NOTE TECHNIQUE

MILIEUX ARTIFICIELS POUR L'ÉLEVAGE DES LARVES
DE *PISSODES NOTATUS* L. (Col. *CURCULIONIDAE*)
ET AUTRES XYLOPHAGES DU PIN MARITIME

P. CARLE

avec la collaboration technique de P. PRAZNOCZY

Station de Recherches forestières, Chemin de Ramatuel, 84 - Avignon
Institut national de la Recherche agronomique

SOMMAIRE

Essais de différentes formules de milieux artificiels pour l'élevage de larves des principaux xylophages du Pin maritime (*Curculionidae*, *Scolytidae*, *Cerambycidae*, etc...). Influence de divers facteurs sur le rendement des élevages. Un groupe de milieux convient au développement larvaire des espèces étudiées et peut être utilisé pour l'alimentation des adultes.

INTRODUCTION

L'intérêt des élevages sur milieux artificiels est d'autant plus grand pour les Insectes xylophages que le mode de vie subcortical des larves empêche de nombreuses et importantes observations.

Ce n'est qu'assez récemment cependant que des chercheurs ont pu réussir à mettre au point de tels milieux, pour quelques espèces seulement.

Débutant par l'élevage de larves à l'intérieur de « sandwichs » de liber disposé entre deux plaques de verre ou de matière plastique (BÉDARD, 1933), puis plastifiant des tranches de liber fraîchement coupées (PAIN et BECKEL, 1960), les auteurs utilisèrent ensuite la farine de liber fortement comprimée (WARREN, 1958), pour finir par ajouter à ce broyat divers constituants chimiques tels que substances liantes, stabilisateurs et agents antimicrobiens (SCHMIDT, 1966). L'adjonction à ce mélange de constituants nutritifs, tels que matières protéiques, glucidiques, sels minéraux et vitamines,

a conduit à la préparation de milieux de type semi-synthétique ou méridique (terminologie de DOUGHERTY, 1959), présentés sous forme de gâteaux.

En ce qui concerne les xylophages des résineux, BÉDARD (1966) met au point un milieu à base de liber moulu de *Pinus ponderosa* permettant le développement larvaire de certains Scolytides. De son côté, SCHMIDT (1966) élève *Dendroctonus pseudotsugae* sur deux milieux différents ayant pour support du liber moulu de sapin de Douglas (*Pseudotsuga menziesii* MIRB.). Plus récemment, MALPHETTES (1968) a obtenu quelques succès avec un milieu essayé sur *Hylobius abietis* L. En revanche, on ne connaît actuellement, pour les Scolytides de feuillus, que le travail de GALFORD (1967) sur l'élevage en milieu semi-synthétique de *Scolytus multistriatus*.

Ces milieux, ainsi que ceux de CLARK (1965) ou de YEARIAN et WILKINSON (1965), sont aptes à l'élevage de l'espèce ou du groupe restreint d'espèces (*Scolytidae*) pour lesquels ils ont été mis au point. Les auteurs cités ne donnent généralement pas d'indications sur l'éventuelle polyvalence de leurs formules à l'égard d'autres espèces très différentes, non plus que sur leurs possibilités d'utilisation pour l'alimentation des imagos.

Pour notre part, nous avons d'abord cherché à mettre au point des milieux propres au développement larvaire de *Pissodes notatus* (Col. *Curculionidae*). Nous avons ensuite tenté avec quelques succès d'alimenter artificiellement d'autres xylophages de familles diverses (Scolytides - Cerambycides - Buprestides - Pithides - Curculionides), aussi bien durant leur vie larvaire que pendant leur phase imaginale.

I. — METHODES ET TECHNIQUES

1. — Composition des milieux

Quatorze milieux ont été essayés, contenant pour la plupart un support à base de poudre de liber et des substances antimicrobiennes. Les variations ont porté sur la nature, le nombre et les proportions respectives des constituants nutritifs.

Groupe 1. — Milieux semi-synthétiques complexes contenant au moins treize substances et analogues à ceux utilisés pour l'alimentation de chenilles de Lépidoptères phytophages (GUENNELON, 1968) ou encore pour celle de *Scolytus multistriatus* (GALFORD, 1967).

Groupe 2. — Milieux simplifiés à 8 constituants, sans suppléments protéique ou lipidique, sans sels de Wesson ni vitamines.

Groupe 3. — Milieux simplifiés à 8 constituants, avec substitution d'un supplément vitaminé au supplément glucidique.

Nous donnons au tableau 1 la constitution détaillée d'un milieu-type pour chacun de ces groupes. Les teneurs en eau varient de 65 à 85 %, les pH mesurés aussitôt après fabrication oscillent autour de 4,5.

2. — Fabrication des milieux

Des languettes de liber frais de pin maritime prélevées au laboratoire sont séchées au four, puis finement broyées et homogénéisées. Prête à l'emploi, la poudre ainsi obtenue peut être conservée au réfrigérateur.

La confection proprement dite des milieux consiste à mélanger divers éléments en poudre dans un homogénéiseur tournant à grande vitesse, puis à les incorporer à une solution d'agar préparée à l'avance et maintenue à 56° C.

L'addition d'antiseptiques ne permet pas d'obtenir une asepsie absolue, mais évite la stérilisation à l'autoclave, cause possible de dégradations de certains composés alimentaires.

Pour l'alimentation des larves, les milieux sont coulés à chaud en boîtes de polystyrène

de volumes divers (3 à 4 cc au minimum). Ces boîtes sont fermées d'un couvercle à emboîtement, mais l'espace ménagé au-dessus de la surface supérieure du milieu semble suffire aux besoins respiratoires des larves. L'ensemble peut être conservé à froid (0-5° C) à l'abri des pollutions. Les larves sont installées sur les milieux dans les 12 heures suivant leur éclosion ; leur pénétration et leur développement font l'objet d'observations journalières.

TABLEAU 1

Composition chimique des groupes de milieux utilisés (en grammes).

Constituants	Groupe 1 type : milieu A	Groupe 2 type : milieu E	Groupe 3 type : milieu F
Eau	170	150	105
Agar	5,0	2,0	5,0
Cellulose	6,0	1,85	4,5
Liber	30	20	15
Protéolysat de caséine	7,0		
Glucose	3,5	1,5	
Cholestérol	0,6		
Huile de maïs (en cc.)	0,4		
Levure de bière	6	3	3
Sels de Wesson	2		
Mél. vitaminé	4		2
Ac. ascorbique	1		
Ac. sorbique		0,05	
Ac. benzoïque	0,25	0,10	0,10
Nipagine	0,20		0,15

Dans les essais d'alimentation imaginaire de Curculionides, les milieux sont offerts, découpés en cubes ou coulés en couches d'environ 5 mm d'épaisseur en boîtes de plus grande contenance (12 cc environ) ; pour les Scolytides, ils sont coulés en couche mince en grandes boîtes parallélépipédiques plates de 110 × 170 mm.

3. — Critères d'appréciation des milieux

La comparaison des diverses formules entre elles et avec l'aliment naturel a été obtenue en tenant compte, d'une part, de critères morphologiques, tels que les anomalies larvaires et les malformations nymphales ou imaginaires, et d'autre part de critères biométriques tels que : nombre de stades et mortalité larvaires, durée d'évolution des prénymphe et des nymphes, rendement des élevages, poids des adultes nouvellement formés, fécondité et longévité.

II. — RESULTATS

1. — *Elevage artificiel de Pissodes notatus*

Au cours de leur développement, les larves de *P. notatus* ne demeurent qu'assez rarement en surface. Le plus souvent, elles pénètrent dans l'épaisseur de la couche de milieu, pour en émerger seulement au moment des mues et repénétrer ensuite. En fin d'évolution, elles tendent à se ménager une logette nymphale en tassant le milieu par

des mouvements abdominaux. Des lésions tégumentaires peuvent alors se produire lorsque les larves ne disposent pas suffisamment de points d'appuis, ce qui conduit à leur assurer une quantité de milieu très supérieure à leurs besoins réels. Le développement complet peut alors s'effectuer dans un même récipient jusqu'à l'apparition de l'adulte.

FIG. 1. — *Elevage artificiel de Pissodes notatus sur milieu F (× 2,8)*

D'une manière générale, dans nos expériences, et même pour les formules les plus satisfaisantes, la mortalité survient surtout chez les larves du premier stade, en particulier au moment de la pénétration dans le milieu. La mortalité par blessures chez les larves âgées apparaît dans les cas de surpopulation dans les récipients d'élevage. Les rendements d'élevage groupés sont d'ailleurs toujours très inférieurs à ceux des élevages individuels.

Outre ces considérations générales, les divers essais réalisés ont montré que les résultats des élevages varient selon la composition des milieux en éléments nutritifs, leur consistance (proportions respectives de stabilisateurs et de liants), leur teneur en eau, leur durée de conservation et leur teneur en substances antimicrobiennes.

a) *Composition des milieux.*

Des comparaisons ont été effectuées entre quatre milieux du groupe I (A, C, D, G), trois milieux du groupe II (B, E et E') et un milieu du groupe III (F''), avec des larves de *P. notatus* élevées isolément. Les résultats sont jugés comparativement à un lot

« témoin » de 100 larves élevées dans les mêmes conditions (25° C — obscurité) sur rondins de pin maritime (tableau 2).

Le rendement des milieux du groupe I s'est avéré nul.

Celui des milieux de type II a varié de 37 à 61 p. cent selon les lots. Les durées de vie larvaire sont alors raccourcies ou, au contraire, considérablement allongées, et la fécondité des adultes produits est toujours inférieure à celle des témoins. En outre, ces milieux semblent très sensibles aux pollutions par bactéries et levures (36,8 p. cent pour le milieu B, 87,5 p. cent pour E) et on obtient 3,5 à 10 p. cent d'insectes malformés.

Le milieu F'' (type III) a donné les meilleurs résultats. Les rendements de l'élevage varient entre 68 à 95 p. cent. L'évolution larvaire, la fécondité des adultes produits, leur taille et leur poids moyen sont très proches de ceux de l'élevage témoin. De plus on n'observe que 1,6 p. cent d'insectes mal formés. Enfin, ce milieu semble nettement moins sensible aux pollutions.

b) Teneur en eau.

Les milieux trop aqueux laissent, après coulage et refroidissement, ressuer une certaine quantité d'eau « libre » qui retarde ou même empêche la pénétration de la jeune larve. Celle-ci se gorge d'eau sans prendre de nourriture, et meurt en peu de jours, ou bien demeure en surface, ne prélevant que fort peu d'aliment, ce qui allonge considérablement la durée de son développement.

Pour *Pissodes notatus* les meilleurs résultats sont obtenus avec des milieux comportant moins de 70 p. cent d'eau. Il semble, cependant, que cette teneur en eau soit à modifier quelque peu, selon l'espèce élevée (cf. *infra*).

c) Durée de conservation des milieux.

Durant leur période de stockage à basse température nos milieux subissent quelques modifications d'aspect se traduisant par une dessiccation et un brunissement progressifs de leur surface. Leurs conséquences et celles de toute autre transformation biochimique intervenant au cours de la conservation au froid ont été appréciées au moyen d'élevages effectués sur des milieux d'anciennetés de préparation différentes.

Les résultats obtenus indiquent que le rendement des élevages diminue nettement à mesure qu'augmente l'ancienneté des milieux. Il s'abaisse, en effet, de 78 p. cent pour une préparation de 24 heures à 60 p. cent (taux encore acceptable) pour un milieu de 12 jours et à 45 p. cent au bout de 30 jours de conservation.

d) Concentration en antiseptiques.

Les différents auteurs insistent sur la sensibilité aux agents microbiens des milieux artificiels pour xylophages. SCHMIDT (1966) note d'abondantes proliférations de bactéries, champignons et levures dans les milieux de pH supérieur ou égal à 6 et ajuste ses milieux à un pH compris entre 4 et 5 pour *Dendroctonus pseudotsugae*. BÉDARD (1966) observe une prolifération abondante de bactéries aux pH inférieurs ou égaux à 5 et utilise alors la pasteurisation répétée en autoclave doux. Après cette opération un milieu à 1,33 p. cent d'antiseptique (benzoate de sodium) permet le développement de *Ips confusus* sans multiplication de micro-organismes.

Pour notre part, obtenant sans difficulté et *de facto* des milieux à pH voisin de

TABLEAU 2

*Résultats comparatifs obtenus avec P. notatus suivant les différents groupes de milieu utilisés
(25°C - obscurité)*

Groupe	Larves installées	Rendement en p. cent	Dev. larvaire par rapport au lot témoin	Poids des adultes par rapport à l'émergence au lot témoin (en mg)	Fécondité des femelles par rapport au lot témoin
Groupe I (milieux A, C, D et G) ...	164	0			
Groupe II (milieux B, E, E')	157	37 à 61	Courte ou très longue (50 ou 65 jours)	Elevés (26,5 mg)	Inférieure (250 à 500 œufs)
Groupe III (milieu F'')	100	68 à 95	Moyenne (55 jours)	Moyens (19,5 mg)	Egale (500 à 700 œufs)
Témoin	210	95	52 jours	19,5 mg	650 œufs

4,5, nous avons examiné l'influence de la concentration du milieu en antiseptiques sur le rendement de l'élevage de *P. notatus*. Nous avons utilisé des milieux du groupe III (type F'') aussitôt après fabrication, à teneur en eau voisine de 65 p. cent au moment de l'emploi et comportant 0,17 à 1 p. cent d'un mélange de trois parties de « Nipagine » (parahydroxybenzoate de méthyle) et deux parties d'acide benzoïque. Les mortalités observées atteignent :

27 p. cent	pour les milieux à 0,17 p. cent d'antiseptique	
35 p. cent	»	» 0,25 p. cent
20 p. cent	»	» 0,50 p. cent
68 p. cent	»	» 0,75 p. cent
100 p. cent	»	» 1,00 p. cent

Il apparaît donc que les larves de *P. notatus* sont peu ou non sensibles à la présence du mélange antiseptique utilisé, jusqu'à une concentration de 0,5 p. cent. Aucune anomalie morphologique n'a en outre été observée chez les adultes obtenus. Aucune pollution n'a été observée sur les milieux dont la teneur en eau avait été ajustée à 65-68 p. cent, quelle que soit la concentration en antiseptiques. Aux teneurs en eau plus élevées, bactéries et moisissures se sont développées sur les milieux à faibles concentrations d'antiseptiques.

Ces données nous ont amené à doubler la dose du mélange antiseptique dans le milieu F'' par rapport à la composition détaillée au tableau 1.

2. — Polyvalence des milieux

a) Elevages de xylophages divers.

Nous avons tenté l'élevage sur ces milieux des espèces suivantes :

Scolytidae *Orthotomicus erosus* WOLL.

Hylurgus ligniperda FABR.

Blastophagus piniperda L.

Cerambycidae *Monohamnus galloprovincialis* OL.

Criocephalus syriacus REITTER.

Buprestidae *Phaenops cyanea* F.

Pithyidae *Mycterus curculionides* ILL.

Toutes les espèces se sont développées de la larve nouveau-née à l'adulte. De légères corrections de la teneur en eau sont cependant apparues nécessaires dans certains cas. Ainsi pour *O. erosus*, les meilleurs résultats sont obtenus sur milieux contenant moins de 65 p. cent d'eau. Comme pour *P. notatus*, la formule F'' se montre la plus satisfaisante parmi toutes les préparations étudiées. Nous avons également pu vérifier pour *H. ligniperda*, *O. erosus* et *C. syriacus* la fécondité des produits d'élevage.

Certaines espèces (*Cerambycidae* - *Buprestidae*) à développement larvaire long, requièrent des changements périodiques de récipient, ce qui ne semble pas nuire à leur développement. En outre, les espèces qui comme *Monohamnus* et *Criocephalus* s'alimentent normalement d'abord dans le liber, pour ensuite pénétrer dans la profondeur du bois, ont ici paru s'accommoder d'un régime uniforme.

Les rendements d'élevages de larves groupées ont comme pour *P. notatus* toujours été inférieurs à ceux d'élevages individuels, sauf chez les Scolytides dont les déplacements dans les préparations sont moins importants et le développement larvaire plus court.

FIG. 2. — *Elevage artificiel de Monohamnus galloprovincialis* ($\times 1,4$)

b) *Alimentation imaginale et ponte sur milieux artificiels.*

De jeunes adultes de *P. notatus* prélevés après leur nymphose et provenant, soit de la nature, soit d'élevages artificiels, ont été portés sur un milieu de type F". Ils s'en sont alimentés et les femelles ont commencé à pondre au bout de 8-10 jours. Des élevages par couples isolés se poursuivent actuellement, permettant d'obtenir des données sur la fécondité.

Pour les adultes de Scolytides, le milieu F" a été offert coulé, en couches plus ou moins minces selon les espèces. *B. piniperda* semble effectuer correctement sa nutrition de maturation dans ces conditions et, pour deux espèces, *H. ligniperda* et *O. erosus*, le dépôt de quelques œufs a été obtenu. Diverses observations et mises au point techniques sont cependant encore nécessaires.

CONCLUSION

Parmi les milieux artificiels essayés une formule au moins donne des résultats satisfaisants. Relativement simple, elle est constituée d'un support gélosé dans lequel

sont incorporés deux substances nutritives (farine de liber, levure de bière) un supplément vitaminé et un aliment de lest (cellulose). Les insectes produits sont pour la première génération au moins comparables à ceux de la nature.

La valeur des milieux pour l'alimentation larvaire a été appréciée sur *Pissodes notatus*. Elle paraît tributaire de leur teneur en eau, leur durée de conservation et leur concentration en substances antiseptiques. Leur polyvalence a été démontrée sur sept espèces de xylophages du Pin maritime, appartenant à diverses familles (Curculionides, Buprestides, Scolytides, Cerambycides, Pithydes).

L'alimentation imaginale et la ponte des femelles sur ces milieux a fait l'objet de quelques essais encourageants. Des observations complémentaires sont actuellement en cours. Elles visent notamment à obtenir, pour les espèces étudiées, l'élevage complet sur support artificiel durant plusieurs générations successives.

Reçu pour publication en juin 1969.

REMERCIEMENTS

Nous tenons à exprimer notre gratitude à M. FÉRON et Mme G. GUENNELON de la Station de Zoologie agricole du Sud-Est (C.R.A.S.E.) pour leur obligeance à mettre à notre disposition leurs installations et leur expérience des techniques de milieux alimentaires. Nos remerciements vont également à Mme CHASTELLIÈRE et M. D'ARCIER, de la même Station, pour leur très précieuse aide technique lors de la fabrication des milieux.

SUMMARY

ARTIFICIAL DIETS FOR REARING *PISSODES NOTATUS* LARVAE AND OTHER WOOD-BORING INSECTS OF *PINUS MARITIMA*.

The comparative study of different formulae of artificial diets for the breeding of xylophagous insect larvae has been carried out. The media making and breeding techniques of the insects are described. The criteria for the estimation of the medium feeding value are specified. Their comparative study carried out on *Pissodes notatus* allows a medium group permitting a satisfactory larval development to be defined and allows insects similar to natural ones to be obtained. The influence of some factors of media is studied: larval conditioning, water content and using period of media, insect tolerance for antimicrobial agents. The polyvalency of artificial diets is established for larvae and adults from various xylophagous families living in *Pinus maritima*.

ZUSAMMENFASSUNG

KÜNSTLICHE ERNÄHRUNGSMITTELN FÜR *PISSODES NOTATUS* LARVEN UND ANDERE KIEFER-HOLZFRESSER INSEKTEN (*PINUS MARITIMA*).

Verschiedene Holzfresserlarvenernährungsmitteln wurden vergleichend geprüft. Die Herstellungstechnik der Mitteln sowie die Züchtung der Insekten sind beschrieben. Kriterien für eine Abschätzung des Wertes der Mitteln für die Insekternahrung sind bestimmt. Vergleichende Prüfungen mit *Pissodes notatus* haben ein Formeltypus erschienen gelassen, der eine befriedigende Larvenentwicklung verursacht und der, an die in der Natur geboren vergleichbare Insekten, verschafft. Die Einwirkung einiger Faktoren: Larvenmenge, Wassergehalt und Erhaltungsdauer der Mitteln, Insektenempfindlichkeit an faulniswidrige Stoffe, wurde auch geprüft. Die Mitteln sind für Larven sowie für Adulten verschiedener Rind- und Holzfresser von *Pinus maritima* nutzbar.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- BEDARD W. D., 1933. The number of larval instars and the approximative length of the larval stadia of *Dendroctonus pseudotsugae* Hopk. with a method for their determination in relation to other bark beetles. *J. Econ. Entomol.*, **26**, 1128-1134.
- BEDARD W. D., 1966. A ground phloem medium for rearing immature bark beetles (*Scolytidae*). *Ann. Entomol., Soc. Amer.*, **59**, 5, 931-938.
- CLARK E. W., 1965. An artificial diet for the Southern Pine Beetle and other bark beetles. *U.S. Forest. Serv. Res. Note S.E.*, 45, 3 p.
- DOUGHERTY E. C., 1959. Introduction to axenic culture of invertebrate Metazoa: A goal. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, **77**, 27-54.
- GALFORD J. R., 1967. Emergence of *Entedon leucogramma* from smaller european elm bark beetle larvae reared on artificial media. *J. Econ. Entomol.*, **60**, 5, 1482-1483.
- GUENNELON G., 1968. L'alimentation artificielle des Insectes. *Zool. agric. appl.*, **67**, 1-3, 20-28.
- MALPHETTES C. B., 1968. Premiers essais d'élevage des larves d'*Hylobius abietis* sur milieu synthétique. *Ann. sci. forest.*, **25**, 3, 189-192.
- PAIN U. & BECKEL W. E., 1960. A practical method for rearing *Monochamus scutellatus* Say and *M. notatus* (Coleoptera, Cerambycidae). *Can. Entomol.*, **92**, 875-883.
- SCHMIDT F. H., 1966 Two artificial (oligidic) media for the Douglas fir beetle, *Dendroctonus pseudotsugae* Hopk. (Coleoptera, Scolytidae). *Can. Entomol.*, **98**, 10, 1050-1055.
- WARREN G. L., 1958. A method of rearing bark and cambium feeding beetles with special reference to *Hylobius warreni* Wood. (Coleoptera curculionidae). *Can. Entomol.*, **90**, 425-433.
- YEARIAN W. C. & WILKINSON R. C., 1963. Two larval rearing media for *Ips* bark beetles. *Florida Entomol.*, **48**, 25-27.
-