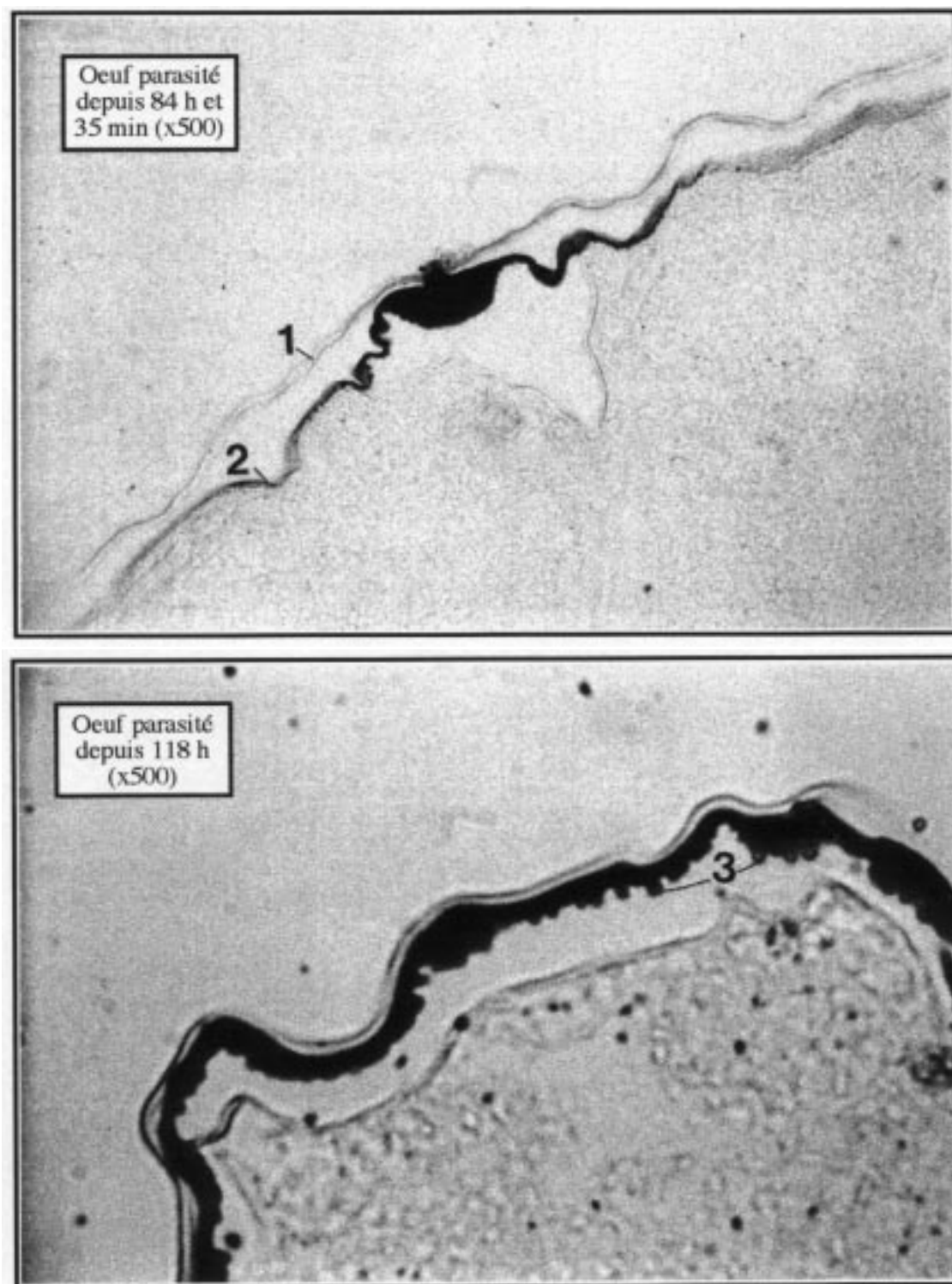


Figure 1

Observation au microscope optique après coloration de Masson (coloration à l'argent mettant en évidence la présence de mélanine) d'un oeuf d'*Ephestia kuehniella* parasité par *Trichogramma fuentesi*. Évolution du dépôt de granules pigmentaires sur la face interne de l'endochorion (les 2 oeufs ont été parasités à 2 dates différentes). 1 : exochorion ; 2 : endochorion ; 3 : granule pigmentaire.

Substances excrétées par les Trichogrammes

Introduction

Les Trichogrammes sont des Hyménoptères parasitoïdes des oeufs d'Insectes dont la fin du développement larvaire (stade prénymphe) est marquée par l'apparition d'une membrane pigmentée (noire, grise ou marron), appliquée sur la face interne de l'endochorion de l'hôte (Fig. 1). Cette membrane, provenant de la condensation de granules protéiques (une analyse des acides aminés a montré qu'ils étaient riches en glycine et alanine) contenant une substance du groupe des mélanines (PETINON, 1994), a été rapportée à un cocon de nymphose (AL ROUECHDI & VOEGELE, 1981) ou à une cuticule en forme de cocon (SAAKIAN-BARANOVA, 1991). Parmi les Chalcidoidea, elle est connue non seulement chez des Trichogrammatidae, mais aussi chez des Aphelinidae, Chalcididae, Encyrtidae et Mymaridae (CERESA-GASTALDO & CHIAPPINI, 1994). La présence d'une membrane sombre n'est cependant pas généralisable : si les oeufs de Coléoptères Ditiscidae et d'Odonates deviennent brun foncé et opaques lorsqu'ils sont parasités par des Eulophidae, ils demeurent jaune brillant ou blanc et transparents lorsqu'ils sont parasités par des Mymaridae ou Trichogrammatidae (FURSOV, 1995). Selon les auteurs, la membrane provient d'une sécrétion de la région orale (glandes iliaques selon FLANDERS, 1938 ; glandes ileo-labiales selon ZINNA, 1959 ; glandes salivaires selon REMAUDIERE & SAFAVI, 1963, et VOEGELE, 1964 ; glandes labiales selon SAAKIAN-BARANOVA, 1991) ou des régions orale et anale (CERESA-GASTALDO & CHIAPPINI, 1994).

Diverses hypothèses ont été ou peuvent être émises sur le rôle de cette sécrétion sombre.

- Protection contre les rayons ultra-violet : il s'agit d'une hypothèse classique formulée chez les Trichogrammes par KLINK (1963) et reprise par de nombreux auteurs. KAYSER & ANGERSBACH (1974) et KAYSER (1985) l'appliquent ainsi à des chenilles.

- Epuration, détoxification : des études ont montré que la mélanine pouvait agir sur certains radicaux libres. Elles ont concerné les Vertébrés (SICHEL *et al.*, 1991) ou les Drosophiles (NAPPI & VASS, 1993). Une telle hypothèse peut être émise chez les Trichogrammes.

- Protection contre les ennemis : la mélanine joue un rôle dans l'encapsulation des parasitoïdes (NAPPI & STREAMS, 1969 ; DUNN, 1986 ; VASS *et al.*, 1993). Elle pourrait aussi dissuader les prédateurs, les parasitoïdes et hyperparasitoïdes. Cette hypothèse a été émise chez les Trichogrammes (AL ROUECHDI & VOEGELE, 1981) et chez des chenilles (KAYSER, 1985 ; GOULSON, 1994).

- Augmentation de la température à l'intérieur de l'hôte : les couleurs foncées absorbent plus de radiations. Un rôle thermique de la mélanine a donc été supposé par WATT (1968) chez des chenilles. GOULSON (1994) a ensuite montré que les chenilles mélanisées de *Mamestra brassicae* L. (Lep. : Noctuidae) ont une température corporelle supérieure et un métabolisme plus actif. Un tel phénomène peut également exister chez les Trichogrammes.

- Modification du chorion facilitant la respiration : il s'agit d'une hypothèse émise par CERESA-GASTALDO & CHIAPPINI (1994) chez *Oligosita* (Hym. : Trichogrammatidae).

Bulletin de la Société zoologique de France 124 (3)

• Marquage du parasitisme après la disparition des marques chimiques labiles : il s'agit d'une hypothèse suggérée par LEWIS & REDLINGER (1969) chez les Trichogrammes. Cependant, RAJENDRAM (1978) a montré que les Trichogrammes femelles attaquent des chorions noirs d'*Ephestia kuehniella* Zeller (Lep. : Pyralidae), vidés de leur parasitoïde.

Nous avons testé deux de ces hypothèses, celle concernant la température et celle concernant les ennemis, et plus précisément les prédateurs.

Matériel et méthodes

Membrane pigmentée et température

Les oeufs parasités par *Trichogramma fuentesi* Torre peuvent devenir noirs (gène *Bh* du parasitoïde) ou marrons (gène *bh*). Lorsque les 2 gènes existent dans une population expérimentale évoluant à 23°C, dans des conditions où la température est régulée par une source non radiante (air chaud), le gène *Bh* est avantageé (RODRIGUEZ *et al.*, 1994).

Les oeufs hôtes devenant noirs devraient permettre l'accumulation de plus de chaleur que les oeufs devenant marrons. Les Trichogrammes *Bh* (mâles haploïdes), *BhBh*

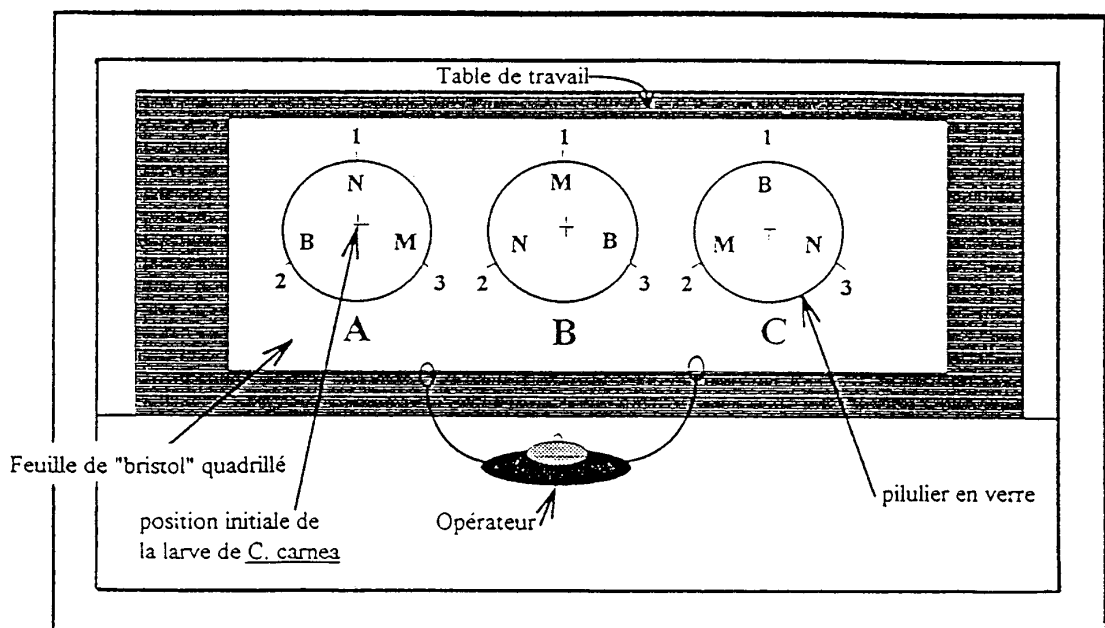


Figure 2

Dispositif expérimental, placé dans une chambre climatisée à 23°C et 70% d'H.R., utilisé pour étudier les choix de prédation de *Chrysoperla carnea*. Trois directions (1, 2 et 3) et trois aliments (N : oeuf d'*Ephestia kuehniella* parasité et devenu noir ; M : oeuf parasité et devenu marron ; B : oeuf non parasité et resté clair) ont été testés.

Substances excrétées par les Trichogrammes

ou *Bhbh* (femelles diploïdes) devraient alors se développer plus vite que les Trichogrammes *bh* ou *bhbh*. Pour tester cette hypothèse, la durée de développement a été comparée chez les 2 sexes de 2 souches cubaines, l'une *Bh* (souche 15) et l'autre *bh* (souche 60), élevées sur des oeufs d'*E. kuehniella*. La souche 15 provient de Quivican, Province de La Havane, et la souche 60 de Mayari, Province de Holguin (RODRIGUEZ *et al.*, 1994). Pour obtenir un effet des radiations, l'expérimentation a été menée dans des conditions où la température est régulée par une lampe à incandescence de 7,5 W, élevant la température à 23°C dans une enceinte climatisée réglée à 20°C (lumière continue, HR=70%).

Membrane pigmentée et prédateurs

Les larves de *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Pla. : Chrysopidae) sont capables de consommer des oeufs parasités par les Trichogrammes (AL ROUECHDI & VOEGELE, 1981). Les différences de prédation par des larves de 3ème stade ont été testées sur des oeufs d'*E. kuehniella* parasités par les souches 15 ou 60 de *T. fuentesi* et devenus noirs ou marrons, et des oeufs non parasités. Le dispositif expérimental est illustré sur la figure 2. Un effectif de 57 larves a été observé au cours de sa 1ère et de sa 2ème prédation (les larves ont été remises au centre des piluliers réapprovisionnés avant la 2ème prédation).

Résultats

Membrane pigmentée et température

Les Trichogrammes donnant des hôtes noirs se développent plus vite que les Trichogrammes donnant des hôtes marrons. Il n'y a pas de différence entre mâles et femelles (Tab. 1, Fig. 3). D'après l'ANOVA, l'interaction entre le facteur souche et le facteur sexe n'est pas significative (Tab. 1). Il semble donc que la substance noire permette d'accumuler plus de chaleur que la substance marron et d'accélérer le développement du parasitoïde.

Tableau 1

Durée de développement en heures des femelles et mâles de deux souches de *Trichogramma fuentesi*, la souche 60 donnant des oeufs hôtes marrons et la souche 15 donnant des oeufs hôtes noirs.

	Femelles		Mâles	
	N	Moy. ± e.s.	N	Moy. ± e.s.
Souche 60	372	380,6 ± 1,0 (b)	100	381,7 ± 2,4 (b)
Souche 15	577	365,9 ± 0,9 (a)	208	366,4 ± 1,7 (a)

N : effectif ; Moy. ± e.s. : moyenne ± erreur standard.

ANOVA à deux facteurs : p=0,0001 pour le facteur souche, p=0,61 pour le facteur sexe, p=0,86 pour l'interaction entre les facteurs. Les moyennes suivies de lettres différentes sont significativement différentes d'après cette ANOVA.

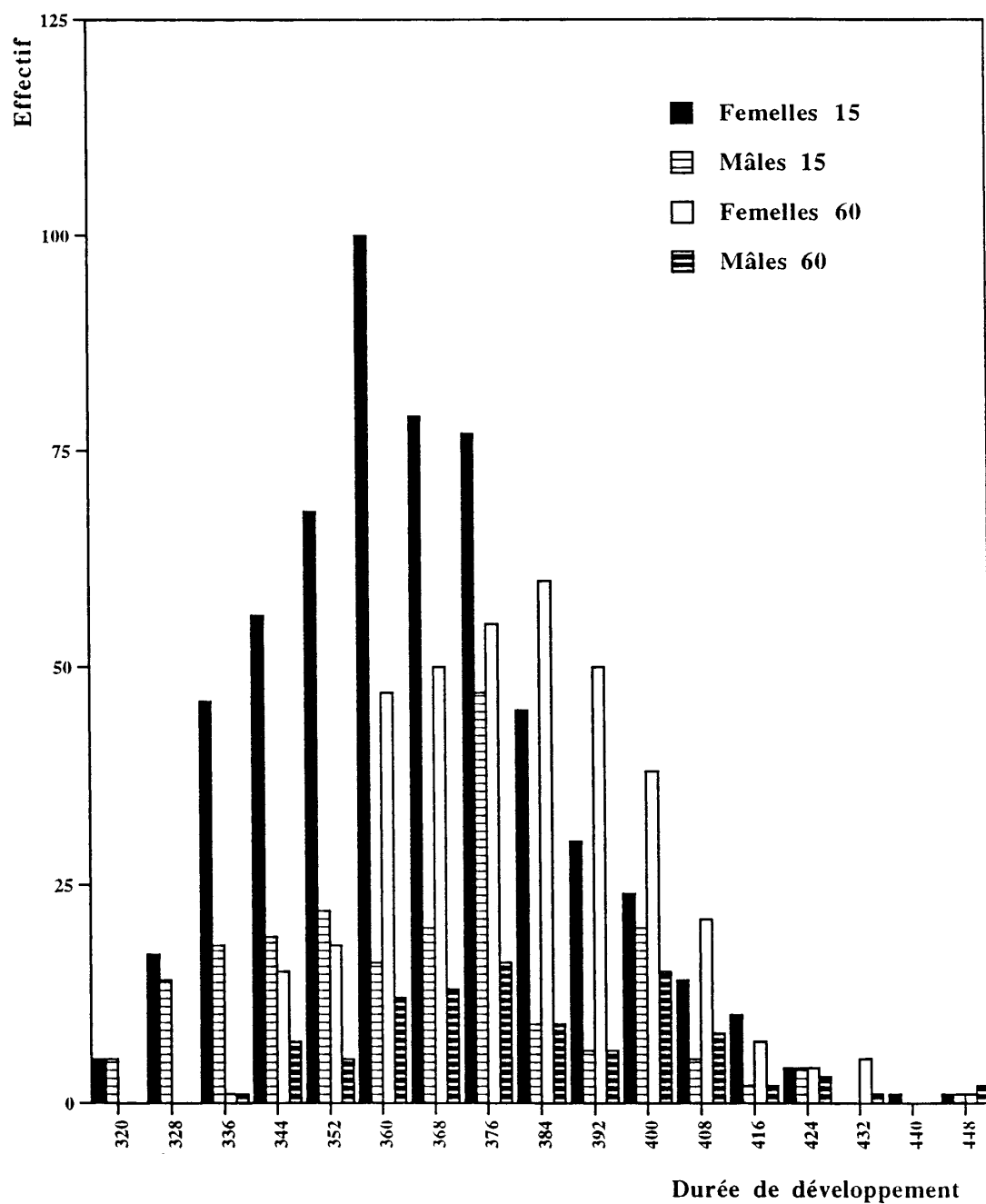


Figure 3

Variabilité de la durée de développement (en heures) chez *Trichogramma fuentesi*, souches 15 portant le gène *Bh* (hôtes noirs) et 60 portant le gène *bh* (hôtes marrons).

Substances excrétées par les Trichogrammes

Membrane pigmentée et prédateurs

Les larves de chrysopes n'ont pas de préférence directionnelle dans l'enceinte expérimentale. Les oeufs d'*E. kuehniella* non parasités ou parasités par *T. fuentesi*, que celui-ci colore ses hôtes en noir (gène *Bh*) ou en marron (gène *bh*), sont autant consommés par les larves de *C. carnea* (Tab. 2). Par ailleurs, le choix effectué en 2ème alimentation n'est pas conditionné par celui effectué en 1ère alimentation (Tab. 3).

Tableau 2

Choix directionnel (directions 1, 2 et 3, voir figure 2) et alimentaire
(N : oeuf d'*Ephestia kuehniella* parasité et devenu noir ; M : oeuf parasité et devenu marron ;
B : oeuf non parasité et resté clair) de 57 larves de *Chrysoperla carnea*.

	Choix directionnel			Choix alimentaire		
	1	2	3	N	M	B
1ère alimentation	20	18	19	15	17	25
2ème alimentation	22	21	14	23	15	19

Tests χ^2 (2 d.d.l.) : 1ère alimentation, $p > 0,9$ pour le choix directionnel, $p > 0,2$ pour le choix alimentaire ;
2ème alimentation, $p > 0,3$ pour le choix directionnel, $p > 0,3$ pour le choix alimentaire.

Tableau 3

Choix d'une 2ème prise alimentaire (N : oeuf d'*Ephestia kuehniella* parasité et devenu noir ;
M : oeuf parasité et devenu marron ; B : oeuf non parasité et resté clair)
de 57 larves de *Chrysoperla carnea* en fonction de la 1ère prise alimentaire.

2ème alimentation	1ère alimentation		
	N	M	B
N	6	7	10
M	2	6	7
B	7	4	8

Test χ^2 (4 d.d.l.) : $p > 0,8$.

Discussion et conclusions

Les différences de durée de développement entre les souches 15 (origine : ouest de Cuba) et 60 (origine : est de Cuba) ne proviennent probablement pas de différences génétiques entre populations naturelles ou consécutives à l'élevage (effet de fondation, dérive génétique). Des échanges doivent en effet exister entre ces populations et l'élevage a été réalisé avec un fort effectif dès son commencement (une centaine à des milliers d'individus). Dans ce cas, la substance noire accélère le développement du parasitoïde et donne un avantage au moins lorsque la température n'est pas trop élevée. Ce résultat confirmerait que le gène *Bh* est avantaagé à 23°C. Lorsque la température de

Bulletin de la Société zoologique de France 124 (3)

23°C est régulée par air chaud (lumière fluorescente froide délivrée durant 16 h par jour) (RODRIGUEZ *et al.*, 1994), l'avantage de ce gène pourrait aussi s'expliquer par une différence d'absorption des rares rayonnements. À forte température, il se pourrait par contre que l'excès de température apporté par la couleur noire devienne un désavantage (développement rapide mais altération d'autres caractères biologiques comme la fertilité). Ceci expliquerait les résultats de RODRIGUEZ *et al.* (1994) obtenus à la température de 30°C régulée par air chaud : absence d'avantage de *Bh* au moins lorsque la fréquence initiale de ce gène est faible.

Les oeufs hôtes parasités par les Trichogrammes, qu'ils soient noirs ou marrons, ne sont pas plus consommés par les Chrysopes que les hôtes non parasités. Ceci confirme les résultats préliminaires obtenus par AL ROUECHDI & VOEGELE (1981). Une telle absence de choix des prédateurs est connue et ne doit pas être rare lorsque l'hôte est une larve ou une nymphe (BRODEUR, 1994), encore qu'un avantage des individus parasités ou non parasités existe dans certains cas face à ces prédateurs (TOSTOWARYCK, 1972 ; JONES, 1987 ; ROLAND, 1990). La substance sombre ne semble donc présenter aucun intérêt direct pour la protection contre les prédateurs, mais elle doit réduire les risques de prédation en accélérant le développement.

INSA, UA INRA 203, Biologie 406, 20 av. A. Einstein,
69621 Villeurbanne Cedex, France.
e-mail : pinture@jouy.inra.fr

RÉFÉRENCES

- AL ROUECHDI, K. & VOEGELE, J. (1981).- Prédation des trichogrammes par les chrysopides. *Agronomie*, **1**, 187-189.
- BRODEUR, J. (1994).- Susceptibility of parasitized insect hosts to predators. *Norw. J. agric. Sc.*, **16** (suppl.), 147-153.
- CERESA-GASTALDO, L. & CHIAPPINI, E. (1994).- Observations on the cocoon of *Oligosita krygeri* Girault (Hymenoptera: Trichogrammatidae) oophagous parasitoid of *Cicadella viridis* (L.) (Homoptera: Cicadellidae). *Norw. J. agric. Sc.*, **16** (suppl.), 131-140.
- DUNN, P.E. (1986).- Biochemical aspects of insect immunology. *Annu. Rev. Entomol.*, **31**, 321-339.
- FLANDERS, S.E. (1938).- Cocoon formation in endoparasitic Chalcidoidea. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **31**, 167-180.
- FURSOV, V. (1995).- A review of European Chalcidoidea (Hymenoptera) parasitizing the eggs of aquatic insects. *Bull. Ir. biogeog. Soc.*, **18**, 2-12.
- GOULSON, D. (1994).- Determination of larval melanization in the moth, *Mamestra brassicae*, and the role of melanin in thermoregulation. *Heredity*, **73**, 471-479.
- JONES, R.E. (1987).- Ants, parasitoids, and the cabbage butterfly *Pieris rapae*. *J. anim. Ecol.*, **56**, 739-749.
- KAYSER, H. (1985).- Pigments. *in* : Comprehensive insect physiology, biochemistry and pharmacology. G.A. Kerkut & L.I. Gilbert (eds), Pergamon Press, Oxford, 367-415.

Substances excrétées par les Trichogrammes

- KAYSER, H. & ANGERSBACH, D. (1974).- Action spectra for light-controlled pupal pigmentation in *Pieris brassicae*: melanization and level of bile pigment. *J. Insect Physiol.*, **20**, 2277-2285.
- KLINK, B. (1963).- Antagonistische Wirkungen Verschiedener Lichtstrahlen auf den Eiparasiten *Trichogramma* und ihre Abhängigkeit von Lichtschützenden pigmenten. *Z. Vergl. Physiol.*, **46**, 439-448.
- LEWIS, W.J. & REDLINGER, L.M. (1969).- Suitability of eggs of the almond moth, *Cadra cautella*, of various ages for parasitism by *Trichogramma evanescens*. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **62**, 1482-1484.
- NAPPI, A.J. & STREAMS, F.A. (1969).- Haemocytic reactions of *Drosophila melanogaster* to the parasites *Pseudocoila mellipes* and *P. bochei*. *J. Insect Physiol.*, **15**, 1551-1566.
- NAPPI, A.J. & VASS, E. (1993).- Review - Melanogenesis and the generation of cytotoxic molecules during insect cellular immune reactions. *Pigment Cell Res.*, **6**, 117-126.
- PETINON, S. (1994).- Comparaison de la couleur des hôtes parasités par deux souches de *Trichogramma fuentesi* Torre. Mém. fin études, ISA Beauvais, 1-49.
- RAJENDRAM, G.F. (1978).- Oviposition behavior of *Trichogramma californicum* on artificial substrates. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **71**, 92-94.
- REMAUDIÈRE, G. & SAFAVI, M. (1963).- Sur l'origine et le mode de formation de la membrane interne des oeufs de Pentatomidae (Het.) parasités par *Asolcus* spp. (Hym. Scelionidae). *Rev. Path. Vég. Ent. Agri. Fr.*, **42**, 227-231.
- RODRIGUEZ, J.R., PINTUREAU, B. & GALAN, M. (1994).- Déterminisme de la couleur des hôtes parasités par *Trichogramma fuentesi*. *Entomol. exp. appl.*, **70**, 121-128.
- ROLAND, J. (1990).- Interaction of parasitism and predation in the decline of winter moth in Canada. *in*: Population dynamics of forest insects. A.D. Watt, S.R. Leather, M.D. Hunter & N.A.C. Kidd (eds), Intercept, Andover.
- SAAKIAN-BARANOVA, A.A. (1991).- Morphological study of preimaginal stages of six species of *Trichogramma* Westwood (Hymenoptera, Trichogrammatidae). *Ent. Rev.*, **70**, 17-23.
- SICHEL, G., CORSARO, C., SCALIA, M., DI BILIO, A.J. & BONOMO, R.P. (1991).- In vitro scavenger activity of some flavonoids and melanins against O₂- free radical. *Biology Medicine*, **11**, 1-8.
- TOSTOWARYK, W. (1972).- Relationship between predation and parasitism of diprionid sawflies. *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **64**, 1424-1427.
- VASS, E., NAPPI, A.J. & CARTON, Y. (1993).- Comparative study of immune competence and host susceptibility in *Drosophila melanogaster* parasitized by *Leptopilina boulandi* and *Asobara tabida*. *J. Parasitol.*, **79**, 106-112.
- VOEGELE, J. (1964).- Contribution à la connaissance des stades larvaires des espèces du genre *Asolcus* Nakagawa (*Microphanurus* Kieffer) (Hymenoptera, Proctotrupeoidea). *Al Awamia*, **10**, 19-31.
- WATT, W.B. (1968).- Adaptive significance of pigment polymorphisms in *Colias* butterflies. I. Variation of melanin pigment in relation to thermoregulation. *Evolution*, **22**, 437-458.
- ZINNA, G. (1959).- Ricerche sugli insetti entomofagi. I. Specializzazione entomoparasitica negli Encyrtidae: studio morfologico, etologico e fisiologico del *Leptomastix dactylopii* Howard. *Boll. Lab. Entomol. Agr. "Filippo Silvestri", Portici*, **18**, 1-148.