

Technique d'élevage de *Diaprepes abbreviatus* L. (Coleoptera - Curculionidae) sur milieu artificiel.

A. VILARDEBÓ et M. BOISSEAU*

TECHNIQUE FOR BREEDING *DIAPREPES ABBREVIATUS* L.
(COLEOPTERA - CURCULIONIDAE) ON AN ARTIFICIAL
MEDIUM.

A. VILARDEBO and M. BOISSEAU.

Fruits, Jan. 1988, vol. 43, n° 1, p. 43-47.

ABSTRACT - *Diaprepes abbreviatus* has been bred permanently from egg to egg in the laboratory by using a synthetic medium in which glandless cottonseed meal is one of the main components for feeding the larvae. Cabbage plants, which can easily be grown under glass throughout the year, are used for feeding the adults. All the equipment needed for breeding is indicated.

TECHNIQUE D'ELEVAGE DE *DIAPREPES ABBREVIATUS* L.
(COLEOPTERA - CURCULIONIDAE) SUR MILIEU ARTIFICIEL.

A. VILARDEBO et M. BOISSEAU.

Fruits, Jan. 1988, vol. 43, n° 1, p. 43-47.

RESUME - L'élevage permanent d'oeuf à oeuf de *Diaprepes abbreviatus* a été obtenu en laboratoire en faisant appel à un milieu synthétique dont la farine de graines de cotonnier sans gossypol est l'un des composants essentiels pour l'alimentation des larves. Des plants de choux faciles à produire en serre toute l'année servent à la nourriture des adultes. Toutes les conditions matérielles d'élevage sont indiquées.

INTRODUCTION

En 1978 parmi les plans prioritaires de développement économique des Antilles françaises, les Pouvoirs publics retenaient le programme d'extension de la culture des agrumes dont la finalité était :

- d'assurer l'approvisionnement du marché local en toutes espèces ;

- d'assurer une production d'exportation de limes de plus en plus demandées sur le marché français et européen.

Sept cents hectares de limettiers ont été plantés en Martinique.

Un problème phytosanitaire racinaire est apparu quelques années plus tard. En juin 1985 le ravageur est identifié comme étant *Diaprepes abbreviatus* Linn. Les attaques, conjointement avec d'autres facteurs, entraînent un grave dépérissement de l'arbre qui cesse d'être productif.

En 1986, l'INRA (Institut national de la Recherche agronomique) et l'IRFA/CIRAD (Institut de Recherches

sur les Fruits et Agrumes) ont décidé d'associer leurs compétences et les moyens dont ils disposaient pour étudier tous les aspects de ce problème : biologie, écologie, comportement du ravageur, lutte biologique par insectes ou nématodes entomophages ou par agents entomopathogènes, lutte chimique ou encore lutte culturale procédés agronomiques (choix de porte-greffe, façons culturales, etc.).

L'un des points apparu indispensable était la maîtrise d'un élevage sur milieu synthétique afin de disposer d'oeufs, larves et adultes à volonté à tout moment de l'année. La mise au point d'une telle technique d'élevage a été réalisée au laboratoire d'entomologie de l'IRFA/CIRAD installé à Montpellier (France).

Un tel travail de recherches a été entrepris à partir des bases données par BEAVERS (1982), MAC COY *et al.* (1985) et WOLCOTT (1933).

La composition du milieu alimentaire est certes primordiale mais ne constitue pas le seul facteur intervenant dans la réussite de l'élevage. La mise au point de ce dernier a été basée sur des observations biologiques. Celles-ci ont permis l'acquisition de connaissances sur le cycle biologique de *D. abbreviatus*, son développement et certains points de son comportement. Ces résultats seront présentés dans un document à paraître ultérieurement.

* - Laboratoire d'Entomologie et Nématologie IRFA/CIRAD
B.P. 5035 - 34032 MONTPELLIER Cedex - France



Photo 1 - Adulte de *Diaprepes abbreviatus* (L.).

Seule la présentation de la technique d'élevage est exposée dans ce texte.

RESULTATS

Elevage en milieu artificiel.

Elevage des larves.

• Le milieu.

La composition est donnée dans le tableau 1. Elle est équivalente à celle donnée par BEAVERS (1982), avec toutefois quelques apports complémentaires ou petites substitutions.

La cellulose est sous forme microgranulé poudre.

La farine de coton provient du broyage d'amandes de graines de cotonnier de cultivars sans glandes à gossypol (1).

(1) - Les cotonniers ont été cultivés en Côte d'Ivoire sur la station de l'Institut des Savannes. Les graines ont été traitées par le GERDOC (Groupement d'Etudes de Recherches et Développement des Oléagineux et Corps gras) à Pessac (France), en atelier Pilote selon une technologie spéciale. Ce produit a été fourni par M. BOURELY, Directeur du Laboratoire de Chimie des Plantes textiles de l'IRCT/CIRAD (Institut de Recherches sur le Coton et Textiles exotiques) à Montpellier.

TABLEAU 1 - Composition du milieu d'élevage des larves de *D. abbreviatus*.

Eau	1 275 ml
Agar	37,5 g
Mélange A	
Cellulose	153 g
Levure de bière	52 g
Farine de graines de coton	125 g
Saccharose	35 g
Caséine	35 g
Germe de blé	30 g
Amidon de maïs	22 g
Sels de Wesson	8 g
Nipagine (méthyl hydroxybenzoate)	7,5 g
Chlorure de choline	1
Mélange B	
Acide ascorbique	3 g
Acide sorbique	2,5 g
Mélange de vitamines	15,5 g
Autres composants	
Formaldéhyde	3 ml
Benomyl	5 ppm
Cholesterol	1,5 g

Cette

- 60 p. 10
- 7 p. 10
nose)
- 4 p. 10
- 5 p. 10
- le reste
cellul

Les c
sont infin

Les c
dans un p

Le m
bain-mar

L'aga
dissolutio
ment tou
mixer-pla
Cette tem
minutes p
périodiqu
Lorsque
les autres

L'ens
d'épaisse
ment jus
100. Cet
prélèvem

Le m
en boîte
Des colo
apparaît
des larve

L'adj
de cham
ou Rhizo
alcooliqu
Benlate

• El
L2 -

Les
plastiqu
remplies
du milie

Le
de la b
milieu e
pel, lais
apodes
prise de

Les
lées av
pourrait

Cette farine est composée sensiblement de :

- 60 p. 100 de protéines,
- 7 p. 100 de glucides (saccharose et principalement raffi-
nose),
- 4 p. 100 de cellulose,
- 5 p. 100 d'eau,
- le reste est constitué essentiellement de lignine et d'hemi-
cellulose.

Les différents composants du mélange A (tableau 1) sont intimement mélangés à sec.

Les composants du mélange B (tableau 1) sont dissous dans un peu d'eau.

Le milieu est entièrement préparé par chauffage au bain-marie.

L'agar est versé dans l'eau portée à ébullition. Après dissolution complète, le mélange A est versé progressivement tout en maintenant une agitation permanente avec un mixer-plongeur assez puissant (le mélange est assez pâteux). Cette température est maintenue pendant une dizaine de minutes puis on laisse le milieu se refroidir tout en l'agitant périodiquement pour garder une bonne homogénéité. Lorsque la température est voisine de 60°, le mélange B et les autres composants sont ajoutés et mélangés intimement.

L'ensemble est alors versé en couche de 2,5 à 3 cm d'épaisseur dans les récipients puis mis à dessécher lentement jusqu'à avoir une teneur en eau de l'ordre de 58 p. 100. Cette teneur en eau est contrôlée par dessiccation de prélèvements dans un four à 110° pendant quelques heures.

Le milieu peut être conservé à la température ambiante en boîtes plastiques fermées pendant quelques semaines. Des colonies bactériennes, toujours très limitées, peuvent apparaître avec le temps. Elles ne gênent pas la nourriture des larves.

L'adjonction de Benomyl empêche tout développement de champignons, notamment ceux des genres *Penicillium* ou *Rhizopus*. A cet effet, il était préparé une solution mère alcoolique à 1 000 ppm de Benomyl par utilisation de Benlate (spécialité commerciale à 50 p. 100 de Benomyl).

● Elevage des larves - Phase I - (larves des stades L1 - L2 - L3).

Les différents essais ont montré la supériorité des boîtes plastiques 4515 (45 mm de diamètre - 15 mm de hauteur) remplies approximativement à moitié de leur hauteur avec du milieu.

Le milieu est bien écrasé contre le fond et les parois de la boîte afin d'éviter tout espace vide. La surface du milieu est ponctuée avec une aiguille lancéolée ou un scalpel, laissant une cavité à section triangulaire où les larves apodes trouveront les points d'appui indispensables à leur prise de nourriture et au creusement de galeries ou cavités.

Les larves nouvellement écloses doivent être manipulées avec précaution pour éviter tout traumatisme qui pourrait être fatal. Elles sont placées sur un papier bristol

de couleur foncée, plié selon une médiane. Les plus actives grimpent sur ce bristol, vers la lumière. Il suffit de les aspirer buccalement avec une pipette Pasteur (prolongée par un tube caoutchouc souple) dont la partie effilée a été obstruée par un tissu tamis, en fibre synthétique, d'ouverture de maille de 100 microns.

Le dénombrement des larves prélevées est très aisé ainsi que le tri des larves les plus vigoureuses (les plus mobiles).

Les élevages sont conduits à l'obscurité en chambre régulée à la température de 25°.

Trente à quarante jours plus tard, les larves qui ont atteint le troisième ou quatrième stade sont récupérées pour être mises en élevage individuel (phase II).

● Elevage des larves - Phase II - (larves L4 - L8).

L'isolement des larves en fin de phase I est indispensable à la bonne poursuite de leur développement.

Il est alors utilisé des tubes de 28 mm de diamètre et 35 mm de hauteur (tubes 2835) avec capuchon plastique.

Ils sont remplis de milieu aux deux tiers de leur hauteur, plus ou moins écrasés, de manière à éviter des espaces vides trop importants (en relation avec la grosseur de la larve). Il faudra aménager en surface du milieu une ou deux cavités dans lesquelles la larve pénétrera et pourra prendre appui pour creuser une loge où elle s'installera.

Un meilleur développement des larves est obtenu si le milieu est changé périodiquement. Dans un tube de plus grande capacité avec plus de milieu, les larves ont tendance à vouloir se déplacer en détruisant une forte proportion de milieu.

La durée de cette phase II de grossissement des larves se fait en 45 à 60 jours. Trois changements de milieu sont préconisés.

Cette phase peut être considérée comme terminée lorsque les larves marquent une tendance à changer de comportement. Soit elles viennent à la surface, soit elles aménagent une loge plus large dans la masse. Ce changement de comportement peut être considéré comme une phase préparatoire à la nymphose.

Le poids des larves est alors de 700 à 900 mg en moyenne, souvent supérieur à 1 000 mg. Toute larve dont le poids est inférieur à 600 mg doit être considérée soit comme insuffisamment développée, soit comme ayant été perturbée dans son développement.

Pendant cette phase II, la mortalité très faible semble être due presque uniquement à des traumatismes provenant de manipulations malencontreuses.

● Mise en nymphose.

La nymphose n'intervient que si les larves sont placées dans un milieu non nutritif (terreau, terre friable, sciure de bois). Il n'a pas été obtenu de nymphose de larves laissées

dans le milieu nutritif, même lorsque ce dernier, après avoir été réduit en granulés par la larve, semble ne plus pouvoir servir de nourriture.

Le support utilisé au laboratoire de Montpellier est un terreau horticole vendu dans le commerce. SCHROEDER (1987) utilise un terreau, Magda MONTES (Estación Nacional de Sanidad de los Cítricos - Cuba) de la sciure de bois (communication personnelle). Ce matériau a été expérimenté avec succès à Montpellier. Le terreau a été préféré car l'examen de la larve ou de la nymphe est plus facile sur fond noir.

Ce substrat est bien humidifié à l'avance puis placé sans tassement jusqu'aux deux tiers dans des tubes de 33 mm de diamètre et 50 mm de hauteur.

Une ouverture de 10 mm de diamètre obstruée par une toile métallique a été pratiquée au fond du tube. Une autre ouverture (5 mm environ) a également été pratiquée dans le capuchon de fermeture.

La circulation d'air rendue ainsi possible, à condition encore que les tubes reposent sur une claie disposée dans le fond du récipient où ils sont placés, évite toute création d'une ambiance asphyxiante qui serait néfaste à la larve et à la nymphe. Le récipient est fermé pour éviter toute dessiccation. Il est opaque afin que les larves soient à l'obscurité. Il est placé dans une salle où la température est régulée à 25°.

Dans chaque tube, il n'est mis qu'une seule larve qui va aménager dans le fond du tube une cavité où elle va rester à l'état de larve pendant deux mois environ (phase III - phase de prénymphe). Puis elle se transformera en nymphe qui, après 2 à 3 semaines, donnera naissance à l'adulte.

On évitera toute manipulation des tubes pendant la phase III car il semble que cela retarde le moment de la mue nymphale.

Une mortalité de 10 à 15 p. 100 est observée pendant cette période prénymphe et nymphale.

Les adultes peuvent être récupérés dès la mue imaginale, pendant qu'ils sont encore dans la loge de nymphe (leurs téguments ne sont pas encore complètement sclérifiés) et transférés dans les cages d'élevage et de ponte.

● Elevage des adultes.

Les adultes sont placés dans des cages grillagées placées dans une pièce maintenue à la température de 25° et à une humidité relative de 75 p. 100.

Ils sont nourris avec de jeunes plants de choux. Le choix des variétés est guidé uniquement par leur faculté d'adaptation aux conditions pouvant être établies en serre : températures estivales et hivernales, durée du jour, insolation, etc.

A titre d'information, on peut préciser qu'à Montpellier il a été utilisé les variétés chou de Milan, de Pontoise (race

Cergy), chou Cabu blanc.

L'accouplement des insectes se fait sans problème. Des pontes ont été observées une huitaine de jours après l'introduction dans les cages d'imagos nouvellement éclos.

● Pontes.

Des bandes de papier agrafées ensemble, légèrement décalées les unes par rapport aux autres (BEAVERS, 1982 ; WOLCOTT, 1933), sont suspendues dans la cage. En leur présence aucune ponte n'a été trouvée hors de ces bandes de papier qui peuvent, de ce fait, être dénommées « pièges à pontes ». L'observation montre que leur position dans la cage est sans influence sur leur choix par les insectes.

Différents supports ont été expérimentés. Celui utilisé était composé d'une feuille de papier légèrement glacée doublée d'un fin film plastique. De tels papiers sont utilisés dans le commerce alimentaire. La transparence de la feuille plastique permet un repérage facile des pontes. Elles sont récupérées par découpe du papier et mises dans une boîte plastique avec un morceau de papier filtre humecté pour éviter leur dessiccation.

La transparence de la feuille plastique permet de vérifier le stade évolutif des oeufs et leur éclosion. Cela est important car très souvent les larves restent emprisonnées et doivent être libérées par séparation manuelle des deux supports.

La durée de développement des oeufs est de 6 à 7 jours à 25°.

Les jeunes larves peuvent être conservées en boîte fermée, sans alimentation, à 18° pendant plusieurs jours sans perdre leur activité.

Elevage sur milieu naturel : rondelles de carotte.

Tout le cycle larvaire de *D. abbreviatus* peut être obtenu en utilisant des carottes comme base alimentaire mais cette technique demande beaucoup de manipulations et ne peut présenter un intérêt que pour l'élevage des larves en phase I.

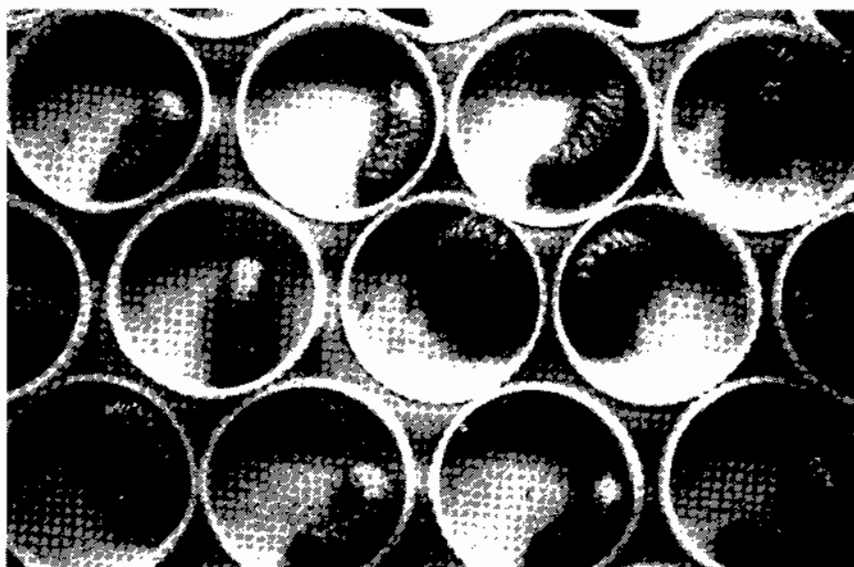
On procédera de la façon suivante :

Des rondelles de carotte sont placées (à plat) de façon à recouvrir au maximum le fond du contenant qui sera ensuite rempli d'une couche de 2 à 4 cm de tourbe effritée (ou de terreau horticole), préalablement desséchée au four à 120° ce qui élimine tout animalcule, notamment les acariens.

Les larves nouvellement écloses sont versées sur la tourbe dans laquelle elles vont cheminer jusqu'à la rencontre des rondelles de carotte. Celles-ci apportent l'humidité et l'eau nécessaire aux larves ; la tourbe élimine tout excès hydrique.

Toutes les semaines, au plus tard tous les 10 jours, cela est fonction de la qualité variable des carottes avec les saisons et du développement des larves, il faut changer la nour-

Photo 2 - Larves de *D. abbreviatus* (L.) en fin de développement larvaire. (Diamètre des capsules : 30 mm).



riture. De nouvelles rondelles de carotte sont placées dans un nouveau contenant, lequel est rempli par la tourbe récupérée délicatement de l'élevage en cours. Les larves sont ainsi transférées sans avoir à être prélevées. Seules les vieilles rondelles de carotte sont retirées délicatement avec la tourbe restée adhérente, examinées sous la loupe pour récupération des larves qui s'y trouvent.

Au bout de 30 jours, 20 à 25 p. 100 des larves atteignent un poids égal ou supérieur à 5 mg. Leur élevage peut alors être poursuivi sans difficulté sur milieu artificiel.

CONCLUSION

La technique décrite permet l'élevage de *Diaprepes abbreviatus* pendant tout son cycle sans aucune dépendance d'approvisionnement d'un végétal. Ces élevages peuvent être entrepris en laboratoire sous toutes les latitudes, sans la nécessité d'un équipement sophistiqué et coûteux, si ce n'est l'existence d'une enceinte à température régulée qui, normalement, doit exister dans tout centre de recherche sur la biologie des insectes.

Ces élevages ont été entrepris à 25°. Dans ces conditions la durée du cycle biologique s'établit comme suit :

- incubation des oeufs	6 - 7	jours
- développement larvaire	90 - 95	jours
- période prénymphe	60 - 70	jours
- nymphose	15 - 20	jours
- imago - période de préonte	8 - 15	jours
total	169 - 207	jours

soit approximativement 5,5 à 7 mois.

ZUCHTVERFAHREN FÜR DIAPREPES ABBREVIATUS L. (COLEOPTERA - CURCULIONIDAE) AUF KÜNSTLICHEM NÄHRBODEN.

A. VILARDEBO und M. BOISSEAU.

Fruits, Jan. 1988, vol. 43, n° 1, p. 43-47.

KURZFASSUNG - Die permanente Ei-Ei-Zucht von *Diaprepes abbreviatus* ist im Labor mit Hilfe eines synthetischen Nährbodens gelungen, wobei Baumwollsaamenmehl ohne Gossypol zu den wesentlichen Bestandteilen der Larvennahrung gehört. Kohlsetzlinge, die leicht das ganze Jahr über im Gewächshaus gezogen werden können, dienen der Ernährung der erwachsenen Tiere. Die materiellen Zuchtbedingungen werden in ihrer Gesamtheit beschrieben.

Ces chiffres ne sont donnés qu'à titre indicatif. Il est certain que le cycle n'est jamais inférieur à 5,5 mois. Par contre, il peut être beaucoup plus long si les conditions d'élevage ne sont plus celles décrites dans ce document.

Cette technique est perfectible, cela ne fait aucun doute. Il est certainement possible de réduire la mortalité des larves actuellement de l'ordre de 80 p. 100 au cours des trois premiers stades, à moins que la cause en soit d'ordre génétique.

REMERCIEMENTS

Les auteurs adressent leurs plus sincères remerciements à R. COUILLAUD et à tout le personnel du Laboratoire d'Élevage et Nutrition d'Insectes du CIRAD à Montpellier pour l'aide apportée à la réalisation et au succès de ces recherches.

BIBLIOGRAPHIE

1. BEAVERS (J.B.). 1982. Biology of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera : Curculionidae) reared on an artificial diet. *Florida Entomologist*, 65 (2), 264-269.
2. Mc COY (C.W.), SEGRETAIN (C.), BEAVERS (G.M.) and TARRANT (C.). 1985. Laboratory rearing and some aspects of the biology of *Artipus floridanus* Horn (Coleoptera : Curculionidae). *Florida Entomologist*, 68 (3), 379-385.
3. SCHROEDER (W.J.). 1987. Induced pupation in *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera : Curculionidae). *Florida Entomologist*, 70 (1), 186-187.
4. WOLCOTT (G.N.). 1933. Otiiorhynchids oviposit between paper. *J. Econ. Ent.*, 26 (6), 1172-1173.

TÉCNICA DE CRÍA DE DIAPREPES ABBREVIATUS L. (COLEOPTERA-CURCULIONIDAE) SOBRE MEDIO ARTIFICIAL.

A. VILARDEBO y M. BOISSEAU.

Fruits, Jan. 1988, vol. 43, n° 1, p. 43-47.

RESUMEN - La cría permanente de huevo a huevo de *Diaprepes abbreviatus* se ha obtenido en laboratorio recurriendo a un medio sintético cuya harina de semillas de algodón sin gossypol es uno de los componentes esenciales para la alimentación de las larvas. Plantas de coles fáciles de producir en invernadero todo el año sirven para la alimentación de los adultos. Se indican todas las condiciones materiales de cría.