

Conception et mise en œuvre d'un dispositif d'émergence de micro-hyménoptères parasitoïdes pour échantillons multiples de rameaux ligneux

Karine Morel¹, Damien De le Vallée¹, Sylvaine Simon¹

Résumé. Un dispositif d'émergence de micro-hyménoptères parasitoïdes a été conçu afin de pouvoir placer en émergence simultanément et individuellement, un grand nombre de rameaux ligneux infestés par des ravageurs susceptibles d'être parasités. Le système ressemble à une batterie de tubes d'émergence où chacun contient un seul rameau ligneux. Ce dispositif permet de récupérer de façon quotidienne et aisément les micro-hyménoptères en vue de leur identification. Nous obtenons également des informations sur leur répartition spatiale au sein de la parcelle si le prélèvement est fait dans différentes zones et des données sur leur dynamique d'émergence dans le temps. Cet appareil a été mis en œuvre afin d'étudier les parasitoïdes du puceron cendré d'une parcelle de pommier.

Mots clés : micro-hyménoptères parasitoïdes, tube d'émergence, rameau ligneux

Introduction

En arboriculture fruitière, les cultures sont la cible de nombreux problèmes phytosanitaires (ravageurs, maladies, adventices) qui nécessitent une application importante de pesticides. L'Unité expérimentale de Recherches intégrées en arboriculture fruitière de Gothenon (UERI), située en moyenne vallée du Rhône à proximité de Valence dans la Drôme, développe des programmes d'expérimentation-recherche sur les systèmes de culture durables. En vergers de pommiers, le puceron cendré (*Dysaphis plantaginea*) est l'un des principaux ravageurs notamment en agriculture biologique où il est difficile de maîtriser ses populations et où les dégâts peuvent être très importants. Ce puceron possède de nombreux ennemis naturels pouvant être utilisés comme auxiliaires en lutte biologique, dont des micro-hyménoptères parasitoïdes. L'observation au verger de ces parasitoïdes n'est pas facile. Les pucerons momifiés (stade visible indiquant la présence d'un micro-hyménoptère parasitoïde) peuvent être prélevés directement au sein des colonies de pucerons mais ils ne sont pas facilement repérables du fait de l'importante densité de pucerons présents sur chaque rameau. Le moyen le plus efficace pour étudier ces auxiliaires est de prélever des rameaux infestés et de les placer en cage d'émergence afin de recueillir les parasitoïdes. Si l'on souhaite travailler à l'échelle du rameau pour connaître les espèces présentes, le taux de parasitisme ou encore la répartition spatiale de ces auxiliaires au sein du verger, il faut pouvoir individualiser les émergences des rameaux échantillonnés et placer un seul rameau par cage d'émergence. Les cages d'émergence classiques sont de dimensions relativement importantes d'où un fort encombrement au laboratoire si l'étude porte sur de nombreux rameaux. De plus, la récupération des micro-hyménoptères parasitoïdes peut s'avérer délicate et longue car ils sont dispersés dans la cage, d'où l'idée de concevoir un dispositif d'émergence par rameau qui facilite la récupération des parasitoïdes pour un encombrement limité.

Matériel et méthodes

Le dispositif consiste en une série de tubes d'émergence de taille réduite dans lesquels un seul rameau infesté est placé. Chaque tube est opaque, et présente une seule ouverture fermée par un flacon en verre permettant le passage de la lumière. Les micro-hyménoptères qui émergent de leur hôte sont attirés par la lumière et se retrouvent dans le flacon en verre où ils sont facilement récupérables en vue de leur identification.

Le dispositif utilisé est constitué de 32 tubes d'émergence placés sur deux rampes distinctes (2 × 16 tubes) qui permet ainsi la mise en émergence de 32 rameaux. Le milieu ambiant de ces tubes d'émergence étant confiné (vu

¹ Unité expérimentale de Recherches intégrées en arboriculture fruitière de Gothenon, INRA, 26320 Saint-Marcel-lès-Valence, France
karine.morel@inra.fr

leur taille restreinte et le matériau utilisé), un système de ventilation équipe le dispositif. Celui-ci permet, en diminuant l'humidité présente dans chaque tube d'émergence, d'augmenter la longévité des rameaux et de limiter le développement de champignons.

Fabrication d'un tube d'émergence

Fournitures nécessaires

- ✓ Tuyau en polychlorure de vinyle (pvc) de 100 cm de long et 100 mm de diamètre intérieur
- ✓ Bouchon de réduction simple en pvc de diamètres 100 / 32 mm
- ✓ Coude simple en pvc (diamètre 32 mm / angle 87°)
- ✓ Tuyau pvc de 20 mm de long et 27 mm de diamètre intérieur
- ✓ Flacon en verre avec une ouverture de 27 mm de diamètre extérieur
- ✓ Bouchon fileté étanche en deux parties de diamètre 100 mm
- ✓ Tuyau pvc de 100 mm de long et 50 mm de diamètre extérieur
- ✓ Pièce en polystyrène cylindrique de 30 mm de long et 45 mm de diamètre
- ✓ Grillage souple à mailles fines (0,5 mm)
- ✓ Papier carton opaque
- ✓ Tube de silicone
- ✓ Colle pour pvc

Réalisation

Un tube d'émergence est constitué d'un tuyau en pvc de 100 cm de long sur lequel sont fixés deux éléments :

- ✓ un élément supérieur constitué d'un bouchon de réduction sur lequel est collé un coude simple en pvc. A l'intérieur du coude un petit tuyau en pvc de 20 mm de long et 27 mm de diamètre est collé afin de faire coïncider son diamètre avec celui du flacon en verre qui s'emboîte dedans (**Figure 1**) ;



- ✓ un élément inférieur conçu à partir d'un bouchon fileté composé de deux parties. Sur la partie qui se dévisse, un morceau de tuyau en pvc de 100 mm de long et 50 mm de diamètre est collé afin de créer un réceptacle pour mettre le rameau ligneux dans de l'eau. Un joint de silicone est appliqué pour obtenir une bonne étanchéité.



Afin de bien maintenir le rameau et d'éviter aux insectes de se noyer, un morceau de polystyrène percé en son centre est placé à l'extrémité du réceptacle (**Figure 2a**). L'autre partie du bouchon fileté est collée à l'intérieur du tuyau en pvc de 100 cm de long de sorte que seul le filetage dépasse du tuyau (**Figure 2b**).

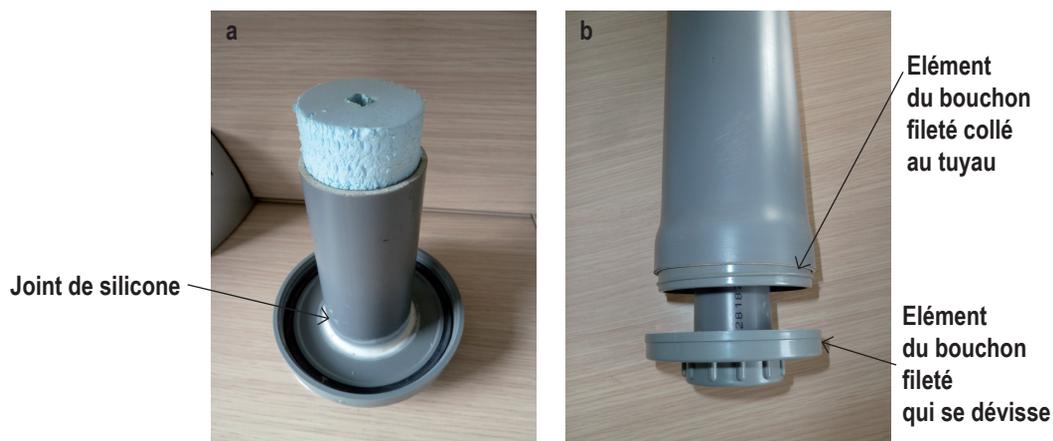


Figure 2. a) élément conçu à partir de la partie du bouchon fileté qui se dévisse.
b) base d'un tube d'émergence constitué d'un bouchon fileté collé dans le tuyau pvc (photo : K. Morel).

Le tuyau en pvc de 100 cm de long est légèrement chauffé à l'aide d'un petit chalumeau aux deux extrémités afin d'assouplir le matériau et ainsi permettre la mise en place des deux éléments. L'élément supérieur est juste emboîté et non collé, afin de permettre le nettoyage des tubes à la fin de l'expérimentation (**Figure 3**).

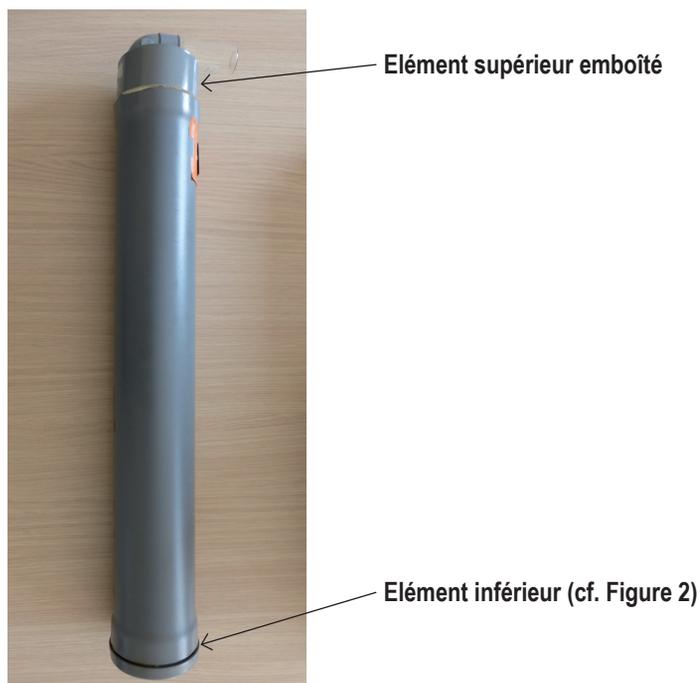


Figure 3. Vue globale d'un tube d'émergence (photo : K. Morel).

Le tube d'émergence ainsi constitué est ensuite perforé d'un trou de 14 mm de diamètre dans sa partie inférieure (**Figure 4**) qui permettra de raccorder le système de ventilation, et d'un autre trou de 14 mm dans sa partie supérieure afin de permettre la circulation de l'air. L'ouverture de la partie supérieure est ensuite recouverte de grillage souple à maille fine et d'un morceau de papier opaque afin de ne pas attirer les micro-hyménoptères vers la lumière (**Figure 5**).

Trente-deux tubes d'émergence sont ainsi conçus pour l'ensemble du dispositif.

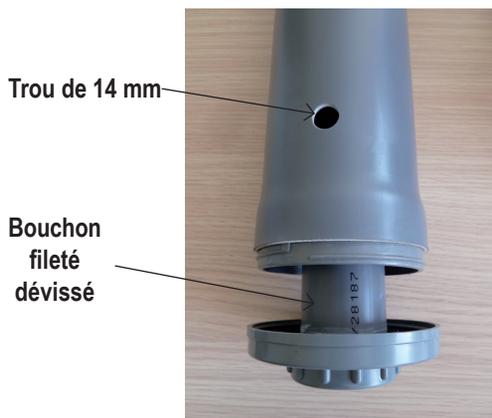


Figure 4. Partie inférieure perforée (photo : K. Morel).

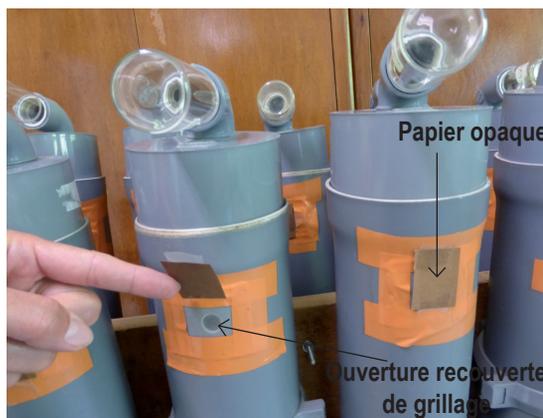


Figure 5. Partie supérieure perforée (photo : K. Morel).

Fabrication d'une rampe d'émergence

Fournitures nécessaires

- ✓ Plaque en bois (L 115 cm x l 20 cm)
- ✓ Tubes en acier de 100 cm de long (quantité 2)
- ✓ Pied en acier
- ✓ Colliers à bride de diamètre 100 mm (quantité 16)
- ✓ Ecrus, vis, rondelles

Réalisation

La rampe d'émergence est réalisée à partir d'une planche en bois sur laquelle est fixé à chaque extrémité un tube en acier. L'un d'eux est ensuite inséré dans un pied en acier. De chaque côté de la planche sont ensuite fixés des colliers à brides en quinconce sur deux hauteurs tous les 13 cm environ, afin de pouvoir en placer huit de chaque côté de la planche (Figure 6).

Deux rampes sont nécessaires pour fixer les 32 tubes d'émergence.

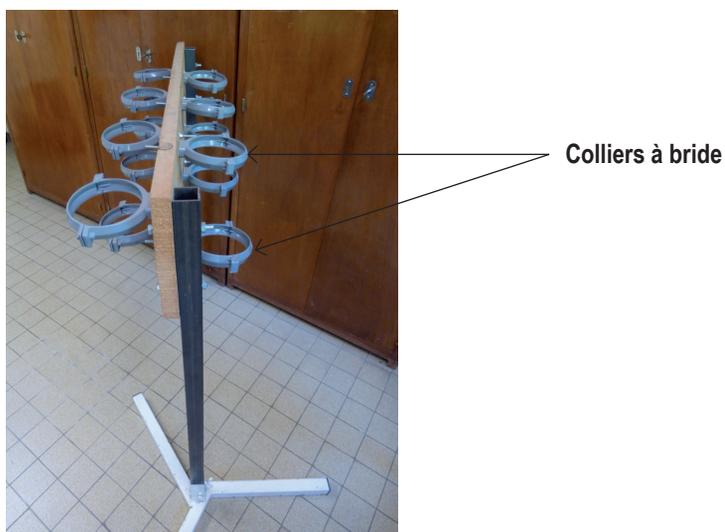


Figure 6. Rampe d'émergence (photo : K. Morel).



Fabrication du système de ventilation

Fournitures nécessaires

- ✓ Tuyau en pvc de 100 cm de long et 100 mm de diamètre (quantité 2)
- ✓ Bouchon fileté étanche en deux parties de diamètre 100 mm
- ✓ Aérateur / extracteur d'air individuel (diamètre 100 mm)
- ✓ Tuyau polyvalent alimentaire monocouche en pvc souple transparent de 100 cm de long et 14 mm de diamètre extérieur (quantité 32)
- ✓ Grillage souple à maille fine (0,5 mm)

Réalisation

Le système de ventilation est constitué d'une rampe générale équipée d'un extracteur d'air individuel. Cette rampe est perforée d'autant de trous que de tubes d'émergence, pour répartir la ventilation dans chacun des tubes au moyen de tuyaux souples transparents. Elle est constituée de deux tuyaux en pvc de 100 cm de long insérés l'un dans l'autre, après avoir auparavant assoupli le matériau en le chauffant à l'aide d'un chalumeau. Sur l'une des extrémités est collé un bouchon fileté et sur l'autre extrémité est mis en place l'extracteur d'air, lequel est relié au courant électrique (**Figure 7**). Des trous de 14 mm de diamètre sont ensuite percés sur toute la longueur des tubes pvc afin de placer les tuyaux souples transparents de diamètre correspondant qui raccordent la rampe aux tubes d'émergence. Sur l'une des extrémités de ces tuyaux souples est collé un morceau de grillage souple à maille fine de même diamètre que le tuyau (**Figure 8**).

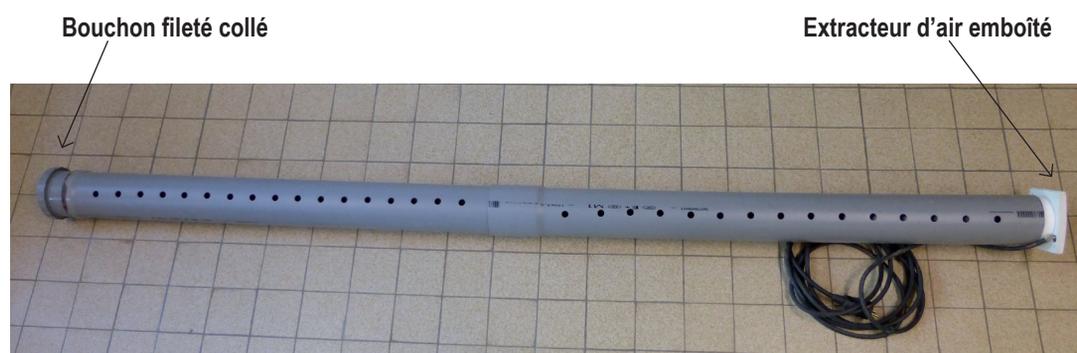


Figure 7. Rampe générale du système de ventilation (photo : K. Morel).



Figure 8. Extrémité du tuyau souple avec le grillage à maille fine (photo : K. Morel).

Assemblage du dispositif

Les tubes d'émergence sont placés dans les colliers à bride de sorte à être tous au même niveau. Le système de ventilation est relié aux tubes d'émergence grâce aux tuyaux souples transparents. Le côté grillagé est placé dans les trous réalisés dans la partie inférieure des tubes d'émergence, pour éviter aux insectes de s'introduire dans le tuyau souple (Figure 9 et 10). Lorsque le système est branché, l'air circule du bas vers le haut dans les tubes d'émergence et ressort par l'ouverture supérieure grillagée qui est recouverte de papier opaque (Figure 5).



Figure 9. Mise en place du tuyau d'aération dans la partie basale du tube d'émergence (photo : K. Morel).



Figure 10. Dispositif d'émergence de micro-hyménoptères parasitoïdes assemblé (photo : K. Morel).



Exemple d'application

Dans le cadre d'un programme évaluant l'effet agronomique d'une barrière physique (filets Alt'carpo) visant à lutter contre un lépidoptère (carpocapse), l'impact de cette pratique sur la présence des micro-hyménoptères parasitoïdes du puceron cendré du pommier a été étudié.

Deux modalités ont été considérées : sous filets et hors filets, avec quatre répétitions.

Un prélèvement destructif de rameaux infestés par le puceron cendré a été réalisé pour chaque modalité (sous filets, hors filets) en mai 2010. Le numéro d'identification des arbres prélevés ainsi que l'orientation (Est/Ouest) du prélèvement ont été notés afin de pouvoir analyser la répartition spatiale des micro-hyménoptères dans le verger. Chaque rameau a ensuite été placé dans un tube d'émergence après estimation du nombre de pucerons cendrés présents et exclusion des prédateurs (**Figure 11**).

Le suivi des émergences des micro-hyménoptères parasitoïdes s'effectue quotidiennement voire plusieurs fois par jour pendant environ 15 jours. Si un ou plusieurs individus sont observés dans un flacon en verre (**Figure 12**), celui-ci est enlevé, bouché et remplacé immédiatement par un autre flacon sur le dispositif d'émergence. Le flacon contenant le(s) parasitoïde(s) est placé au congélateur quelques minutes afin de les tuer et de les recueillir facilement pour les conserver ensuite dans de l'alcool à 70 degrés en vue de leur identification. Si l'on souhaite monter les micro-hyménoptères sur paillettes pour les identifier, il est préférable de les tuer avec de l'acétate d'éthyle.



Figure 11. Mise en place d'un rameau dans un tube d'émergence (photo : K.Morel).



Figure 12. Micro-hyménoptère récupéré dans un flacon en verre (photo : K. Morel).

Type de résultats obtenus : sur les 32 rameaux mis en émergence, 212 micro-hyménoptères ont été récupérés au total (77 issus des rameaux prélevés sous filets et 135 des rameaux prélevés hors filets). Tous les individus ont été identifiés jusqu'au genre (Figure 13). *Ephedrus sp.* et *Aphidius sp.* sont les deux genres principaux retrouvés sous et hors filet avec une prédominance pour *Ephedrus sp.* Deux hyménoptères parasitoïdes appartenant à deux genres différents ont également été récupérés hors filet. L'expérimentation, qui a été reconduite en 2012, montre que le genre *Ephedrus* reste prédominant, cependant le nombre total d'hyménoptères récupérés est supérieur dans la partie sous filet par rapport à la partie hors filet (146 individus sous filet contre 34 individus hors filet).

Il existe une grande variabilité entre rameaux puisque le nombre de micro-hyménoptères récupérés par rameau varie de 0 à 28 individus et on peut observer de 1 à 3 genres de parasitoïdes par rameau. Aucun effet de l'exposition Est/Ouest ou de la répartition spatiale des échantillons n'a été observé. Le taux de parasitisme est très hétérogène en fonction des rameaux et varie de 0 à 4,4 %.

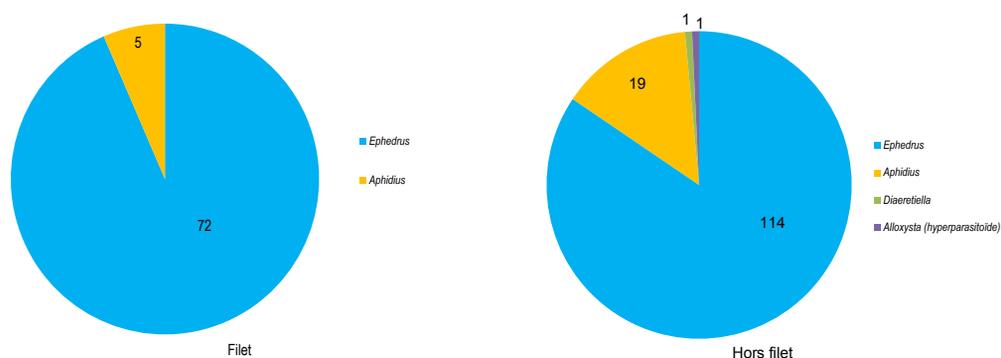


Figure 13. Genres de micro-hyménoptères issus des rameaux placés dans les tubes d'émergence.

La possibilité de récupérer de façon quotidienne les micro-hyménoptères parasitoïdes permet d'obtenir une information sur la dynamique d'émergence des parasitoïdes (Figure 14). Les premiers individus ont été récupérés 7 jours après la mise en émergence des rameaux de pommiers et les derniers 17 jours après. On peut également suivre la dynamique d'émergence par rameau.



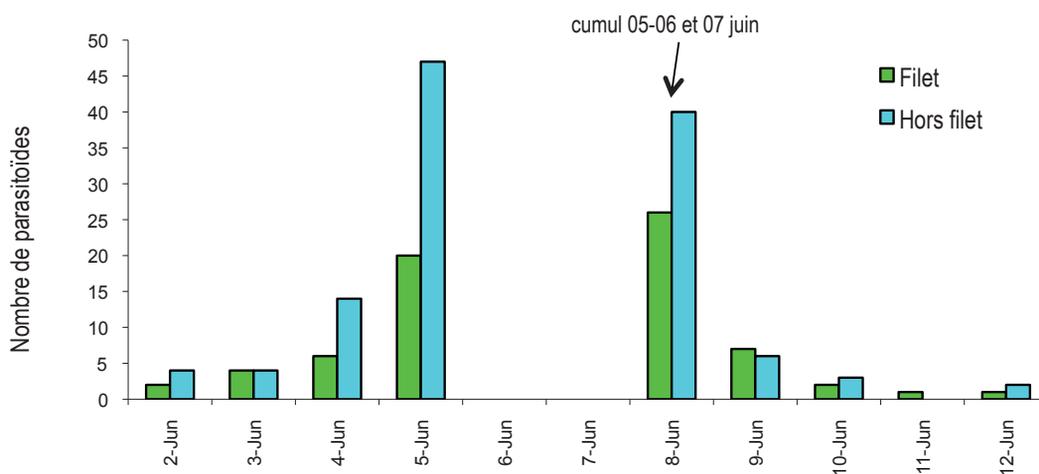


Figure 14. Nombre total de micro hyménoptères parasitoïdes émergés dans le temps (cumul de tous les rameaux mis en tube d'émergence).

Comme dans toute cage d'émergence, certains parasitoïdes meurent avant d'avoir été recueillis. A la fin de l'expérimentation, lors du nettoyage des tubes d'émergence, la présence de parasitoïdes morts au fond des tubes a été notée afin de vérifier l'efficacité du dispositif. Sur les 212 parasitoïdes recueillis, 20 ont été retrouvés morts au fond des tubes (9,43 % des individus). Ces micro-hyménoptères sont toutefois récupérables et identifiables, moyennant un temps supplémentaire de notation.

Conclusions et perspectives

Le dispositif d'émergence par rameau permet de récolter un grand nombre de micro-hyménoptères parasitoïdes de façon aisée, tout en permettant un gain de place au laboratoire par rapport aux cages d'émergence classiques. Les données recueillies sont multiples : des informations sur les espèces ou genres de parasitoïdes présents, sur leur répartition spatiale au sein de la parcelle étudiée, sur leur dynamique d'émergence ainsi que le taux de parasitisme. L'intérêt de ce dispositif est également sa modularité : des tubes d'émergences supplémentaires peuvent être installés si le dispositif expérimental le nécessite et les micro-hyménoptères parasitoïdes présents sur d'autres essences que le pommier peuvent être étudiés (autres espèces fruitières, vignes, arbres et arbustes d'une haie...).

Remerciements

Les auteurs remercient leurs collègues P. Ascensio pour sa contribution à la fabrication du dispositif, et A. Fleury pour son retour sur l'utilisation du dispositif d'émergence dans le cadre d'expérimentations.