

Copulation, nutrition et ponte chez *Ixodes ricinus* L.  
(Ixodoidea: Ixodidae)<sup>1</sup> - 1e partie

J.-F. GRAF

Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire,  
Institut de Zoologie de l'Université, Rue Emile Argand 11, CH-2000 Neuchâtel

*Copulation, nutrition and oviposition of Ixodes ricinus L. (Ixodoidea: Ixodidae) - 1st part* - In this first part of a work on the reproduction of the tick *Ixodes ricinus* L., the author describes a rearing method which allows to obtain 35 to 40 adults from 100 larvae. The hosts used are the white mouse for the larvae and the nymphs, the rabbit and the guinea pig for the females. The author shows also the possibility to determine with more than 95% success the sex of the nymphs on the basis of the engorgement weight. The average nymphal engorgement weight is 3.110 mg for the future males and 5.275 mg for the future females.

*Ixodes ricinus* L. est l'une des tiques les plus abondantes des régions froides et tempérées d'Europe (MACLEOD, 1936; POMERANTZEV, 1950; SNOW & ARTHUR, 1970; MOREL, m.c., manuscrit en communication). En Suisse, elle colonise tous les milieux favorables (endroits abrités à hygrométrie élevée) jusqu'à une altitude de 1200 à 1500 m. C'est la tique que l'on rencontre le plus fréquemment sur les micromammifères, les chiens, le gibier, le bétail, l'homme, ainsi qu'à l'état libre, dans notre pays (AESCHLIMANN, 1972).

*I. ricinus* sert de vecteur à de nombreux microorganismes pathogènes: *Pasteurella tularensis*, *Babesia* sp., *Coxiella burnetti*, agents de la «tick-born fever» du mouton, de l'encéphalite à tiques, du «louping ill» (ARTHUR, 1962; AESCHLIMANN, 1969). En Suisse, on a pu montrer de façon certaine qu'*I. ricinus* est responsable de la transmission de *Babesia bovis* (MORISOD *et al.*, 1972; BROSSARD, 1974) et qu'elle transmet sans doute également *B. divergens* (AESCHLIMANN *et al.*, 1975). Elle participe au maintien d'infections latentes par *Babesia* sp. chez les bovins (BROSSARD & AESCHLIMANN, 1975). La transmission expérimentale de *Coxiella burnetti* par cette espèce a été réalisée en laboratoire.

Dans la nature, cette tique intervient vraisemblablement dans l'épidémiologie de la rickettsie (BROSSARD, en prép.). Quelques cas d'encéphalite à tique ont également été décrits dans notre pays (KRECH *et al.*, 1969; SPIESS *et al.*, 1969). Le virus a d'ailleurs été isolé à partir d'*I. ricinus* capturés dans différentes régions de Suisse (WYLER *et al.*, 1973; RADDI *et al.*, 1974).

<sup>1</sup> Travail ayant bénéficié partiellement de l'appui du Fonds national suisse de la recherche scientifique, requête no. 3.443.70 (AESCHLIMANN, MERMOD). Ce travail constitue la première partie d'une thèse de doctorat, réalisée sous la direction du Prof. Dr. A. AESCHLIMANN et soutenue à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel le 12 mars 1976. La publication du travail complet est prévue en trois parties.

L'abondance et l'importance épidémiologique de *I. ricinus* en font l'une des dix espèces de tiques les mieux connues actuellement. On trouvera une liste détaillée des principaux travaux qui lui sont consacrés, trop nombreux pour être tous cités ici, chez ARTHUR (1962), ainsi que chez BALASHOV (1968).

Cependant, c'est surtout du point de vue écologique que cette tique est bien connue, et un travail entrepris récemment en Suisse sur cette espèce (AESCHLI-MANN, 1972; MERMOD *et al.*, 1973, 1975, 1976; GRAF, 1975, 1976) a laissé apparaître les nombreuses lacunes qui existent encore dans nos connaissances sur sa physiologie, en particulier au niveau de la reproduction.

C'est ce qui nous a incité à entreprendre le présent travail, qui traitera de certains aspects écologiques, éthologiques, physiologiques et biochimiques de la reproduction chez *I. ricinus*, depuis la rencontre des sexes jusqu'au repas sanguin et à la ponte de la femelle.

La première partie de ce travail, publiée ci-dessous, sera consacrée aux techniques d'élevage d'*I. ricinus* et à la description d'une méthode permettant de séparer les mâles des femelles chez les nymphes. Une deuxième et une troisième partie, à paraître, traiteront respectivement de la rencontre des sexes et de la copulation, ainsi que du repas sanguin et de la ponte chez la femelle.

## METHODES D'ELEVAGE

### *Récolte du matériel*

*I. ricinus* est une tique généralement exophile à tous les stades. Il est par conséquent assez facile de récolter dans la nature de grandes quantités de larves, de nymphes et d'adultes non gorgés par la méthode dite «du drapeau» (AESCHLI-MANN, 1972). L'efficacité et le rendement de cette méthode ont été examinés dans des travaux antérieurs (MERMOD *et al.*, 1973, 1975). Nos élevages ont été effectués presque exclusivement à partir de nymphes et de femelles capturées à jeun dans la nature et nourries en laboratoire.

### *Elevage*

Bien que dans les conditions naturelles, *I. ricinus* présente un certain tri-tropisme (AESCHLI-MANN *et al.*, en prép.), chacun des trois stades de cette espèce ne marque que peu de préférences pour un hôte particulier en laboratoire. Aussi, le cycle complet a-t-il pu être réalisé sur bovin (BROSSARD, 1974) comme sur souris blanche (expériences personnelles).

L'élevage d'*I. ricinus* présente certaines difficultés, mais après de nombreux essais nous avons pu mettre au point un système assurant un rendement satisfaisant.

### Repas sanguin des immatures

Les immatures d'*I. ricinus* ont été nourris sur souris blanche. Afin d'uniformiser au maximum les conditions, nous n'avons utilisé que des mâles pesant de 35 à 40 g. La souris subit préalablement une narcose à un pentobarbital

sodique, le Nembutal (Abbott), administré intramusculairement à raison de 50 mg par kg de souris. Le sommeil qui en résulte est généralement d'une durée et d'une profondeur suffisantes pour que les tiques aient la possibilité de se fixer sur l'hôte. Il faut éviter de soumettre la souris à une préanesthésie à l'éther, la combinaison éther-pentobarbital entraînant des difficultés respiratoires pouvant provoquer la mort de l'animal.

Les tubes de verre contenant les tiques à nourrir sont alors placés ouverts devant le museau de la souris endormie. Les tiques se déplacent d'elles-mêmes jusqu'à l'hôte et s'y fixent. Cette méthode, outre le fait qu'elle permet de gagner du temps, assure un rendement aussi élevé que celles qui consistent à placer les tiques directement sur l'hôte, individuellement ou collectivement. Afin d'éviter que la souris, par ses activités de toilette, n'arrache trop de tiques fixées, elle est pourvue d'un collier en plastique rigide d'un diamètre de 5 cm, qui l'empêche de se gratter la tête (IMMLER, 1973).

Après son réveil, la souris est placée dans une cage grillagée maintenue au-dessus d'une surface d'eau, dans laquelle tomberont les tiques gorgées et où elles pourront être récupérées facilement.

La méthode décrite ci-dessus s'applique parfaitement à la nutrition des larves, quelle que soit leur origine («drapeau» ou élevage), ainsi qu'à celle des nymphes capturées directement dans la nature. Dans ces deux cas, le rendement est généralement élevé. En ce qui concerne les nymphes issues de nos élevages, le rendement n'est pas aussi bon, les animaux, pour des raisons inconnues, se fixant moins facilement sur l'hôte.

### Repas sanguin des femelles

Les femelles d'*I. ricinus* sont nourries soit sur cobaye, soit sur lapin. Les cobayes doivent, comme les souris, être immobilisés à l'aide d'une narcose au Nembutal, administré cette fois à raison de 15 mg par kg de cobaye, toujours intramusculairement. L'animal est ensuite pourvu lui aussi d'un collier de plastique, de 10 à 12 cm de diamètre, et les femelles à nourrir sont ensuite placées individuellement sur sa tête. Après son réveil, le cobaye est placé dans une cage grillagée au-dessus d'une surface d'eau dans laquelle tomberont les tiques gorgées. La principale difficulté de cette méthode réside dans le fait que la narcose ne permet pas d'assurer un effet constant chez le cobaye. Une même dose par unité de poids peut aussi bien le laisser complètement indifférent que le tuer dans un délai très bref. Chez le lapin, les femelles sont fixées sur une ou sur les deux oreilles. Celles-ci sont recouvertes par un manchon de tissu, fixé à leur base par de la toile adhésive. Le lapin est également pourvu d'un collier pour éviter qu'il ne se gratte.

### Maintien des phases libres

Le facteur essentiel pour la survie des phases libres d'*I. ricinus* est le degré hygrométrique qui doit être très élevé. Nous avons obtenu les meilleurs résultats dans des enceintes à humidité relative saturée.

Les immatures gorgées sont conservés dans des tubes de verre de 10 cc, à raison de 50 larves ou 20 nymphes par tube. Ceux-ci contiennent également un

morceau de papier buvard et sont recouverts d'un bouchon percé. Ils sont placés dans des récipients de plastique de 700 cc, fermés hermétiquement et dont le fond est recouvert d'environ 1 cm d'eau. Le tout est entreposé dans une étuve à 30 °C. Dans ces conditions les mues nymphales interviennent au bout de 3 semaines, les mues imaginale au bout de 4 semaines environ. Durant la semaine qui suit le détachement des tiques de l'hôte, celles-ci excrètent abondamment et il est nécessaire de les changer de tube au bout de ce laps de temps, sous peine de les voir s'engluer dans leurs excréments et succomber aux champignons qui se développent inévitablement sur ceux-ci.

Tous les stades *non gorgés* sont maintenus à la température du laboratoire, également dans des tubes de verre. Ceux-ci sont conservés sous de grands bacs de verre retournés, contenant chacun un récipient d'eau destiné à maintenir la saturation. Là aussi, à cause des excréments abondants de la période qui suit immédiatement la mue, il est préférable de transférer les tiques dans des tubes propres au bout de une à deux semaines.

Les femelles gorgées et les pontes sont conservées à la température du laboratoire, dans les conditions décrites ci-dessus.

L'eau utilisée pour l'humidification des enceintes est additionnée de merthiolate (ethyl-mercuriothiosalicylate de Na), à raison de 1 mg par litre, afin de réduire la prolifération des champignons qui apparaissent inévitablement dans les élevages. Durant tout leur cycle de développement, les tiques sont soumises à un rythme nyctéméral normal.

A la température du laboratoire, les immatures se conservent sans se nourrir pendant au moins 6 mois, les adultes pendant une année environ avant que le taux de mortalité ne devienne important.

#### Cycle, rendement, taux sexuel

La durée du cycle d'*I. ricinus*, observé dans les conditions décrites ci-dessus, est en tout point conforme à celle souvent décrite dans la littérature. AESCHLI-MANN (1972) et MOREL (m.c.) ont fait la synthèse des données de la plupart des autres auteurs et nous ne reviendrons pas là-dessus. Certains points précis de ce cycle, tels la durée du repas sanguin chez les nymphes et les femelles, ainsi que la durée de la préoviposition et de la ponte, seront repris en détail dans les chapitres correspondants.

Les méthodes décrites ci-dessus permettent de nourrir jusqu'à 600 larves ou 50 nymphes par souris. Celles-ci ne sont utilisées qu'une seule fois, afin d'éviter d'éventuelles réactions immunologiques. Un cobaye peut nourrir 10 à 15 femelles, mais ne peut également être utilisé qu'une seule fois. Chez le lapin, on peut nourrir 15 à 20 femelles par oreille et par repas. L'utilisation répétée du même animal entraîne là aussi des phénomènes de résistance qui font sérieusement baisser le rendement de l'élevage (BOWESSIDJAOU *et al.*, en prép.).

Les pontes se développent généralement bien et plus de 95% des œufs donnent naissance à des larves. Entre un et six mois après leur éclosion, la presque totalité de ces larves (90 à 95%) se fixent sur leur hôte et se gorgent normalement. Le pourcentage de larves gorgées effectuant la mue nymphale est de l'ordre de 80% (par exemple, 438 larves sur 550 ont mué lors d'un essai, rendement = 79,64%). Chez les nymphes, seuls les deux-tiers environ des animaux se fixent et se gorgent (1521 nymphes gorgées sur 2297, rendement = 66,22%). 75 à 80% des nymphes gorgées effectuent la mue imaginale (1174 nymphes sur 1521 ont mué,

rendement = 77,19%). Le taux de mortalité des tiques à jeun est négligeable dans nos conditions. 80 à 90% des femelles ainsi obtenues se gorgent et pondent normalement. En moyenne, nous pouvons donc obtenir 35 à 40 adultes à partir de 100 larves. Ce rendement est plus faible que chez certaines autres espèces (par exemple, 60 adultes à partir de 100 larves chez *Dermacentor reticulatus* FABRICIUS; IMMLER, 1973), mais très satisfaisant pour *I. ricinus*, comparé à celui obtenu par d'autres auteurs (par exemple, 46 à 64% de pertes uniquement lors du repas sanguin des larves, BERCOVIER & MOLLARET, 1974).

Le taux sexuel en élevage s'établit légèrement en faveur des mâles. Sur 1174 nymphes ayant effectué leur mue imaginale, nous avons obtenu 633 mâles (53,92%) et 541 femelles (46,08%). Cette différence n'est toutefois pas significative, comme le montre une comparaison effectuée sur 21 lots représentant 937 nymphes ( $\chi^2 = 24,84$ , ddl 20,  $p < 0,20$ ).

Nos résultats concernant le taux sexuel sont en totale contradiction avec la seule donnée que nous ayons trouvée dans la littérature à propos d'*I. ricinus* (MACLEOD, 1932). Cet auteur a obtenu 671 femelles pour 362 mâles dans ses élevages, toutes ses nymphes ayant pratiquement mué. Nous n'avons actuellement aucune explication de cette différence.

#### DETERMINATION DU SEXE CHEZ LES NYMPHES

Il peut être intéressant de connaître le plus tôt possible le sexe des futurs adultes, pour pouvoir éviter en particulier de laisser séjourner ensemble mâles et femelles. Il est évidemment toujours possible de séparer les deux sexes dès la mue imaginale, mais ceci sous-entend un contrôle presque quotidien des élevages, ce qui n'est matériellement pas toujours possible. Une solution plus élégante consiste à essayer de séparer les nymphes avant la mue imaginale, en fonction du sexe du futur adulte. Malheureusement, aucun caractère morphologique connu ne permet cette distinction à ce stade. Les données de la littérature au sujet d'un dimorphisme sexuel chez les nymphes sont vagues et peu nombreuses. Travaillant avec *I. ricinus*, BALASHOV (1956) et ARTHUR (1962) signalent que les nymphes donnant naissance aux mâles sont généralement de plus petite taille que celles évoluant en femelles. Sans parler de déterminisme sexuel, MOREL (m.c.) note que la population des nymphes est physiologiquement moins homogène que celle des larves. Selon HITCHCOCK (1955) enfin, les nymphes mâles muent en moyenne un peu plus tôt que les nymphes femelles chez *Boophilus microplus* CANESTRINI. Le critère de la taille étant peu sûr et d'un maniement peu aisé, nous avons essayé de séparer les nymphes selon leur poids d'engorgement.

#### Répartition du poids d'engorgement des nymphes

Les résultats suivants portent sur l'examen de 268 nymphes, réparties en 7 lots, nourri chacun sur une souris blanche différente. Le poids d'engorgement de ces nymphes varie de 2,4 à 8,7 mg (tabl. 1), le poids moyen d'une nymphe à jeun étant de 0,17 mg. En regroupant ces poids par classes de 0,5 mg et en examinant leur répartition, nous obtenons une courbe d'aspect bimodal (fig. 1), avec des classes modales de 3,0 à 3,4 et de 5,0 à 5,4 mg. Ce type de répartition nous incite à penser que nous nous trouvons, chez les nymphes, en présence d'un mélange de deux populations.

Tabl. 1: Répartition du poids d'engorgement des nymphes (268 nymphes gorgées sur 7 hôtes) (Poids (mg) = poids d'engorgement des nymphes en mg; N = nombre de nymphes; % = pourcentage des nymphes; %cum = pourcentage cumulé des nymphes).

Poids (mg)	N	%	%cum	Poids (mg)	N	%	%cum
2,4	1	0,37	0,37	4,7	3	1,12	57,83
2,5	2	0,75	1,12	4,8	7	2,61	60,44
2,6	4	1,49	2,61	4,9	9	3,36	63,80
2,7	4	1,49	4,10	5,0	7	2,61	66,41
2,8	8	2,99	7,09	5,1	7	2,61	69,02
2,9	11	4,10	11,19	5,2	9	3,36	72,38
3,0	20	7,46	18,65	5,3	8	2,99	75,37
3,1	18	6,72	25,37	5,4	6	2,24	77,61
3,2	16	5,97	31,34	5,5	9	3,36	80,97
3,3	18	6,72	38,06	5,6	3	1,12	82,09
3,4	9	3,36	41,42	5,7	8	2,99	85,08
3,5	7	2,61	44,03	5,8	8	2,99	88,07
3,6	6	2,24	46,27	5,9	6	2,24	90,31
3,7	4	1,49	47,76	6,0	10	3,73	94,04
3,8	4	1,49	49,25	6,1	4	1,49	95,53
3,9	1	0,37	49,62	6,2	1	0,37	95,90
4,0	3	1,12	50,74	6,3	3	1,12	97,02
4,1	2	0,75	51,49	6,4	-	-	97,02
4,2	5	1,87	53,36	6,5	2	0,75	97,77
4,3	3	1,12	54,48	6,6	3	1,12	98,89
4,4	1	0,37	54,85	6,8	2	0,75	99,64
4,5	1	0,37	55,22	8,7	1	0,37	100
4,6	4	1,49	56,71				

### Sexe des nymphes en fonction du poids d'engorgement

Les nymphes ainsi gorgées ont donné naissance, après la mue imaginale, à 98 mâles et 99 femelles, soit 197 adultes (rendement = 73,51%). Dans un des 7 lots, toutes les nymphes sont mortes avant la mue. Le poids d'engorgement des nymphes donnant naissance à des mâles varie de 2,4 à 4,0 mg, celui des futures femelles de 3,7 à 8,7 mg. Les moyennes pour ces deux groupes sont respectivement de 3,110 et de 5,275 mg, et elles diffèrent l'une de l'autre de manière hautement significative ( $t = 26,79$ , ddl 195).

En regroupant les poids observés par classes de 0,5 mg, nous obtenons une répartition qui se superpose assez fidèlement à celle de la fig. 1, le premier pic étant représenté par les futurs mâles, le second par les futures femelles (fig. 2).

Pour renforcer l'hypothèse selon laquelle l'ensemble des nymphes d'*I. ricinus* se compose de deux populations distinctes, on peut montrer, à l'aide d'un test de  $\chi^2$ , que les répartitions des poids d'engorgement des futurs mâles et des futures femelles s'ajustent chacune de leur côté à des distributions normales de façon satisfaisante. Pour les mâles, la moyenne et l'écart-type de la distribution sont de 3,110 et 0,329 mg ( $\chi^2 = 5,05$ , ddl 7), pour les femelles, elles sont de 5,275 et 0,730 mg ( $\chi^2 = 5,04$ , ddl 7).

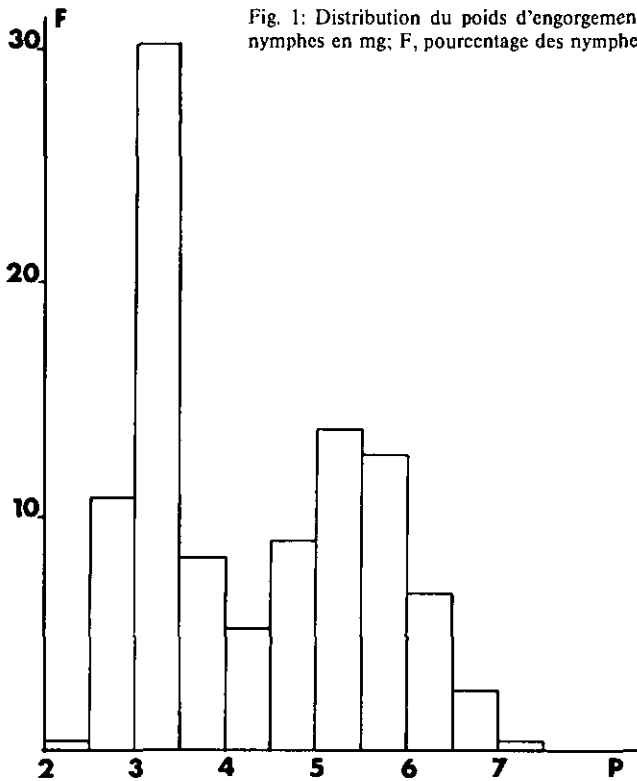


Fig. 1: Distribution du poids d'engorgement des nymphes (P, poids des nymphes en mg; F, pourcentage des nymphes).

#### *Durée du repas sanguin en fonction du sexe*

Nous avons montré dans un travail précédent (GRAF *et al.*, sous presse) que les différents stades d'*I. ricinus* se détachaient de leur hôte à la fin du repas sanguin selon un rythme diurne bien déterminé. Chez les nymphes, nous avons observé deux pics principaux de détachement, situés aux troisième et quatrième jour de gorgement. Nous avons également montré que l'on pouvait faire varier l'importance relative de ces pics en choisissant l'heure du début du repas sanguin.

Chez les nymphes, ces pics sont à peu près égaux si on fait débiter le repas en fin d'après-midi (vers 16.00 h dans le cas présent). Quatre des six lots de nymphes utilisés ont été nourris dans ces conditions et ont donné naissance à 140 adultes.

Le tabl. 2A montre que les deux pics ne diffèrent pas significativement dans notre exemple. Le tabl. 2B montre par contre que la proportion de mâles et de femelles diffère de manière hautement significative dans ces deux pics. Le pic du 3ème jour est composé en majeure partie de futurs mâles, qui mettent ainsi en moyenne moins de temps pour se nourrir que les futures femelles, dont on retrouve la majorité dans le pic de détachement du 4ème jour.

Les nymphes femelles mettent en moyenne un peu plus de temps pour effectuer leur mue imaginale que les nymphes mâles. La différence est cependant faible et n'a pas été l'objet, dans ce travail, d'une étude plus approfondie.

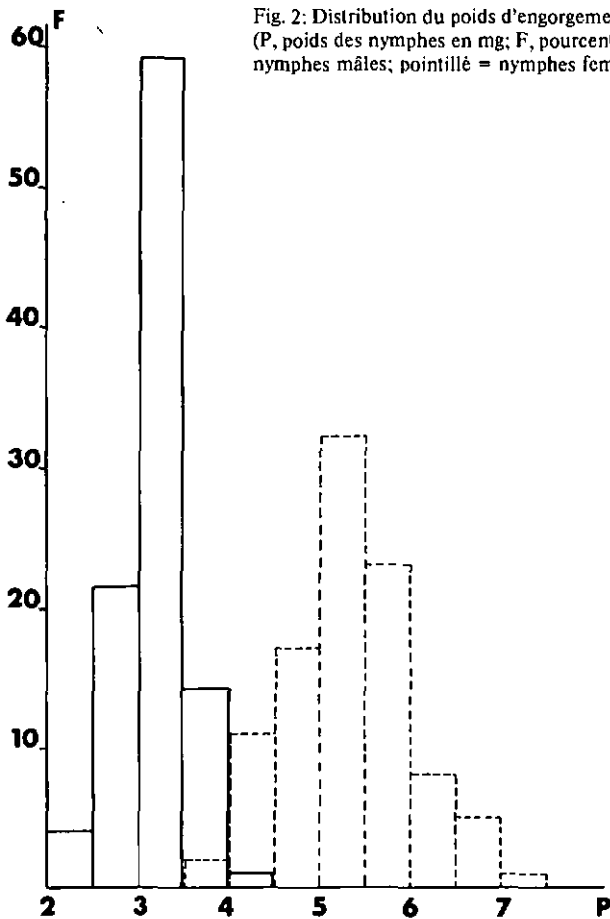


Fig. 2: Distribution du poids d'engorgement des nymphes mâles et femelles (P, poids des nymphes en mg; F, pourcentage des nymphes; trait continu = nymphes mâles; pointillé = nymphes femelles).

### Conclusion et application

Il existe chez *I. ricinus* entre nymphes mâles et femelles un certain nombre de différences physiologiques qui se répercutent notamment, lors du repas sanguin, sur les poids d'engorgement et sur la durée de ce repas. Les répartitions des poids atteints par les deux sexes sont toutes deux de type normal, la courbe de poids des femelles étant plus étalée que celle des mâles. La zone de recouvrement théorique des deux courbes est inférieure à 5%. Pratiquement, dans notre échantillonnage, nous avons trouvé 8 nymphes (5 mâles et 3 femelles) sur 197, soit le 4,06%, qui se situaient dans la zone de recouvrement des deux distributions observées (3,7 à 4,0 mg). L'examen des 268 nymphes utilisées pour cette expérience montre que le poids qui sépare ce lot en deux parties numériquement égales se situe entre 3,9 et 4,0 mg, c'est-à-dire très près du poids limite des deux sexes. Ceci confirme que la sex-ratio est normale au départ, et les légères différences que nous observons après la mue imaginale sont vraisemblablement dues à une mortalité plus élevée chez les futures femelles lors de la période qui précède la mue, fait que nous avons pu observer à plusieurs reprises dans nos élevages.

Tabl. 2: Durée du repas des nymphes en fonction de leur sexe (140 nymphes gorgées sur 4 hôtes; début du repas à 16.00 h) (N = nombre de nymphes détachées; % = pourcentage de nymphes détachées).

A. Rythme de détachement des nymphes gorgées

Détachement	N	%
3e jour	67	47,86
nuit du 3-4e jour	6	4,49
4e jour	60	42,86
nuit du 4-5e jour	2	1,43
5e jour	5	3,57

Comparaison des pics des 3e et 4e jours:  $\chi^2 = 0,71$  ddl 1

B. Rythme de détachement des nymphes mâles et femelles

Détachement	mâles		femelles	
	N	%	N	%
3e jour	49	73,13	18	26,87
nuit du 3-4e jour	5		1	
4e jour	11	18,33	49	81,67
nuit du 4-5e jour	2		-	
5e jour	3		2	

Comparaison de la proportion de mâles et de femelles:

- pic du 3e jour:  $\chi^2 = 28,69$  ddl 1

- pic du 4e jour:  $\chi^2 = 48,13$  ddl 1

Il est probable qu'une distinction entre futurs mâles et futures femelles puisse se faire déjà chez les nymphes non gorgées ou même chez les larves. Nous n'avons cependant pas poussé cette étude plus en avant, car son but, qui était de trouver un moyen simple et fiable de séparer les sexes, peut être considéré comme atteint par la méthode décrite ci-dessus.

BIBLIOGRAPHIE

Une bibliographie générale sera publiée à la fin de la troisième partie de ce travail.

## Copulation, nutrition et ponte chez *Ixodes ricinus* L. (Ixodoidea: Ixodidae) - 2e partie<sup>1</sup>

J.-F. GRAF

Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire,  
Institut de Zoologie de l'Université, Rue Emile Argand 11, CH-2000 Neuchâtel

*Copulation, nutrition and oviposition of Ixodes ricinus* L. (Ixodoidea: Ixodidae) - 2nd part - The copulation process of *I. ricinus* is described and compared with that of the other groups of ticks. Laboratory experiments and field observations indicate that males can only copulate from the age of about two weeks because the spermatogenesis is not completed before this time and that most of the females copulate in the field before climbing on the host and beginning the blood meal. The meeting of both sexes is made possible by a pheromone which is soluble in aqueous solvents and has a good thermostability. The pheromone is released ventrally by the female and is perceived by the male through both the Haller's organs and the palps. There is a crossed attraction between *I. ricinus* and *I. hexagonus* LEACH.

### LA COPULATION

Les différentes phases de la copulation et de l'insémination sont relativement bien connues chez les Argasides (NUTTALL & MERRIMAN, 1911; ROBINSON, 1942; WAGNER-JEVSENKO, 1958; TATCHELL, 1962; FELDMANN-MUHSAM, 1969 et 1971). Chez les Ixodides, les données sont moins nombreuses et parfois plus confuses. Les références sont surtout rares pour la sous-famille des *Prostriata* (SAMSON, 1909; MOOREHOUSE, 1966), alors que celle des *Metastriata* a été étudiée avec un peu plus de détails (BODKIN, 1918; AMMAR-ATTOH, 1965 et 1966; FELDMAN-MUHSAM & BORUT, 1971).

Dans le présent chapitre nous allons d'une part décrire le déroulement de la copulation chez *I. ricinus*, d'autre part essayer d'établir une comparaison entre cette espèce et les représentants des deux autres grands groupes de tiques.

### Déroulement de la copulation

Contrairement aux *Metastriata*, où mâle et femelle ne copulent que sur l'hôte, après un début de repas sanguin, *I. ricinus* est une tique copulant très facilement à jeun, donc en dehors de l'hôte, pour peu que l'on respecte certains critères sur lesquels nous reviendront. L'observation de ce processus a été faite sous la loupe binoculaire, les femelles étant collées par leur face dorsale sur une lamelle de verre, elle-même immobilisée dans un bloc de pâte à modeler. Les mâles se déplaçaient librement. Le déroulement complet de la copulation a été ainsi observé à trois

<sup>1</sup> Travail ayant bénéficié partiellement de l'appui du Fonds national suisse de la recherche scientifique, requête no 3.443.70 (AESCHLIMANN, MERMOD).

Ce travail constitue la deuxième partie d'une thèse de doctorat réalisée sous la direction du Prof. A. AESCHLIMANN et soutenue à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel le 12 mars 1976. La publication du travail complet est prévue en trois parties.

reprises. Les différentes étapes de ce processus ont été représentées schématiquement dans les fig. 1 et 2.

Le mâle grimpe d'abord sur le dos de la femelle, pour peu qu'elle ne soit pas encore collée sur sa lame. Il essaie alors presque immédiatement de se glisser sous sa face ventrale, la contournant de préférence par l'arrière. Il amène ainsi ses pièces buccales au niveau de l'orifice génital de la femelle, dont il explore le pourtour à l'aide de l'extrémité de ses chélicères. Aucune sécrétion salivaire n'ayant pu être observée à ce stade, nous supposons qu'il s'agit là d'une reconnaissance tactile dont la modalité et la signification restent à déterminer. Il enfonce alors rapidement ses pièces buccales, hypostome et chélicères, dans l'orifice génital de sa partenaire. Son capitulum forme à ce moment un angle droit avec son scutum et ses palpes sont posés à plat de part et d'autre de l'orifice de la femelle (fig. 1a).

Ce comportement se situe à mi-chemin entre celui observé chez les Argasides, où le mâle introduit hypostome, chélicères et palpes dans le vagin (NUTTALL & MERRIMAN, 1911), et celui des *Metastricata*, chez lesquels il appuie simplement l'extrémité de son hypostome sur le bord de l'orifice, ne pénétrant la femelle que de ses chélicères rétractiles. L'attitude d'*I. ricinus* est conforme à celle des autres *Prostricata* (ARTHUR, 1962), décrite en particulier chez *Ixodes holocyclus* NEUMANN (MOOREHOUSE, 1966).

La première paire de pattes du mâle est repliée vers l'avant, les tarsi reposant sur ou à côté des palpes. A l'aide des pattes 2 et 3, il s'agrippe aux flancs de la femelle, la 2e paire étant placée au niveau des stigma de celle-ci. La 4e paire de pattes enserre la femelle par l'arrière et repose sur sa face dorsale. La femelle ne retient absolument pas le mâle et, dans des conditions normales de laboratoire, elle continue à se déplacer tout au long de l'acte sexuel. Nous ne trouvons pas, chez cette espèce, un embrassement réciproque des pattes du mâle et de la femelle, tel qu'il a été décrit aussi bien chez les Argasides que chez les *Metastricata*. Cette position différente du mâle peut s'expliquer par la situation de l'orifice génital femelle, nettement plus postérieur chez *I. ricinus* que dans les deux autres groupes.

Le couple reste ainsi accolé pendant plusieurs heures. Les signes avant-coureurs de l'insémination sont les suivants: Le mâle commence à effectuer un lent mouvement de va-et-vient de l'hypostome dans le vagin de la femelle, accompagné d'une sécrétion régulière de salive. Simultanément, il entreprend des mouvements d'avant en arrière de tout son corps, prenant appui sur les flancs de la femelle, d'abord très lentement, puis de plus en plus rapidement. On a l'impression qu'il essaie d'élargir l'orifice génital de la femelle, tout en le lubrifiant de sa salive. Son propre orifice génital devient saillant et béant. Ces prémices durent une dizaine de minutes. Le mâle cesse ensuite ses mouvements et écarte sa face ventrale de celle de la femelle, prenant appui sur ses pattes postérieures. On voit apparaître, suspendu à son orifice génital, un petit sac transparent, l'ectospermatophore, qui grandit rapidement et se remplit soudain de spermiophores, devenant opaque (fig. 1b et 1c). Le mâle retire ensuite complètement ses pièces buccales de l'orifice de la femelle, replie ventralement son capitulum vers l'arrière et vient saisir, à l'aide des doigts de ses chélicères, le col du spermatophore fraîchement formé (fig. 1d). Au moment où les chélicères du mâle entrent en contact avec le spermatophore, on voit jaillir à leur extrémité une goutte de liquide. Il s'agit vraisemblablement d'une nouvelle émission de salive produite par le mâle, qui enveloppe alors le spermatophore. Le phénomène a d'ailleurs été décrit chez certains Argasides et *Metastricata* (FELDMAN-MUHSAM *et al.*, 1970). En tenant toujours le spermatophore à l'aide des doigts de ses chélicères, le mâle ramène ses pièces buccales contre la

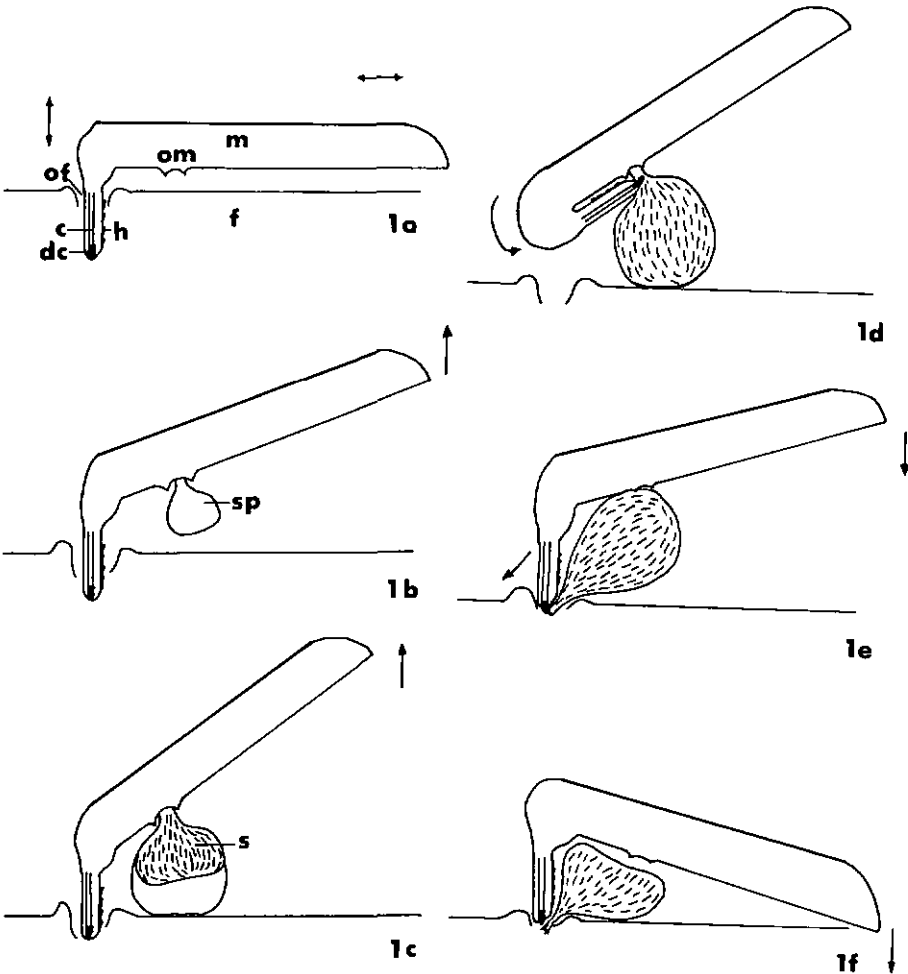


Fig. 1: Représentation schématique de la copulation. m = mâle; f = femelle; h = hypostome; c = chélicères; dc = doigts des chélicères; sp = spermatophore; s = spermiophores; of = orifice génital femelle; om = orifice génital mâle

Les organes latéraux (pattes et palpes) ne sont pas représentés. Les flèches indiquent les mouvements du mâle.

lèvre antérieure de l'orifice génital de la femelle, rendu légèrement saillant par les mouvements de l'hypostome. A l'aide de ses palpes et de son hypostome, il forme alors une gouttière contre laquelle vient s'appuyer le spermatophore. Celui-ci est maintenant inséré dans un triangle formé par les pièces buccales et les palpes du mâle et les faces ventrales des deux partenaires. A l'aide des doigts de ses chélicères, le mâle introduit alors activement la partie apicale du spermatophore dans l'orifice génital de la femelle (fig. 1e).

Nos observations ne nous permettent pas de dire si le mâle coupe réellement la partie apicale du spermatophore à l'aide de ses chélicères pour lui permettre de se dévagner, comme le prétendent certains auteurs (TACHELL, 1962; MOOREHOUSE, 1966; BALASHOV, 1968), ou si cette dévagination peut se faire de manière autonome

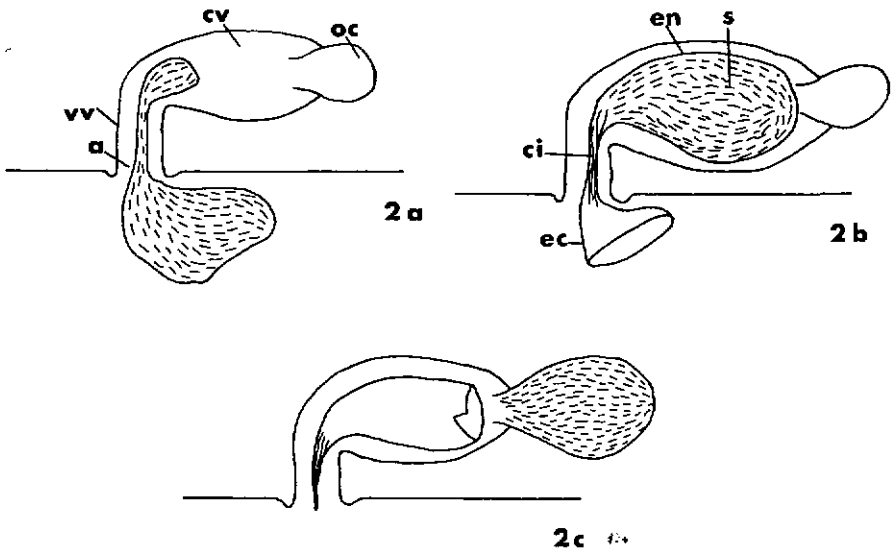


Fig. 2: Représentation schématique de la dévagination du spermatophore et du transfert des spermiophores. o = orifice génital femelle; vv = partie vestibulaire du vagin; cv = partie cervicale du vagin; oc = oviducte commun; ec = ectospermatophore; en = endospermatophore; s = spermiophores; ci = col intermédiaire.

(FELDMAN-MUHSAM, 1967; FELDMAN-MUHSAM & BORUT, 1971). Les spermatophores que l'on trouve de temps à autre au fond des récipients contenant les tiques, provenant vraisemblablement de copulations «ratées», se présentent toujours sous leur forme dévaginée, ce qui tendrait à appuyer la seconde hypothèse.

Dans les conditions normales, le spermatophore se dévagine directement dans l'orifice génital de la femelle, formant un endospermatophore que les spermiophores remplissent lentement (fig. 2a). La face ventrale du mâle se rapproche progressivement de celle de la femelle au fur et à mesure que l'ectospermatophore se vide (fig. 1f). Il n'est cependant guère possible de dire si c'est la pression exercée par le mâle qui chasse les spermiophores vers l'endospermatophore ou si ce transfert se fait d'autre manière. La présence du mâle tout au long de ce processus, ainsi que la dépression que l'on trouve sur l'ectospermatophore à l'endroit où il appuyait contre la face ventrale du mâle nous font pencher pour la première hypothèse. Soulignons cependant que certains auteurs ont observé *in vitro* la dévagination du spermatophore (FELDMAN-MUHSAM *et al.*, 1973, chez *Ornithodoros savignyi* AUDOUIN).

Une fois le transfert des spermiophores achevé, le mâle quitte la femelle. Celle-ci, durant toute la copulation, reste totalement passive. Elle portera, pour quelques heures encore, l'ectospermatophore vide collé à son orifice génital.

Ainsi, le transfert du spermatophore chez *I. ricinus* ne se fait pas selon le schéma décrit par MOOREHOUSE (1966) chez un autre *Prostriata*, *I. holocyclus*. Chez cette espèce, le spermatophore serait poussé de l'orifice génital mâle au vagin de la femelle par un mouvement glissant du corps du mâle, les pièces buccales de celui-ci ne quittant pas l'orifice de sa partenaire.

Ce type d'insémination a été décrit également chez deux *Metastricata*, *Hyalomma excavatum* KOCH et *Rhipicephalus sanguineus* LATR. (FELDMAN-MUHSAM & BORUT, 1971), mais ne semble pas s'appliquer à l'ensemble de cette sous-famille. AMMAH-ATTOH (1965 et 1966) en effet, a observé chez *Amblyomma variegatum* FAB. et *Hyalomma marginatum* KOCH un transfert de spermatophore effectué à l'aide des pièces buccales, donc de type *ricinus*. Le mode de transfert observé chez *I. ricinus* se rapproche par contre de celui décrit chez les Argasides (FELDMAN-MUHSAM, 1967 et 1971), où la participation des pièces buccales semble être la règle. La seule différence réside dans le fait que chez les Argasides, le mâle réintroduit ses pièces buccales dans l'orifice génital de la femelle avec le spermatophore, ce qui n'est pas le cas chez *I. ricinus* (NUTTALL & MERRIMAN, 1911; WAGNER-JEVSENKO, 1958).

Le spermatophore d'*I. ricinus*, une fois dévaginé, est formé d'un bulbe ou ectospermatophore, d'un col intermédiaire et d'un endospermatophore constitué d'une seule capsule. Il diffère en cela du spermatophore des Argasides (endospermatophore à deux capsules, FELDMAN-MUHSAM, 1969) et se rapproche de celui des *Metastricata* (FELDMAN-MUHSAM & BORUT, 1971).

L'endospermatophore, contenant les spermiophores, se trouve dans la partie cervicale du vagin (ROSHDY, 1969), mais reste rattaché à sa partie vestibulaire par son col (fig. 2b). 48 à 72 heures après la fin de la copulation, la capsule s'ouvre dans sa région apicale et les spermiophores envahissent la partie commune des oviductes qui fonctionne ainsi comme un *receptaculum seminis*. L'endospermatophore vide et son col subsisteront dans le conduit génital pratiquement jusqu'à la fin du repas sanguin (fig. 2c). Le *receptaculum seminis* plein de spermatophores voit sa taille augmenter fortement et sa couleur passer du blanc translucide au blanc opaque. A la dissection, son aspect permet de distinguer facilement une femelle fécondée d'une femelle vierge (fig. 3).

#### *Durée et fréquence de la copulation*

La durée de la copulation chez *I. ricinus* varie de quelques heures (MACLEOD, 1932) à plusieurs jours (BALASHOV, 1968). Dans nos élevages, nous avons observé des durées variant de 2 heures à 7 jours. Sans avoir pu établir de corrélation précise, nous avons constaté que cette durée augmentait avec l'âge des mâles. Ainsi, âgés de 1 à 3 mois, ils copulent généralement en moins de 24 heures (le plus souvent en 4 à 10 heures), alors que de 6 mois à 1 an, les copulations s'étendant sur plusieurs jours semblent être la règle. L'âge des femelles n'intervient apparemment pas dans cette durée.

La durée des copulations dépend également de leur nombre. Ainsi, chez un mâle ayant copulé avec 4 femelles différentes, les rapports successifs se sont étalés sur 5 heures, 15 heures, 2 jours et 5 jours. Le nombre de copulations pouvant être effectuées par un seul mâle ne fait à notre connaissance l'objet d'aucune donnée bibliographique chez les *Prastriata*. Rappelons que chez les Argasides, un mâle peut féconder jusqu'à 34 femelles, chez les *Metastricata* jusqu'à 37 femelles (OLIVER, 1974). Les femelles de leur côté peuvent copuler jusqu'à 13 fois chez les Argasides (FELDMAN-MUHSAM & BORUT, 1971), ceci étant lié au cycle gonotrophique propre à cette famille. Chez les Ixodides, les femelles ne copulent que 1 à 2 fois.

Le nombre maximum de copulations effectué par 1 mâle dans nos élevages était de 4, la plupart des mâles ne copulant que 2, voire 3 fois. Ensuite, ils meurent assez rapidement, quelque soit leur âge, alors que les mâles vierges, rappelons-le,

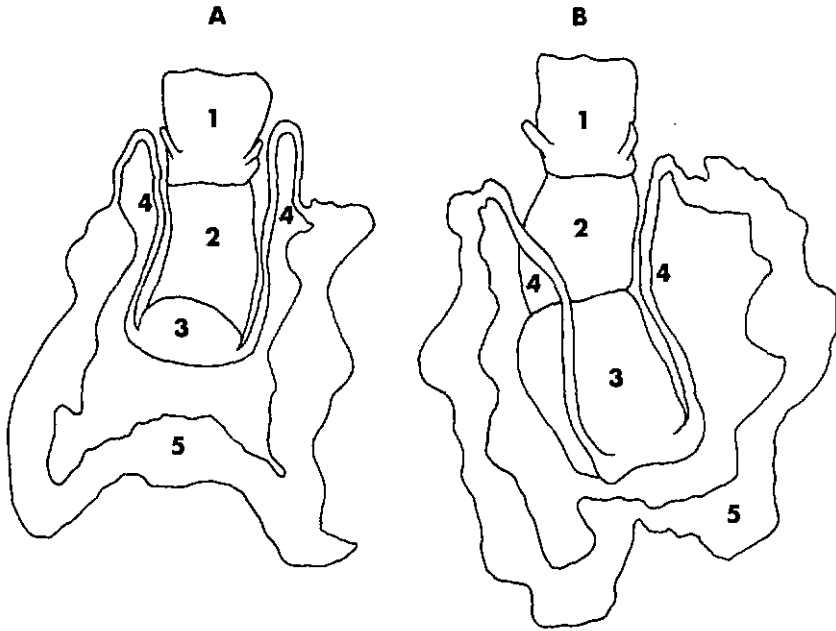


Fig. 3: Système génital femelle chez *Ixodes ricinus* (vue dorsale). A = femelle vierge; B = femelle ayant copulé; 1 = partie vestibulaire du vagin; 2 = partie cervicale du vagin; 3 = oviducte commun, contenant les spermiophores et jouant le rôle d'un réceptacle séminal chez la femelle ayant copulé; 4 = oviductes; 5 = ovaire.

vivent aisément jusqu'à une année dans les conditions du laboratoire. Ce faible pouvoir reproducteur est sans doute lié au fait que les mâles d'*I. ricinus* ne prennent pas de repas sanguin.

La plupart de femelles ne se font féconder qu'une seule fois en laboratoire. Même laissées en présence de mâles actifs pendant plusieurs semaines, elles ne copulent que rarement une seconde fois. Nous n'avons jamais trouvé plus de deux spermatozoaires dans le conduit génital d'une femelle.

L'intervalle de temps séparant deux copulations successives d'un même mâle n'obéit pas non plus à des règles très strictes. En général, la deuxième copulation peut intervenir quelques heures après la première, alors qu'il faut attendre le plus souvent 2 à 3 jours pour les suivantes.

#### *Influence de l'âge des tiques*

Selon une opinion largement répandue dans la littérature, la spermatogenèse chez les mâles d'*I. ricinus* est achevée au stade nymphal déjà et l'adulte peut donc copuler immédiatement après la mue imaginale (SAMSON, 1909; BALASHOV, 1956; ARTHUR, 1962; GLADNEY & DRUMMOND, 1970a). Or, des essais effectués en laboratoire avec plus de 50 mâles ont permis d'établir qu'en-dessous d'un âge limite, de l'ordre de 15 jours, ceux-ci ne peuvent pas avoir de rapports féconds avec les femelles. On assiste de temps à autre à des copulations incomplètes de la part de

mâles âgés de quelques jours seulement, se limitant à l'introduction des pièces buccales dans l'orifice génital de la femelle, mais jamais suivis de transfert de spermatophore.

Nous avons essayé d'établir les causes de cette stérilité juvénile chez *I. ricinus*, en examinant des «squash» de testicules prélevés toutes les 24 heures après la mue imaginale du mâle. Ces examens nous obligent à nuancer quelque peu les données de la littérature. Durant les premiers jours suivant la mue imaginale, les testicules sont volumineux et contiennent dans leurs différents cystes tous les stades de la spermatogenèse, les plus jeunes dans la partie antérieure, les suivants se succédant vers l'arrière. Si l'on peut effectivement trouver des spermiphores allongés dans les derniers cystes de mâles relativement jeunes, (2 à 3 jours), il faut attendre le 7e jour pour que ce phénomène se généralise. Nous n'avons par contre jamais trouvé de spermiphores dans les canaux déférents, où ils sont stockés après avoir achevé leur maturation dans les cystes, avant le 15e jour. Chez les mâles sexuellement mûrs, les testicules ont fortement regressés, ont perdu leur ancienne structure et ne contiennent plus que quelques spermiphores épars. La grande masse des spermiphores est stockée dans la partie antérieure du système génital, prête à être évacuée dans les spermatophores.

Les femelles peuvent elles copuler avant même d'avoir achevé complètement leur mue imaginale, comme cela a pu être observé à plusieurs reprises dans nos élevages.

Avec l'âge, la faculté de copuler diminue chez les mâles. Agés d'une année, seul le 30 % environ d'entre eux peuvent encore féconder une femelle. Les femelles âgées peuvent copuler sans restrictions avec des mâles plus jeunes.

### *Moment et lieu de la copulation*

La plupart des auteurs admettent qu'*I. ricinus* peut copuler à jeun, avant de monter sur l'hôte, ceci aussi bien au laboratoire que dans la nature. Le phénomène est cependant considéré comme rare et la copulation passe pour avoir lieu en règle générale sur l'hôte (POMERANTZEV, 1950; BABOS, 1964; AESCHLIMANN & GRANDJEAN, 1973a; MOREL, *m.c.*). Cette conception peut sans doute s'expliquer par le fait qu'avec des méthodes de capture de tiques libres, telles que celle du drapeau, on ne prend que rarement des couples in copula (AESCHLIMANN, 1972). Nous n'en avons par exemple trouvé que 3 sur les 428 adultes capturés par cette méthode en 1972 (MERMOD *et al.*, 1973).

Cependant, des récoltes effectuées dans deux régions riches en *I. ricinus* avaient montré que le pourcentage de femelles à jeun ayant déjà copulé était très élevé et que la rencontre des sexes devait se faire dans la nature beaucoup plus souvent que sur l'hôte (GRAF, 1975). Nous avons repris cet examen sur une période d'une année pour l'une des deux régions, le Staatswald, dont la population d'*I. ricinus* avait fait l'objet d'études approfondies de la part de notre équipe (MERMOD *et al.*, 1973 et 1975).

Les fluctuations annuelles de la proportion de femelles ayant copulé ont été examinés en fonction de la population des tiques adultes (tableau 1, fig. 4). Nous voyons que la proportion des femelles fécondées augmente régulièrement en cours d'année, avec toutefois des baisses correspondant aux apparitions massives d'adultes fraîchement mués, particulièrement au printemps. Ces adultes doivent

Tableau 1: Etat des femelles capturées dans la nature

Mois	$N_{m,ff}$	$N_{m,m}$	N ff	N ff <sub>c</sub>	% ff <sub>c</sub>	i
Janvier	2,33	1	7	3	42,86	9,9 - 81,6
Février	4,33	6	10	5	50	18,7 - 81,3
Mars	27,33	31,11	37	10	27,03	13,8 - 44,1
Avril	34	48,33	30	13	43,33	25,5 - 62,6
Mai	21	26,67	10	7	70	34,8 - 93,3
Juin	23	29	17	9	52,94	27,8 - 77
Juillet	8	11,67	14	8	57,14	28,9 - 82,3
Août	14	14,67	30	20	66,67	47,1 - 82,7
Septembre	7	10	26	21	80,77	60,7 - 93,5
Octobre	13,75	12,50	29	23	79,31	60,3 - 92
Novembre	7	6	9	9	100	66,4 - 100

$N_{m,ff}$  Nombre moyen de femelles capturées en 1971-1974 (Staatswald)

$N_{m,m}$  Nombre moyen de mâles capturés en 1971-1974 (Staatswald)

N ff Nombre de femelles examinées en 1974

N ff<sub>c</sub> Nombre de femelles ayant copulé en 1974

% ff<sub>c</sub> Pourcentage de femelles ayant copulé

i Intervalle de confiance du pourcentage pour  $p = 0,95$

séjourner un certain temps dans la nature avant d'avoir la possibilité de copuler. La faible proportion de couples capturés in copula par la méthode du drapeau provient sans doute du fait que l'échantillonnage ainsi constitué se compose surtout de tiques à l'affût d'un hôte, les copulations se faisant dans des couches plus basses de la végétation. L'importance réelle de la copulation sur l'hôte a été estimée à partir de l'examen de deux collections d'*I. ricinus*, l'une mise à notre disposition par le Prof. A. AESCHLIMANN et composée de tiques de toute la Suisse prélevés sur divers hôtes, l'autre fournie par M. QUENET, vétérinaire, et constituée de tiques de bétail. Dans la première de ces collections, nous avons trouvé 35 couples in copula sur 219 femelles recensées (15,98 %), dans la seconde 19 couples sur 125 femelles (15,20 %). Ces chiffres confirment nos précédents résultats et permettent d'affirmer que la copulation chez *I. ricinus* a bien lieu en règle générale dans la nature, la rencontre des sexes sur l'hôte ne touchant qu'une faible partie de la population.

Les femelles capturées dans la nature ne contiennent généralement qu'un seul spermatophore, montrant par là qu'elles n'ont copulé qu'une fois. Lors des mois de septembre à novembre 1974, seules 8 femelles sur les 64 capturées (12,50 %) renfermaient deux spermatophores, montrant par là qu'elles avaient copulé deux fois.

La situation chez les autres *Prastriata* n'est pas très bien connue. Nous avons obtenu expérimentalement des copulations d'adultes à jeun chez *Ixodes hexagonus* LEACH, fait déjà signalé par CHABAUD (1950). On ignore cependant l'importance du phénomène chez cette espèce. Chez *I. trianguliceps* BIRULA, dont le mâle ne se rencontre pratiquement jamais sur l'hôte, les femelles prélevées en cours de repas sanguin contiennent pour la plupart des spermiothèques (GRAF *et al.*, en prép.). On peut donc postuler que, chez cette espèce également, la copulation a lieu avant le début du repas sanguin.

#### LA RENCONTRE DES SEXES

La fréquence élevée de la rencontre des sexes dans la nature montre que celle-ci ne peut pas se faire uniquement «au hasard», mais qu'il existe vraisemblablement un ou des mécanismes d'attraction et de reconnaissance des sexes extrêmement efficaces.

L'attraction sexuelle chez les tiques est connue depuis fort longtemps, chez les *Metastricata* surtout. Ce sont généralement les femelles fixées sur l'hôte qui attirent les mâles, comme cela a été signalé chez *Dermacentor albipictus* PACARDE (BISHOP & WOOD, 1913), *D. reticulatus* FAB. (NUTTALL, 1915; BALASHOV, 1956) et *D. venustus* BANKS (MAVER, cité par NUTTALL, 1915), chez *Rhipicephalus sanguineus*

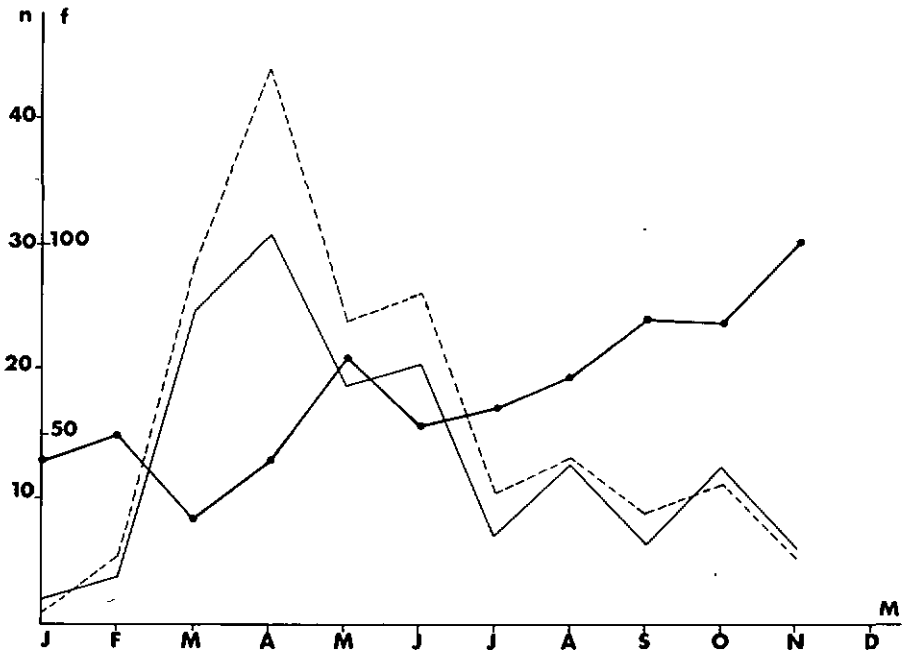


Fig. 4: Importance de la copulation chez les femelles de *Ixodes ricinus* capturées dans la nature. M = Mois de l'année; n = Nombre moyen d'adultes (pointillé: mâles; continu: femelles); f = Pourcentage de femelles ayant copulé (trait continu épais).

(NUTTALL, 1915) et *Rh. turanicus* POMERANCEV-MATIKASVILI (BALASHOV, 1956), chez *Amblyomma americanum* L. (SACKTOR *et al.*, 1948; GLADNEY & DRUMMOND, 1970b), ainsi que chez *Hyalomma plumbeum* PANZER et *Haemaphysalis punctata* CANESTRINI & FANZAGO (BALASHOV, 1956). Dans deux cas cependant, ce sont les mâles fixés qui attirent les femelles. Il s'agit d'*A. hebraeum* KOCH (LOUNSBURY, 1899) et d'*A. maculatum* KOCH (GLADNEY, 1971).

La seule référence au sujet des *Prostriata* concerne *I. ricinus* (MACLEOD, 1932), où ce sont également les mâles qui vont à la recherche des femelles.

La présence de phéromones, substances connues depuis près d'une vingtaine d'années chez les insectes, n'a été mise en évidence que très récemment chez les tiques. CHOW (1970), DUKES (1970) et BERGER *et al.* (1971) ont été les premiers à démontrer chez les femelles d'*A. americanum*, *A. maculatum* et *Dermacentor variabilis* SAY la sécrétion d'une substance provoquant une excitation et l'apparition d'un comportement sexuel chez les mâles de ces espèces. Depuis, SONENSHINE *et al.* (1974) ont établi que les femelles de *D. variabilis* et *D. andersani* SPILES émettaient une phéromone sexuelle attirant les mâles, alors que GLADNEY *et al.* (1974a) découvraient que chez *A. maculatum*, ce sont surtout les mâles qui produisent une substance attractive, mais sans grande spécificité sexuelle (GLADNEY *et al.*, 1974b).

Chez les Argasides, la présence de phéromones d'agrégation, sans spécificité sexuelle, a été démontrée chez *Argas persicus* OKEN, *A. brumpti* NEUMANN, *Ornithodoros moubata* MURRAY et *O. tholozani* LAB. & MÉGNIN (LEAHY *et al.*, 1973, 1975a et b). La nature chimique des phéromones de tiques n'est pas encore connue avec certitude. La seule référence à ce sujet est donnée par BERGER (1972), qui a extrait du 2-6-dichlorophénol des femelles d'*A. americanum* et a montré que ce composé provoquait l'apparition du comportement sexuel chez les mâles. Il a ensuite établi que les femelles d'*A. americanum* et *A. maculatum* étaient capables de synthétiser cette substance à partir de précurseurs marqués (BERGER, 1974). Plus récemment, CHOW *et al.* (1975) ont également isolé du 2-6-dichlorophénol à partir des femelles de *Rh. sanguineus* et attribué un rôle de phéromone sexuelle à cette substance.

Chez les *Prastriata*, et en particulier chez *I. ricinus*, où aucune de ces substances n'avait encore été décrite, nous avons montré dans un travail préliminaire (GRAF, 1975) que l'attraction était également due à une substance chimique émise par les femelles. Nous allons brièvement rappeler ci-dessous les premiers résultats déjà obtenus et fournir quelques nouvelles données concernant la nature et le mode d'action de la substance attractive.

### Méthode

La méthode de mise en évidence et de mesure de l'attraction sexuelle chez *I. ricinus*, inspirée de celle de LEAHY *et al.* (1973), a été décrite dans le travail préliminaire sus-mentionné. Nous la rappelons ci-dessous: Une boîte de Petri de 15 cm de diamètre est divisée en 8 secteurs. Les tiques dont on veut examiner le comportement sont placées, par lots de 10, au centre de la boîte et leur distribution dans les différents secteurs est relevée d'heure en heure durant 8 heures. Si les tiques se répartissent «au hasard», cette distribution sera théoriquement de type binomial. On peut ainsi comparer la distribution observée à la distribution théorique et, si elle s'en écarte significativement, déterminer dans quelle mesure l'un des 8 secteurs, par exemple celui contenant une substance à tester, est significativement plus attractif que les autres.

## Témoins

Dans des conditions expérimentales neutres, c'est-à-dire lorsqu'aucun des 8 secteurs ne contient de substance particulière, la distribution des mâles d'*I. ricinus* ne s'écarte pas significativement de la distribution théorique attendue ( $\chi^2 = 1,29$ , ddl 3). Les femelles par contre, au bout de 2 à 3 h, s'agglomèrent fortement dans l'un quelconque des 8 secteurs ( $\chi^2 = 33,21$ , ddl 3).

## Attraction exercée par des tiques vivantes

Des lots de 10 femelles vierges, enfermées dans des capsules grillagées, exercent une attraction hautement significative sur les mâles (attraction moyenne = 68,8%,  $\chi^2 = 76,6$ , ddl 7). La présence de la seule capsule ne perturbe pas le comportement normal des mâles ( $\chi^2 = 1,82$ , ddl 3). Ces mêmes femelles enfermées attirent également d'autres femelles, mais au bout de 2 à 3 h seulement. Dans de mêmes conditions les mâles n'exercent d'attraction sur aucun des deux sexes.

## Mise en évidence d'une phéromone

Des buvards humides, mis en contact avec des femelles vierges pendant des durées de 24 à 48 h, deviennent à leur tour fortement attractifs pour les mâles (attraction moyenne = 73,75%). Ceci nous porte à admettre que l'attraction est due à une substance de type phéromone, émise par les femelles et pouvant être récoltée par contact sur les buvards.

Nous pouvons également recueillir cette substance sous forme d'émanations gazeuses. En faisant passer un courant d'air humide à travers un tube contenant des femelles vierges et en faisant barboter ensuite cet air dans une solution aqueuse de NaCl à 0,9%, des buvards trempés dans ce solvant deviennent à leur tour attractifs.

## Propriétés de la substance active

**Solubilité:** La substance attractive émise par les femelles d'*I. ricinus* est soluble dans les solvants aqueux, mais non dans les solvants organiques. Des buvards «actifs» perdent complètement leur pouvoir d'attraction à la suite d'un lavage prolongé (12 h) par une solution aqueuse de NaCl à 0,9%, alors que des buvards «vierges» récoltant la solution de lavage deviennent eux fortement attractifs (attraction moyenne = 72,5%). Ce «transfert d'activité» a également pu être réalisé, moyennant une baisse sensible, par lavage des buvards «actifs» à l'eau distillée (attraction moyenne des buvards récoltants = 45%). Par contre, à l'aide d'un solvant organique tel que l'hexane, nous n'avons jamais obtenu ni extraction, ni transfert d'activité.

**Thermostabilité:** A la température du laboratoire (20 °C), un buvard peut rester actif pendant plus d'une semaine sans être remis en contact avec des femelles. Un

traitement thermique de 2 heures à 60 °C ou 10 min à 100 °C n'affecte pas le pouvoir attractif d'un buvard actif (attractions moyennes subsistantes de respectivement 73,33% et 70%). Un traitement de 4 h à 60 °C altère fortement cette activité (attraction moyenne subsistante = 46,67%) et un traitement de 30 min à 100 °C la fait disparaître totalement.

### Localisation des organes émetteurs et récepteurs

*Chez les mâles:* L'amputation ou le masquage bilatéraux des organes de Haller supprime toute faculté de réponse aussi bien vis-à-vis de femelles vivantes que de buvards actifs. Ces mêmes opérations pratiquées unilatéralement font baisser la faculté de réponse des mâles sans la supprimer complètement (attraction moyenne vis-à-vis de femelles vivantes = 58,33%). L'amputation bilatérale des organes de Haller est une opération extrêmement traumatisante chez *I. ricinus* (50 à 60% de mortalité post-opératoire). Afin de nous assurer que la suppression de la réponse des mâles amputés était due uniquement à l'absence des organes de Haller et non au choc opératoire, nous avons amputés bilatéralement des mâles des tarsi de la troisième paire de pattes. Le traumatisme est du même ordre que pour l'amputation des organes de Haller (mortalité post-opératoire comparable), mais les mâles survivants répondent aux femelles vivantes ou aux buvards actifs dans la même mesure que des mâles normaux (attraction moyenne = 69,23%).

L'amputation bilatérale des palpes, provoquant également une mortalité post-opératoire de l'ordre de 50%, entraîne la suppression totale, chez les survivants, de la réponse vis-à-vis de buvards actifs et de femelles vivantes. L'amputation unilatérale de cet organe fait baisser la réponse sans la supprimer (attraction moyenne = 40%).

*Chez les femelles:* Le masquage dorsal total effectué à l'aide de paraffine ou de vernis à ongles fait baisser le pouvoir d'attraction des femelles sans le supprimer (attraction moyenne = 48,75%). Le masquage ventral total au vernis à ongles, qui n'adhère jamais parfaitement à la cuticule et qui n'est donc pas totalement étanche, fait baisser ce pouvoir d'une manière significativement plus importante que les masquages dorsaux (attraction moyenne = 30,56%). Le masquage ventral total à la paraffine, qui entraîne la mortalité de 40% environ des femelles ainsi traitées, supprime complètement leur pouvoir d'attraction sur les mâles. Le masquage du seul orifice génital, possible uniquement au vernis à ongles, fait baisser le pouvoir d'attraction des femelles, mais dans une mesure significativement moins importante que le masquage ventral total au même vernis (attraction moyenne = 41,43%, comparaison avec le masquage total:  $X^2 = 6,92$ , ddl 1).

La cautérisation de l'orifice génital entraîne chez les femelles une mortalité de près de 100%, ce qui rend évidemment cette technique inapplicable.

### Spécificité de l'attraction

Nous avons effectué des tests d'attraction croisée avec un autre *Prostriata* élevé en laboratoire, *I. hexagonus*. Nous avons d'abord établi, lors de tests témoins, que la distribution des mâles dans des conditions neutres se faisait selon le modèle préconisé pour *I. ricinus*, puis que des femelles vivantes en capsules exerçaient une attraction sur les mâles de leur espèce, et enfin que des buvards devenaient à leur

tour attractifs après avoir été en contact avec des femelles. Une fois ces contrôles établis, nous avons effectué des essais croisés avec des femelles vivantes et des buvards actifs des deux espèces. Dans tous les cas, l'attraction interspécifique existe (attraction des mâles d'*I. ricinus* vers des femelles d'*I. hexagonus* vivantes = 58,75%, des mâles d'*I. hexagonus* vers des femelles d'*I. ricinus* = 57,5%, des mâles d'*I. ricinus* vers des buvards actifs d'*I. hexagonus* = 56,67%, des mâles d'*I. hexagonus* vers des buvards actifs d'*I. ricinus* = 64%). Cette attraction interspécifique débouche fréquemment, en laboratoire, sur des copulations, accompagnées de transfert de spermatophores, entre les deux espèces.

### Conclusion

La rencontre des sexes chez *I. ricinus* est assurée par une phéromone, émise par les femelles, attirant fortement les mâles et provoquant également une aggrégation chez les autres femelles.

La substance active, par son caractère hydrosoluble et sa thermostabilité, est proche des phéromones d'association décrites chez les Argasides (LEAHY *et al.*, 1973 et 1975a) et s'écarte nettement des phéromones sexuelles des *Metastrata*, solubles exclusivement dans des solvants organiques tels que hexane, acétone ou chlorure de méthylène (BERGER *et al.*, 1971; GLADNEY *et al.*, 1974a; SONENSHINE *et al.*, 1974). D'ailleurs, des tests effectués avec divers concentrations ( $10^{-4}$  à  $10^{-7}$  g) de 2-6-dichlorophéno!, la phéromone supposée d'*A. americanum* (BERGER, 1972), ont montré que cette substance n'exerçait jamais la moindre attraction sur les mâles d'*I. ricinus*.

Chez les mâles, la perception de la phéromone se fait à l'aide des organes de Haller et des palpes, ce qui est conforme aux résultats obtenus chez les autres espèces (BERGER *et al.*, 1971, LEAHY *et al.*, 1975a).

Le ou les organe(s) sécréteur(s) de la femelle sont vraisemblablement situés ventralement, mais une localisation plus précise n'est pas possible au vu de nos résultats. Nos observations vont dans le sens de celles de BERGER *et al.* (1971), qui situent les organes sécréteurs au niveau des glandes annexes du système génital chez les femelles d'*A. americanum*, alors que SONENSHINE *et al.* (1974) attribuent cette sécrétion aux *foveae dorsales* des femelles de *D. variabilis* et *D. andersoni*. Notons ici que de telles *foveae dorsales* n'existent pas chez les *Prostrata*.

Enfin, au niveau de la spécificité, les réponses croisées observées entre *I. ricinus* et *I. hexagonus* s'inscrivent dans le cadre des actions interspécifiques décrites aussi bien chez les *Metastrata* (BERGER *et al.*, 1971; SONENSHINE *et al.*, 1974) que chez les Argasides (LEAHY *et al.*, 1975b).

### BIBLIOGRAPHIE

Une bibliographie générale sera publiée à la fin de la troisième partie de ce travail.

## Copulation, nutrition et ponte chez *Ixodes ricinus* L. (Ixodoidea: Ixodidae)<sup>1</sup> - 3e partie

J.-F. GRAF

Centre Suisse de Recherches Scientifiques en Côte d'Ivoire, Institut de Zoologie de l'Université,  
Rue Emile Argand 11, CH-2000 Neuchâtel

*Copulation, nutrition and oviposition of Ixodes ricinus L. (Ixodoidea: Ixodidae) - 3rd part* - In the third and last part of this work on the reproduction of the tick *Ixodes ricinus*, the bloodmeal and the oviposition of the female are examined. The duration of the bloodmeal is of 6 to 11 days, the mean weight of engorged females is of 263,1 mg and the distribution of the weights is a normal distribution. The growth of the female during bloodsucking is of an exponential type. The engorgement weight of the females doesn't depend on the duration of the bloodmeal. Copulation is indispensable for the achievement of the bloodmeal, the weight of virgin females never exceeding about 80 mg. The oviposition lasts about 30 days and its yielding is of 8,96 eggs per mg of femal weight. If bloodmeal was precociously interrupted, females began to lay eggs from the engorgement weight of 22,3 mg and the bloodmeal duration is of 4 days. Virgin females never lay eggs. Copulation is also indispensable for the appearance of vitellogenesis.

### LE REPAS SANGUIN DE LA FEMELLE ET SES RELATIONS AVEC LA COPULATION

Les relations entre copulation et nutrition sont bien établies chez les Argasides et chez les Ixodides de la sous-famille des *Metastriata*. Chez les Argasides, le repas de la femelle peut se dérouler normalement sans intervention de la copulation, celle-ci ayant lieu généralement après ce repas. En laboratoire, on peut cependant faire copuler ces tiques également avant et pendant le repas sanguin (GEIGY & HERBIG, 1955; AESCHLIMANN & GRANDJEAN, 1973a et b).

Chez les *Metastriata*, la nécessité pour les deux sexes d'absorber une certaine quantité de saog avant de pouvoir procéder à la copulation fait que celle-ci a lieu obligatoirement sur l'hôte. En outre, la femelle ne peut achever son repas si elle n'a pas copulé (GREGSON, 1944; BALASHOV, 1957; SONENSHINE, 1967; PAPPAS & OLIVER, 1971 et 1972; AESCHLIMANN & GRANDJEAN, 1973a). Chez les *Prostriata* en général et chez *I. ricinus* en particulier, la situation est moins nettement définie. La teodance générale, résumée par AESCHLIMANN & GRANDJEAN (1973a), était d'admettre jusqu'ici, avec plus ou moins de réticence, que dans cette sous-famille, la copulation pouvait avoir lieu indifféremment avant, pendant ou après le repas, autrement dit qu'elle n'était pas indispensable à son achèvement normal.

Or nous avons montré, dans un travail préliminaire (GRAF, 1975), que cette conception était généralement inexacte, que les relations copulation-nutrition chez les *Prostriata* se rapprochaient vraisemblablement de celle observées chez les *Metastriata* et que le problème méritait un examen plus approfondi.

Dans le présent chapitre, nous allons comparer un certain nombre de paramètres se rapportant au repas de femelles ayant préalablement copulé, de femelles vierges et de femelles copulant en cours de repas.

<sup>1</sup>Travail ayant bénéficié partiellement de l'appui du Fonds national suisse de la recherche scientifique, requête no. 3.443.70 (AESCHLIMANN, MERMOD). Ce travail constitue la troisième et dernière partie d'une thèse de doctorat réalisée sous la direction du Prof. A. AESCHLIMANN et soutenue à la Faculté des Sciences de l'Université de Neuchâtel le 12 mars 1976.

## Le repas sanguin normal

Il s'agit du repas des femelles ayant préalablement copulé, c'est-à-dire tel qu'il se déroule généralement dans les conditions naturelles.

### Durée du repas

Selon les données de divers auteurs (MACLEOD, 1932; CARRICK & BULLOUGH, 1940; EDWARDS & ARTHUR, 1947; ARTHUR, 1962 et 1965; AESCHLIMANN, 1972 entre autres), la durée du repas de la femelle varie de 4 à 15 jours, la plupart des femelles se détachant de l'hôte au bout de 6 à 9 jours. Cette durée peut cependant s'étendre jusqu'à 26 jours (MACLEOD, 1932; CARRICK & BULLOUGH, 1940). Nous avons montré (GRAF *et al.*, sous presse) que tous les stades d'*I. ricinus* sont soumis à un rythme diurne très prononcé dans leur détachement de l'hôte à la fin du repas sanguin. Ce fait avait déjà été mis en évidence chez les femelles se gorgeant sur du bétail à la pâture (POMERANTZEV & ALFEEV, 1935; KHEISIN & LAVRENKO, 1956).

Tabl. 1: Rythme de détachement des femelles gorgées (N = Nombre de femelles détachées; % = Pourcentage de femelles détachées)

Détachement	Cobaye		Lapin		Total	
	N	%	N	%	N	%
6ème jour	-	-	24	37,50	24	24,74
Nuit du 6-7ème jour	1	3,03	5	7,81	6	6,19
7ème jour	23	69,70	19	29,69	42	43,30
Nuit du 7-8ème jour	-	-	7	10,94	7	7,22
8ème jour	5	15,15	7	10,94	12	12,37
Nuit du 8-9ème jour	1	3,03	1	1,56	2	2,06
9ème jour	1	3,03	-	-	1	1,03
Nuit du 9-10ème jour	1	3,03	1	1,56	2	2,06
11ème jour	1	3,03	-	-	1	1,03
			Pourcentage de femelles tombant de jour :			
N = 33 femelles gorgées sur cobaye			90,91 % sur cobaye			
64 femelles gorgées sur lapin			78,13 % sur lapin			
97 femelles gorgées au total			82,47 % au total			

Le tableau 1 montre à la fois la durée du repas et le rythme de détachement des femelles nourries en laboratoire sur lapin et sur cobaye. Au total, 80 femelles sur 97 (soit le 82,47%) tombent de jour et 91 femelles sur les mêmes 97 (soit 93,81%) ont achevé leur repas au bout du 8e jour. La durée de gorgement la plus longue observée dans ces conditions était de 11 jours.

Tabl. 2: Poids d'engorgement des femelles exprimés en mg (N = 88 femelles; m et  $\sigma$  = moyenne et écart-type de la distribution des poids, 263,1 mg resp. 71,0 mg).

129,7	212,7	268,4	312,4
133,0	217,2	277,6	314,1
133,7	218,6	279,6	320,9
140,0	221,2	297,7	326,0
142,0	223,8	280,9	327,7
148,5	227,8	281,6	331,6
151,6	227,9	281,9	331,7
159,5	228,3	282,5	332,5
162,2	228,8	283,2	333,7
168,8	231,0	283,7	337,0
175,0	236,0	284,0	341,1
179,4	236,1	287,0	345,2
183,5	237,0	287,0	345,4
184,0	240,8	293,6	345,8
187,2	243,8	297,2	350,2
189,0	248,5	299,3	355,6
189,1	251,1	301,9	373,9
199,7	251,9	304,8	383,2
201,4	255,8	305,0	399,7
208,0	257,3	305,7	400,8
209,5	259,2	306,9	416,7
212,3	263,0	310,8	439,5

Il apparaît également dans ce tableau que l'espèce d'hôte utilisé influence la durée du repas, ce qui ressort aussi, quoique de façon plus confuse, des travaux de certains auteurs cités ci-dessus.

#### Poids d'engorgement des femelles

Les données de la littérature, résumées par ARTHUR (1965), font varier le poids d'engorgement des femelles d'*I. ricinus* de 250 à 450 mg. Dans un lot de 88 femelles nourries sur lapin, nous avons observés des poids variant de 129,7 à 439,5 mg, avec une moyenne de 263,1 mg et un écart-type de 71,0 mg (tabl. 2).

La distribution de ces poids s'ajuste de manière satisfaisante à une distribution normale de même moyenne et de même écart-type ( $\chi^2 = 4,5$ , ddl 7).

Il n'existe apparemment aucune corrélation entre le poids atteint par les femelles et la durée du repas. Il ressort en effet de l'examen d'un lot de 42 femelles, choisies parmi les 88 précédentes et dont la durée du repas était connue avec précision, que ces deux paramètres sont indépendants ( $r = 0,087$ , ddl 40, tabl. 3). Nous nous trouvons donc, chez les femelles, en présence d'une population homogène, du moins en ce qui concerne la prise de nourriture. Les poids atteints sont indépendants de la durée du repas et sont dispersés normalement autour de la moyenne. Toutefois, le coefficient de variation de cette distribution est assez élevé (26,99%), surtout si on le compare à ceux observés dans les distributions des poids des nymphes des deux sexes (respectivement 10,58% pour les mâles et 13,84% pour

Tabl. 3: Corrélation entre durée du repas et poids d'engorgement des femelles (nombre de femelles examinées = 42) (Durée = durée du repas en heures; Poids = poids atteint par la femelle en mg;  $\bar{m}_D$  et  $\sigma_D$  = moyenne et écart-type de la distribution des durées, 178,83 h resp. 16,36 h;  $\bar{m}_P$  et  $\sigma_P$  = moyenne et écart-type de la distribution des poids, 273,3 mg resp. 70,5 mg; coefficient de corrélation  $r = 0,087$ ; degrés de liberté ddl = 40).

Durée (h)	Poids (mg)	Durée (h)	Poids (mg)
162	297,2	184	439,5
168	331,6	184	355,6
198	305,7	184	251,1
171	331,7	184	217,2
174	281,6	171	236,1
175	279,6	171	209,5
175	400,8	171	263,0
169	248,5	171	255,8
172	345,8	171	159,5
172	320,9	169	326,0
172	416,7	169	228,3
218	168,8	206	373,9
169	162,2	161	212,7
187	310,8	173	189,1
191	304,8	152	228,8
191	218,6	152	189,0
191	259,2	167	332,5
172	199,7	171	345,4
174	201,4	171	187,2
204	283,2	184	301,9
230	280,9	210	227,9

les femelles). Il est possible que cette valeur relativement élevée soit en relation avec le fait que le lapin ne constitue pas un hôte idéal pour les femelles d'*I. ricinus*.

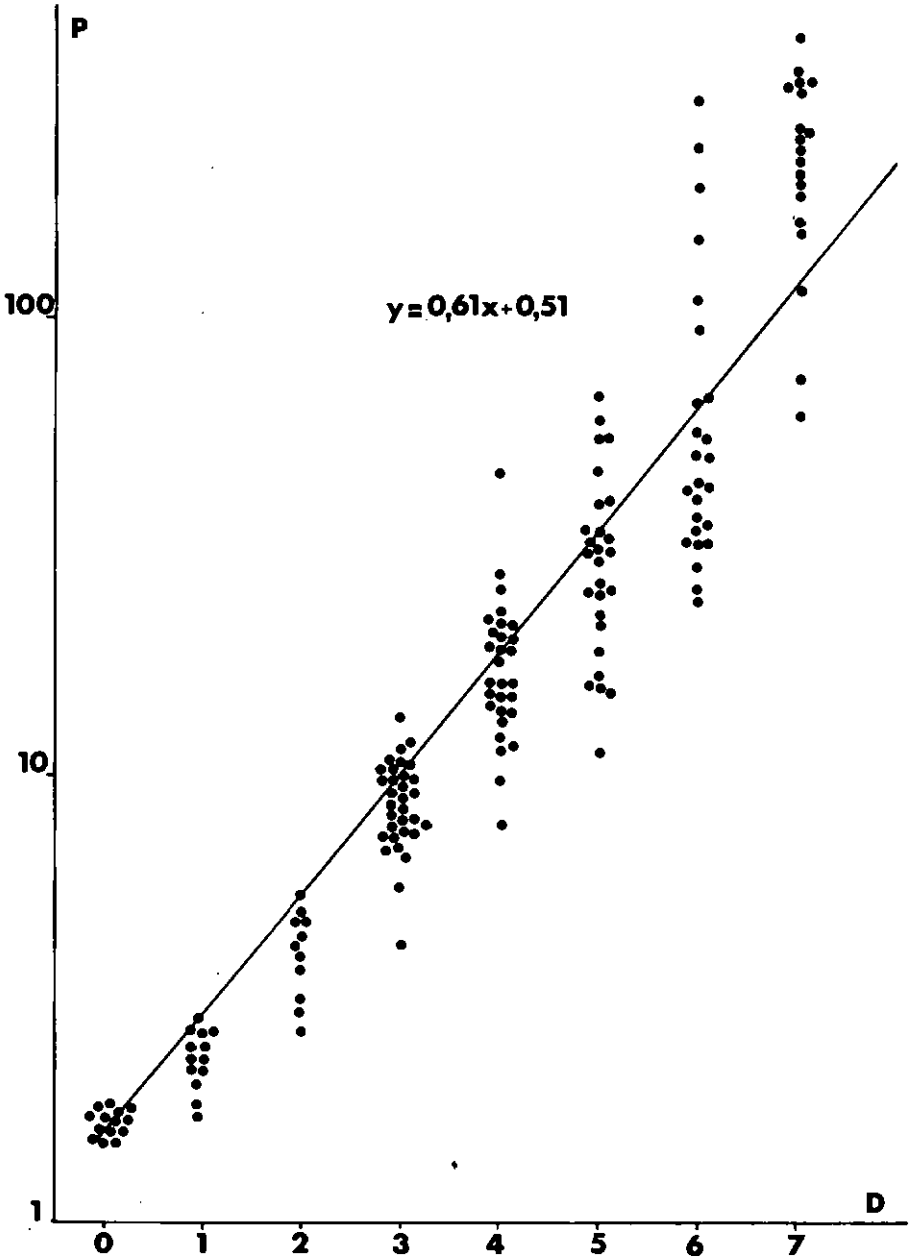


Fig. 1: Courbe de croissance pondérale des femelles durant le repas (D, Durée du repas en jours; P, Poids des femelles en mg)

Tabl. 4: Courbe de croissance pondérale des femelles durant le repas (Durée = durée du repas en heures; N = nombre de femelles examinées;  $P_m$  = poids moyen de ces femelles en mg;  $\sigma$  = écart-type de la distribution des poids;  $\ln$  = log naturel des poids moyens).

Durée (h)	N	$P_m$ (mg)	$\sigma$	$\ln$
0	14x10	1,695	0,117	0,527683
24	13	2,438	0,357	0,891178
48	11	4,195	0,898	1,433893
72	32	8,922	1,949	2,188520
96	29	18,259	7,255	2,904658
120	27	31,876	14,601	3,461571
144	25	76,504	72,994	4,337343
168	19	235,626	96,007	5,462246

Ajustement de la courbe de croissance pondérale à une droite, dans un système semi-logarithmique :  $r = 0,8676$  ddl 6

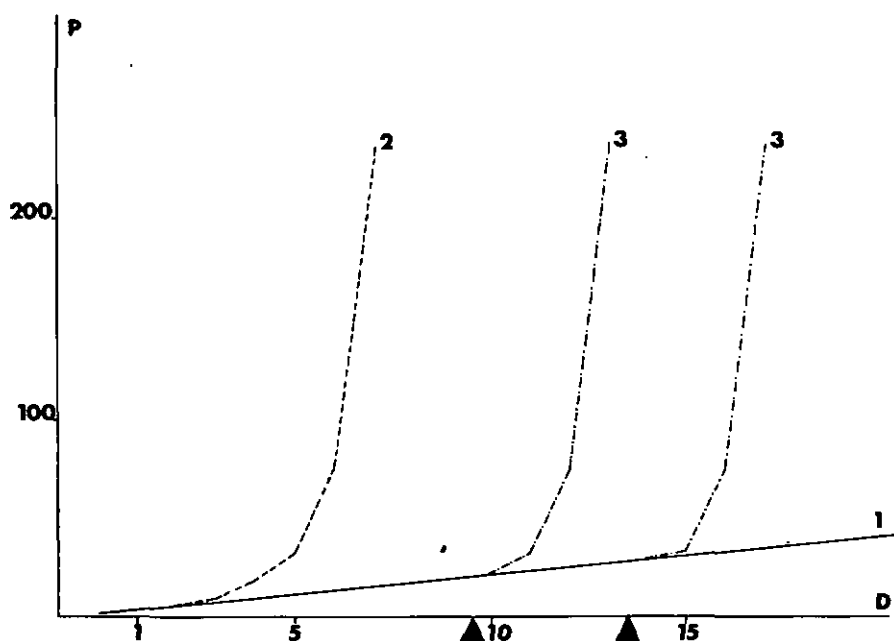


Fig. 2: Courbe de croissance pondérale pour des femelles vierges et des femelles fécondées avant ou pendant le repas. Courbe 1: Femelles vierges. Courbe 2: Femelles fécondées avant le repas. Courbe 3: Femelles fécondées durant le repas. Triangle noire: Moment de la copulation (D, Durée du repas en jours; P, Poids des femelles en mg)

## Courbe de croissance pondérale

La courbe de croissance pondérale des femelles d'*I. ricinus* lors du repas sanguin a été décrite par certains auteurs (LEES, 1952; KHEISIN & LAVRENKO, 1956; SUTTON & ARTHUR, 1962; ARTHUR, 1965), qui s'accordent pour la diviser en deux phases, la première dite de croissance lente, durant 5 à 7 jours et permettant aux femelles d'atteindre le poids de 30 à 50 mg, la seconde dite de croissance rapide, d'une durée de 0,5 à 1 jour, conduisant les femelles à leur poids définitif de 250 à 450 mg. SUTTON & ARTHUR (1962) postulent même l'existence d'une troisième phase de croissance intermédiaire. Nous avons établi cette courbe à partir de lots de femelles nourries sur lapin et prélevées toutes les 24 heures. Son aspect est de type nettement exponentiel (fig. 2, courbe 2). Dans un système semi-logarithmique, la courbe s'ajuste en effet à une droite de manière très satisfaisante ( $r = 0,8675$ , ddl 6,  $p < 0,01$ , tabl. 4, fig. 1).

La prise de nourriture des femelles se fait donc de façon régulière et rien ne permet à ce niveau de distinguer différentes phases dans le déroulement du repas.

### *Influence de la copulation*

Nous allons reprendre ici les différents paramètres examinés lors du repas sanguin normal et voir de quelle manière ils sont affectés par l'absence de copulation ou par une copulation intervenant en cours de repas.

### Le repas des femelles vierges

La durée du repas des femelles vierges est considérablement prolongée. Sur des hôtes tels que le lapin ou le cobaye, les femelles restent fixées durant 15 à 20 jours, puis se détachent ou se font expulser par l'hôte sans avoir atteint un poids d'engorgement très élevé. Parfois, au lieu de se détacher, les femelles meurent et sèchent sur l'hôte. Le détachement des femelles s'accompagne souvent de la formation d'un «manchon» de composition inconnue autour de leur rostre, ainsi que d'une violente réaction cutanée de l'hôte à l'endroit de la piqûre de la tique, signes sans doute d'un phénomène de rejet de type immunologique de la part de l'hôte.

Le poids d'engorgement atteint par les femelles vierges est extrêmement variable. Un échantillon de 30 femelles nous a permis d'observer des poids allant de 10 à 80 mg, avec une moyenne se situant autour de 30 mg. Cet éventail est beaucoup plus large que celui obtenu lors du repas des femelles ayant copulé, puisqu'il varie dans le rapport de 1 à 8, alors que pour ces dernières, il ne variait que dans le rapport de 1 à 3. La courbe de croissance pondérale des femelles vierges (fig. 2, courbe 1) diffère dès les premiers jours de celle des femelles ayant copulé (fig. 2, courbe 2). Quatre jours après le début du repas, le poids moyen atteint par les femelles vierges est inférieur à celui des femelles fécondées de manière hautement significative ( $m = 6,845$  mg,  $t = 5,04$ , ddl 38,  $p < 0,01$ ). Après 6 et 7 jours passés sur l'hôte, ce qui correspond à la durée normale du repas des femelles fécondées, les poids moyens atteints par les femelles vierges sont respectivement de 13,325 et 16,883 mg. Au bout de 15 jours, période à laquelle les femelles vierges commencent à être rejetées par l'hôte, leur poids atteint en moyenne 30,344 mg. La fig. 2 montre qu'en l'absence de copulation, les femelles se nourrissent lentement, mais régulièrement, et que l'augmentation de poids se fait de manière linéaire et non exponentielle.

## Copulation en cours de repas

On peut, à n'importe quel moment du repas des femelles vierges, faire intervenir la copulation en plaçant des mâles à proximité de ces femelles. Après cette copulation, qui intervient généralement dans l'heure qui suit la mise en présence des deux sexes, la femelle passe à une croissance de type normal et se détache de l'hôte dans les 3 à 5 jours suivant la rencontre avec le mâle (fig. 2, courbes 3). Ces femelles pondent ensuite normalement et donnent naissance à des larves viables.

La fig. 2 rappelle celle établie par A ESCHLIMANN & GRANDJEAN (1973a) pour la sous-famille des *Metastratiata*. On peut donc en conclure que les relations copulation-nutrition chez les *Prostratiata*, ou du moins chez *I. ricinus*, sont du type de celles du reste de la famille, à la différence près que dans notre cas, la copulation a le plus souvent lieu dans la nature, donc avant la rencontre femelle-hôte, phénomène rendu possible entre autre par le fait que mâles n'ont pas besoin de se nourrir pour pouvoir copuler.

### LA PONTE CHEZ *I. RICINUS*

La ponte chez *I. ricinus* a été examinée selon les critères suivants:

- Rendement des pontes de femelles dont le repas s'était déroulé normalement, et influence du poids d'engorgement de ces femelles sur le nombre d'œufs produits. Ceci nous permet de donner une définition numérique précise de la ponte normale.
- Influence de l'interruption du repas sanguin à différents stades sur la ponte.
- Rôle et importance de la copulation dans le phénomène de la vitellogenèse et de la ponte.

Avant d'aborder ces différents problèmes, nous allons examiner quelques points se rapportant à la préoviposition.

#### *La préoviposition*

La préoviposition, période séparant le détachement de la femelle de l'hôte et l'apparition du premier œuf, est extrêmement variable chez *I. ricinus*. Selon les différents auteurs déjà cités, sa durée peut s'étendre de 3 à 27 jours.

Dans nos élevages, la durée normale de la préoviposition a été de 8 à 30 jours, avec une moyenne de 12,48 jours pour une température de 20 °C. Des durées «anormalement» longues (jusqu'à 53 jours) ont parfois été observées, mais les pontes étaient alors faibles et les œufs dépérissaient en cours de développement. MACLEOD (1935) a essayé d'établir l'influence de la température et de l'humidité sur la durée de la préoviposition, mais les fortes variations observées dans de mêmes conditions rendent très aléatoires la mise en évidence d'une quelconque tendance.

Pour notre part, en augmentant la température et en maintenant les autres facteurs inchangés, nous avons observé une diminution significative de cette durée. A 26 °C, elle était en moyenne de 9,24 jours ( $t = 2,65$ , ddl 59,  $p < 0,05$  pour la comparaison avec la durée à 20 °C).

Nous n'avons par contre pas trouvé de corrélation significative entre cette durée et le poids d'engorgement des femelles ( $r = 0,2524$ , ddl 28).

L'évolution du poids des femelles durant la préoviposition semble dépendre du type d'hôte utilisé. Sa diminution est dans tous les cas proportionnelle à la durée de la préoviposition. Un premier lot de 10 femelles, nourries sur cobaye, ont commencé à pondre après avoir perdu 2,98 à 8,73% de leur poids d'engorgement, pour des préovipositions variant de 8 à 22 jours (perte journalière moyenne de 0,3545%). Dans un deuxième lot de 8 femelles, nourries sur lapin, les pontes sont apparues après des pertes de poids de 7,68 à 11,58%, pour des préovipositions de 9 à 15 jours (perte journalière moyenne de 0,8998%). Nous n'avons pour l'instant aucune explication satisfaisante à proposer pour expliquer cette différence, établie par ailleurs sur des échantillons de très faible taille.

#### *La ponte chez les femelles nourries normalement*

Chez de nombreuses espèces de tiques, on a pu mettre en évidence une corrélation linéaire entre poids d'engorgement des femelles et nombre d'œufs pondus (KITAOKA & YAJIMA, 1958 ainsi que BENNETT, 1974 chez *Baophilus microplus* CANESTRINI; SWEATMAN, 1968 chez *Hyalomma aegyptum* L.; NAGAR, 1968 chez *Dermacentor variabilis* SAY et *Rhipicephalus sanguineus* LATR.; GLADNEY & DRUMMOND, 1970 chez *Amblyomma americanum* L.; DRUMMOND & WHETSTONE,

Tabl. 5: Poids moyen d'un œuf. Corrélation entre poids d'engorgement des femelles et poids moyen d'un œuf (nombre de femelles examinées = 15) ( $mp_{\Pi}$  et  $op_{\Pi}$  = moyenne et écart-type de la distribution des poids des femelles, 258,4 mg resp. 80,3 mg;  $mp_{\circ}$  et  $op_{\circ}$  = moyenne et écart-type de la distribution des poids des œufs, 57,5  $\mu$ g resp. 4,1  $\mu$ g;  $r = 0,1728$ ;  $ddl = 13$ ).

Poids des femelles (mg)	Poids de 10 oeufs (mg)
128,1	0,566
133,0	0,532
140,0	0,575
204,1	0,576
227,8	0,551
251,9	0,588
257,3	0,582
279,7	0,608
282,5	0,500
283,7	0,624
299,3	0,635
305,0	0,519
333,7	0,641
350,2	0,552
399,7	0,572

Tabl. 6: Corrélation entre poids d'engorgement des femelles et poids des pontes ( $m$  et  $\sigma$  = Moyennes et écarts-type des distributions des poids;  $r$  = coefficients de corrélation)

Poids des femelles (mg)	Poids des pontes après 15 jours (mg)	Poids des pontes complètes (mg)
128,1	47,6	50,1
133,0	46,3	48,3
133,7	61,5	66,0
140,0	65,9	66,9
204,1	82,4	98,0
227,8	99,4	115,9
243,8	108,8	143,3
251,9	116,3	133,0
257,3	127,7	137,4
268,4	122,7	148,0
279,7	157,4	172,6
282,5	115,7	131,0
283,7	103,5	118,4
299,3	127,7	149,2
305,0	105,2	143,5
306,9	147,6	172,8
333,7	152,2	189,6
341,1	174,5	204,0
350,2	169,7	194,8
383,2	182,5	215,1
399,7	149,5	164,7
$m = 264,4$ mg	$m = 117,3$ mg	$m = 136,3$ mg
$\sigma = 80,7$ mg	$\sigma = 40,6$ mg	$\sigma = 49,0$ mg
	$r = 0,8806$	$r = 0,8889$ dd1 19

1970 chez *A. maculatum* KOCH et 1975 chez *A. cajennense* FABR.; JAGANNATH *et al.*, 1974 chez *H. marginatum*).

Récemment, HONZAKOVA *et al.* (1975) ont démontré l'existence chez *I. ricinus* d'une telle corrélation pour des femelles placées dans différents biotopes naturels. Nous avons examiné le rapport poids des femelles:nombre d'œufs dans les condi-

tions de laboratoire habituelles (température de 20 °C, humidité relative saturée, rythme nyctéméral normal), l'hôte utilisé pour le repas étant le lapin. Notre méthode pour estimer le nombre d'œufs d'une ponte a été la suivante: des lots de 10 œufs, prélevés au hasard dans des pontes âgées de 15 jours, ont été pesés afin d'établir le poids moyen d'un œuf. Il est de 57,5 µg et ne dépend pas du poids d'engorgement de la femelle (tabl. 5). Il ne varie pas de manière significative en cours de ponte ( $t = 1,43$ , ddl 16 pour la comparaison entre œufs de début et de fin de ponte).

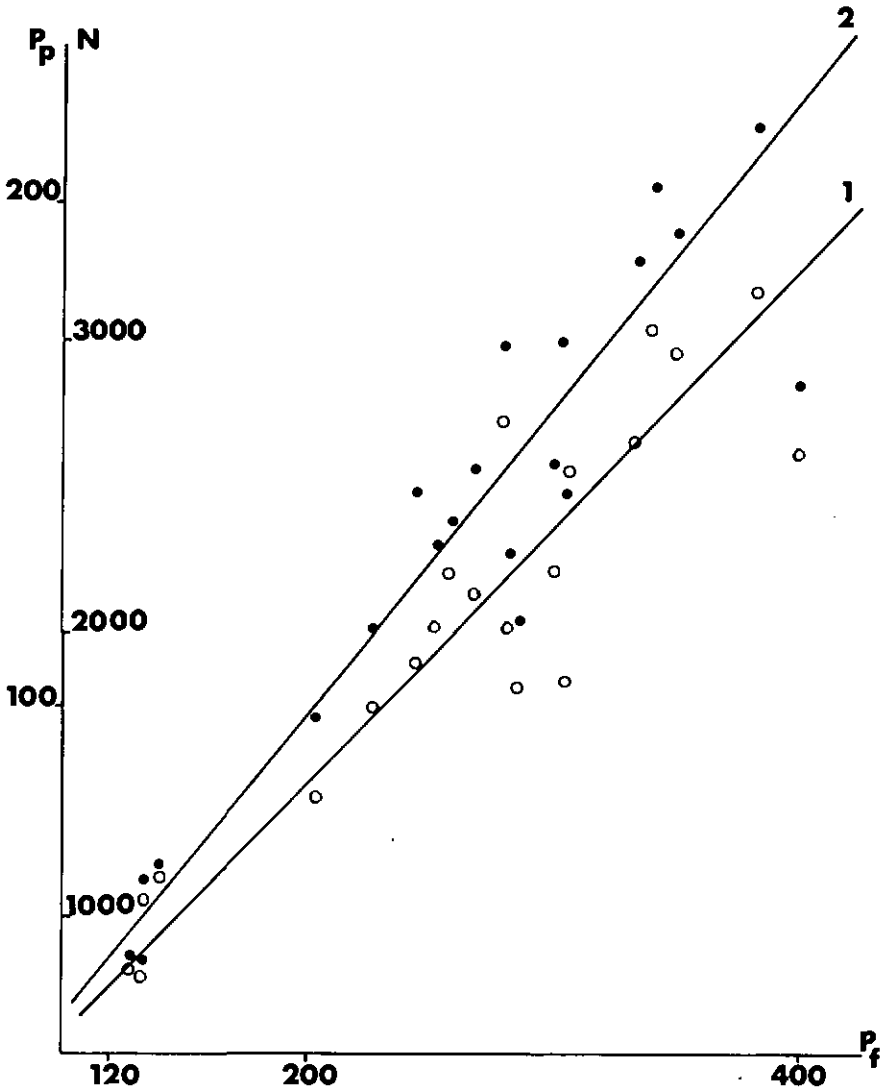


Fig. 3: Corrélation entre poids d'engorgement des femelles et poids des pontes ( $P_f$ , Poids des femelles en mg;  $P_p$ , Poids des pontes en mg;  $N$ , Nombre estimé d'œufs; O, Poids des pontes après 15 jours; ●, Poids des pontes complètes; 1, Droite d'allométrie pour pontes après 15 jours  $y = 0,50 x - 15,72$ ; 2, Droite d'allométrie pour ponte complète  $y = 0,61 x - 24,24$ ).

Nous pouvons donc considérer ce poids comme un critère valable pour l'estimation du nombre d'œufs d'une ponte.

### Rapport entre poids d'engorgement et nombre d'œufs

Le poids des pontes de 21 femelles a été établi par deux pesées successives, la première faite 15 jours après le début de la ponte, la deuxième à la fin de celle-ci, c'est-à-dire au bout de deux nouvelles semaines environ. Le tabl. 6 indique les poids partiels et complets de ces pontes. Il existe une bonne corrélation linéaire entre poids d'engorgement des femelles et poids des pontes, aussi bien après 15 jours que pour les pontes complètes (tabl. 6, fig. 3). Le poids des œufs, et par conséquent leur nombre, sont donc directement proportionnels au poids atteint par les femelles lors de leur repas.

### Durée et rendement de la ponte

Les durées de ponte observées dans les conditions décrites ci-dessus étaient de l'ordre de 30 jours. Ces chiffres sont en accord avec ceux de MACLEOD (1935), qui donne des durées de 23 à 34 jours pour une température de 22,4 °C et une humidité relative saturée. La plus grande partie de la ponte est cependant effectuée durant les deux premières semaines. Le tableau 6 permet de calculer que le pourcentage d'œufs pondus durant cette période varie de 73,31 à 98,51% de la ponte complète (moyenne 86,08%).

Le rendement de la ponte peut également être estimé à partir des données du tabl. 6. Le poids des œufs y représente 36,32 à 61,71% (moyenne 51,55%) du poids des femelles. En se rapportant au poids moyen d'un œuf, nous pouvons établir le rendement moyen d'une femelle qui est de 8,96 œufs par mg de poids. Le poids des femelles à jeun ne représentant en moyenne que le 0,64% du poids d'engorgement, on peut pratiquement exprimer ce rendement en nombre d'œufs par mg de sang ingéré. Les variations de ce rendement s'étendent de 6,32 à 10,73 œufs par mg.

Le nombre absolu d'œufs pondus varie ainsi de 840 à 3740, avec une moyenne de 2370. Ces chiffres sont relativement élevés par rapport à ceux de MACLEOD (1935), qui obtient 832 à 2400 œufs par ponte pour des femelles placées dans des conditions comparables aux nôtres. MACLEOD ne précise cependant pas le poids des femelles ayant donné naissance à ces pontes.

HONZAKOVA *et al.* (1975) par contre observent chez *I. ricinus* des pontes composées de 832 à 4988 œufs, ces valeurs plus élevées étant liées à un poids d'engorgement moyen de 336 mg, c'est-à-dire sensiblement supérieur à celui des tiques de nos régions. Le rendement des pontes, que nous avons calculé à partir des données fournies par ces auteurs, ne diffère pas significativement de celui que nous avons établi chez nos femelles (8,12 œufs par mg de poids contre 8,96,  $t = 1,86$ ,  $ddl 40$ ).

Les différences dans le nombre d'œufs pondus, signalés par divers auteurs, peuvent peut-être s'expliquer par le fait suivant: HONZAKOVA *et al.* signalent que le poids d'engorgement et la fécondité des femelles d'*I. ricinus* issues des populations d'Europe centrale sont sensiblement supérieurs à ceux observés en Irlande par SONENSHINE (1974). Ce dernier observe en effet un poids d'engorgement moyen de 217 mg et un nombre moyen d'œufs par ponte de 1597. Ainsi, en admettant

l'existence d'un «gradient de fécondité» est-ouest, les populations d'*I. ricinus* étudiés en Suisse se situeraient à mi-chemin entre celles d'Europe centrale et d'Irlande.

Tabl. 7: La ponte chez les femelles dont le repas a été interrompu (Durée = durée du repas en jours; Poids ff = poids des femelles en mg; Poids P = Poids des pontes en mg; % = Rapport poids des pontes/poids des femelles exprimé en %; R = Rendement des pontes exprimé en nombre d'œufs/mg de femelle; N = Nombre d'œufs estimés d'une ponte).

Durée (j)	Poids ff (mg)	Poids P (mg)	%	R	N
5	22,3	2,4	10,76	1,87	42
4	26,1	0,9	3,45	0,60	16
5	34,0	4,2	12,35	2,15	73
6	44,8	7,4	16,52	2,87	129
4	46,5	3,2	6,88	1,20	56
5	54,8	13,1	23,91	4,16	228
6	66,5	17,5	26,32	4,58	304
6	95,3	34,8	36,52	6,35	605

#### Influence de l'interruption du repas sur la ponte

Des femelles d'*I. ricinus* ayant copulé, nourries sur lapin, ont été arrachées à différents stades de gorgement et maintenues dans des conditions de laboratoire en

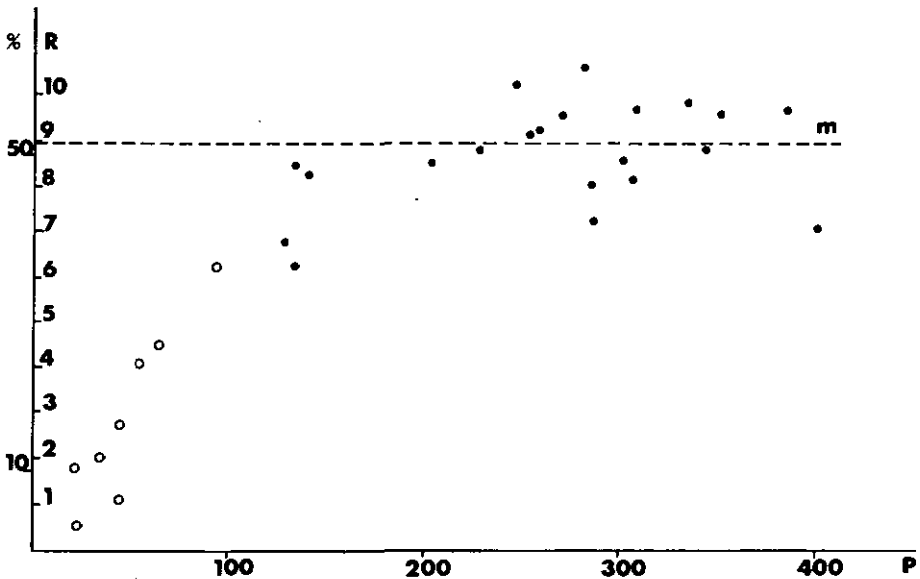


Fig. 4: Rendement des pontes chez les femelles partiellement et complètement gorgées (P, Poids des femelles en mg; R, Rendement des pontes en nb. d'œufs/mg de femelle; %, Rapport poids des pontes/poids des femelles en %; m, Rendement moyen des femelles complètement gorgées; ●, Femelles complètement gorgées; ○, Femelles partiellement gorgées).

vue d'une éventuelle ponte. Les limites inférieures de poids et de durée de repas permettant la ponte ont ainsi été établies à 22,3 mg et à 4 jours. A partir de ce poids limite, toutes les femelles pratiquement pondent, leurs œufs se développent normalement et donnent naissance à des larves viables.

Le rendement de ces femelles, exprimé en nombre d'œufs par unité de poids, est inférieur à celui des femelles complètement gorgées, et il est en outre lié au poids de la tique. Il augmente de manière linéaire avec ce poids ( $r = 0,7975$ , ddl 6,  $p < 0,05$ ), alors qu'il est constant, rappelons-le, chez les femelles normalement nourries (tabl. 7, fig. 4).

A partir d'un poids de 100 mg environ, le rendement des femelles arrachées atteint la limite inférieure de celui des femelles nourries normalement.

### *Influence de la copulation*

Les femelles vierges peuvent atteindre un poids nettement supérieur à celui autorisant la ponte chez les femelles fécondées. Cependant, nous n'avons jamais obtenu de pontes chez des femelles vierges.

Dix-sept d'entre elles, ayant toutes dépassé le poids minimum permettant normalement la ponte, ont été disséquées respectivement 2, 8, 16, 22 et 30 jours après l'interruption de leur repas. L'examen des ovaires de ces femelles montre qu'ils atteignent au bout de 8 jours un certain stade de développement qui ne variera apparemment plus au cours du temps. Les ovocytes restent de taille petite et de couleur blanche, ce qui indique que la vitellogenèse n'a pas encore débuté. Leur diamètre varie de 59 à 82  $\mu$  et n'augmente pas entre le 8e et le 30e jour après la fin du repas. Leur noyau mesure de 24 à 30  $\mu$ , et il est pourvu d'un nucléole arrondi bien visible. Selon la nomenclature de BALASHOV (1968), ces ovocytes ont atteint la fin du stade II, qui correspond à l'étape précédant immédiatement l'apparition des premières inclusions vitellines dans le cytoplasme.

Ceci nous montre que c'est au niveau du déclenchement de la vitellogenèse qu'intervient la copulation et qu'à défaut de celle-ci, les ovocytes ne peuvent dépasser un certain stade de leur développement.

Ces faits sont à rapprocher de ceux observés chez *Ornithodoros moubata* MURRAY par AESCHLIMANN (1968), DIEHL (1970) et GERMOND & AESCHLIMANN (1976) qui tous montrent l'influence de la copulation sur la vitellogenèse et la ponte chez cet Argaside.

### DISCUSSION ET CONCLUSIONS

Le présent travail, dont la publication a été subdivisée en trois parties, a permis de compléter et de préciser un certain nombre de notions concernant la reproduction chez *I. ricinus*, ainsi que d'apporter quelques éléments nouveaux à ce sujet. La vision d'ensemble de la reproduction qui s'en dégage, bien qu'encore incomplète, permet d'une part une meilleure compréhension de la biologie générale de cette espèce, d'autre part de situer un peu mieux les *Prostriata*, dont le statut systématique est encore incertain, par rapport aux Argasides et aux *Metastriata*.

Le comportement du mâle lors de la copulation, décrit pour la première fois chez *I. ricinus*, semble à première vue plus proche de celui des Argasides que de

celui des *Metastrata*. Toutefois, il diffère de celui d'*I. holocyclus* NEUMANN, seul autre *Prastriata* ayant fait l'objet d'une description détaillée et chez les *Metastrata*, plusieurs types de comportement ont également été décrits. Pour l'instant, le faible nombre de données à disposition ne permet pas d'établir avec précision le niveau de spécificité de ce comportement. D'autres travaux seront nécessaires pour préciser ce point.

L'importance de la rencontre des sexes dans la nature, avant le début du repas, est un phénomène pour l'instant unique chez les tiques et fait la grande originalité de cette espèce.

Cette rencontre est assurée par l'existence d'une phéromone, émise par les femelles et attirant les mâles. Ce mode d'attraction semble être la règle générale chez les tiques. Alors que des travaux récents laissent apparaître une grande unité dans la composition chimique des substances actives des *Metastrata*, qui sont toutes des composés phénoliques, la phéromone observée chez *I. ricinus*, par ses caractères physico-chimiques, se rapproche plutôt des phéromones d'aggrégation décrites chez les Argasides. Les attractions croisées observées entre *I. ricinus* et *I. hexagonus* LEACH militent ici aussi en faveur d'une certaine parenté entre ces substances dans le groupe des *Prastriata*.

Les rapports entre copulation, nutrition et ponte, mal définis jusqu'à présent chez les *Prostrata*, ont pu être établis avec précision chez *I. ricinus*. Ils sont du même type que chez les *Metastrata*, à la différence près que la copulation chez notre espèce a lieu généralement avant et non durant le repas sanguin. Les femelles vierges non seulement ne peuvent se nourrir complètement, mais ne sont pas non plus en état de pondre, quelque soit le poids d'engorgement atteint. La copulation, qu'elle intervienne avant ou pendant le repas, est indispensable aussi bien à l'achèvement normal de celui-ci qu'au déclenchement de la vitellogénèse.

## BIBLIOGRAPHIE

La bibliographie donnée ci-dessous couvre les trois parties de cette publication.

- AESCHLIMANN, A. 1968. *La ponte chez Ornithodoros moubata* (MURRAY). Rev. suisse Zool. 75: 1033-1039.
- AESCHLIMANN, A. 1972. *Ixodes ricinus* L. *Essai préliminaire de synthèse sur la biologie de cette espèce en Suisse*. Acta tropica, 29: 321-340.
- AESCHLIMANN, A. & GRANDJEAN, O. 1973a. *Influence of natural and «artificial» mating on feeding, digestion, vitellogenesis and oviposition in ticks (Ixodoidea)*. Folia Parasitologica 20: 67-74
- AESCHLIMANN, A. & GRANDJEAN, O. 1973b. *Observations on fecundity in Ornithodoros moubata* (MURRAY). *Relationship between mating and oviposition*. Acarologia 15: 206-217
- AESCHLIMANN, A., BUTTIKER, W. & EICHENBERGER, G. 1969. *Les tiques (Ixodoidea) sont-elles vecteurs de maladie en Suisse?* Bull. Soc. ent. Suisse, 42: 317-320
- AESCHLIMANN, A., BROSSARD, M. & QUENET, G. 1975. *Contribution à la connaissance des piroplasmoses de Suisse*. Acta tropica 32: 282-289.
- AESCHLIMANN, A., GRAF, J-F. & MERMOD, C. (en prép.). *Le tritropisme chez Ixodes ricinus*.
- AMMAH-ATTOU, V. 1965. *The mating behaviour and the mode of insemination in the genus Amblyomma with special reference to A. variegatum*. Ghana J.Sc. 5: 243-248.
- AMMAH-ATTOU, V. 1966. *Reproduction in the tick Hyalomma marginatum rufipes KOCU, 1844 under laboratory conditions, with notes on mating and insemination*. Ghana J.Sc. 6: 9-14.
- ARTHUR, D.R. 1962. *Ticks and Disease*. Pergamon Presse, Oxford.
- ARTHUR, D.R. 1965. *Feeding in ectoparasitic Acari with special reference to Ticks*. Adv. in Parasitol. 3: 249-298.
- BABOS, S. 1964. *Die Zeckenfauna Mitteleuropas*. Akademiai Kiado Budapest
- BALASHOV, Y.S. 1956. *Nutrition and course of spermatogenesis on male ixodid ticks*. Dokl. Akad. Nauk., 110: 1133-1136. (Trad. NAMRU 3 T 21)

- BALASHOV, Y.S. 1957. *Parasit. Zool.* 17: 137 (cité par ARTHUR, 1962).
- BALASHOV, Y.S., 1968. *Bloodsucking ticks (Ixodoidea) - Vectors of diseases of man and animals*. Nauka Leningrad. Trad. Miscellaneous Publications of the Ent. Soc. Amer. 8: 161-376, 1972
- BENNETT, G.F. 1974. *Oviposition of Baophilus microphilus (CANESTRINI). I. Influence of tick size in egg production*. *Acarologia* 16: 52-61.
- BERCOVIER, H. & MOLLARET, H.H. 1974. *Une technique simple d' levage de tiques sur les micromammif eres*. *Bull. Soc. Path. ex.* 67: 305-308.
- BERGER, R.S. 1972. *2,6-dichlorophenol, sex pheromone of the lone star tick*. *Science* 177: 704-705.
- BERGER, R.S. 1974. *Incorporation of chloride from Na<sup>38</sup> C into 2,6-dichlorophenol in lone star and Gulf Coast ticks*. *Ann. Ent. Soc. Amer.* 67: 961-963.
- BERGER, R.S., OUKES, J.C. & CHOW, Y.S. 1971. *Demonstration of a sex pheromone in three species of hard ticks*. *J. Med. Entomol.* 8: 84-86.
- BISHOP, F.C. & WOOD, H.P. 1913. *The biology of some north american ticks of the genus Dermacentar*. *Parasitology* 6: 153-187.
- BODKIN, G.E. 1918. *The biology of Amblyomma dissimile KOCH with an account of its power of reproducing parthenogenetically*. *Parasitology* 11: 10-17.
- BOWESSIDJAOU, E., BROSSARD, M. & AESCHLIMANN, A. (en prép.). *Réactions immunologiques des lapins après plusieurs infestations expérimentales par des femelles d'Ixodes ricinus*.
- BROSSARD, M. 1976. *Ixodes ricinus, vecteur expérimental de trois espèces de babésies, Babesia bovis, B. berbera, B. argentina*. *Rev. suisse Zool.* 83: 443-462.
- BROSSARD, M. & AESCHLIMANN, A. 1975. *Piraplasmoses bovines en Suisse italienne*. *Schweiz. Arch. Tierheilk.* 117: 287-292.
- CARRICK, R. & BULLOUGH, W.S. 1940. *The feeding of the tick, Ixodes ricinus L., in relation to the reproductive conditions of the host*. *Parasitology* 32: 313-317.
- CHABAUD, A.G. 1950. *Sur la nutrition artificielle des tiques*. *Ann. Parasitol. humaines et comp.* 25: 42-47.
- CHOW, Y.S. 1970. *Sex pheromone and behavioral studies of the adult Gulf Coast tick, Amblyomma maculatum KOCH including morphological and electrophysiological studies of the sensory organs*. *Diss. Abstr. Int.* 31, 2737-B.
- CHOW, Y.S., WANG, C.B. & LIN, L.C. 1975. *Identification of a sex pheromone of the female brown dog tick, Rhipicephalus sanguineus*. *Ann. Ent. Soc. Am.* 68: 485-488.
- DIEHL, P.A. 1970. *Zur Oogenese bei Ornithodoros moubata MURRAY unter besonderer Berücksichtigung der Vitellogenese*. *Acta Tropica* 27: 301-355.
- DRUMMOND, R.O. & WHETSTONE, T.M. 1970. *Oviposition of the Gulf Coast tick*. *J. econ. Ent.* 63: 1547-1551.
- DRUMMOND, R.O. & WHETSTONE, T.M. 1975. *Oviposition of the cayenne tick Amblyomma cajennense (F.) in the laboratory*. *Ann. Ent. Soc. Am.* 68: 214-216.
- DUKES, J.C. 1970. *Reproductive behaviour and morphological investigations of Amblyomma americanum L. associated with sex pheromones*. *Diss. Abstr. Int.*, 4749 B.
- EDWARDS, E.E. & ARTHUR, D.R. 1947. *The seasonal activity of the tick Ixodes ricinus in Wales*. *Parasitology* 38: 72-85.
- FELDMAN-MUHSAM, B. 1967. *Spermatophore formation and sperm transfer in Ornithodoros ticks*. *Science* 156: 1252-1253.
- FELDMAN-MUHSAM, B. 1969. *The components of the spermatophore, their formation and their biological functions in argasid ticks*. *Proc. 2nd. Internat. Cong. Acar., Sutton, Banington, 1967: 357-362.*
- FELDMAN-MUHSAM, B. 1971. *Copulation and spermatophore formation in soft and hard ticks*. *Proc. 3rd. Internat. Cong. Acar., Prague: 719-722.*
- FELDMAN-MUHSAM B. & BORUT S. 1971. *Capulation in ixodid ticks*. *J. Parasitol.* 57: 630-634.
- FELDMAN-MUHSAM, B., BORUT, S. & SALITERNIK-GIVANT, S. 1970. *Salivary secretion of the male tick during copulation*. *J. Insect Physiol.* 16: 1945-1949.
- FELDMAN-MUHSAM, B., BORUT, S., SALITERNIK-GIVANT, S. & EDEN C. 1973. *On the evacuation of sperm from the spermatophore of the tick Ornithodoros savignyi*. *J. Insect Physiol.* 19: 951-962.
- GEIGY, R. & HERBIG, A. 1955. *Erreger und  bertr ager tropischer Krankheiten*. *Acta Tropica*, suppl. 6.
- GERMOND, J.E. & AESCHLIMANN, A. 1976. *Influence of copulation on vitellogenesis and egg-laying in Ornithodoros moubata*. *ISRP1*, sous presse.
- GLADNEY, W.J. 1971. *Mate-seeking by female Amblyomma maculatum on a bovine*. *Nature* 232: 401-402.
- GLADNEY, W.J. & DRUMMOND, R.O. 1970a. *Mating behavior and reproduction of the lone star tick Amblyomma americanum*. *Ann. Ent. Soc. Amer.* 63: 1036-1039.
- GLADNEY, W.J. & DRUMMOND, R.O. 1970b. *Migration of male lone star ticks on the host in relation to mating*. *J. econ. Ent.* 63: 1214-1216.
- GLADNEY, W.J., GRABBE, R.R., ERNST, S.E. & OEHLER, D.D. 1974a. *The Gulf Coast tick: Evidence of a pheromone produced by males*. *J. Med. Entomol.* 11: 303-306.

- GLADNEY, W.J., ERNST, S.E. & GRABBE, R.R. 1974b. *The aggregation response of the Gulf Coast tick on cattle*. Ann. Ent. Soc. Amer. 67: 750-752.
- GRAF, J.-F. 1974. *Ecologie et éthologie d'Ixodes ricinus L. en Suisse. Troisième note: Copulation, nutrition et ponte*. Acarologia 16: 636-642.
- GRAF, J.-F. 1975. *Ecologie et éthologie d'Ixodes ricinus L. en Suisse. Cinquième note: Mise en évidence d'une phéromone sexuelle chez I. ricinus*. Acarologia 17: 437-441.
- GRAF, J.-F., MERMOD, C. & AESCHLIMANN, A. (en prép). *Ecologie et éthologie d'Ixodes ricinus L. en Suisse. Septième note: Les rythmes de détachement chez I. ricinus et leurs implications écologiques*. Acarologia.
- GRAF, J.-F., MERMOD, C. & AESCHLIMANN, A. (en prép). *Nouvelles données concernant la distribution, l'écologie et la biologie d'Ixodes trianguliceps en Suisse*.
- GREGSON, J.D. 1944. *The influence of fertility on the feeding rate of the female of the wood tick, Dermacentor andersoni STILES*. Ent. Soc. Ont. 74: 46-47.
- HITCHCOCK, L.F. 1955. *Studies on the parasitic stages of the Cattle tick, Boophilus microplus*. Aust. J. Zool. 3: 145-155.
- HONZAKOVA, E., OLEJNICEK, J., CERNY, V., DANIEL, M. & DUSBABEK, F. 1975. *Relationship between number of eggs deposited and body weight of engorged Ixodes ricinus female*. Folia Parasitologica 22: 37-43.
- IMMLER, R. 1973. *Untersuchungen zur Biologie und Ökologie der Zecke Dermacentor reticulatus (FABRICIUS, 1794) in einem endemischen Vorkommensgebiet*. Bull. Soc. Ent. Suisse 46: 1-70.
- JAGANNATH, M.S., NAGARAJA, K.V. & HEGDE, K.S. 1974. *Feature of taxonomic value in Hyalomma marginatum isaaci SHARIE, 1928*. Curt. Sc. 43: 222-223.
- KHEISIN, E.M. & LAVRENKO, L.E. 1956. *Duration of bloodsucking and diurnal rhythm of feeding and detachment of Ixodes ricinus L. females*. Zool Zh. 35: 379-383.
- KITAOKA, S. & YAJIMA, A. 1958. *Physiological and ecological studies of some ticks. II. Phase change in oviposition ability with blood sucking quantity*. Bull. Nat. Inst. Anim. Hlth. 34: 149-162.
- KRECH, U., JUNG, F. & JUNG, M. 1969. *Zentraleuropäische Zeckenencephalitis in der Schweiz*. Schweiz. med. Wschr. 99: 282-285.
- LEAHY, M.G., VANDEHEY, R. & GALUN, R. 1973. *Assembly pheromone(s) in the soft tick Argos persicus (OKEN)*. Nature 246: 515-517.
- LEAHY, M.G., KARUHIZE, G., MANGO, C. & GALUN, R. 1975a. *An assembly pheromone and its perception in the tick Ornithodoros moubata (MURRAY)*. J. Med. Ent. 12: 284-287.
- LEAHY, M.G., STERNBERG, C., MANGO, C. & GALUN, R. 1975b. *Lack of specificity in assembly pheromones of soft ticks*. J. Med. Ent. 12: 413-414.
- LEES, A.D. 1952. *The role of cuticle growth in the feeding process of ticks*. Proc. zool. Soc. London 121: 759-772.
- LOUNSBURY, C.P. 1899. *The bont tick Amblyomma hebraeum KOCH. Its life history and habits*. Agr. J. Cape Town 15: 728-743.
- MACLEOD, J. 1932. *The bionomics of Ixodes ricinus L., the «sheep tick» of Scotland*. Parasitology 24: 382-400.
- MACLEOD, J. 1935. *Ixodes ricinus in relation to its physical environment. III. Climate and reproduction*. Parasitology 27: 489-500.
- MACLEOD, J. 1936. *Ixodes ricinus in relation to its physical environment. IV. An analysis of the ecological complexes controlling distribution and activity*. Parasitology 28: 295-319.
- MERMOD, C., AESCHLIMANN, A. & GRAF, J.-F. 1973. *Ecologie et éthologie d'Ixodes ricinus L. en Suisse. Première note: Fluctuations numériques*. Acarologia 15: 197-205.
- MERMOD, C., AESCHLIMANN, A. & GRAF, J.-F. 1974. *Ecologie et éthologie d'Ixodes ricinus L. en Suisse. Deuxième note: Comparaison des populations 1972 et 1973*. Acarologia 16: 612-620.
- MERMOD, C., AESCHLIMANN, A. & GRAF, J.-F. 1975. *Ecologie et éthologie d'Ixodes ricinus en Suisse. Quatrième note: Comparaison de deux populations d'altitude différente*. Acarologia 17: 443-451.
- MOORHOUSE, D.E. 1966. *Observations on copulation in Ixodes holocyclus NEUMANN and the feeding of the male*. J. Med. Ent. 3: 168-171.
- MOREL P.C. *Les tiques d'Afrique et du Bassin méditerranéen. (Ixodoidea)*. Manuscrit en communication.
- MORISOD, A., BROSSARD, M., LAMBERT, C., SUTER, H. & AESCHLIMANN, A., 1972. *Babesia bovis: transmission par Ixodes ricinus dans la plaine du Rhône*. Schweiz. Arch. Tierheilk. 114: 387-391.
- NAGAR, S.K. 1968. *On the significance of the duration of preoviposition and oviposition periods in ixodid ticks*. Acarologia 10: 621-629.
- NUTTALL, G.H.F. 1915. *Ticks: a monograph of the Ixodoidea*. Cambridge University Press, London.
- NUTTALL, G.H.F. & MERRIMAN, G. 1911. *The process of copulation in Ornithodoros moubata*. Parasitology 4: 39-44.
- OLIVER, J.H. JR. 1974. *Symposium on reproduction of arthropods of medical and veterinary importance. IV. Reproduction in ticks (Ixodoidea)*. J. Med. Ent. 11: 26-34.

- PAPPAS, P.J. & OLIVER, J.H. JR. 1971. *Mating necessary for complete feeding of female Dermacentor variabilis*. J. Georgia Ent. Soc. 6: 122-124.
- PAPPAS, P.J. & OLIVER J.H. JR. 1972. *Reproduction in ticks. II. Analysis of the stimulus for rapid and complete feeding of female Dermacentor variabilis (Say)*. J. Med. Ent. 9: 47-50.
- POMERANTZEV, B.I. 1950. *Fauna of U.S.S.R. - Arachnida - Ixodid ticks*. Academy of Science USSR, Trad. The American Institute of Biological Sciences, 1959.
- POMERANTZEV, B.I. & ALFEEV N.I. 1935. Izd. Akad. Nauk., 187-194.
- RADDA, A., SCHMIDTKE, W. & WANDELER, A. 1974. *Nachweis des Virus des Frühsommer-Meningoenzephalitis (FSME) in Ixodes ricinus aus dem Kanton Zürich*. Zentralbl. Bakteriol. Parasitenkd. Infektionskr. Hyg. 1, Abt. A, 229: 268-272.
- ROBINSON, G.C. 1942. *The mechanism of insemination in the argasid tick, Ornithodoros moubata*. Parasitology 34: 195-198.
- ROSHDY, M. 1969. *Structure of the female reproductive system of Ixodes ricinus and its bearing on the affinity of Ixodes to other ixodid genera*. J. Parasitol. 55: 1078-1083.
- SACKTOR, B., HUTCHINSON, M. & GRANETT P. 1948. *Biology of the lone star tick in the laboratory*. J. econ. Ent. 41: 296-301.
- SAMSON, K. 1909. *Zur Anatomie und Biologie von Ixodes ricinus*. Zeitschr. wiss. Zool. 43: 185.
- SNOW, K.R. & ARTHUR, D.R. 1970. *Larvae of the Ixodes ricinus complex of species*. Parasitology 60: 27-38.
- SONENSHINE, D.E. 1967. *Feeding time and oviposition of Dermacentor variabilis as affected by delayed mating*. Ann. Ent. Soc. Amer. 60: 489-490.
- SONENSHINE, D.E. 1974. *Radioisotope tagging for studies on the ecology of the sheep tick Ixodes ricinus L.* Acarologia 15: 406-408.
- SONENSHINE, D.E., SILVERSTEIN, R.M., LAYTON, E.C. & HOMSHER, P.J. 1974. *Evidence for the existence of a sex pheromone in two species of ixodid ticks*. J. Med. Ent. 11: 307-315.
- SPIESS, H., MUMENTHALER, M., BURKHARDT, S. & KELLER, H. 1969. *Zentraleuropäische Enzephalitis (Zeckenenzephalitis) in der Schweiz*. Schweiz. med. Wschr. 99: 277-282.
- SUTTON, E. & ARTHUR, D.R. 1962. *Aspects of disease transmission by ticks*. Symp. Zool. Soc. London 6: 223-256.
- SWEATMAN, G.K. 1968. *Temperature and humidity effects on the oviposition of Hyalomma aegyptium ticks of different engorgement weights*. J. Med. Ent. 5: 429-439.
- TATCHELL, R.J. 1962. *Studies on the male accessory reproductive glands and the spermatophore of the tick Argas persicus*. Parasitology 52: 133-142.
- WAGNER-JEVSENKO, O. 1958. *Fortpflanzung bei Ornithodoros moubata und genitale Übertragung von Borrelia duttoni*. Acta tropica 15: 118-168.
- WYLER, R., SCHMIDTKE, W., KUNZ, C., RADDA, A., HENN, V. & MEYER, R. 1973. *Zeckenenzephalitis in der Region Schaffhausen: Isolierung des Virus aus Zecken und serologische Untersuchungen*. Schweiz. med. Wschr. 103: 1487-1492.