

Localisation et évolution dans le temps des sites de replication du Polydnavirus chez *Apanteles glomeratus* L. (Hymenoptère: Braconidae) parasitoïde de *Pieris brassicae* L. (Lepidoptère: Pieridae)

Guirrou Z., Meynadier G., Boumezzough A., Hilal A.

in

Choukr-Allah R. (ed.).
Protected cultivation in the Mediterranean region

Paris : CIHEAM / IAV Hassan II
Cahiers Options Méditerranéennes; n. 31

1999
pages 473-484

Article available on line / Article disponible en ligne à l'adresse :

<http://om.ciheam.org/article.php?IDPDF=C1020872>

To cite this article / Pour citer cet article

Guirrou Z., Meynadier G., Boumezzough A., Hilal A. **Localisation et évolution dans le temps des sites de replication du Polydnavirus chez *Apanteles glomeratus* L. (Hymenoptère: Braconidae) parasitoïde de *Pieris brassicae* L. (Lepidoptère: Pieridae).** In : Choukr-Allah R. (ed.). *Protected cultivation in the Mediterranean region* . Paris : CIHEAM / IAV Hassan II, 1999. p. 473-484 (Cahiers Options Méditerranéennes; n. 31)



<http://www.ciheam.org/>
<http://om.ciheam.org/>

LOCALISATION ET EVOLUTION DANS LE TEMPS DES SITES DE REPLICATION DU POLYDNAVIRUS CHEZ APANTELES GLOMERATUS L. (HYMENOPTERE: BRACONIDAE) PARASITOÏDE DE PIERIS BRASSICAE L. (LEPIDOPTERE:PIERIDAE)

GUIRROU Z¹., MEYNADIER G²., BOUMEZZOUGH A³. Et HILAL A.⁴

¹ INRA, Centre Régional du Tadla, S.R.D, Beni-Mellal, MAROC.

² INRA, Station de Pathologie Comparée S^tchristal, Les Alez, FRANCE.

³ Université Cadi Ayâd, Laboratoire d'Ecologie terrestre, Marrakech, MAROC.

⁴ INRA. Programme National d'Olivier, Marrakech, MAROC.

Résumé : Le polydnavirus se réplique dans les noyaux des cellules du calyx des femelles d'*A. glomeratus*. Au cours de la nymphose nous avons mis en évidence la multiplication des cellules internes du calyx et l'élaboration d'un tissu néoformé que nous avons qualifié de «tissu virogène». Dès le quatrième jour de nymphose apparaissent en effet les premiers stades de la multiplication virale. Ce phénomène de la formation du calyx et de la multiplication des particules virales au cours de la nymphose n'avait pas été démontré chez les Ichneumonides et les Braconides étudiés précédemment. Dès l'émergence des femelles, des modifications plus profondes aboutissent à la transformation d'une partie de «tissu virogène», chez lequel les noyaux éclatent et libèrent un fluide contenant le matériel viral qui entoure les œufs avant leur oviposition. Au cours du stade imaginal les transformations du «tissu virogène» se poursuivent aboutissant à sa disparition. Quatre jours après l'émergence, on constate que le contenu du calyx est uniquement constitué par un fluide visqueux dans lequel baignent les œufs

INTRODUCTION

C'est parmi les insectes que l'on trouve les ennemis naturels les plus redoutables de certaines populations d'insectes (Jourdeuil P., 1960). L'utilisation de quelques espèces d'insectes en lutte biologique et intégrée contre d'autres espèces d'insectes a connu plusieurs réussites (Bouletrau M., 1988). Cet antagonisme revêt des formes très variées et s'effectue grâce à une variété d'adaptations relatives qui ont exercé la curiosité puis ont attiré l'intérêt de nombreux observateurs passés (Stolz B.D., Guzo D., Cook D., 1986). Différentes études systématiques et bio-écologiques ont permis la connaissance de nombreuses relations hôtes-parasites. Cependant on commence seulement à comprendre certains des mécanismes qui régissent ces relations (Vinson S.B., Edson K.M., Stoltz D.B., 1977). Notre travail consiste à définir le site et l'évolution dans le temps de la réplication du polydnavirus chez *Apanteles glomératus* parasitoïde de *Pieris Brassicae*.

MATERIEL ET METHODES

1. Présentation du matériel vivant

Pieris brassicae L. et *Apanteles glomeratus* L. que nous avons mis en élevage à l'insectarium de la Station de Photologie Comparée de Saint-Christol font partie de la classe des insectes, de la sous classe des ptérygotes. Leur position systématique est la suivante :

***Pieris brassicae* L.**

Ordre : Lépidoptères.

S/Ordre : *Heteroneura*.Division : *Ditrysia*.Super-famille : *Papilionoidea*.Famille : *Pieridae*.Genre : *Pieris*.Espèce : *Pieris brassicae*.

Les adultes sont maintenus en élevage dans des cages en présence d'une solution d'eau miellée et de jeunes plants de choux. La durée des stades embryonnaires est de 5 à 6 jours. Après éclosion les larves sont nourries sur des feuilles de choux dans une salle climatisée (25°C, 70% d'HR et une photopériode de 16 : 8h (Lumière : Obscurité). On observe cinq stades larvaires, une prénymphe et un stade nymphal qui durent 15 à 16 jours.

***Apanteles glomeratus* L.**

Ordre : Hyménoptères.

S/Ordre : Apocrites.

Super-famille : *Ichneumonidae*.Famille : *Braconidae*.Genre : *Apanteles*.Espèce : *Apanteles glomeratus*.

A. glomeratus est un important endoparasite larvaire de *P. brassicae*. Après émergence et accouplement, les femelles commencent leur oviposition sur la partie latéro-ventrale des segments abdominaux des chenilles de *P. brassicae* du premier et du deuxième stade. Une femelle dépose en moyenne 28 œufs par larve. En visitant plusieurs larves elle peut arriver à une fécondité moyenne de 200 œufs. L'incubation et le développement larvaire durent 11 à 12 jours, le cocon est formé en 40 minutes environ et la durée du stade pupal est de 5 à 5,5 jours (RATAUL, 1976). Les adultes sont maintenus dans une salle climatisée (21°C, 70% d'HR et une photopériode de 16 : 8H (Lumière : Obscurité)) en présence d'une solution miellée et peuvent vivre 15 à 20 jours.

2. Techniques histologiques**Fixation :**

Elle représente le temps essentiel de la technique histologique et a pour but d'immobiliser les structures des échantillons étudiés en respectant dans la mesure du possible leur morphologie. Deux fixateurs ont été utilisés:

- Carnoy, 24 heures au froid.
- Moricard, 48 heures au froid.

Déshydratation :

- Les échantillons fixés sont trempés dans:
- Deux bains d'alcool absolu pendant 24 heures.
- Trois bains d'alcool butylique de 24 heures chacun.

Inclusion et mise en blocs :

Le *paraplast* est le milieu d'inclusion utilisé, il s'agit d'un mélange de paraffine et de polymère plastique. Le *LMR*, produit commercial à base de Trichloréthane, est employé comme dissolvant de *paraplast*, il remplace le toluène et le xylène cancérigènes. L'imprégnation se fait à chaud en étuve réglée à 56°C, les échantillons sont mis en blocs de *paraplast* où ils peuvent être gardés indéfiniment.

Coupe des blocs :

Les blocs sont débités en coupes au moyen d'un microtome de type JUNG. L'épaisseur des coupes est de 5 microns.

Collage, étalement et hydratation des coupes :

Les coupes réalisées sont déposées par ordre chronologique sur des lames bien propres. Leur collage se fait avec de l'eau albumineuse sur une platine chauffante.

Pour enlever le paraplast, les coupes sont trempées dans deux bains de LMR. L'hydratation est effectuée dans trois bains d'alcool de degrés décroissants (100%, 90% et 70%) suivit d'un lavage à l'eau distillée. Les coupes fixées dans le moricard sont traitées, après l'alcool 100%, par l'iode et l'hyposulfite de sodium pour éliminer le sublimé.

Coloration des coupes :

Plusieurs techniques sont utilisées selon le but recherché: Les colorations topographiques polychromes (Hémalum, Azan) et les colorations cytologiques assurant la localisation des acides nucléiques (Technique de Feulgen-Rossenbeck, Gallocyanine).

a. Hémalum picro-carmin :

- Coloration à l'Hémalum pendant 5 minutes de manière à obtenir une forte coloration des noyaux.
- Lavage à l'eau courante jusqu'à obtention d'un virage au bleu noir (2 à 5 minutes).
- Coloration par le picro-indigo-carmin pendant 30 secondes en cuve ou sur lame.

b. Coloration à l'Azan (modifié) :

- Coloration par le rouge nucléaire pendant 5 minutes.
- Rinçage à l'eau distillée.
- Coloration par le rouge-G molybdique pendant 30 secondes.
- Les coupes sont essorées entre du papier filtre et colorées par le bleu d'aniline pendant 30 secondes.

c. Technique de Feulgen et Rossenbeck :

- Les coupes une fois hydratées subissent une hydrolyse dans l'acide chlorhydrique normal à 60°C pendant un temps variable selon la nature du fixateur.
- Rinçage à l'acide chlorhydrique normal (à température froide).
- Trempage dans le réactif de Schiff pendant une heure.
- Rinçage dans trois bains de l'eau sulfureuse.
- Lavage à l'eau courante.
- Coloration du fond par le picro-indigo-carmin pendant 30 secondes.

d. Coloration à la Gallocyanine :

- Coloration des coupes par la laque de Gallocyanine pendant 24 à 48 heures selon la nature et la taille de l'échantillon.
- Lavage pendant 5 minutes à l'eau courante.

e. Déshydratation et montage :

Juste après coloration, les coupes sont trempées dans deux bains d'alcool absolu, puis dans le LMR. Le montage est réalisé dans le baume de Canada.

3. Techniques de microscopie électronique

Fixation:

- Prélever les échantillons de petite taille et les tremper dans le glutaraldéhyde à 2,5% en tampon cacodylate de sodium 0,1M à pH 7,4 pendant 1 à 2 heures au froid selon la nature et la taille de l'échantillon.
- Rincer les pièces 2 à 3 fois avec le tampon de rinçage (Cacodylate à 2,14% + 75% de Cacodylate à 2,14% pendant $\frac{3}{4}$ à 1 heure selon la nature de l'échantillon.

Déshydratation :

Quatre bains d'acétone de concentration croissante (40%, 70%, 95% et 100%) sont utilisés. Les échantillons à inclure sont trempés entièrement dans chaque bain pendant 10 à 15 minutes selon leur taille et leur nature.

Imprégnation:

Les agents chimiques utilisés sont :

- Epon A (812 : 43% + DDSA : 57%).
- Epon B (812 : 53% + MNA : 47%).
- Accélérateur : DMP 30.
- Acétone.

Méthode:

- Faire le mélange d'Epons A+B à parts égales, ajouter 1,5% d'accélérateur, bien mélanger et ajouter l'acétone pure en quantité égale.
- Juste après déshydratation, les échantillons sont trempés dans ce mélange et laissés évaporer sous cristalliseur pendant 24 heures en présence d'Actigel.
- Une deuxième imprégnation est effectuée dans un bain contenant uniquement les Epons (A+B) à parts égales avec 1,5% d'accélérateur en changeant de sa lière et en les laissant sous cristalliseur pendant 4 heures.

Inclusion et mise en blocs :

L'inclusion est effectuée dans des gélules ou des moules à plat (plaques à inclusion). Les échantillons sont orientés et polymérisés à l'étuve pendant 36 heures à 37°C et 24 heures à 60°C.

Coupes fines et semi fines :

Elles sont réalisées à l'aide d'un ultramicrotome de type ULTRATOME III.LKB. L'épaisseur des coupes est de l'ordre de 0,5 microns pour les semi fines et de 70 nanomètres pour les fines.

Coloration des coupes :

a. Les coupes semi-fines :

Les coupes recueillies sur lamelles sont colorées avec le bleu de toluidine à 2,5% pendant 1 à 3 minutes, rincées à l'eau permutée et trempées dans un bain d'alcool à 95° pendant 10 minutes. Le montage est effectué sur une lame dans une goutte de baume de Canada et les coupes sont séchées à 30°C.

b. Les coupes fines :

Les coupes sont recueillies sur des grilles recouvertes d'une membrane de collodion-carbone et traitées par des solutions alcooliques d'acétate d'uranyle à 5% puis de citrate de plomb à 1% pour en augmenter le contraste. Ensuite elles sont séchées au papier filtre et rincées sur 10 gouttes successives d'eau distillée.

Observation des coupes :

Les coupes semi-fines sont observées à l'aide d'un microscope optique et les fines au moyen d'un microscope électronique ZEISS de type EM10 CR.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Des échantillons prélevés et fixés au cours de différentes périodes du développement larvaire, nymphal et imaginal d'*Apanteles glomeratus* nous ont permis de préciser la localisation et l'évolution dans le temps des sites de la réplication virale chez le parasitoïde.

Les techniques histologiques de colorations topographiques polychromes (Hémalum picro-indigo-carmin, Azan), et les colorations cytologiques révélant la présence des acides nucléiques (Feulgen-Rossenbeck, Gallocyanine), Ainsi que les techniques de microscopie électronique en transmission et en balayage ont été utilisées.

STADES LARVAIRES :

Les dissections réalisées au cours des derniers stades larvaires endoparasites montrent que leur appareil génital est rudimentaire. Les techniques histologiques n'ont pas permis au cours de ces stades de localiser des noyaux cellulaires comportant du matériel Feulgen +.

STADES NYMPHAUX :

Durant la nymphose nous avons constaté que l'appareil génital s'est relativement développer. Aussi avons nous procédé à la dissection des nymphes, à l'extraction et à la fixation de l'appareil génital femelle. En outre des nymphes entières ont été fixées.

Les techniques histologiques et de microscopie électronique ont décelé différentes modifications de l'appareil génital femelle du parasitoïde:

Deux jours après la formation du cocon :

Dés le deuxième jour de nymphose, une partie de l'oviducte (calyx) s'individualise et commence à se gonfler.

Une coupe semi-fine (fig.1) montre que la zone élargie (calyx) est constituée de quelques assises cellulaires et que la lumière du calyx est vide. Sur une vue détaillée de la coupe du calyx (fig.2), les assises cellulaires (au nombre 3 à 4) ne présentent pas une différence de structure, cependant les noyaux les plus internes semblent au début de gonflement.

L'étude ultrastructurelle de ces assises cellulaires (fig. 3) révèle mieux ce phénomène: La chromatine ne se présente pas en motte opaques et délimitées, elle est dispersée en petits fragments dans l'ensemble du noyau, qui est hypertrophié et occupe une grande partie de la cellule, en effet, la membrane nucléaire rejoint en certains endroits la membrane cellulaire.

Quatre jours après la formation du cocon :

Durant la nymphose les différentes dissections ont montré que l'appareil génital femelle d'*A.glomeratus* continue son développement et que le calyx augmente de volume. Ainsi au cours du quatrième jour nous avons observé que l'oviducte continue à se transformer (fig.4). Les cellules du calyx se sont multipliées, certaines ont un noyau hypertrophié Feulgen +. Le début des ovarioles montre l'arrivée massive d'ovocytes, à différents stades de développement, entourées de cellules nourricières (trophocytes).

Une coupe transversale semi-fine du calyx (fig.5) montre que les cellules de la périphérie constituant l'épithélium du calyx n'ont pas subi de transformation et constituent une assise monocellulaire. Par contre les transformations principales portent sur les cellules internes. Elles se sont fortement multipliées et occupent toute la lumière du calyx (fig.5). Leurs noyaux sont hypertrophiés montrant un matériel diffus dont la structure peut être assimilée au contenu des noyaux Feulgen + mis en évidence par les techniques histologiques (fig.4). L'ensemble de ces

cellules internes forme un véritable tissu virogène néoformé. Nous appelons « tissu virogène » l'ensemble des cellules du calyx à l'intérieur desquelles s'effectue la virogénèse.

L'étude ultrastructurale du même matériel montre des noyaux hypertrophiés qui présentent des aspects précoces de la virogénèse (fig.6). Formation de structures vésiculaires à membrane simple; individualisation de particules virales issues d'un matériel dense (viroplasma). Ces particules virales (nucléocapsides) viennent s'inclure, en général au nombre de 4 à 6, à l'intérieur de ces vésicules membranaires constituant des virions à nucléocapsides multiples (Vnm).

STADE IMAGINAL :

Au cours du développement imaginal d'*A.glomeratus*, des abdomens et des calyx de femelles ont été fixés une heure après l'émergence et toutes les 24 heures pendant la durée de vie de l'adulte soit, 12 jours.

A la sortie des adultes :

Une heure après l'émergence, le calyx des femelles adultes est plus volumineux (fig.7) comparativement à celui observé au cours la nymphose. Les noyaux des cellules constituant le «tissu virogène» sont encore plus hypertrophiés, les uns contiennent un matériel homogène, d'autres plus nombreux, occupent toute la cellule et font apparaître des agrégats. A ce moment, les œufs continuent leur descente dans la lumière du calyx et baignent dans un fluide Feulgen+ (fig.12). L'ensemble «œufs + fluide» est situé en grande partie au niveau de débouché de l'oviducte. Par conséquent, on peut considérer que dès l'émergence du parasitoïde, les femelles sont aptes à transmettre, en même temps que les œufs, le matériel viral lors de l'oviposition.

Au cours de cette période de la vie du parasitoïde, les noyaux du «tissu virogène» sont le siège d'une répllication intense du virus (fig.8). Ainsi on note différents aspects de la virogénèse. Le viroplasma donne naissance à de nombreuses nucléocapsides qui, dès leur formation, sont incluses en groupes dans des vésicules membranaires constituant ainsi des virions à nucléocapsides multiples. La figure 9 illustre ce caractère accentué de l'hypertrophie des noyaux et de la multiplicité des formations virales. Ces noyaux, en éclatant (fig.11) laissent écouler un fluide qui se répand le long de la zone périphérique entre l'épithélium et la masse du tissu virogène du calyx.

Quatrième jour après l'émergence :

La période comprise entre le début et la quatrième jour après l'émergence des femelles parasitoïdes est caractérisée par , une évolution continue du volume du calyx, une abondance des œufs et une modification du « tissu virogène » aboutissant à sa disparition et à sa transformation en un matériel viral.

Chez la femelle âgée de 4 jours le «tissu virogène» a pratiquement disparu, aussi le contenu du calyx est formé uniquement par un fluide visqueux où baignent les œufs (fig.12, 13, 14 et 15). Ce fluide est en fait une suspension homogène de virions à nucléocapsides multiples qui adhèrent les uns aux autres et à proximité immédiate des œufs. Ce phénomène est remarquablement illustré par les figures 13 et 15 obtenues en microscopie en balayage.

Des observations effectuées sur des femelles plus âgées montrent que leurs calyx diminuent de volume, se sclérosent et contiennent peu de fluide. Ainsi des essais de parasitisme nous ont montré que ce sont les femelles âgées de 3 à 6 jours qui assurent un taux de parasitisme élevé.

PLANCHE I

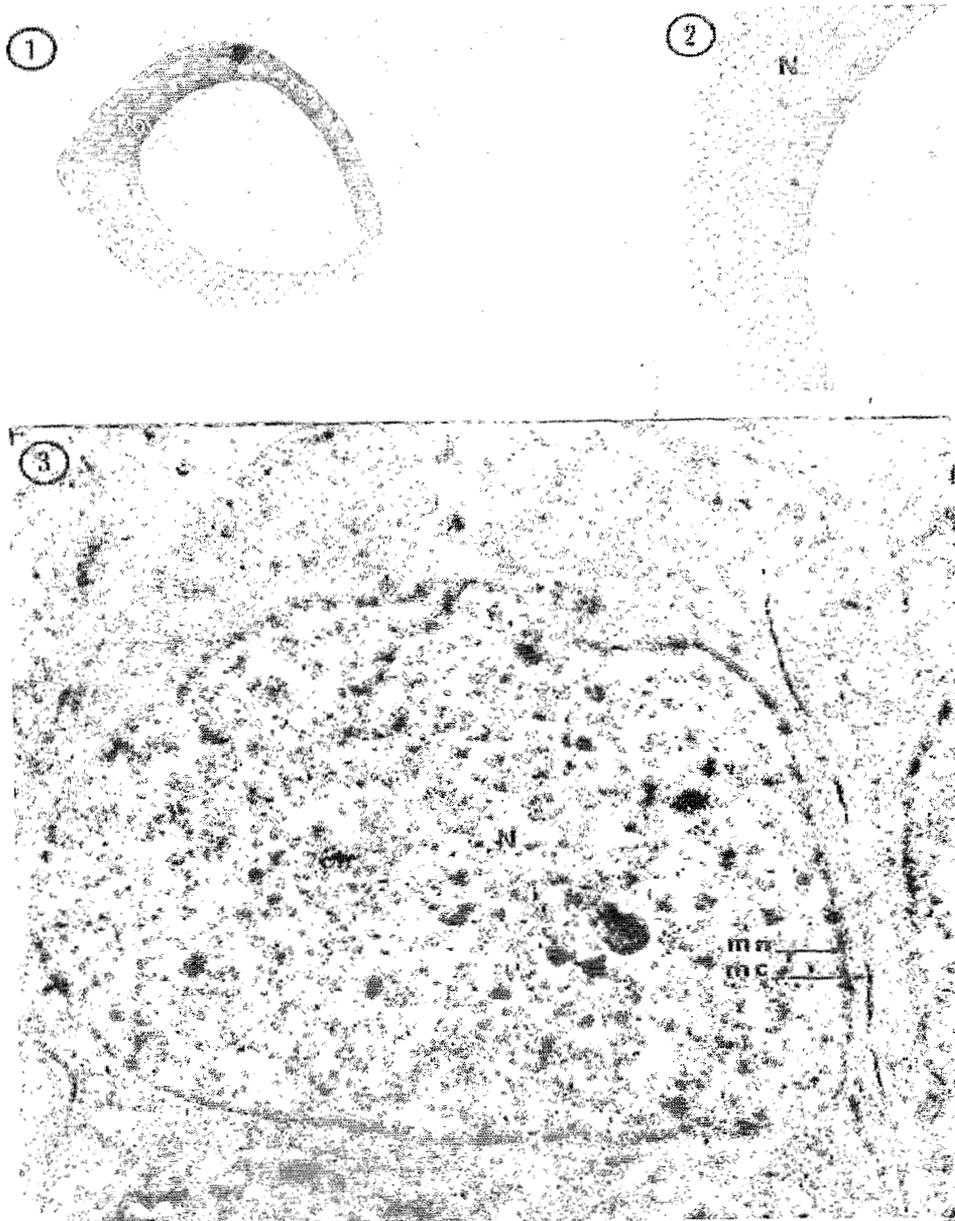


Fig. 1 : Coupe transversale du calyx d'une nymphe d'*A.glomeratus* âgée de 2 jours. Le calyx est constitué de quelques assises cellulaires, la lumière du calyx est vide.

Pov : Paroi de l'oviducte.

Coupe semi-fine, Color .Bleu de Toluidine x 285.

Fig. 2 : Vue détaillée de la coupe du calyx montrant des noyaux (N) au début de gonflement dans la zone interne.

Coupe semi-fine, Color. Bleu de Toluidine x 430.

Fig. 3 : Ultrastructure d'une cellule du calyx d'une nymphe d'*A.glomeratus* âgée de 2 jours. Le noyau (N), en cours de dilatation, occupe déjà une grande partie de la cellule, la chromatine (ch) est dispersée et se répartit en petits amas.

mn : membrane nucléaire.

mc : membrane cytoplasmique.

Microscopie électronique x 14.000.

PLANCHE II

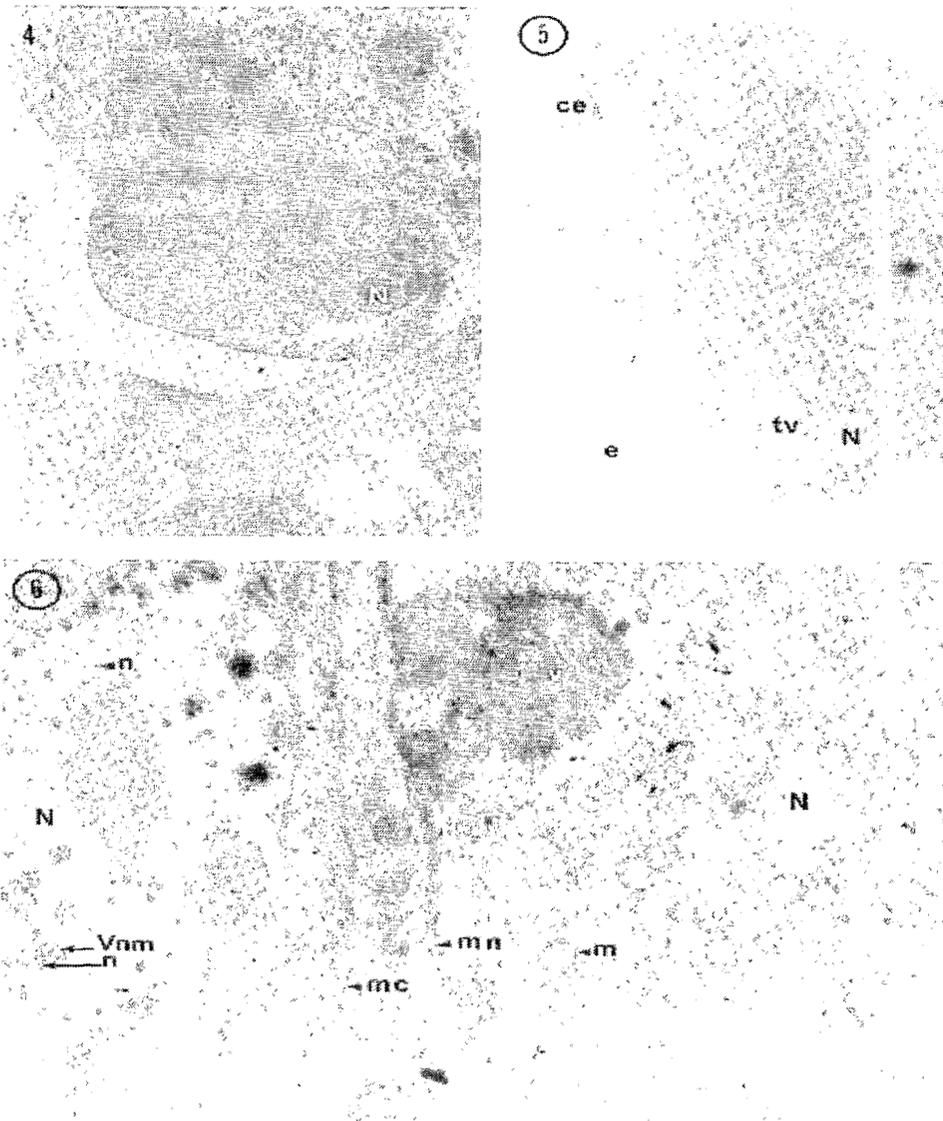


Fig. 4 : Coupe longitudinale de l'appareil génital d'une nymphe (femelle) d'*A. glomeratus* âgée de 4 jours. Les cellules de la zone interne du calyx se sont multipliées, certaines ont un noyau hypertrophié Feulgen+ . ov : ovocytes. e : épithélium
Coupe histologique. Color. Feulgen x 280.

Fig. 5 : Coupe transversale du calyx d'une nymphe (femelle) âgée de 4 jours. Les cellules de la périphérie constituant l'épithélium ne subissent pas de transformation. Par contre les cellules internes se sont multipliées et occupent toute la lumière du calyx.
ce : cellules épithéliales. e : épithélium. tv : « tissu virogène ». N : Noyau
Coupe semi-fine Color. Bleu de Toluidine x 450.

Fig. 6 : Ultrastructure de deux cellules de la zone périphérique du «tissu virogène» du calyx d'une nymphe âgée de 4 jours, les noyaux hypertrophiés (N) présentent des stades précoces de la virogénèse.
m : membrane vésiculaire. mc : membrane cytoplasmique. mn: membrane nucléaire.
n : nucléocapside.
V : viroplasma. Vnm :Virion à nucléocapsides multiples.
Micr.électr. Color., Acétate d'Uranyle-Citrate de Plomb x 28.000.

PLANCHE III.

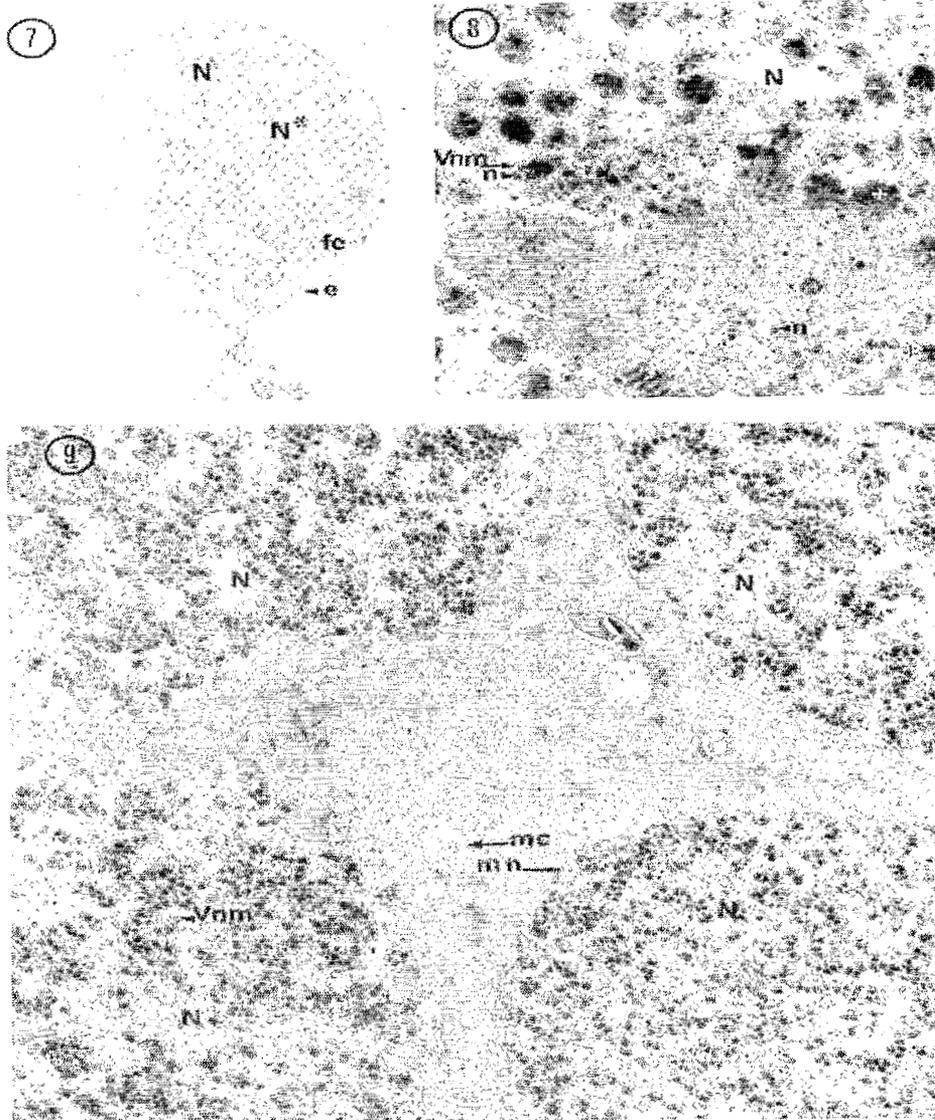


Fig. 7 : Coupe semi-fine d'un calyx prélevé et fixé une heure après l'émergence de la femelle d'*A.glomeratus*. Tous les noyaux des cellules constituant le «tissu virogène» sont hypertrophiés, les uns (N) contiennent un matériel homogène, d'autres (N*) occupant toute la cellule font apparaître des agrégats. Dans la lumière du calyx, les oeufs (Oe) baignent dans le fluide du calyx (fc). e: épithélium. Coupe semi-fine Color. Bleu de Toluidine x 280.

Fig. 8 : Ultrastructure d'une partie d'un noyau cellulaire du «tissu virogène» de calyx d'une jeune femelle d'*A.glomeratus* une heure après l'émergence. On note différents aspects de la virogénèse : Formation d'une membrane d'inclusion, de nucléocapsides (n) et de virions à nucléocapsides multiples (Vnm). Micr.électr. Color., Acétate d'Uranyle, Citrate de Plomb x 35.000.

Fig. 9 : Parties de cellules du «tissu virogène» du calyx d'une jeune femelle d'*A.glomeratus* fixée immédiatement à l'émergence.

mc : membrane cellulaire mn : membrane cytoplasmique
 N : noyau Vnm : virion à nucléocapsides multiples
 Micr.électr. Color., Acétate d'Uranyle-Citrate de Plomb x 5.600.

PLANCHE IV

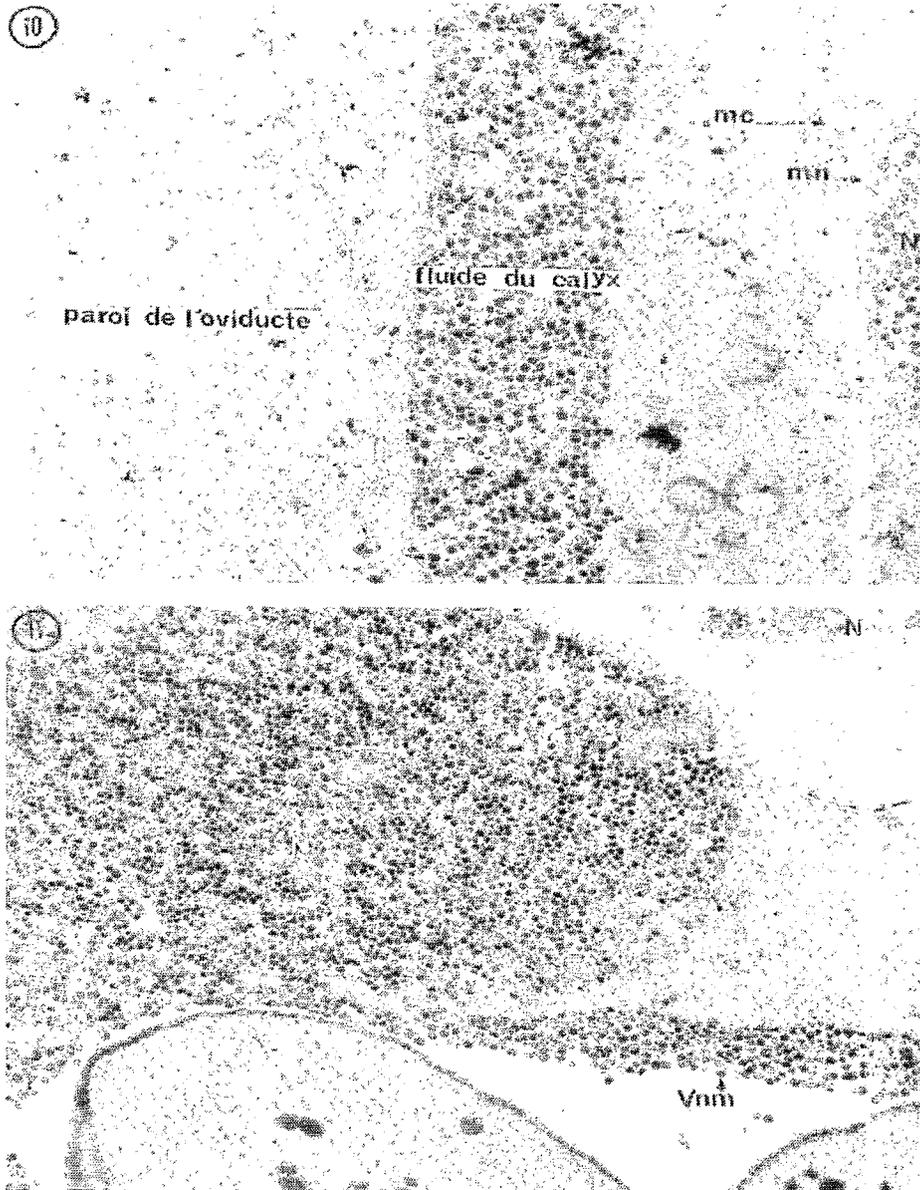


Fig. 10 : Coupe transversale d'un calyx d'*A. glomeratus* prélevé et fixé une heure après l'émergence. Dans la zone périphérique, le long de la paroi de l'oviducte, le fluide du calyx est constitué d'une masse de virions à nucléocapsides multiples (Vnm).

mc : membrane cellulaire

mn : membrane nucléaire

N : noyau du « tissu virogène »

Micr.électr. Color., Acétate d'Uranyle - Citrate de Plomb x 7.000.

Fig. 11 : Même coupe. Vue d'une partie interne du calyx. Le noyau d'une cellule de «tissu virogène» éclate et laisse écouler une masse de virions dans la lumière du calyx où baignent les œufs du parasitoïde.

N : noyau des cellules virogènes

Oe : Oeufs

Vnm : Virion à nucléocapsides multiples

Micr.électr. Color., Acétate d'Uranyle - Citrate de Plomb x 5.600.

P

LANCHE V

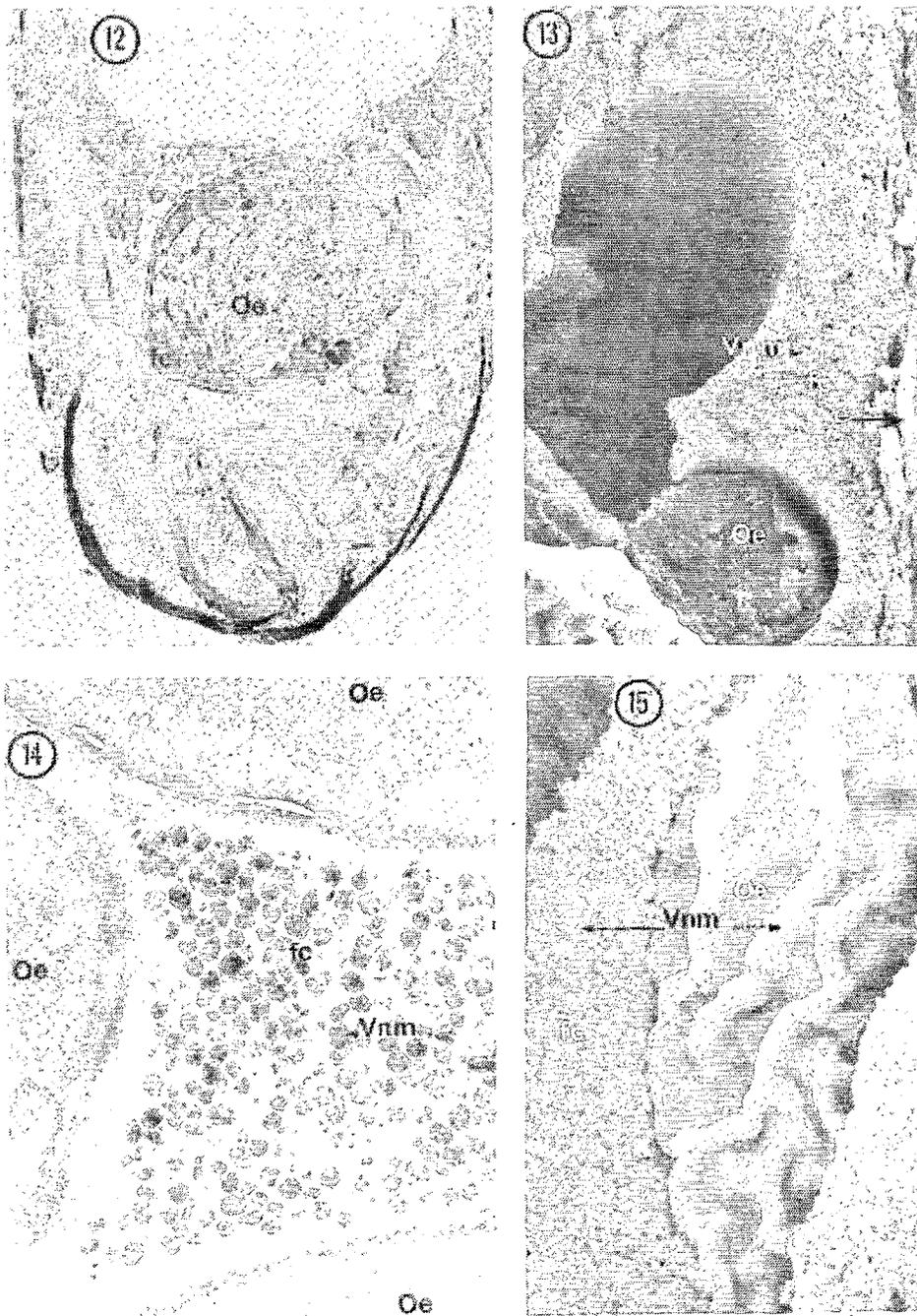


Fig. 12 : Coupe longitudinale de l'abdomen d'une femelle d'*A.glomeratus* âgée de 4 jours. Le calyx contient uniquement les œufs baignant dans un fluide Feulgen + .

fc : fluide de calyx ; Oe : oeufs
Coupe Histologique, Color. Feulgen, x 110.

Fig. 13 et 15 : Fragment du calyx d'une femelle d'*A.glomeratus* âgée de 4 jours observée en microscopie électronique à balayage. Les œufs sont inclus dans le fluide viral.

e : épithélium du calyx fc : fluide du calyx, Oe : oeufs Vnm: virions à nucléocapsides multiples
Micr.électr. à balayage Fig.13 x 2.000 Fig.15 x 5.000.

Fig. 14 : Coupe du calyx d'une femelle d'*A.glomeratus* âgée de 4 jours.

fc : fluide du calyx Oe : oeufs Vnm: virions à nucléocapsides multiples
Micr.électr. Color., Acétate d'Uranyle-Citrate de Plomb x17.500.

REFERENCES

Bouletrau M., (1988). Pour le science. Janvier 1988.

Jourdheuil, P. (1960). Influence de quelques facteurs écologiques sur les fluctuations de population d'une biocénose parasitaire: Etude relative à quelque Hyménoptères(Ophioninae, Diopsilinae, Euphorinae) parasites de divers coléoptères inféodés aux crucifères. Ann. des Epiphyties. 11, 4, 445-660.

Rataul H.S., (1976). Biology of *A.glomeratus* an endo parasite of *peris brassicae* larvae. J. Entomol . (India)., 38, 33-37.

Stoltz D.B., Guzo D., Cook D. (1986). Studies on *Polydnavirus* transmission. Virology, 155, 120-131.

Vinson S.B., Edson K.M., Stoltz D.B. (1977). Effect of virus associated with the reproductive system of the parasitoid wasp, *campeletis sonorensis*, on host weight gain. J. Invertebr. Pathol., 34, 133-137.