

|                    |   |                               |
|--------------------|---|-------------------------------|
| LSV<br>Montpellier | ANNEXE<br>Chap VI – Echantillons                            | <b>AN VI 01</b>               |
|                    | <b>Conseils de prélèvement<br/>et d'envoi d'échantillon</b> | Date application : 23/01/2015 |

## Introduction

Cette note a pour objectif de donner des conseils pour la préparation et l'envoi d'échantillons d'arthropodes et de plantes en vue de leur identification par des méthodes morphologiques au LSV. Cette note comprend 2 parties : Les conseils généraux et les principales techniques de conservation à mettre en œuvre, un tableau présentant la procédure à suivre pour chaque groupe d'arthropodes.

### 1. Choix du stade à prélever

#### **1.1 : Arthropodes :**

Seuls sont identifiables au niveau de l'espèce les arthropodes au stade adulte. L'envoi de larves, nymphes et autres stades juvéniles est possible, mais dans ce cas l'identification ne peut souvent aller au-delà de la famille. Une exception : les aleurodes, pour la détermination desquels l'examen du puparium (exuvie du dernier stade larvaire) est nécessaire.

Les Hémiptères Sternorhynques (aleurodes, pucerons, cochenilles) et les mineuses (Lépidoptères et Diptères) peuvent être prélevés avec un morceau du végétal qu'ils infestent.

#### **1.2 Plantes :**

Seules sont identifiables au niveau spécifique les plantes au stade adulte contenant à la fois des fleurs et des fruits. L'envoi de plantules ou de plantes au stade végétatif est possible mais, dans ce cas, l'identification n'est réalisable qu'au niveau du genre (ou plus rarement de la famille).

### 2. Nombre de spécimens à prélever

**Une identification se fait rarement sur un seul spécimen.** Il faut récolter le maximum d'individus, une dizaine semble être un minimum. De nombreux critères sont difficiles à observer, certaines dissections délicates. Il est souvent indispensable d'observer plusieurs spécimens pour prendre une décision.

Pour les plantes, plusieurs échantillons sont préférables mais un seul spécimen peut suffire.

### 3. Choix du sexe des arthropodes à prélever

**Il est nécessaire d'envoyer des spécimens des deux sexes.** L'examen de l'appareil génital du mâle est souvent indispensable. Dans de nombreux genres, les femelles ne sont pas identifiables au niveau spécifique. Dans certains cependant, l'identification est basée sur les femelles. A défaut d'un sexage avant l'envoi, la récolte d'un nombre suffisant de spécimens (10 minimum) permet généralement de disposer des deux sexes.

### 4. Autres critères à prendre en compte lors du prélèvement

Chez de nombreuses espèces, il existe différents morphes (ailés et aptères par exemple chez les pucerons), parfois différentes castes (ouvrières et reines par exemple chez les fourmis). Au sein de chaque espèce, il existe de plus une certaine variabilité morphologique individuelle. L'envoi d'un grand nombre de spécimens permet de disposer du maximum de variabilité. Le nombre de spécimens doit être d'autant plus grand que la variabilité intra spécifique paraît importante. Envoyer notamment plusieurs spécimens de chaque morphe.

### 5. Prélèvement / extraction

Les techniques de prélèvements sont nombreuses (pinces pour les plus gros spécimens, aspirateur, fauchage, battage puis pinceau pour les autres) dans tous les cas, elles doivent permettre la récolte d'arthropodes en bon état et propres. L'élevage des formes immatures peut être nécessaire pour obtenir une identification précise au laboratoire.

De même pour les plantes, il est possible de faire pousser les plantules en pot pour permettre une identification précise.

## **6. Techniques de conservation.**

**Les arthropodes doivent être adressés morts, dans l'alcool.** Envoyer des spécimens morts limite les risques de dissémination lors du transport dans le cadre du contrôle import/export et de la surveillance du territoire.

**Quelques exceptions cependant** : les larves mineuses de feuilles (Lépidoptères, Diptères) et les Hémiptères Sternorrhynques (cochenilles, puparium d'aleurodes), **qui peuvent être envoyés vivants sur leur plante hôte.**

### **6.1. Alcool 70% : cas général**

**Les arthropodes envoyés au LSV pour identification, peuvent être tués, conditionnés et envoyés dans l'alcool à 70% (exceptions voir tableau).** Seul l'alcool éthylique doit être utilisé, à l'exclusion de tout autre type d'alcool (alcool à brûler, alcool dénaturé...). Le choix du tube est également important. Il doit être de taille proportionnée à celle de l'échantillon, rigoureusement étanche et non cassable. Il est recommandé de remplir au maximum le tube et de ne laisser aucune bulle d'air, ceci afin d'éviter que les insectes ne bougent lors du transport.

### **6.2 Eau bouillante puis alcool 70% : larves des ordres holométaboles**

**Les larves des ordres holométaboles** (Coléoptères, Lépidoptères, Diptères, Hyménoptères, Neuroptères) **doivent être tuées par immersion dans l'eau bouillante pendant quelques instants.** Ce traitement permet de les conserver en extension et d'éviter qu'elles ne noircissent. Elles sont ensuite conservées comme les autres arthropodes dans l'alcool à 70% (paragraphe 6.1).

### **6.3. Alcool 10% : thrips**

**Les thysanoptères (thrips) doivent être placés dans l'alcool à 10% additionné d'un mouillant à 1 ‰** (teepol ou à défaut liquide vaisselle) **ou, à défaut, dans de l'eau savonneuse.** Les tubes doivent être envoyés sans attendre au laboratoire.

### **6.4. Arthropodes vivants : cochenilles, puparium d'aleurodes, larves mineuses, acariens**

Ces insectes peuvent être prélevés avec leur plante hôte. **Si le risque de dissémination est peu important (prélèvement en France), ils seront envoyés vivants sur leur plante hôte. Les organes attaqués doivent être placés dans un récipient rigide mais aéré capable de résister au transport (tubes, boîtes...) et d'empêcher la fuite des spécimens. Pour éviter toute condensation on peut remplacer le couvercle par un morceau de tissu à maille fine.**

Si le risque de dissémination est important les spécimens seront prélevés avec leur plante hôte, l'ensemble sera mis dans l'alcool à 70% (**voir paragraphe 6.1**).

### **6.5. Conservation à sec.**

L'envoi d'insectes conservés à sec est possible mais plus délicat qu'en alcool, il se prête cependant mieux à la mise en collection des spécimens. Les techniques varient suivant les ordres. Contacter le LSV pour de plus amples informations.

### **6.6. Conservation des plantes.**

Les plantes fraîches doivent être envoyées dans un linge mouillé. Si l'envoi ne peut se faire tout de suite, il est possible de conserver les plantules dans un sac plastique au réfrigérateur pendant quelques jours.

Les plantes peuvent aussi être préalablement séchées (mise en herbier) avant l'envoi, en particulier celles au stade adulte.

## **7. Documents devant accompagner l'échantillon**

Tout échantillon doit être accompagné d'une demande d'analyse (fiche Phytopass / papier libre) comportant au minimum les informations suivantes :

- \* expéditeur identifié avec précision de l'adresse e-mail (numéro de fax à défaut) pour la réponse
- \* date de récolte
- \* lieu de récolte (commune, département, pays)
- \* plante hôte
- \* organe affecté et description des dégâts
- \* Numéro ou référence de l'échantillon
- \* cadre de l'analyse (import/export, surveillance du territoire... )
- \* toute information supplémentaire susceptible d'aider à l'analyse
- \* accord pour la transmission électronique du rapport d'analyse.

ATTENTION, en l'absence de ces renseignements l'analyse ne sera pas réalisée.

## **8. Expédition des échantillons :**

**Les récipients contenant les arthropodes doivent être étanches et incassables dans le cas des tubes d'alcool, aérés mais solides et empêcher la fuite des spécimens dans le cas d'organismes vivants.** L'expédition doit se faire dans un emballage de plus grande taille que le récipient renfermant l'échantillon. Chaque tube ou boîte contenant les spécimens doit être soigneusement calé avec du coton, des chips de polystyrène ou tout autre matière amortissant les chocs. Il ne doit ni bouger, ni toucher les autres récipients. L'emballage extérieur doit être suffisamment rigide pour éviter l'écrasement de son contenu.

**La demande d'analyse ne doit pas se trouver au contact direct de l'échantillon**, mais à l'extérieur de son conditionnement (ex : enveloppe scotchée visiblement sur l'emballage du colis). L'échantillon lui-même doit être muni d'une référence.

**Une signalétique appropriée** doit être clairement affichée sur le colis afin de permettre, avant tout déballage, de prendre toutes les dispositions pour éviter la fuite d'organismes nuisibles en dehors du laboratoire.

Adresser vos échantillons au **LSV – Unité d'entomologie et plantes invasives**  
**CBGP - 755 avenue du campus Agropolis**  
**CS 30016**  
**34988 Montferrier-sur-Lez cedex**

**Attention**, les poster en début de semaine afin qu'ils arrivent avant le week-end. Si le prélèvement à lieu en fin de semaine, l'échantillon peut être placé en bas du réfrigérateur dans un récipient fermé et aéré pour un envoi dès le lundi.

**Contact :** montpellier.lsv@anses.fr

### Tableau de synthèse : procédure à suivre pour les principaux ordres d'insectes

| Ordre                | Stade                  | Préparation des spécimens | Conditions d'envoi            | Divers   |
|----------------------|------------------------|---------------------------|-------------------------------|--|
| Coléoptères          | adultes                | alcool 70%                | alcool 70%                    | Spécimens mâles souvent nécessaires                    |
|                      | larves                 | Eau bouillante            | alcool 70%                    | Détermination au mieux jusqu'à la famille              |
| Lépidoptères         | adultes                | Congélation               | A sec                         | Spécimens mâles souvent nécessaires                    |
|                      | larves (sauf mineuses) | Eau bouillante            | alcool 70%                    | Détermination au mieux jusqu'à la famille              |
|                      | larves mineuses        | vivantes                  | avec plante hôte              | Sauf risque phytosanitaire (dans ce cas en alcool 70%) |
| Diptères             | adultes                | alcool 70%                | alcool 70%                    |  |
|                      | larves (sauf mineuses) | Eau bouillante            | alcool 70%                    |  |
|                      | larves mineuses        | vivantes                  | avec plante hôte              | Sauf risque phytosanitaire (dans ce cas en alcool 70%) |
| Hyménoptères         | adultes                | alcool 70%                | alcool 70%                    | Fourmis : envoyer des ouvrières                        |
|                      | larves                 | Eau bouillante            | alcool 70%                    | Détermination au mieux jusqu'à la famille              |
| Thrips               | adultes                | alcool 10% + mouillant    | alcool 10% + mouillant        |  |
| Cochenilles          | Adultes (femelles)     | vivantes                  | sur plante hôte               | Sauf risque phytosanitaire (dans ce cas en alcool 70%) |
| Pucerons             | Ailés et aptères       | Vivants ou alcool 70%     | sur plante hôte ou alcool 70% | Envoyer des ailés et des aptères si possible           |
| Aleurodes            | adulte                 | alcool 70%                | alcool 70%                    | Détermination de quelques espèces seulement            |
|                      | puparium               | vivantes                  | sur plante hôte               | Sauf risque phytosanitaire (dans ce cas en alcool 70%) |
| Autres Hémiptères    | adultes                | alcool 70%                | alcool 70%                    | Spécimens mâles souvent nécessaires                    |
| Orthoptères          | adultes                | alcool 70%                | alcool 70%                    |  |
| Autres ordres        | adultes                | alcool 70%                | alcool 70%                    |  |
|                      | larves                 | alcool 70%                | alcool 70%                    | Détermination au mieux jusqu'à la famille              |
| Acariens quarantaine | adultes                | alcool 70%                | alcool 70%                    | Acariens de quarantaine <u>uniquement</u>              |
| Autres Acariens      | Pas d'analyse          |                           |                               |  |

#### Légende couleurs du tableau :

|  |                                   |                |
|--|-----------------------------------|----------------|
|  | alcool 70%                        | paragraphe 6.1 |
|  | eau bouillante + alcool 70%       | paragraphe 6.2 |
|  | alcool 10%                        | paragraphe 6.3 |
|  | insectes vivants avec plante hôte | paragraphe 6.4 |