



Récolte de Microlépidoptères au Kenya, avec description d'une méthode de préparation

par Ugo DALL'ASTA¹, Jurate DE PRINS¹ & Willy DE PRINS²

¹ Musée royal de l'Afrique centrale (MRAC), Leuvensesteenweg 13, B-3080 Tervuren, Belgique (e-mails : dallasta@africamuseum.be, jdeprins@africamuseum.be).

² Nieuwe Donk 50/1, B-2100 Antwerpen, Belgique (e-mail : willy.deprins@antwerpen.be).

Résumé

Dans le cadre de deux projets du MRAC, des missions ont été organisées dans des biotopes naturels du Kenya pour y récolter, entre autres, des Microlépidoptères. Une technique de préparation y a été testée : elle consiste à tuer les insectes en plongeant le flacon dans lequel ils ont été capturés dans de l'eau bouillante; la préparation même s'effectue sur des lames de préparation microscopiques transformées en étaloirs. Des Gracillariidae (mineuses de feuilles) ont été récoltés au stade larvaire et élevés en boîtes de Pétri. Les résultats sont excellents.

Summary

In the scope of two projects of the MRAC field work has been carried out in natural habitats in Kenya in order to collect among others Microlepidoptera. A preparation technique has been tested : killing the insects by immersing the vials with which they were caught in hot water; the preparation itself is carried out on microscopic slides transformed into setting boards. The Gracillariidae (leaf miners) were collected at the larval stage and reared in Pétri dishes. The results were excellent.

Introduction

Beaucoup de nos membres sont devenus passionnés d'entomologie en commençant une collection d'insectes. Il est un fait qu'une collection est le point de départ presque obligatoire pour entamer l'étude d'un groupe d'insectes et que sans celle-ci l'entomologiste est handicapé dans son travail, surtout si l'accès à des collections d'institutions scientifiques ou de musées est difficile. En partie pour inciter nos membres à continuer de constituer des collections d'une part, mais également pour démystifier la difficulté de l'étude des Microlépidoptères de l'autre, un projet de récolte de ces insectes au Kenya est ici décrite. Il n'y a pas qu'en région tropicale que des nouvelles informations sur les Microlépidoptères peuvent être découvertes : en Europe en général, et en Belgique en particulier, des décou-

vertes sont plus que fréquentes. Ainsi, un relevé des données connues pour la Belgique d'après la littérature et des récoltes personnelles peut être trouvé dans DE PRINS (1998).

Le projet cadre et le projet d'études innovatrices

Le Musée royal de l'Afrique centrale, dans lequel deux des auteurs travaillent, a la possibilité de financer des travaux de terrain grâce à un projet de collaboration avec les 'National Museums of Kenya (NMK)' à Nairobi. Il s'agit d'un projet de la coopération au développement belge, surnommé projet cadre, dont trois des volets sont le transfert d'expertise taxonomique vers le NMK, la formation de techniciens kenyans aux travaux de terrain et l'enri-

chissement de leurs collections en ramenant du MRAC des spécimens bien préparés et identifiés.

Au sein de la section d'Entomologie du musée, un autre projet, financé par les Services fédéraux des Affaires scientifiques, techniques et culturelles, est actuellement en cours, dénommé "étude innovatrice de Microlépidoptères (papillons de nuit), un groupe bioindicateur important". Ce projet comporte un volet taxonomique (la famille des Gracillariidae a été choisie pour révision), un volet de banque de données (des informations de la famille doivent être accessibles rapidement, en particulier toutes les informations sur les taxa africains), et s'y est ajouté un volet de travail de terrain. Ce dernier volet est devenu d'ailleurs très important et est réalisé conjointement avec l'accord cadre.

Récolte de Microlépidoptères à la lumière

Comme la plupart des papillons de nuit, les Microlépidoptères sont attirés la nuit par la



Fig. 1. Une lampe halogène/vapeur de mercure de 160 watts attire les 'Micros' qui sont récoltés dans de petits flacons.

La préparation des Microlépidoptères

La raison majeure pour laquelle les Microlépidoptères sont le groupe le moins récolté et par conséquent le moins bien étudié des Lépidoptères, est qu'ils doivent être préparés sur le terrain. A l'inverse de la plupart des autres papillons de jour ou de nuit, un stockage à sec ou au surgélateur ne permet pas de les conserver pour préparation ultérieure. Il faut donc les capturer et les garder vivants jusqu'au moment de la préparation. LANDRY *et al.* (1994) donnent un historique très bien documenté des techniques de préparation, y compris celles employées à ce jour, citant de nombreuses références bibliographi-

lumières. Le piège employé au Kenya dans les présents projets est une lampe mixte halogène – vapeur de mercure de 160 watts suspendue à hauteur de la tête, et éclairant un drap blanc (Fig. 1). Les insectes attirés par la lumière se posent sur le drap et sont récoltés dans de petits flacons en verre de 8 mm de diamètre sur 40 mm de long. Cette taille de tubes est la plus appropriée pour les plus petits Microlépidoptères (par exemple les Nepticulidae), pour la récolte de spécimens plus grands, des tubes de taille supérieure peuvent être employés. Ces dits 'Micros' seront gardés vivants dans ces tubes en verre, tout simplement parce qu'un 'Micro' tué dessèche très vite et devient de ce fait impossible à préparer.

Il est recommandé de garder les flacons contenant les spécimens à l'abri de la lumière. Ceci empêche qu'en bougeant ils perdent des écailles. Si l'occasion se présente (séjour à l'hôtel), il est conseillé de garder les flacons au réfrigérateur pour les mêmes raisons.



Fig. 2. Les 'Micros' dans les petits flacons sont tués à l'eau bouillante (le principe du bain-marie) puis étalés à l'aide d'un binoculaire.

ques. Beaucoup d'éléments nouveaux sont mentionnés dans cette publication, aussi bien pour la capture que pour la préparation et la conservation, et la lecture de cette publication est fortement conseillée à tout entomologiste qui se lance dans l'étude et la préparation des dits 'Micros'. Dans la présente publication cependant, nous proposons une technique différente, aussi bien pour tuer les spécimens que pour les préparer.

LANDRY *et al.* (1994) considèrent que la meilleure façon de tuer des 'Micros' est de le faire à l'ammoniac à concentration élevée. Koen MAES, entomologiste en poste au NMG (comm. pers.), applique également ce procédé, mais avoue qu'il

y a parfois des problèmes de condensation. Quand le spécimen est en contact avec un produit chimique liquide à haute concentration, et ceci est connu pour tout papillon de jour ou de nuit, il l'aspire sur tout son corps par les minuscules écailles qui le couvrent. Une fois mouillé avec un produit chimique en telle concentration, même séché par après, l'insecte est difficile à préparer. La procédure la plus simple et la plus efficace que nous avons adoptée est de tuer les spécimens à l'eau bouillante, simplement en plongeant les tubes en verre dans lesquels ils ont été capturés dans une tasse (Fig. 2). Il faut cependant veiller à ce que l'eau ne pénètre pas dans les flacons. Nous devons d'ailleurs cette nouvelle façon de tuer des spécimens au Dr V. SRUOGA qui l'a trouvée accidentellement pendant l'expédition de Kopet Dag 1993 en Asie centrale, tout simplement parce que des poisons chimiques n'étaient pas disponibles.

Pour la préparation des spécimens, LANDRY *et al.* (1994) donnent également des consignes très précises. Ils jugent que chaque spécimen doit être préparé séparément, procédure qui est connue dans le jargon entomologique comme étant une préparation dans laquelle les ailes de chaque spécimen sont tenues en place par leurs propres petits morceaux de 'bandelettes'. Notre expérience nous montre que préparer des 'Micros' peut se faire facilement avec des bandelettes entières (WOODHALL, 1992), comme pour les papil-

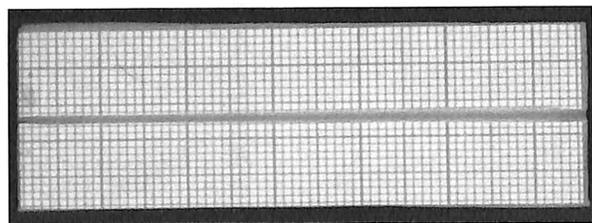


Fig. 3. Etaloir - porte-objet : un porte-objet où de l'émalène a été collé, laissant de chaque côté une partie libre pour qu'il puisse être glissé dans des boîtes à préparation.

La biologie des Gracillariidae

Une des raisons principales pour laquelle les Gracillariidae ont été choisis comme famille de Microlépidoptères pilote pour le projet d'étude

lons plus grands, c'est de la taille des étaloirs que dépend plutôt la réussite de la préparation. PARENTI (2000) décrit ainsi une technique inédite que nous avons pu tester sur le terrain et qui donne entière satisfaction. Les étaloirs sont fabriqués tout simplement à partir de porte-objets microscopiques (75 × 25 mm). Une bande d'émalène (Anglais : plastazote) y est collée avec au milieu une fente, qui, comme pour les étaloirs classiques, doit être assez large pour pouvoir loger les pattes et le bas de l'abdomen des spécimens. Afin de procéder à une préparation dite parfaite, on peut y coller du papier millimétré (Fig. 3). Celui-ci empêche entre autres que les minuscules ailes soient abîmées par les aspérités provoquées par les épingles lors de préparations précédentes. Avec cette technique, les petites mites sont préparées de la même façon que les papillons plus grands, mais naturellement avec des minuties pour épingles. Souvent, un binoculaire est nécessaire, et spécialement dans ce cas la taille des 'étaloirs - porte-objet' est idéale pour une manipulation au-dessous de ce matériel optique. Un avantage supplémentaire est que ces étaloirs - porte-objet peuvent être stockés dans des boîtes à préparations microscopiques (Fig. 4). Ceci diminue la possibilité de casse des spécimens et facilite ainsi le transport. Tout ce matériel et cette technique ont été testés dans des conditions tropicales et se sont avérés efficaces et réalisables sans problèmes.

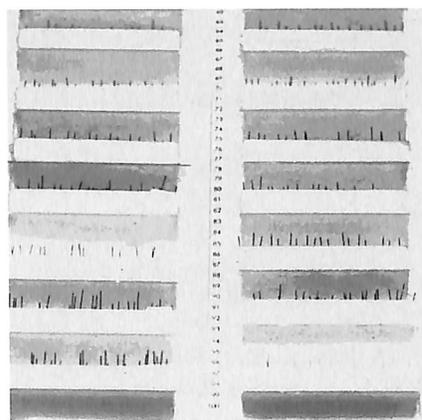


Fig. 4. Boîte à préparation avec des étaloirs - porte-objet sur lesquels des Microlépidoptères ont été préparés à l'aide de minuties au lieu d'épingles standard.

innovatrice est leur biologie. Au stade préimaginal, c'est-à-dire avant d'être adulte, tout le cycle des Gracillariidae se passe à l'intérieur de feuilles d'arbres ou de buissons, beaucoup plus rare-

ment dans des feuilles de plantes herbacées. Les oeufs sont pondus par les femelles sur la feuille, et, lors de l'éclosion, la petite larve y pénètre immédiatement et y passe tout son cycle. Elle se nourrit des tissus internes des feuilles et se faisant, elle construit des galeries où se forment des enflures (Figs 5-8). Ces déformations sont souvent très caractéristiques pour l'espèce, particulièrement en Europe où ce phénomène a été



Fig. 5. Une tache typique d'une mine de *Phyllonorycter grewiella* sur *Grewia* sp. près du Taita Discovery Centre (Est du Tsavo).



Fig. 7. *Phyllocnistis* sp. mineuse de feuilles sur *Cremaspora triflora*, forêt d'Arabuko Sokoke.

Ce type de biologie est naturellement très intéressant pour les entomologistes de terrain car ils n'ont pas seulement la possibilité de capturer ces insectes au piège lumineux, mais ils ont également celle de découvrir leur biologie en faisant leur élevage.

La récolte et l'élevage des larves mineuses de feuilles appartenant à la famille des Gracillariidae

L'élevage des Gracillariidae à partir des larves mineuses de feuilles est de loin la technique la

soigneusement étudié. Ensuite, dans la plupart des cas, il est possible d'identifier l'insecte simplement par la forme des galeries ou des enflures formées par la larve, une fois naturellement la plante-hôte identifiée. Aussi, à la fin de son cycle larvaire, la larve se transforme en puppe, qui, sauf de très rares exceptions, reste dans ou n'émerge que très peu de la surface de la feuille.



Fig. 6. *Phyllocnistis* sp., larve formant des galeries dans les feuilles de *Cremaspora triflora*, forêt d'Arabuko Sokoke.



Fig. 8. *Caloptilia* sp., les cocons spinnés qui courbent légèrement la feuille de *Cremaspora triflora*, forêt d'Arabuko Sokoke.

plus difficile pour les obtenir, et ceci pour plusieurs raisons.

En premier lieu, il n'y a pas que les Lépidoptères dont les larves minent les feuilles, il y a aussi des familles de Diptères (par exemple les Agromyzidae), de Coléoptères (Chrysomelidae), mais surtout des Hyménoptères (HERING, 1957). Donc il faut déjà connaître au départ la façon dont certaines larves qui n'appartiennent pas au groupe étudié se nourrissent.

La deuxième difficulté pour l'élevage des larves de Gracillariidae est le fait que, malgré

que les larves passent leur cycle à l'intérieur des feuilles, elles ont des prédateurs. Le plus souvent, ce sont des fourmis, mais d'autres insectes peuvent aussi s'en nourrir. Il faut donc à chaque fois, lors de collecte de feuilles minées, vérifier si la larve s'y trouve toujours, et si elle est bien vivante. Le méthode la plus facile est de mettre la feuille face au soleil et de vérifier par transparence si la larve s'y trouve encore.

Un troisième problème, et naturellement le plus frustrant, c'est que les larves de Gracillariidae en particulier sont très souvent parasitées. Dans la plupart des cas, les parasites sont des petits Hyménoptères appartenant à la famille des Braconidae, mais d'autres petites guêpes s'y attaquent également. Souvent le degré de parasitisme est très élevé, des cas de 50% ne sont pas rares et, lors d'un élevage en Belgique, un des auteurs a constaté à une occasion un taux de parasitisme de 100% (non publié). Cela pose une question quant à la survie de l'espèce dans la nature. Naturellement, une fois tous ces obstacles lors de l'élevage franchis, la récompense est plus que satisfaisante : des exemplaires impeccables et faciles à préparer.

Puisque les larves des Gracillariidae ne quittent pas la feuille dans laquelle elles ont passé leur stade larvaire pour se transformer en pupes, leur élevage a quand même un avantage : il suffit de mettre la feuille dans une boîte de Pétri. Il n'est pas nécessaire de prévoir des points d'attache, ni un substitut de sol ou autre pour les pupes. Pour l'élevage, il est préférable d'employer des récipients en verre parce que ceux-ci ne sont jamais tout à fait étanches et laissent passer de l'air. Les récipients en plastique employés dans l'industrie alimentaire sont moins indiqués; ils sont en effet trop étanches et les larves ou la pupes pourraient mourir asphyxiées à moins d'y faire quelques trous à l'aide de fines épingles. Un dernier élément à ne pas oublier lors d'élevages sur le terrain est que les larves restent des proies potentielles de certains de leurs prédateurs, c'est le cas de la plupart des fourmis. La meilleure solution est de suspendre les récipients à une branche d'arbre dans un sac bien fermé.

Premiers résultats

Lors de la première mission de trois semaines dans le cadre des deux projets au Kenya en avril 2001, les auteurs avaient une certaine appréhen-

sion de trouver beaucoup de Gracillariidae. Mais, lors de cette mission, les résultats furent probants : 1074 spécimens de Microlépidoptères ont été capturés à la lumière (Table 1), parmi lesquels 152 Gracillariidae.

Table 1. Nombre de spécimens appartenant aux différentes familles de Microlépidoptères récoltés lors de la mission du 1-20 avril 2001.

FAMILLES	# spécimens
Adelidae	5
Bucculatricidae	7
Carposinidae	1
Coleophoridae	5
Cosmopterygidae	5
Epermeniidae	2
Ethmiidae	64
Gelechiidae	212
Gracillariidae	152
Lecithoceridae	15
Nepticulidae	2
Opostegidae	10
Pyralidae	73
Pyraustidae	62
Tineidae	16
Tortricidae	121
Yponomeutidae	2
Non identifiés	320
TOTAL	1074

En plus, 31 spécimens avaient été obtenus par élevage, les deux lots totalisant ensemble 35 différentes espèces de Gracillariidae. Pour illustrer ce succès, il suffit de mentionner les spécimens présents dans les collections du 'National Museums of Kenya', qui est le musée d'histoire naturelle le plus renommé de l'Afrique tropicale : il ne s'y trouve que trois spécimens de Gracillariidae, tous originaires d'Uganda. On peut donc pratiquement affirmer que tout ce qui a été récolté lors de la mission d'avril 2001 est nouveau pour le Kenya.

Suivi de l'étude

Comme dans toute étude d'un groupe d'insectes, il faut commencer par compiler la littérature. Les Gracillariidae sont bien connus dans les régions tempérées, mais en Afrique une seule grande révision a été publiée : celle de VÁRI (1961). Elle ne couvre que l'Afrique du Sud. La littérature devait donc être revue

complètement pour réussir le projet. Une banque de données a été compilée et un premier catalogue des Gracillariidae a été édité (DALL'ASTA *et al.*, 2001). Nous espérons bientôt commencer à publier nos nouvelles découvertes, aussi bien les nouvelles espèces capturées à la lumière que celles obtenues par élevage.

Cet exposé montre bien qu'avec des moyens relativement modestes et une bonne connaissance de techniques de récolte de base d'un groupe d'insectes, des résultats très positifs peuvent être obtenus. Nous souhaitons que ce compte rendu ajoute à l'ardeur de nos membres de continuer à faire des récoltes dans leur groupe et de constituer des collections en conséquence. Surtout s'ils ont l'occasion de s'adonner à leur passion dans des pays peu explorés, ils seront agréablement surpris par les résultats qu'ils peuvent obtenir.

Remerciements

Nous remercions Marc DE MEYER qui a revu le manuscrit, ainsi qu'Alexis DALL'ASTA pour ses corrections. Le projet innovateur qui comprend l'étude des Gracillariidae africains est subsidié par les Services fédéraux pour les affaires scientifiques, techniques et culturelles (SSTC) et les missions sont effectuées dans le cadre de programmes de coopération au développement DGIS. Nous n'oublions pas naturellement nos collègues kenyans : David LAUR, le chauffeur, et Earnest OBANDA, le technicien, avec lesquels la mission c'est impeccablement déroulée.

Koen MAES, expert entomologiste en poste au National Museums of Kenya, s'est quant à lui chargé des permis de chasse et des contacts avec les responsables des sites naturels.

Littérature

- DALL'ASTA U, DE PRINS J. & DE PRINS W., 2001. - Preliminary Checklist of Gracillariidae of the Afrotropical Region (Lepidoptera). *Zoologische documentatie, Koninklijk Museum voor Midden-Afrika* Vol. 25, 48 pp., 3 figs.
- DE PRINS W, 1998. - Catalogue of the Lepidoptera of Belgium. *Studiedocumenten van het Koninklijk Belgisch Instituut voor Natuurwetenschappen* 92, 236 pp.
- HERING E.M., 1957. - Bestimmungstabellen der Blattminen von Europa. Bde I-III. W. Junk, 's Gravenhage, 1185 pp., 211 pp., 725 figs.
- LANDRY J.-F. & LANDRY B., 1994. - A technique for setting and mounting Microlepidoptera. *Journal of the Lepidopterists' Society* 48(3) : 205-227, 22 figs.
- PARENTI U., 2000. - A Guide to the Microlepidoptera of Europe. *Museo regionale di scienze naturali, Torino, Guide I.*, 426 pp., 156 pls.
- VÁRI L, 1961. - South African Lepidoptera. Vol. 1. Lithocolletidae. *Transvaal Museum Memoir*, 12 : 238 pp., 112 pls.
- WOODHALL S. (Ed.), 1992. - A practical Guide to Butterflies and Moths in Southern Africa. *The Lepidopterists' Society of Southern Africa*, 223 pp.