

Bonnes pratiques pour l'élevage des pucerons

Nicole Bochet¹, Yves Bouchery¹, Louis Wiss¹, Etienne Herrbach¹, Jacky Misbach¹, Véronique Brault¹

Résumé. Bien que les colonies de pucerons se développent dans la nature de manière très importante dans des conditions non contrôlées, le maintien de plusieurs espèces de pucerons dans un environnement confiné n'est pas si trivial ! Nous décrivons (i) les caractéristiques d'une installation permettant le maintien de plusieurs espèces de pucerons et (ii) les modes opératoires pour la manipulation des insectes qui permettent d'éviter les contaminations inter-espèces.

Mots clés : insecte, élevage, cage, pucerons

Introduction

Notre équipe étudie les mécanismes moléculaires de la transmission persistante et circulante des polérovirus par pucerons. Pour développer cet axe de recherche, de nombreuses expériences font appel à la manipulation de plusieurs espèces de pucerons que nous maintenons en élevage continu dans un milieu confiné. Les expériences menées au laboratoire consistent principalement (i) à analyser la transmission de polérovirus natifs, ou mutés, par différentes espèces de pucerons, et (ii) à étudier la biologie d'un virus de pucerons afin de l'utiliser comme vecteur de gènes dans l'insecte. Le maintien des élevages de différents clones, ou espèces, de pucerons, ainsi que l'établissement de clones porteurs ou non de virus est nécessaire pour poursuivre ces études. Cette coexistence de plusieurs colonies de pucerons expose l'élevage au risque de contamination inter-clones et inter-espèces. De plus, un élevage de pucerons est sensible à d'autres contaminations comme les champignons entomopathogènes ou des ennemis naturels tels que les coccinelles prédatrices ou les hyménoptères parasitoïdes.

Face à ces risques de contamination, notre équipe a mis en place en 1980 un dispositif fonctionnel « maison » qui comprend une serre « insect-proof », une pièce d'élevage, et des modes opératoires pour la manipulation des insectes qui nous a permis d'éviter tout mélange de clones ou d'espèces de pucerons, ainsi que toute contamination extérieure et ce depuis plus de 35 ans.

Description des installations

Le laboratoire

Situé au sous-sol du bâtiment principal, le laboratoire servant aux élevages de pucerons possède deux fenêtres exposées au nord pour éviter le rayonnement solaire sur les cages (**Figure 1**). La pièce mesure 20 m² (5 m x 4 m). Son accès est limité au personnel autorisé.

Paramètres abiotiques

- ✓ Un climatiseur situé au plafond maintient la température du laboratoire entre 18 et 20°C.
- ✓ Deux lampes au sodium de 400 W, reliées à une minuterie, assurent une photopériode journalière de 16 h de lumière et 8 h d'obscurité.
- ✓ Un déshumidificateur maintient le taux d'humidité relative de la pièce entre 66 et 68% (taux réel de la pièce).

Dans ces conditions constantes tout au long de l'année, le puceron se reproduit par viviparité (production de larves) et par parthénogénèse (absence de reproduction sexuée). Les larves sont donc génétiquement identiques entre elles et à leurs mères. Les individus produits sont en majorité des aptères.

¹ Santé de la vigne et Qualité du vin, INRA, 68021 Colmar, France
nicole.bochet@inra.fr ; veronique.brault@inra.fr

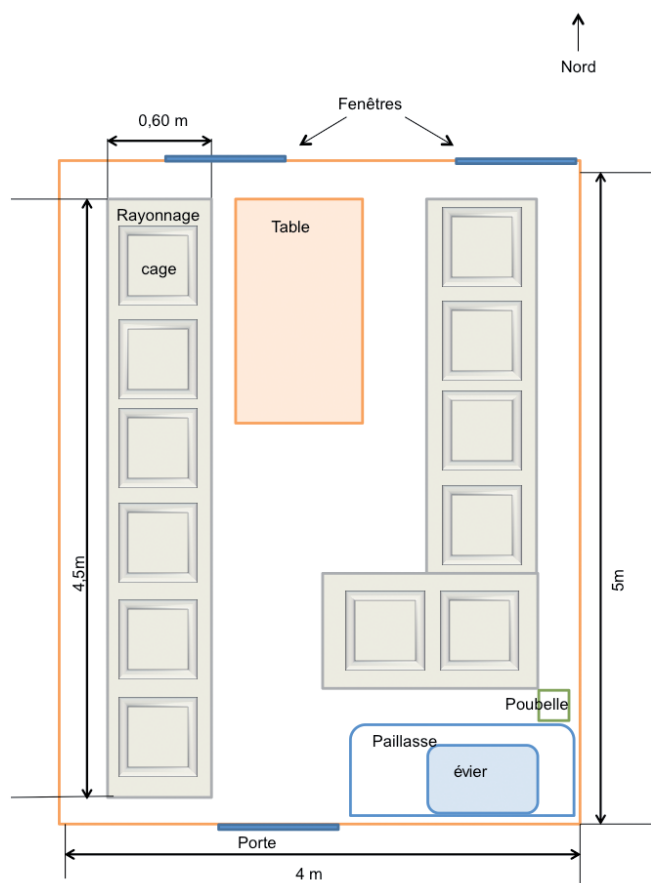


Figure 1. Plan de masse du laboratoire utilisé pour le maintien des élevages de pucerons. Vue d'ensemble de la disposition des cages et des équipements servant aux élevages.

Surveillance des paramètres abiotiques

- ✓ Le laboratoire est équipé d'une sonde reliée à un système de contrôle centralisé des températures. La collecte des données se fait en temps réel ou en Data logging (1 fois/nuit seulement). En cas de dysfonctionnement, une alerte téléphonique est envoyée aux personnes responsables.
- ✓ Un thermo-hygrographe à bande mesure et enregistre en continu la température et l'hygrométrie de la pièce.
- ✓ Un thermostat coupe les lampes au sodium au-delà de 24°C pour éviter les pics de température accidentels (par exemple, en cas de panne du climatiseur) dommageables pour les insectes et les plantes.
- ✓ Des bandes jaunes engluées sont suspendues au plafond afin de capturer d'éventuels individus ailés échappés des cages ou tout autre insecte entré accidentellement dans la pièce.

Equipements du laboratoire

- ✓ Une table mobile (1,60 m x 0,70 m)
- ✓ Une paillasse (1,90 m x 0,75 m) avec un évier émaillé (0,55 m x 0,45 m).
- ✓ Deux rayonnages (L 4,50 m x H 2 m x P 0,60 m) séparés du mur de 0,55 m pour permettre la circulation du personnel si un problème technique apparaît à l'arrière des cages (**Figure 2**). Chaque rayonnage comporte trois tablettes en PVC.



Toutes les cages de l'élevage sont placées sur ces tablettes et reliées à l'arrière à un circuit de ventilation.



Figure 2. Vue d'ensemble d'une partie des rayonnages sur lesquels sont entreposées les cages d'élevage de pucerons. Les tablettes supérieures sont en PVC ce qui permet de laisser passer la lumière sur les cages situées en-dessous (photo : M.A Dome).

✓ Le circuit de ventilation

Élément essentiel à cette infrastructure, la ventilation évite la condensation d'eau à l'intérieur des cages et ainsi le développement de champignons entomopathogènes sur la cuticule des pucerons ce qui pourrait nuire à leur survie. Des rampes verticales de tuyaux PVC de Ø 6 cm sont fixées au dos des rayonnages et desservent toutes les cages par l'arrière (**Figure 3a**). Des réducteurs de Ø 4 cm permettent de relier le tuyau à l'embout fixé à l'arrière de la cage. L'ensemble des rampes est relié à un conduit horizontal qui aboutit au ventilateur (**Figure 3b**) qui tourne 24 h/24 h.



Figure 3. Système de ventilation des cages d'élevage de pucerons. a) dispositif de conduits situé à l'arrière des cages ; b) ventilateur pour armoire électrique, réalisé par notre technicien à l'INRA de Colmar, inséré dans un boîtier de dérivation L 24 cm x H 20 cm Legrand (photos M.A. Dome).

✓ Les cages d'élevage

Les élevages de pucerons sont conduits dans des cages en PVC transparent, de dimensions : L 39,5 cm x H 45,3 cm x P 50 cm (**Figure 4a**). Ces cages d'élevage ont été fabriquées par les techniciens de l'INRA de Colmar. Des charnières et des vis « papillon » permettent l'ouverture et la fermeture de la porte sur la face avant. Un joint de silicone déposé sur le pourtour de l'ouverture de la porte assure l'étanchéité à la fermeture évitant toute échappée

de pucerons. Chaque porte est percée sur l'avant d'une ouverture de \varnothing 6 cm, recouverte d'une moustiquaire permettant l'entrée d'air. Grâce au circuit de ventilation placé à l'arrière des cages, celles-ci sont maintenues en dépression.

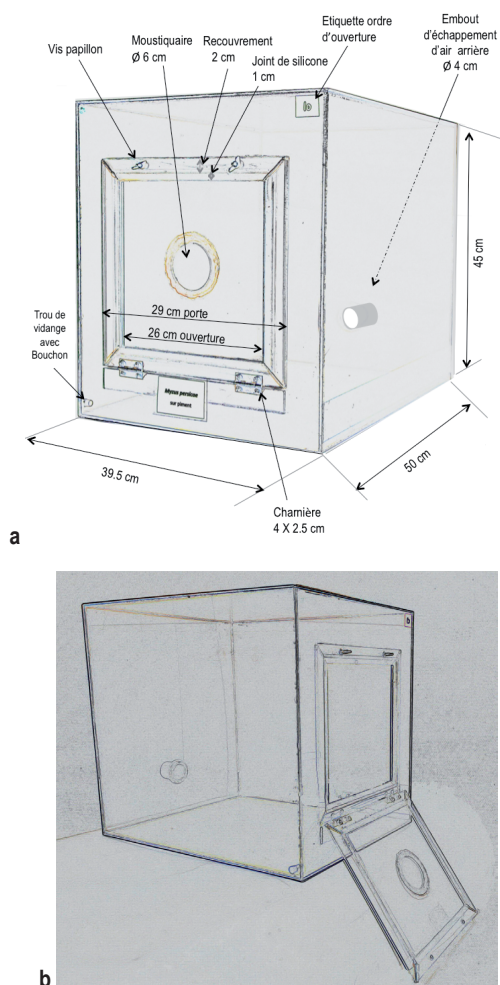


Figure 4. Représentation schématique d'une cage d'élevage de pucerons. a) la face avant de la cage ; b) le système d'ouverture de la porte à charnières.

Chaque cage est identifiée par le nom de l'espèce (le cas échéant du clone) de pucerons et de sa plante hôte. L'ordre d'ouverture de chacune des cages pour l'arrosage ou le renouvellement des plantes y est également inscrit. Celui-ci prend en compte les degrés de polyphagie et de mobilité de chaque espèce.

Autres équipements

- ✓ Un four à micro-ondes permet la destruction des pucerons sur les plantes infestées.
- ✓ Un évier équipé d'un mitigeur et d'un flexible muni d'une douchette permet de laver à l'eau chaude (55°C) les cages et tout le matériel utilisé lors des manipulations de pucerons.



- ✓ Un pulvérisateur à pression Berthoud de 5 L, équipé d'un petit tuyau flexible à l'extrémité de la buse, sert à l'arrosage des plantes (**Figure 5**).
- ✓ Un chariot de service à deux plateaux et deux caisses isothermes (fabriquées par les techniciens de l'INRA de Colmar) est utilisé pour le transport des plantes entre la serre et le laboratoire.
- ✓ Des bacs de rétention (50 cm x 35 cm x 8 cm) en plastique blanc sont utilisés pour manipuler les plantes.



Figure 5. Système d'arrosage des plantes (photo M.A. Dome).

La serre « insect-proof »

La serre « insect-proof » est située dans un ensemble de 2000 m² de serres localisées à proximité du bâtiment principal.

Surface

La serre « insect-proof » mesure 80 m² (8 m x 10 m).

Equipements

- ✓ Toiles « insect-proof » installées sur tous les ouvrants
- ✓ Sas d'entrée
- ✓ Eclairage artificiel 400 HPS (1 lampe/m²) type OSRAM Plantastar®
- ✓ Toile d'ombrage (déploiement si la luminosité extérieure > 40 klux)
- ✓ Equipement de refroidissement : ventilateurs et panneaux de « cooling » ; démarrage à 26°C
- ✓ Tables semi-roulantes : 3 x (L 8 m x l 1,60 m)

Paramétrages climatiques

Température maximale : 28°C; température minimale: 18°C; photopériode : 14 h jour/10 h nuit.

Les plantes servant aux élevages de pucerons sont produites en continu dans des pots de Ø 9 cm ou 13 cm, dans un terreau de structure fine (Klasmann TS3 416). Une fois par semaine, le semis est effectué directement en pot ou est repiqué selon l'espèce de plante.

A titre d'exemple : 1 pot de semis de radis pour l'élevage de *Brevicoryne brassicae* ; 1 pot de semis de scarole pour l'élevage de *Nasonovia ribis nigris*, 1 pot de semis d'aubergine pour l'élevage de *Macrosiphum euphorbiae*, 10 graines de concombres dans un pot pour l'élevage d'*Aphis gossypii* ; 16 féveroles par pot pour l'élevage d'*Acyrtosiphon pisum*. Le repiquage est nécessaire pour le plant de tabac, de betterave, de choux chinois pour

lesquels une plante est repiquée par pot. L'élevage de *Myzus persicae* s'effectue sur des poivrons (quatre plantes par pot).

L'arrosage des plantes en serre est réalisé avec de l'eau de ville grâce à deux lignes de tuyaux perforés placés sur des nappes irrigantes. Une fois par semaine, un arrosage manuel avec une solution aqueuse de fertilisant (Soluplant 12.9.34 ; pH ajusté à 6,5 avec Aquacide) est réalisé.

Les grandes étapes du maintien des élevages de pucerons

Le transport des plantes de leur lieu de croissance jusqu'au laboratoire d'élevage

Procédure

Une fois par semaine, le matériel végétal nécessaire au renouvellement des plantes dans les cages d'élevage est acheminé de la serre vers le laboratoire. Les plantes sont transportées sur un chariot, **dans des caisses isothermes** tapissées à l'intérieur d'une couche de 3 cm de polystyrène afin de les protéger du froid et surtout afin de prévenir l'introduction de prédateurs ou de parasitoïdes sur les plantes durant le transport.

Précautions préalables

Le transfert des plantes de la serre au laboratoire doit impérativement être effectué avant toute manipulation des cages d'élevage, afin de ne pas introduire d'insectes dans les serres de production. Le port de tenues jaunes pouvant attirer les pucerons ailés lors des transferts entre la serre et laboratoire doit être proscrit. De même, la blouse dédiée au laboratoire ne doit pas être portée lors des déplacements. A leur arrivée au laboratoire, les plantes sont individuellement inspectées et placées dans des cages d'acclimatation. Il n'y a pas de plantes hors des cages pendant toute intervention sur les cages d'élevage.

Renouvellement hebdomadaire des plantes-hôtes et transfert des colonies de pucerons

Pour toute intervention nécessitant l'ouverture des cages, il est impératif de respecter un ordre d'ouverture intégrant à la fois **les degrés de polyphagie et de mobilité de chaque espèce**. Il est également nécessaire de porter une blouse réservée à cet effet qui est placée dans la pièce.

Procédure

Une plante non infestée est posée dans un bac de rétention sur la table. La plante infestée est sortie de sa cage et posée dans le bac à côté de la plante non infestée ; 3 à 4 feuilles portant une colonie de pucerons (généralement localisée sur la face inférieure des feuilles) sont coupées et déposées sur la nouvelle plante. La cage est nettoyée au besoin avec une éponge pour éliminer les exuvies des pucerons et éventuellement les mouches issues du terreau. La nouvelle plante y est déposée et après arrosage, la cage est refermée.

Précautions importantes

Tout le matériel utilisé pour le renouvellement des cages (bac, tuteurs, paires de ciseaux, embout du système d'arrosage) doit être nettoyé à l'eau très chaude (55°C) avant de procéder au renouvellement de la cage suivante. Le risque de contamination entre deux clones de pucerons étant élevé et difficile à mettre en évidence, il est nécessaire d'avoir du matériel dédié au renouvellement des cages correspondantes ; ce matériel (pinces, paires de ciseaux) est fixé à proximité de la cage sur les montants des rayonnages. Une attention particulière est portée au renouvellement des clones de pucerons porteurs ou non de virus de pucerons. Dans ce cas précis, une propagation du virus est possible par le matériel de prélèvement des pucerons. Il est donc nécessaire de désinfecter ce matériel après chaque manipulation (Alconox® 1 %).





Pour éviter tout risque de transport de pucerons du laboratoire des élevages vers les serres, ou les autres chambres de culture des plantes, il est interdit de se déplacer dans ces enceintes le jour du renouvellement des cages.

La destruction des plantes infestées

Les plantes infestées (pot, terre, feuillage) qui viennent d'être remplacées sont déposées dans un plat en Pyrex® placé dans un four à micro-ondes pour la destruction des pucerons (6 min 30, puissance 720 W). Après ce traitement, le matériel végétal et la terre sont jetés dans une poubelle qui partira pour le compostage.

L'arrosage des plantes de l'élevage

Un arrosage bi-hebdomadaire avec une solution aqueuse de fertilisant (Soluplant 12.9.34) est nécessaire pour la croissance des plantes hôtes des pucerons. Le pulvérisateur à pression Berthoud équipé d'un petit tuyau à l'extrémité de la buse, est utilisé pour apporter l'eau dans la soucoupe de chaque plante. Cet embout permet d'accéder à l'intérieur des cages sans toucher le feuillage et **réduit ainsi les risques de contaminations entre cages (Figure 5)**. L'embout est rincé sous l'eau chaude entre les cages contenant des espèces différentes de pucerons. Le pulvérisateur est placé sur le chariot pour faciliter les déplacements. L'eau doit être absorbée par les plantes dans les heures qui suivent. L'arrosage débute par les cages où sont stockées des plantes non-infestées puis se poursuit en suivant l'ordre d'ouverture indiqué sur les étiquettes apposées sur les cages. Il faut veiller à n'ouvrir qu'une seule cage à la fois.

La récupération en masse des pucerons

La récolte en masse des pucerons sert à collecter de très grandes quantités de pucerons à des fins d'expérimentation mais peut également être utilisée pour le maintien des élevages. La récolte des pucerons par lavage des feuilles infestées permet d'éviter le transfert éventuel de thrips qui peuvent être présents sur les morceaux de feuilles infestées, et pourraient être transférées sur les nouvelles plantes. De plus, cette technique permet d'éviter le transfert d'exuvies et de miellat sur les nouvelles plantes de l'élevage.

Procédure

La plante est sortie de la cage et déposée dans un bac de rétention près de l'évier. Le dispositif de collecte de pucerons consiste à placer un premier tamis de Ø 20,5 cm servant de support à l'entonnoir qui est maintenu grâce à de petites encoches (**Figure 6a**). A l'intérieur de ce tamis est placé un deuxième tamis de Ø 10,5 cm et de 125 µm dans lequel seront récupérés les pucerons. L'ensemble du dispositif est déposé sur l'égouttoir de l'évier.

Un grand tamis de Ø 28 cm, à mailles de 1 mm est posé sur l'entonnoir. Les feuilles infestées de pucerons sont coupées une par une puis disposées dessus. Le lavage s'effectue avec la douchette, feuille par feuille, avec de l'eau tiède (20°C) sous pression de manière à décoller tous les pucerons (**Figure 6b**). L'eau s'écoule dans l'évier. A la fin du lavage, tous les pucerons ainsi que les exuvies se retrouvent sur le tamis de 125 µm. Les pucerons remontent naturellement sur les bords du tamis et peuvent alors être récoltés au pinceau et transférés si besoin sur une plante hôte. Si des thrips sont présents, leur élimination au pinceau est alors possible. **Le transfert manuel** des pucerons avec un pinceau sur une nouvelle plante peut être éventuellement remplacé par **un transfert naturel** des pucerons, qui s'effectue en plaçant directement le tamis de 125 µm contenant les pucerons à proximité de la plante hôte dans la cage. Le matériel utilisé (entonnoir, tamis) est finalement nettoyé à l'eau chaude et les feuilles lavées sont passées au four à micro-ondes.

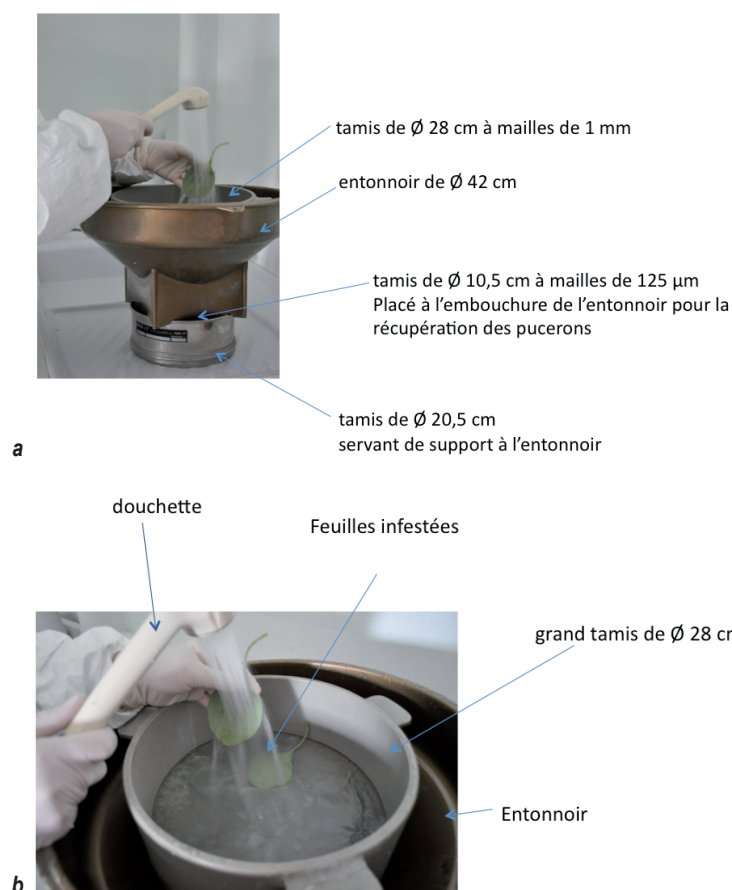


Figure 6. Méthode de récupération en masse des pucerons.
a) montage réalisé par assemblage d'un entonnoir et de tamis ; **b)** lavage des feuilles infestées avec une douchette
 (photos : M.A .Dorme).

Conclusion

L'installation, les infrastructures et les procédures décrites dans cet article permettent le maintien d'une collection de plusieurs espèces et clones de pucerons en minimisant les risques de contamination.

La rigueur et la vigilance lors du renouvellement hebdomadaire des plantes hôtes, ainsi que le soin apporté au nettoyage des cages sont les points clés de la réussite d'un élevage de pucerons.

Le personnel responsable des élevages doit veiller au bon fonctionnement des installations de climatisation et de température. Les améliorations éventuelles à apporter seraient la modernisation de la climatisation et de l'éclairage en utilisant des équipements moins consommateurs d'énergie.

Remerciements

Nous tenons à remercier Francis Jacky pour sa participation à la construction des cages et pour la sélection des clones de pucerons. Nous remercions également le personnel de la serre pour la production des plantes servant aux élevages. Nous remercions Marie-Annick Dorne pour les photos.

