

UTILISATION DE HT¹⁸O POUR MESURER LA CONSOMMATION
ALIMENTAIRE CHEZ LES LARVES AGÉES DE
SEMIADALIA IINOTATA [COL. : COCCINELLIDAE]

A. FERRAN (1), A. BUSCARLET²) & M. M. LARROQUE(1)

- (1) I.N.R.A. Station de Zoologie et de Lutte Biologique, 06602 Antibes.
(2) Centre d'Études Nucléaires de Cadarache — Service de Radiogronomie. 13115 Saint-Paul-
lez-Durance, France.

Le marquage isotopique (HT¹⁸O) des larves âgées de 3^e et de 4^e stades de la coccinelle aphidiphage *S. Iinotata* SCHNEIDER permet d'estimer la consommation alimentaire totale de chacun de ces 2 stades. Par comparaison avec une méthode d'estimation de la consommation alimentaire basée sur la pesée des proies, le marquage isotopique donne des résultats excellents chez les larves de dernier stade et elle est sans doute utilisable pour des mesures comparatives chez les larves de 3^e stade.

Les avantages de cette méthode, dont le plus important est assurément son indépendance vis-à-vis de la nature de l'aliment ingéré par les larves, ses quelques inconvénients et également les différentes possibilités de son utilisation (alimentation artificielle, études sur la physiologie alimentaire, etc.) sont discutés.

L'application de cette méthode à des larves L3 et L5 maintenues au laboratoire dans des conditions ambiantes constantes, en présence de populations aphidiennes monospécifiques mais hétérogènes quant à leur stade de développement, nous a permis de vérifier à l'échelle individuelle que le gain de poids constitue effectivement un critère d'estimation de la consommation alimentaire totale correspondante. Dans ce cas également, les meilleurs résultats sont obtenus chez les larves du dernier stade.

Chaque stade larvaire de la coccinelle aphidiphage *Semiadalia Iinotata* SCHNEIDER est caractérisé par une relation linéaire entre la consommation alimentaire cumulée et le poids frais corporel correspondant ou, ce qui revient au même, par un rapport constant entre la consommation alimentaire totale et le gain de poids qui en découle (FERRAN & LARROQUE, 1977a). Ces corrélations simples permettent d'estimer au laboratoire, la consommation alimentaire à partir du poids des individus (FERRAN & LARROQUE, 1977b). Ces recherches, de même que la plupart des études faites par ailleurs sur l'alimentation de ce type de prédateur, ont été réalisées en offrant à des larves confinées dans des volumes réduits un poids (ou un nombre) déterminé de pucerons généralement détachés de leur substrat végétal et appartenant à un stade précis d'une seule espèce (BLACKMAN, 1967; DIXON, 1969; GAWANDE, 1966; GURNEY & HUSSEY, 1970; HAIMALAINEN *et al.*, 1975; IBRAHIM, 1955; MAELZER, 1978; MCMULLEN, 1967; WEISMANN *et al.*, 1971). Or les populations aphidiennes sont normalement constituées dans la nature, même lorsqu'elles sont monospécifiques, d'individus de différents stades. Il est donc difficile d'estimer la biomasse consommée par les méthodes précédentes et de nouvelles techniques ne nécessitant pas la récolte et le comptage des proies doivent être mises au point.

Dans un travail antérieur, nous avons montré que le double marquage des larves L₃ et L₄ de cette coccinelle à l'aide de HT¹⁸O permet de calculer leur consommation alimentaire, à condition que l'on connaisse la teneur moyenne en eau du puceron utilisé comme aliment et l'hygrométrie ambiante (BUSCARLET *et al.*, 1980a, b). Le travail ci-dessous présente 2 expériences différentes. La 1^{re} est destinée à déterminer la précision de la méthode radioisotopique en la comparant à celle basée sur la récolte et la pesée des proies. Le 2^e essai, qui constitue une application de cette méthode, a pour objet de vérifier qu'il est possible d'estimer la consommation alimentaire à partir du poids corporel chez des larves mises en présence de populations aphidiennes monospécifiques et hétérogènes.

ÉTALONNAGE DE LA MÉTHODE ISOTOPIQUE D'ESTIMATION DE LA CONSOMMATION ALIMENTAIRE

MATÉRIEL ET MÉTHODES

La comparaison des 2 méthodes d'estimation de la consommation chez les larves âgées (L3 et L4) de la coccinelle, *S. 11notata* fait appel à des techniques décrites dans les publications précédemment citées. Nous nous contenterons d'en rappeler les principales caractéristiques en insistant plus particulièrement sur la chronologie des manipulations.

Les larves sont marquées isotopiquement par voie tégumentaire et non par absorption orale. Dès la mue considérée, elles sont placées pendant 12 h à 25°C dans une petite enceinte dont l'atmosphère est saturée par des vapeurs d'HT¹⁸O. Durant ce laps de temps, elles demeurent strictement à jeun. Elles reçoivent ensuite matin et soir jusqu'au moment de leur sacrifice, un poids déterminé de ♀ aptères du puceron *Myzus persicae* SULZ. A l'issue de chaque demi-journée, puis pour l'ensemble du stade on calcule la consommation alimentaire (c) et le gain de poids correspondant (ΔP).

L'élimination des 2 traceurs radioactifs est mesurée à 3 moments précis au sein de chaque stade. Dès la fin du marquage (témoin de charge) et 24 h plus tard, les larves sont placées individuellement pendant 3 h dans des seringues étanches dont l'air est préalablement appauvri en gaz carbonique et en vapeur d'eau. A l'issue de cet intervalle de temps, l'oxygène 18 qui est expiré sous forme de CO₂ est dosé dans l'air de la seringue à l'aide d'un spectromètre de masse (CH₄). A la fin du stade, à un moment qui sera précisé plus loin dans le texte, les larves sont tuées puis déshydratées pendant 8 j au moins, à l'aide de chlorure de calcium (CaCl₂). L'eau tritiée (HTO) fixée sur ce sel est dosée à l'aide d'un spectrophotomètre bêta (INTERTECHNIQUE).

Durant leur croissance, les larves sont maintenues dans des cages largement grillagées placées elles-mêmes dans une enceinte (vol. 31) munie d'un microventilateur. L'humidité y est maintenue constante (76 %) à l'aide d'une solution saturée de chlorure de sodium (NaCl). Les autres conditions ambiantes sont : 16 h d'éclairage quotidien, température de 20° ± 1°C.

Nous avons constitué 3 lots en fonction du stade de la coccinelle et du moment où les larves sont sacrifiées. Le 1^{er} contient des larves L3 qui sont tuées au moment où elles passent par leur poids maximal, ce qui correspond à la cessation des prises alimentaires. Les 2 autres lots sont constitués par des larves de dernier stade L4 qui sont tuées soit quand elles atteignent leur poids maximal, soit au moment de leur fixation sur un substrat pour tenir compte de l'existence d'une consommation résiduelle pendant la période d'amaigrissement qui précède leur immobilisation et leur nymphose.

Les résultats d'une série de mesures sont exprimés par la moyenne et son intervalle de confiance au seuil 5 %. Les 2 estimations de la consommation sont analysées selon la technique statistique des « séries appariées » (SCHWARTZ, 1963). Les erreurs commises lors de l'es-

timination de la consommation alimentaire à partir du marquage radioactif sont calculées pour chaque couple de mesures à l'aide de l'expression : $\frac{|c - C|}{C} \times 100$ où c et C représentent respectivement la consommation estimée à l'aide de la radioactivité et la consommation témoin (pesée des proies). Pour préciser la répartition des valeurs de c par rapport à celles de C, on calcule en % le rapport entre le nombre de mesures de c qui sont supérieures à celles de C et le nombre total de mesures (% de surestimation).

RÉSULTATS (tableau 1)

L'estimation de la consommation alimentaire par le marquage isotopique des larves d'une part et par la pesée des proies d'autre part donne des valeurs sensiblement identiques. Il n'existe qu'une différence significative entre ces 2 méthodes qui concerne des larves (L4) sacrifiées 24 h après le marquage ($|t| = 5,46$). Dans ce lot la méthode isotopique surestime dans 86 % des cas les consommations alimentaires et l'erreur relative atteint en moyenne 15 %. Dans l'ensemble, ces mesures intermédiaires réalisées 24 h après le marquage isotopique sont à l'origine d'erreurs relatives importantes, notamment chez les larves L3 (18,4 %).

TABLEAU I

Comparaison de 2 méthodes d'estimation de la consommation alimentaire moyenne chez les larves (L₃ et L₄) de la coccinelle S. 11notata

	Moment de mesure de la radioactivité	Consommation alimentaire moyenne (en mg) mesurée par la radioactivité (c)	la pesée des proies (C)	Erreur relative $\frac{ c - C }{C} \times 100$
L3	24 h après le marquage (16 larves)	5,14 ± 0,72	4,96 ± 0,95	18,4 ± 6,5 (56,2 %) (a)
	au poids maximal (22 larves)	14,41 ± 1,94	14,96 ± 0,96	10,8 ± 2,6 (45,5 %)
	24 h après le marquage (29 larves)	18,05 ± 2,23	15,92 ± 1,91	15,0 ± 3,0 (86,2 %)
L4	au poids maximal (10 larves)	72,69 ± 3,74	70,79 ± 3,54	4,3 ± 1,5 (70,0 %)
	à la fixation (23 larves)	71,17 ± 2,71	72,21 ± 2,63	4,6 ± 1,3 (43,5 %)

(a) = % de surestimation (voir texte).

La méthode isotopique s'applique particulièrement bien aux larves de dernier stade (L4), lorsque les mesures portent sur la consommation totale (erreur relative moyenne de 5 % environ). La consommation alimentaire réalisée au cours de ce stade représente les 82 % de la consommation larvaire totale (FERRAN & LARROQUE, 1977a). Chez les larves L3 tuées au moment où elles atteignent leur poids maximal, l'erreur relative moyenne est sensiblement plus forte (10,80 %). Rappelons que leur consommation correspond seulement aux 11 % de la consommation préimaginale totale (FERRAN & LARROQUE, 1977a).

Les larves de 4^e stade présentent en général une consommation alimentaire résiduelle

pendant la période de décroissance pondérale qui précède leur fixation et leur nymphose. A ce moment-là, ces individus absorbent de l'eau en provenance des proies et en éliminent comme le suggère la perte de poids. On pouvait penser, en conséquence, que l'estimation de la consommation chez les larves tuées au moment de la fixation serait moins précise que celle effectuée chez les individus sacrifiés au poids maximal. La comparaison des 2 méthodes appliquées aux 2 lots correspondants de L4 montre que ces mouvements de l'eau n'altèrent pas la précision de la méthode isotopique.

L'ensemble des couples de mesures (c et C) effectuées sur chaque larve se distribue sur une droite de corrélation ayant pour équation: $C' = 1,02c - 0,81$ (1).

Le coefficient de corrélation (r) est de 0,986. Cette relation sera utilisée dans l'expérience suivante pour corriger les valeurs de la consommation alimentaire mesurée à l'aide du marquage radioactif.

ESTIMATION DE LA CONSOMMATION ALIMENTAIRE CHEZ DES LARVES MISES EN PRÉSENCE D'UNE POPULATION APHIDIENNE MONOSPÉCIFIQUE ET CONSTITUÉE PAR UN MÉLANGE QUELCONQUE DE TOUS LES STADES

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Pour vérifier la possibilité d'estimer à partir du poids corporel, la consommation alimentaire de larves L3 et L4 élevées en présence de populations aphidiennes quelconques, le marquage isotopique est utilisé de la façon suivante: un 1^{er} lot de larves est élevé suivant la technique classique, en présence de pucerons détachés de leur substrat végétal (témoins). A l'issue du stade, on obtient la consommation totale (C) et le gain de poids (ΔP) qui est égal à la différence entre le poids maximal atteint et le poids en début de stade. Ces 2 valeurs permettent de calculer le rapport λ selon la relation: $C = \lambda \Delta P$ (2).

Simultanément un 2^e lot identique au précédent est marqué avec $HT^{18}O$ selon la technique précédente. Les larves sont ensuite maintenues individuellement dans des cages (vol. 21) dont le fond est constitué par un pot contenant des petits pois nains qui sont infestés par une population quelconque du puceron *M. persicae*.

Pour chaque individu, on détermine, grâce au marquage isotopique, la consommation alimentaire (c) qui est corrigée en tenant compte de l'équation (1) (C') et le gain de poids correspondant ($\Delta Pr.$). Grâce à la relation (2), ce dernier permet de calculer la consommation (C) qui est comparée à la précédente.

Les comparaisons de ces séries de mesures sont effectuées à l'aide du test (t) pour les petits échantillons (SCHWARTZ, 1963). Les erreurs relatives commises lors de l'estimation de la consommation (C) à partir du poids sont calculées à l'aide de l'expression: $\frac{(C - C')}{C'} \times 100$.

Rappelons, par ailleurs, que dans des conditions thermiques moyennes (20 à 25°C) le rapport λ (relation 2) est très voisin de la pente des relations linéaires qui relie la consommation alimentaire cumulée et le poids frais des larves (FERRAN & LARROQUE, 1980).

RÉSULTATS (tableau 2)

Le gain de poids ($\Delta Pr.$) présenté par les larves du 2^e lot au cours du 3^e et du 4^e stade permet d'estimer la consommation alimentaire totale correspondante (C) en appliquant la relation $C = \lambda \Delta Pr.$ établie à partir d'individus témoins du 1^{er} lot.

Chez les larves de 3^e stade, les valeurs ainsi obtenues sont significativement inférieures à celles calculées à partir du marquage isotopique ($t = 2,63$). L'erreur relative moyenne com-

TABLEAU 2

Estimation de la consommation alimentaire moyenne (C) à partir du poids chez les larves marquées (HT¹⁸O) et élevées en présence de populations aphidiennes contenant un mélange quelconque des différents stades

Stades larvaires	Estimation de la consommation alimentaire moyenne (en mg) à partir		Comparaison statistique	Erreur relative $\frac{ C-C' }{C} \times 100$
	du poids $C = \lambda \Delta pr.$	du marquage isotopique $C' = 1,02 c - 0,81$		
L ₃ (20 larves)	15,15 ± 0,79	17,20 ± 1,11	S. (t) = 2,63	17,7 ± 6,8
L ₄ (20 larves)	67,71 ± 2,96	68,10 ± 3,92	N.S. (t) = 0,32	5,6 ± 2,6

S. : différence significative. — N.S. : différence non significative au seuil de 5 %.

mise lors de cette estimation est de 17,7 %. D'après les résultats de l'expérience précédente dans laquelle la consommation alimentaire des larves de cet âge est de l'ordre de 14 mg, il semblerait que cette différence provienne de la méthode isotopique qui surestime la consommation alimentaire. Chez les larves L₄, les valeurs obtenues par ces 2 méthodes sont sensiblement identiques (t = 0,32). Chez ces individus, le poids permet de calculer avec une bonne précision (erreur relative 5,6 %) la consommation alimentaire correspondante.

DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Le marquage isotopique des larves âgées (L₃ et L₄) de la coccinelle aphidiphage *S. llnotata* constitue une méthode d'estimation de la consommation alimentaire individuelle. Bien qu'il soit possible pendant un stade précis d'effectuer des mesures intermédiaires sans sacrifier l'insecte, il est préférable de l'utiliser pour obtenir la consommation alimentaire totale. Comparativement à une méthode basée sur la pesée des pucerons offerts à ces auxiliaires le marquage isotopique donne de bonnes estimations de la consommation totale chez les larves L₃ et surtout chez les larves L₄, qui sont de loin les plus importantes du point de vue de l'activité prédatrice.

L'examen des intervalles de confiance dans les séries de mesures montre qu'ils ne sont pas sensiblement supérieurs à ceux obtenus par la technique classique (pesée des proies). Cette remarque laisse supposer que le marquage isotopique peut être utilisé dans des expériences où l'on veut comparer des consommations alimentaires, notamment chez les L₃.

Cette méthode présente plusieurs avantages. Sa mise en œuvre qui consiste à marquer directement le prédateur par voie tégumentaire, limite considérablement les risques de pollution. Le radioélément utilisé (le tritium) ne semble pas préjudiciable à ces insectes. Elle ne dépend que de la teneur en eau de l'aliment. Hormis cette donnée indispensable, elle peut être employée quelle que soit la nature de l'aliment, différentes espèces aphidiennes ou même des milieux alimentaires synthétiques. Associée à des pesées individuelles, elle rend possible, dans ces différents cas, l'établissement de bilans alimentaires. Elle peut constituer un moyen original pour aborder les problèmes de phagostimulation.

Sa dépendance à l'égard de l'hygrométrie ambiante peut être considérée comme un inconvénient ; mais en laboratoire ce facteur abiotique peut être facilement contrôlé. Le marquage doit atteindre un certain niveau initial pour que la mesure de ¹⁸O soit possible et

que l'élimination de HTO demeure détectable en fonction du temps. Chez les individus dont le poids est inférieur à 2 mg, ce qui correspond pour *S. 11notata* aux 2 premiers stades larvaires, cette méthode n'est plus applicable. En pratique, le dosage du tritium au moment du sacrifice des larves ne peut être réalisé que si le laps de temps le séparant du marquage n'excède pas environ 5j. C'est pour cette raison que nous avons opéré séparément, sur les 2 derniers stades larvaires.

Cette méthode permet, en particulier, de mesurer la consommation alimentaire de larves qui se développent en présence de populations aphidiennes contenant tous les stades. Nous avons profité de cette possibilité pour vérifier chez des larves âgées (L3 et L4) placées dans ces conditions trophiques, que le gain de poids individuel constitue un moyen pour estimer la consommation alimentaire correspondante. Les meilleurs résultats ont été obtenus avec les larves de dernier stade.

SUMMARY

The use of HT¹⁸O for measuring the food consumption in aged larvae of the aphidophagous ladybeetle, *Semiadalia 11notata* [Col. : Coccinellidae]

The isotopic labeling (HT¹⁸O) of aged larvae (3rd and 4th instars) of the aphidophagous ladybeetle *S. 11notata* allows the total food consumption of both stages to be estimated. From the comparison with a method of consumption estimation based on weighing the prey, the isotopic labeling gives good results in the 4th stage larvae and is undoubtedly useful for comparative determination in 3rd stage larvae.

The advantages of the method which does not depend on the kind of food ingested, the few drawbacks and the different possibilities of its use (artificial food, physiological studies) are discussed.

This method was applied to 3rd and 4th stages larvae growing in the laboratory (in constant ambient conditions) and fed with aphids of one species in different stages of development. It allowed to test, in each individual, the validity of measuring the total food consumption through the gain of weight of the larvae. Again, in this case the best results were obtained in the 4th stage larvae.

BIBLIOGRAPHIE

- BLACKMAN, R. L. — 1967. The effects of different aphid food on *Adalia bipunctata* L. and *Coccinella septempunctata*. — *Ann. Appl. Biol.*, 59, 207-219.
- BUSCARLET, A., FERRAN, A. & LARROQUE, M. M. — 1980a. Étude à l'aide de HTO de l'équilibre hydrique des larves de *Semiadalia undecimnotata* SCHN. — *Z. Naturforsch.*, 35c, 319-325.
- 1980b. Water budget of *Semiadalia undecimnotata* SCHN. Larvae feeding on *Myzus persicae* SULZ., studied with HT¹⁸O. — *Int. J. Appl. Radiat. Isotop.*
- DIXON, A. F. G. — 1969. Factors limiting the effectiveness of the coccinellid beetle *Adalia bipunctata* L. as a predator of the sycamore aphid *Drepanosiphum platanooides* SCHR. — *J. Anim. Ecol.*, 39, 739-751.
- FERRAN, A. & LARROQUE, M. M. — 1977a. La consommation et l'utilisation d'un puceron *Myzus persicae* SULZ. par les différents stades larvaires de la coccinelle *S. undecimnotata*. — *Ann. Zool. Ecol. Anim.*, 9, 665-691.
- 1977b. Sur une possibilité d'estimer l'action prédatrice de larves de la coccinelle aphidophage *S. undecimnotata* grâce à la connaissance de leur évolution pondérale. — *Ann. Zool. Ecol. Anim.*, 9, 693-708.
- 1980. Influence des facteurs abiotiques sur la physiologie alimentaire des larves de la coccinelle aphidophage *S. undecimnotata*. II. Action de la photopériode et de l'humidité relative. — *Acta Oecol. Oecol. Appl.*, 1., 215-224.
- GAWANDE, R. B. — 1966. Effect of constant and alternating temperatures on feeding and development of *Chilomenes sexmaculata* F. B. In: Ecology of Aphidiphagous Insects (T. HODEK ed.). — *Proc. Symposium, Liblice (1965)*, 63-67, Praha.

- GURNEY, B. & HUSSEY, Y. N. W. — 1970. Evaluation of some coccinellid species for the biological control of aphids in protected cropping. — *Ann. Appl. Biol.*, 65, 451-458.
- HÄMÄLÄINEN, M., MARKKULA, M. & RAIJ, T. — 1975. Fecundity and larval voracity of four lady beetle species [Col.: Coccinellidae]. — *Ann. Entomol. Fenn.*, 41, 124-127.
- IBRAHIM, B. Sc. — 1955. Studies on *Coccinella undecimpunctata aegyptiaca* RCHE. II. Biology and life-history. — *Bull. Soc. Entomol. Egypte*, 34, 395-423.
- MAELZER, D. A. — 1978. The growth and voracity of larvae of *Leis conformis* (BOISD.) [Col., Coccinellidae] fed on the rose aphid: *Aphis (Macrosiphum) rosae* L. [Hom. Aphididae] in the laboratory. — *Aust. J. Zool.*, 26, 293-304.
- MCMULLEN, R. D. — 1967. The effect of photoperiod, temperature, and food supply on rate of development and diapause in *Coccinella novemnotata*. — *Can. Entomol.*, 99, 578-586.
- SCHWARTZ, D. — 1963. Méthodes Statistiques à l'Usage des Médecins et des Biologistes. — *Flammarion*, Paris, 151-162.
- WEISMANN, L., AFIEY, A. M. & ZAKI, F. N. — 1971. Einflußnahme der Temperature und der Luftfeuchtigkeit auf den Nahrungsverbrauch bei Marienkäfer *Coccinella undecimpunctata*. — *Biologia (Bratislava)*, 26, 89-98.