

---

## Chapitre III - Matériels et Méthodes

### 3.1- Matériel de travail

#### 3.1.1- matériel végétal

Des prospections hebdomadaires sont effectuées dans des localités appartenant principalement au Zab Chergui, notamment les communes de Biskra, Sidi Okba, Ain Naga et M'ziraa. Au niveau de ces localités toute la flore spontanée et adventice abritant à la fois les pucerons et les Hyménoptères parasitoïdes a fait l'objet d'un échantillonnage. Le matériel végétal est formé d'organes de plantes (jeunes pousses, feuilles et inflorescences). Le milieu naturel prospecté est formé essentiellement de terrains incultes et des bordures des champs. Ce milieu qui se trouve juste à proximité des cultures peut servir de refuge aux Hyménoptères parasitoïdes des pucerons en absence de cultures ou en cas de traitements chimiques intensifs.

#### 3.1.2- Matériel animal

Il est composé de colonies de pucerons, de momies et d'Hyménoptères adultes récupérés après leur émergence.

#### 3.1.3- Matériel de conservation

Il est constitué de boîtes de Pétri, de sachets en plastique, de tubes à essai contenant de d'éthanol à 70 % et de sachets en papier

#### 3.1.4- Matériel de montage et d'observation

Ce matériel est composé de verres de montre, d'épingles entomologiques, de lames et lamelles, d'une plaque chauffante, d'une loupe de poche, d'une loupe binoculaire et d'un microscope optique.

### 3.2- Méthodes de travail

#### 3.2.1- Choix des stations

Pour effectuer cette étude, il est procédé à la prospection de plusieurs localités appartenant principalement au Zab Chergui (Figure 12). Zab Chergui est considérée actuellement comme un pôle agricole au niveau de la région de Biskra surtout après les derniers programmes de mise en valeur. En plus de la plasticulture qui est considérée comme la principale spéculation,



cette zone est réputée également pour ses cultures maraîchères en plein champ, notamment, la fève, le petit pois, l'haricot, l'ognon, l'ail, la pastèque, le melon et autres. La phoeniciculture, l'arboriculture et la céréaliculture commencent également à gagner de l'espace. Il est à noter que le Zab Chergui est située dans la partie Est de la région de Biskra. Cette zone est limitée au nord par la chaîne montagneuse de l'Atlas saharien. Les plaines fertiles (alluvions) qui forment la majeure partie, englobant Feliach, Chetma, Sidi Okba, Guerta, M'ziraa, Ain Naga, Zeribet El Oued.

Le milieu naturel qui a fait l'objet de cette étude est plus ou moins diversifié et comporte entre autre de l'*Atriplex halimus*, *Chenopodium murale*, *Suaeda fruticosa*, *Reseda luttea*, *Amaranthus lividus*, *Euphorbia serata*, *Melilotus indica*, *Moricandia arvensis*, *Tamarix gallica*, *Thymelea microphilla*, *Erodium triangulare*, *Adonis annua*, *Daucus carota*, *Moricandia arvensis*, *Sinapis arvensis*, *Diplotaxis erucoides*, *Centaurea omphylotricha* (Sana, 2002). En plus des bordures des cultures et des mauvaises herbes, toute cette flore naturelle peut servir comme un refuge aux Hyménoptères parasitoïdes des pucerons et par conséquent elle peut jouer un rôle non négligeable dans la reconstitution des effectifs de ces auxiliaires et leur réinstallation sur des cultures de plein champ ou sous serre.

### 3.2.2- Techniques de prélèvement

Les méthodes adoptées pour des études entomologiques doivent être choisies en fonction des objectifs tracés. Dans cette étude, le principe était de mettre en relief la richesse qualitative de la région et des stations prospectées en Hyménoptères parasitoïdes des pucerons installées sur les plantes spontanées.

Dans la nature, ces plantes spontanées sont réparties d'une façon aléatoire. Une espèce végétale peut être représentée par un ou plusieurs spécimens. Il est difficile donc d'adopter une technique d'échantillonnage valable à toutes les espèces végétales trouvées. Dans ce cas, les prélèvements doivent commencer juste après les premières infestations des plantes par les aphides et continuent jusqu'à leur disparition complète (**Kavallieratos et al, 2008**). Pour cela, il peut être procédé de deux façons.

Dans le premier cas, **Muller et al. (1999)**, préconisent des contrôles visuels, à raison de 2 fois par mois sur l'ensemble des plantes trouvées. A chaque sortie, les auteurs proposent de noter le taux de recouvrement de chaque plante hôte, son stade phénologique, son taux d'attaque par les pucerons ainsi que les organes infestés et le suivi des fluctuations des colonies aphidiennes dans le temps et dans l'espace et mentionner l'activité des parasitoïdes après l'apparition des premières momies.

D'après **Muller et al. (1999)**, cette méthode est nécessaire pour évaluer la réalité écologique des milieux naturels. Dans ce cas, toutes les observations s'effectuent sur terrain et aucune évaluation n'est faite sur la base d'un élevage ou d'une conservation des momies au niveau du laboratoire.

Dans le deuxième cas, les colonies de pucerons présentant des traces de momification vont subir un suivi après leur élevage au niveau du laboratoire. C'est la méthode qui a été adoptée lors de cette étude.

Des prospections et des contrôles minutieux sont effectués chaque semaine dans le maximum de localités appartenant au Zab Chergui. Ces sorties sont étalées de la fin janvier jusqu'au 10 juin 2009 et du 10 octobre jusqu'au 14 mars 2010. A chaque sortie, tous les organes infestés par les pucerons et présentant des traces de parasitisme de la part des Hyménoptères parasitoïdes sont collectés et ramenés au laboratoire.

Si le nombre de plants par espèce végétale présentant des traces de parasitisme est important, il est procédé au prélèvement d'un maximum de feuilles ou de jeunes pousses en fonction de la morphologie de la plante. Il est à noter que certaines plantes se caractérisent par des feuilles très étroites, alors que d'autres possèdent des feuilles larges. Dans le premier cas, les colonies aphidiennes forment une sorte de manchons autour des jeunes pousses, tandis que, dans le deuxième cas, elles s'installent sur la face inférieure des feuilles. Les valeurs exploitées concernant les effectifs des pucerons et des Hyménoptères par espèce végétale sont celles représentant la moyenne maximale obtenue par organe dans le temps et dans l'espace. C'est-à-dire, pour chaque plante hôte, c'est l'organe qui présente le maximum de momies dans le temps parmi l'ensemble des stations qui est pris en considération.

### **3.2.3- Conservation**

#### **3.2.3.1- Pucerons et Hyménoptères**

La conservation des pucerons et des Hyménoptères parasitoïdes s'effectue dans de l'éthanol à 75%. Par ailleurs, les momies qui n'ont pas encore émergé sont laissées jusqu'à 21 jours dans des boîtes de Pétri suffisamment aérées.

#### **3.2.3.2 Plantes**

Après Séchage, l'ensemble des plantes collectées afin de confectionner un herbier sont conservées entre des feuilles de papier buvard préalablement étiquetés.

### **3.2.4- Montage**

#### **3.2.4.1- Pucerons**

Le montage des pucerons est effectué selon la méthode proposée par **Leclant (1978)**. Après avoir pratiqué une incision au niveau de l'abdomen, les aphides sont placés dans un verre de montre contenant de la potasse (KOH) à 10 % et chauffés pendant 3 à 10 minutes en fonction de la taille des individus. Ensuite, il est procédé à un rinçage dans deux bains d'eau distillée pour se débarrasser la potasse. Les échantillons sont transférés dans une solution de chloral phénol pendant quelques jours afin de rendre le spécimen plus transparent (**Bouchery et Jacky, 1982**). Le montage est réalisé dans une goutte d'Eukitt placée entre lame et lamelle.

### 3.2.4.2- Hyménoptères

D'après **Stary et Ghosh (1983)** cités par **Abdessmed (1998)**, dans le cas des Hyménoptères parasitoïdes des pucerons, il est possible de monter l'individu entier entre lame et lamelle mais pour observer certains détails microscopiques il est préférable de procéder à une dissection avant de monter chaque partie du corps à part.

### 3.2.5-Identification

#### 3.2.5.1-Plantes

La détermination des plantes hôtes des pucerons est faite par Mr Oudjehih B. et Mr Laamari M., enseignants au département d'Agronomie de l'université de Batna.

#### 3.2.5.2-Pucerons et parasitoïdes

L'identification des pucerons a nécessité l'observation des antennes, de l'ornementation abdominale, de la nervation alaire, des cornicules, de la cauda et du rostre. En plus, plusieurs clefs sont utilisées, en particulier, celles de **Leclant (1978, 1999)** ; **Macgillivray (1979)** ; **Bouchery et Jacky (1982)** ; **Remaudiere et al. (1985)** ; **Autrique et Ntahimpera (1989)** ; **Blackman et Eastop (1993 a, 1993 b)** ; **Van-Harten et al. (1994)** et **Hulle et al. (1998, 1999)**.

Dans le cas des Hyménoptères, avant de procéder aux observations microscopiques, il faut d'abord identifier le puceron hôte et s'informer sur la momie (couleur) (**Stray, 1970** ; **Stray, 1979** ; **Kavallieratos et al., 2006**) (Figure 13). Ensuite, il est procédé à l'observation de certains caractères microscopiques, entre autres, la nervation des ailes, la forme et les dimensions du prostigma, l'ovipositeur, le nombre de segments antennaires, la forme du pétiole et du propodium, la couleur et les dimensions du flagellomère F<sub>1</sub>, la présence ou l'absence des placodes sensoriels et leur nombre sur le F<sub>2</sub> et enfin la couleur de corps. L'identification des Hyménoptères parasitoïdes a nécessité l'utilisation des clés de **Buitenhuis et al. (2004)** ; **Chou – Liang – Yih (1981)** ; **Chen Jia – Hua et al. (1990)** ; **Kavallieratos et al. (2004)** ; **Kavallieratos et al. (2005)** ; **Kavallieratos et al. (2006)** ; **Rakhshani et al. (2005)** ; **Rakhshani et al. (2006)** ; **Takada (1968)** ; **Tomanovic et al. (2003a)** ; **Tomanovic (2003b)** ; **Tomanovic et al. (2006)** ; **Tomanovic et al. (2008)** ; **Tomic et al. (2005)** ; **Stray (1970)** ; **Stray (1979)**.



**Figure 13** : Les différentes couleurs des momies. **A** et **B** : Momies du genre *Aphidius* : Momie du genre *Diaeretilla*, **D** : Momie du genre *Praon*, **E** : Momie du genre *Trioxys*, **F** : Momie du genre *Ephedrus*

(Photo de l'auteur)

### 3.2.6 - Exploitation des résultats

Les résultats obtenus sont exploités pour calculer quelques paramètres démographiques des Hyménoptères parasitoïdes des pucerons (Aphidiidae).

#### 3.2.6.1-Inventaire

Il consiste à dresser une liste des hyménoptères parasitoïdes des aphides inféodés aux plantes spontanées de la région étudiée et connaître leur richesse spécifique.

#### 3.2.6.2- Relations trophiques

A travers ce paramètre, le rôle des plantes spontanées en tant que réservoirs des parasitoïdes peut être ressortit. Dans cette partie, l'action de cette flore naturelle en tant que réservoir d'auxiliaires et son rôle dans l'approvisionnement du milieu cultivé en insectes utiles peut être également analysée.

#### 3.2.6.3-Taux d'émergence (%)

C'est le nombre d'adultes des parasitoïdes émergés x 100 / le nombre de momies comptées.

C'est un paramètre qui peut déterminer l'action des hyperparasites, du système immunitaire et de la valeur alimentaire du puceron hôte et enfin des conditions environnementales sur l'achèvement du cycle de développement du parasitoïde.

#### 3.2.6.4-Taux d'hyper parasitisme (%)

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

L'hyperparasitisme est un facteur de mortalité des parasitoïdes primaires et reflète la nature et l'importance des interactions interspécifiques existantes.

#### 3.2.6.5- Sex- ratio

Selon certains facteurs intrinsèques et extrinsèques, les femelles déterminent le sexe de leur progéniture. Par les phénomènes d'haploïdie ou de diploïdie, l'œuf pondu donnera un mâle ou une femelle (**Wajnberg et Ris, 2006**).

Ce paramètre correspond au nombre de mâles / le nombre des femelles.