
Chapitre III : Matériels et méthodes**3.1. Matériel****3.1.1. Matériel végétal**

Des échantillons de plantes ornementales abritant à la fois des pucerons vivants et momifiés ont été recueillis à partir des localités retenues dans la ville de Biskra. Ces échantillons sont composés d'organes des plantes infestés « feuilles, inflorescences et jeunes pousses ».

3.1.2. Matériel animal

Il est composé de colonies de pucerons vivants et momifiés collectés lors des prospections, ainsi d'hyménoptères récupérés après leurs émergences.

3.1.3. Matériel de conservation, de montage et d'observation

Le matériel utilisé pour la conservation des échantillons prélevés est constitué de sachets en plastiques, de boîtes de Pétri et de tubes à essai.

Le montage, ainsi que, l'observation microscopique des pucerons et de leurs hyménoptères parasitoïdes ont nécessité l'utilisation des verres de montre, des lames et de lamelles, des épingles entomologiques, d'une plaque chauffante, d'une loupe binoculaire et d'un microscope optique.

3.2. Méthodes de travail**3.2.1. Choix des stations d'études****3.2.1.1. Jardin Landon**

Le jardin Landon a été créé par le comte Albert Landon de Longueville en 1872 (<http://www.mate.gov.dz>). Il est situé au niveau du quartier des châtaigniers (Biskra Sud-Est), et s'étend sur une superficie de 04 ha et qui est entièrement clôturés (**Figure 8**).

Ce jardin est un véritable trésor écologique, qui regroupe un grand nombre d'essences, qui sont introduites d'un peu partout (Asie, Amérique, Afrique et Australie).

Environ 200 espèces floristiques ont été plantées au début de sa création mais actuellement, il ne reste que 54 espèces (<http://www.mate.gov.dz>).

Ce jardin a été classé par décision en 1992 par l'agence nationale pour la conservation de la nature (A.N.N), comme un site protégé désigné « jardin Botanique ». Le parc Landon est aujourd'hui classé au deuxième rang après le jardin d'essai d'El Hama à Alger (<http://www.mate.gov.dz>).

Les aménagements qui ont été apportés sur ce jardin comporte une clôture, un tracé des allées, un entretien des pelouses, la création d'un réseau d'irrigation et la construction de parcelles (Naceur, non daté).



Figure 8 : Vue générale du jardin Landon (Google Earth, 2009).

3.2.1.2. Jardin 05 juillet

Il a été créé en 1849. Il est situé en plein centre de la ville de Biskra, dans le quartier du damier colonial (**Figure 9**). Il est limité au nord par une caserne qui demeure fonctionnelle jusqu'à ce jour. Il englobe l'ancienne église catholique, transformée aujourd'hui en centre culturel islamique (**Naceur, non datée**).

La flore du jardin a fait l'objet d'une étude par la Direction des forêts, qui a permis de recenser 30 espèces végétales (**Direction des Forêts, 2011**).



Figure 9 : Vue générale du jardin de 05 juillet (Google Earth, 2009)

3.2.1.3. Jardin Zidane Brahim

Le jardin public Zidane Brahim est un parc zoologique d'une superficie de 1,5 ha environ (**Figure 10**). Il est situé au centre-ville de Biskra, dont l'origine était une ancienne palmeraie.

En 2001, il a fait l'objet d'une importante opération de réhabilitation. Cette opération a porté sur un profond toilettage des Bassins, la réfection du réseau d'irrigation, la requalification des allées, des cages d'animaux, de la clôture, des sièges et des aires de jeu, outre la régénération des espaces verts détériorés (Communication personnelle avec Mr. Merchi « Direction des forêts »).

Outre les palmiers, le parc est entièrement complanté d'essences diverses, essentiellement les Hibiscus, laurier, grenadier, Bougainvillier, Myoporum et d'autres espèces de différentes origines.



Figure 10 : Vue générale du jardin Zidane Brahim (Google Earth, 2009).

3.2.1.4. Espace vert de l'Université de Biskra

L'université de Biskra est située au niveau du quartier Al Alia (Sud-Ouest). Son couvert végétal comporte les espèces les plus trouvées dans la ville de Biskra, entre autres, les acacias, l'eucalyptus, laurier rose, bougainvillier, Ficus, tamarix, les palmiers.....etc (Figure 11).



Figure 11 : Vue générale de l'Université de Biskra (Google Earth, 2009)

3.2.2. Echantillonnage

Les méthodes d'échantillonnages utilisées lors d'une étude entomologique doivent être sélectionnées en fonction des objectifs retenus. Dans ce travail, l'objectif était de mettre en évidence la richesse du milieu urbain de la ville de Biskra en Hyménoptères parasitoïdes des pucerons.

Pour atteindre cet objectif, des prospections et des contrôles minutieux sont effectués chaque semaine dans l'ensemble des sites retenus entre le 29 décembre 2010 et le 08 juin 2011.

A chaque sortie, le maximum de plantes ornementales est prospecté afin de déterminer celles qui présentent des colonies de pucerons et des traces de parasitisme. Tous les organes infestés sont collectés, et chaque échantillon a été séparément placé dans un sachet en plastique.

3.2.3. Conservation

La méthode de conservation utiliser dépend de la morphologie de l'insecte.

3.2.3.1. Pucerons et Hyménoptères

Les pucerons vivants sont conservés dans de l'éthanol à 70%. Les pucerons momifiés de la même espèce et de la même plante hôte sont placés dans des boîtes de Pétri. Les colonies momifiées sont contrôlées chaque jour afin de récupérer les Hyménoptères adultes fraîchement émergés. Ces dernières sont placés ensuite dans des tubes contenant de l'éthanol à 70% dans l'attente de leur identification.

3.2.3.2. Plantes

Les plantes collectés ont été pressées et séchées afin de constituer un herbier.

3.2.4. Montage

3.2.4.1. Pucerons

Avant d'identifier les pucerons, il faut d'abord les éclaircir et les monter sur des lames (**Martin, 1983**). La méthode de montage utilisée est celle proposée par **Leclant (1978a)**. Après avoir pratiqué une incision abdominale, les spécimens sont chauffés dans un verre de montre contenant une solution de potasse (KOH) pendant 3 à 10 minutes en fonction de la taille du puceron. Ensuite, il est procédé à un rinçage dans deux bains d'eau distillée pour se débarrasser de la potasse. Les échantillons sont transférés dans une solution de chloral phénol qui sert à les éclaircir pendant quelques jours. Finalement, le montage est réalisé dans une goutte d'Eukitt placée entre lame et lamelle.

3.2.4.2. Hyménoptères

Les Hyménoptères peuvent être identifiés grâce à une observation à la loupe binoculaire, mais pour plus de précision l'observation microscopique de certains détails est nécessaire. Pour cela, la dissection et le montage des différentes parties, comme, les ailes, les antennes, le premier tergite abdominal, entre lames et lamelles sont obligatoires.

3.2.5. Identification

3.2.5.1. Pucerons

L'identification de l'espèce est généralement basée sur des caractères morphologiques comme, la couleur, la longueur et la forme du corps, la tête, les antennes, les pièces buccales, les ailes, les cornicules, la cauda, la plaque anale et la plaque génitale (**Perera *et al.*, 2005**). L'identification est faite par Mr Laamari M., enseignant au département d'agronomie de Batna, en se basant sur plusieurs clés, en particuliers celles de **Leclant (1978 et 1999)** ; **Macgillivray (1979)** ; **Bouchery et Jacky (1983)** ; **Remaudière *et al.* (1985)** ; **Remaudière et Seecoferandez (1990)** ; **Blackman et Eastop (1993a et 1993b)** ; **VanHarten *et al.* (1994)**.

3.2.5.2. Hyménoptères

Plusieurs caractères ont été utilisés pour l'identification des Hyménoptères, en particulier, la couleur du corps, le nombre de segments antennaires, le nombre de placodes longitudinaux sur le flagellomère (F2), la longueur, la largeur et la couleur du premier flagellomère (F1), le nombre de palpes maxillaires et labiaux, la nervation des ailes ainsi que la forme du stigmate, la forme du propodium, la forme du pétiole et enfin la gaine d'ovipositeur.

La couleur du puceron momifié peut servir également dans l'identification du parasitoïde (**Tomanovic *et al.*, 2003a**).

L'identification des Hyménoptères parasitoïdes a été réalisée par l'assistance de M^{elle} Tahar chaouch (Magister en agronomie), et en se basant sur plusieurs clés d'identifications, en particulier celles de **Baltazar (1962)**; **Stary (1970)** ; **Tomanovic *et al.* (2003 a,b,c)**; **Tomanovic *et al.* (2006)**; **Kavallieratos *et al.* (2004)**; **Kavallieratos *et al.* (2006)** ; **Kavallieratos *et al.* (2008)** ; **Talebi *et al.* (2009)** ; **Buitenhuis *et al.* (2004a)**

3.2.5.3. Plantes

La détermination des plantes ornementales est faite en se basant sur plusieurs références réalisées par **Mor et Wite (2005)** ; **Burnie *et al.* (2005)** ; **Arbonnier (2002)** ; **Guillonnet *et al.* (2011)** ; **C.R.S.T.R.A., (2003)** et avec l'assistance de Mr Merchi (Direction des forêts), Mr Hadid (Directeur du jardin 5 juillet).

3.2.6. Exploitation des résultats

Les résultats obtenus sont exploités pour déterminer certains paramètres démographiques des Hyménoptères parasitoïdes des pucerons.

Les valeurs exploitées concernant les effectifs des pucerons et des Hyménoptères par espèces végétales sont celles qui représentent la moyenne maximale obtenue par organe dans le temps et dans l'espace.

3.2.6.1. Inventaire

L'inventaire consiste à dresser une liste des Hyménoptères parasitoïdes des pucerons associés aux plantes ornementales dans un milieu urbain (ville de Biskra). Cette partie de l'étude a permis d'évaluer la richesse spécifique de ce milieu en Hyménoptères parasitoïdes des pucerons.

3.2.6.2. Relations trophiques « plante hôte – puceron »

A travers ce paramètre, les différentes relations trophiques qui existent entre la plante hôte, et le puceron, sont identifiées.

3.2.6.3. Relations tri-trophiques

A travers ce paramètre, les différentes relations tri-trophiques qui existent entre la plante hôte, le puceron, et l'hyménoptère parasitoïde sont arrêtées. A travers cette étude, les capacités d'adaptation et d'élasticité de chaque Hyménoptère parasitoïde sont évaluées.

3.2.6.4. Taux de parasitisme (%)

Le taux de parasitisme représente le nombre de momies (pucerons parasités) x 100 / le nombre total de pucerons (sains et parasités) (**Hafez, 1961**).

3.2.6.5. Taux d'émergence (%)

Le taux d'émergence correspond au nombre d'adultes du parasitoïdes émergés x 100 / le nombre total de momies comptées (He *et al.*, 2004 *in* **Halimi, 2010**).

3.2.6.6. Sex-ratio

La sex-ratio correspond au nombre de mâles / le nombre des femelles de chaque espèce d'hyménoptère trouvée dans la région d'étude (**Hafez, 1961**).

3.2.6.7. Taux d'hyper-parasitisme (%)

Il correspond au nombre d'hyperparasites émergés x 100 / le nombre total de parasitoïdes émergés (primaires et secondaires).