

MEMOIRES DE STAGE

ENTOMOLOGIE

1988

Rapport de stage effectué au
laboratoire d'Entomologie du Muséum
National d'Histoire Naturelle
(18 octobre - 15 décembre 1988) ..

Lydia BONNET de LARBOGNE

INSTITUT FRANÇAIS DE RECHERCHE SCIENTIFIQUE
POUR LE DÉVELOPPEMENT EN COOPÉRATION

ORSTOM

CENTRE DE NOUMEA

RAPPORT DU STAGE EFFECTUE AU LABORATOIRE D'ENTOMOLOGIE
DU MUSEUM NATIONAL D'HISTOIRE NATURELLE
(18 octobre - 15 Décembre 1988)

Lydia Bonnet de Larbogne
Zoologie Appliquée, Centre ORSTOM de Nouméa

1) MOTIVATIONS ET OBJECTIFS DU STAGE

J'ai été recrutée à l'ORSTOM en 1970 comme secrétaire dactylographe. En 1975 je suis devenue Assistante de Recherches au Laboratoire de Zoologie Appliquée du Centre ORSTOM de Nouméa.

Mes fonctions actuelles de Technicienne consistent :

- à se rendre régulièrement sur le terrain pour récolter des spécimens de tous ordres par des méthodes de piégeage diverses.

- au Laboratoire à trier ces récoltes et les préparer, soit pour étude, soit pour rangement en collection, ou envois destinés à des chercheurs, et plus particulièrement aux entomologistes du Muséum national d'Histoire naturelle de Paris avec qui nous avons un programme de travail en commun.

J'assure également un travail de bureau :

- dessins de spécimens étudiés au Laboratoire
- toutes tâches de secrétariat du Service.

La plupart de ces nouvelles fonctions ont nécessité une formation sur le tas au cours des années passées, dispensée par les chercheurs de notre laboratoire et plus particulièrement par Monsieur J. CHAZEAU.

En pratique, il est apparu indispensable d'approfondir mes connaissances techniques, spécialement dans le domaine de la systématique des insectes et dans celui des techniques de préparation et de montage spécialisées.

L'acquisition de ces connaissances a été l'objectif du stage que j'ai effectué au Laboratoire d'Entomologie du Muséum d'Histoire naturelle sous la Direction de Monsieur le Professeur CAUSSANEL.

2) DEROULEMENT DU STAGE

Ce stage s'est déroulé du 18 octobre au 15 décembre 1988. Son organisation a été faite par Monsieur Jean LEGRAND, Sous-Directeur au Muséum. Il a consisté en étapes, chacune dans un service spécialisé dans un Ordre d'insectes; en effet les techniques de préparation et d'étude utilisées dans la classe des insectes sont très variables.

Je suis passée successivement dans les services suivants :

- Diptères : L. MATILE & J. CLASTRIER
- Homoptères (Cochenilles) : D. MATILE-FERRERO
- Lépidoptères : J. BOUDINOT
- Aptérigotes (Collemboles) : J. NAJT
- Coléoptères : N. BERTI
- Homoptères (Cicadaïres) : M. BOULARD
- Microscopie électronique à balayage : J. MENIER & I. FOLDI
- Edition scientifique : J. LEGRAND

3) TRAVAUX EFFECTUES ET TECHNIQUES ACQUISES

DIPTERES :

Ordre des Diptera (mouches, moustiques...); il s'agit d'un immense Ordre d'insectes comprenant quelques 100.000 espèces connues. Les Diptères sont habituellement divisés en 3 sous ordres : Némato-cera, Brachycera et Cyclorrhapha. En général, les individus sont récoltés au filet, tués au cyanure ou à l'acétate d'éthyle et sont montés sur épingle alors qu'ils sont encore frais; mais ils peuvent être également piégés (piège de Malaise, piège coloré); leur préparation pour étude ou conservation est alors différente.

Techniques acquises :

a) Le programme de suivi écologique de la réserve forestière de la Rivière Bleue, mené par mon laboratoire, nous a conduits à adopter la méthode des pièges de Malaise: les spécimens sont capturés dans des collecteurs à alcool, et une technique particulière de préparation doit leur être appliquée si les chercheurs qui les étudient exigent un montage traditionnel à sec. La méthode utilisée est dite méthode de C. Sabrosky (voir annexe \$1).

b) Les diptères étant des insectes souvent de petite taille et toujours fragiles, leur étude nécessite des dissections précises et un montage pour observation microscopique : j'ai travaillé sur la méthode de préparation, désarticulation et montage des pièces de Ceratopogonidae dans du baume du Canada entre lame et lamelles. (voir annexe \$1).

COCHENILLES :

Les Homoptères sont un vaste groupe qui réunit les cigales, cicadelles, psylles, pucerons, et les cochenilles. Ces dernières sont des Homoptères de petite taille, le plus souvent fixées aux plantes-hôtes. Beaucoup secrètent des cires de consistance et de couleur très variables : cochenilles à laque, cochenilles à carmin, cochenilles à cire. On emploie quelquefois ces cires à des fins commerciales, mais la plupart des cochenilles sont nuisibles aux cultures.

Les femelles adultes sont aptères et larviformes, certaines sont apodes. On les récolte surtout "à vue", par observation attentive des végétaux

Techniques acquises:

L'étude taxonomique de ce groupe se fait exclusivement au microscope. Les caractères utilisés pour séparer les espèces sont d'observation difficile, et la qualité des montages est très importante. J'ai donc été formée à une technique de préparation particulière dite méthode à l'essence de lavande (Voir en Annexe \$2).

LEPIDOPTERES :

Ordre des Lepidoptera - Ordre numériquement très important, qui réunit tous les papillons : papillons de jour (Rhopalocères, 25.000 espèces), papillons de nuit (Hétérocères, 120.000 espèces).

Cet Ordre est le favori des collectionneurs de belles espèces mais les Lépidoptères comptent aussi parmi les plus dangereux ennemis des cultures. On les récolte au filet, au piège attractif lumineux ou chimique, par fauchage, au piège de Malaise.

Dès l'individu récolté, lui injecter une goutte d'amoniaque dans la face ventrale du thorax, et le ranger dans une papillotte adéquate. Une petite exception pour les Microlépidoptères que l'on tue avec de l'acétate d'éthyle. Eviter l'emploi du cyanure (méthode la plus classique) qui raidit les articulations et les rend cassants.

Techniques acquises :

On été vues ou revues :

- la méthode de préparation classique: en général les individus sont conservés à sec parce qu'ils sont recouverts de soies modifiées très fragiles (les écailles). La préparation traditionnelle consiste à étaler les spécimens soit frais, soit après les avoir ramollis; les passer ensuite à l'étuve pour déshydratation, et rangement en boîte de collection.

- la méthode de préparation des Microlépidoptères: vu leur petite taille, ils sont simplement posés, de préférence dès la récolte, sur une plaque d'émailène; souffler sur les ailes pour les positionner de façon classique, les maintenir éventuellement sur la plaque avec des minuties.

- une initiation à la détermination des espèces : pour déterminer les espèces on a recours aux caractères de forme et de coloration externes, mais surtout aux caractères sexuels : ceci impose la dissection des pièces génitales. Les papillons étant toujours conservés à sec, en raison de la fragilité des écailles qui les recouvrent, la dissection de la plupart des spécimens demande une technique particulière (potasse-lactophénol) donnée en annexe \$ 3.

COLLEMBOLLES :

L'Ordre des Collembola, appartient à la sous-classe des Aptérigotes, insectes primitifs sans ailes et sans métamorphose.

La majorité des espèces vivent dans le sol, où ils se nourrissent de matières végétales mortes, et participent très activement à leur décomposition. On les trouve également dans des milieux très différents comme les abords des plages, les grottes, et certains même vivent sur l'eau.

On les récolte le plus souvent par traitement au Berlèse de prélèvements de sol ou de litière (débris végétaux en décomposition à la surface du sol); les spécimens sont conservés en alcool dans l'attente de préparation spécifique pour étude et classement en collection.

Techniques acquises:

a) Taxonomie: Les récoltes au piège de Malaise faites à la Rivière Bleue sont très riches en plusieurs espèces de collemboles planticoles; le pré-tri des ces espèces, qui sont étudiées par le laboratoire qui m'a accueillie, fait partie de mon travail de routine à Nouméa. Sous la direction de Madame Najt, j'ai appris à reconnaître les principales espèces présentes à la Rivière Bleue.

- Pseudoparonella queenslandica
- Salina sp.
- Pseudoparonella novaecaledoniae
- Lepidocyrtoides novaecaledoniae
- Pseudoparonella shibatai

b) Préparation: Pour les étudier, comme la plupart des groupes d'insectes de très petite taille, il faut les décolorer et les monter sur lame pour observation au microscope. La technique de préparation acquise (montage au Marc-André II) est donnée en annexe \$4.

COLEOPTERES :

Ordre des Coleoptera. C'est le plus grand Ordre d'insectes avec plus de 300.000 espèces connues dans le monde; plusieurs sont de très importants parasites des cultures. Comme chez les Lépidoptères, certaines familles sont très prisées par les collectionneurs. On compte parmi eux le plus gros de tous les insectes - le Goliath Scarabéide, gros comme le poing et qui pèse 100g - et les plus petits qui mesurent moins de 0,5mm de long.

Techniques acquises:

a) Révision des méthodes de capture : la grande diversité du groupe fait qu'on récolte des coléoptères par des méthodes très diverses (extraction au Berlèse, piège de Malaise, fauchage et battage de la végétation, pièges lumineux...). Ils sont tués à l'acétate d'éthyle, ou au cyanure. On les conserve en alcool, ou à sec, montés sur épingle ou collés sur paillettes de carton.

b) Techniques de base nécessaires à l'étude de la morphologie d'un coléoptère, c'est à dire, en partant du spécimen conservé à sec: préparation à la dissection, dissection des genitalia, différentes méthodes de montage pour observation, pratique du dessin à la chambre claire.

Une étude complète a été faite sur un Galerucinae néotropical (Chrysomelidae) et sur un Scymnus (Coccinellidae).

Ces méthodes sont exposées en annexe \$5.

HOMOPTERES Cicadaires:

Ordre des Homoptera. Insectes piqueurs-suceurs, exclusivement phytophages; ailes antérieures de texture très homogène, coriacées ou membraneuses, qui sont généralement positionnées au repos en forme de toit au-dessus du corps.

a) Initiation à la taxonomie du groupe :

Les Cicadaires comprennent 5 superfamilles : Cicadoidea ou Cigales, Membracoidea ou Membracides, Cercopoidea ou Cercopes, Fulgoroidea ou Fulgores et Fulgorelles, Cicadelloidea ou Cicadelles.

Cicadoidea ou Cigales : Insectes de taille grande ou moyenne, ailes souvent transparentes et brillantes ; seuls Cicadaires incapables de sauter. Bien caractérisés par leurs trois yeux ou ocelles, fémurs antérieurs renflés portant 2 à 4 épines en dessous. L'adulte vit principalement sur les arbres et se nourrit de sève. Seuls les mâles produisent des sons, "chants" ou "cymbalisations" (la mise en vibration de ces cymbales ou timbales produit des sons stridents). Ces cymbales se trouvent situées au début et de chaque côté de l'abdomen. Assez souvent des expansions cuticulaires latéro-tergales dites "cymbacalyptes" et "protège timbales" peuvent recouvrir plus ou moins ces structures. Les larves vivent sous terre.

Membracoidea ou Membracides : caractérisés par le développement hyperthélique du pronotum (2 cornes), des tibias postérieurs prismatiques, leurs arêtes garnies de multiples épines pas très longues, une tête verticale coiffée par le pronotum, 2 ocelles. Vivent dans les rameaux des arbres ou sur plantes herbacées ; les jeunes ne sautent pas.

Cercopoidea ou Cercopes : sauteurs, aux ailes antérieures coriacées (homélytres), tibias postérieurs cylindriques garnis de 2 ou 3 épines fixes à la base, ailes inférieures diaphanes, premières ailes très coriacées, 2 ocelles. Les larves de la plupart des espèces vivent à l'abri d'un amas spumeux qu'elles sécrètent (crachat de coucou ou écume printanière).

Fulgoroidea ou Fulgores et Fulgorelles : se caractérisent par la petite écaille (ou tegula) recouvrant l'insertion des ailes antérieures sur le thorax, et par les antennes insérées sous les yeux.

Cicadelloidea ou Cicadelles : suceurs de sève et de sucs cellulaires, tibias postérieurs à section prismatique, ornés de multiples aiguillons mobiles, ailes antérieures souvent coriaces (homélytres), 2 ocelles, pronotum plat, tête horizontale.

Ces quelques données taxonomiques sont illustrées de dessins à la chambre claire (Annexe \$6)

b) Techniques acquises:

Préparation des pièces génitales (détails et illustrations à la chambre claire en annexe \$6)

MICROSCOPIE ELECTRONIQUE A BALAYAGE :

Cette technique permet l'observation des objets en trois dimensions à des grossissements variables pouvant être très forts, sans la limitation que les phénomènes de diffraction imposent au microscope optique.

Techniques acquises:

Préparation des objets pour Microscope à balayage : j'ai été formée à l'ensemble des manipulations qui permettent la métallisation des objets (insectes ou parties d'insectes) en vue de l'observation sur l'écran ou de photographies; j'ai réalisé des montages et clichés sur les différentes pièces anatomiques de Scymnus et de Curculionidae (Annexe \$7).

REVUE FRANCAISE D'ENTOMOLOGIE : préparation d'un manuscrit

Le but de cette opération a été de comprendre le circuit que suit un manuscrit destiné à la publication. Réception du manuscrit, diffusion au comité de lecture, retour à l'auteur pour correction et modification, réception du manuscrit définitif, codification de la présentation pour l'imprimeur, réception pour des premières épreuves, transmission à l'auteur pour correction, réception et vérification des secondes épreuves. Dans le cas de la R.F.E, le secrétaire de la revue joue activement un rôle d'éditeur, se substituant parfois à l'auteur pour raccourcir les délais de correction (mise à la norme des figures, bibliographie etc...)

ANNEXES

1 PREPARATION DES DIPTERES

1.1 Méthode de C.W. Sabrosky

Permet de réhydrater l'individu, de tenir compte de sa chétotaxie particulièrement fragile, et lui redonne sa forme et son élasticité naturelle pour étude.

- Éliminer l'alcool et le remplacer par du monoéthylène glycol
- Laisser 3 heures dans le M.E.G. (si nécessaire, au plus 3 jours)
- Éliminer le M.E.G., le remplacer par du xylène
- Placer les individus dans du xylène 1-2 heures, veiller à ce que chaque individu soit bien séparé
- Éliminer l'excès de xylène et commencer à étaler les ailes sous la bino; sécher les individus avec un papier filtre
- Placer les individus à l'étuve 1h30 à 50°
- Sous bino, sur papier filtre, procéder au décollage des ailes qui ont tendance à s'entremêler
- Monter chaque individu sur paillette et fixer à l'aide d'une goutte de vernis à ongle incolore.

1.2 Préparation des Ceratopogonidae

Utilisation de deux techniques simples employées avec succès pour les Diptères Ceratopogonidae, permettant de faire des montages au baume dans des conditions diverses, sans xylol.

A. - Spécimens conservés dans l'alcool à 70°.

Dans la première en date de ces techniques (FOX, 1942), les spécimens sortis de l'alcool sont directement placés dans de la créosote de hêtre durant plusieurs heures, puis directement montés dans du baume sans xylol, fluidifié par adjonction de créosote. Dans la seconde (WIRTH et MARSTON, 1968), qui donne de meilleurs résultats, le processus est le même, la créosote étant remplacée par une solution saturée de phénol dans de l'alcool absolu. Quelle que soit la technique choisie, les parties fortement pigmentées peuvent être détachées du corps dans l'alcool de conservation, éclaircies par la potasse à 10%, et après les rinçages, repassées dans de l'alcool à 70° pour reprendre avec le reste du corps, pour la suite des opérations.

Le principe est de recouvrir un spécimen entier d'une lamelle; cependant toutes les parties intéressantes à étudier ne se présenteront pas forcément sous une bonne orientation, ce qui nécessite de désarticuler les pièces afin de les séparer par ordre d'épaisseur.

1- Déposer une goutte de baume phénolé* sur une lame; y placer un spécimen traité par la solution alcoolique phénolée.

2- Procéder aux désarticulations sous bino.

3- Déposer une micro-goutte de baume sur la lame, l'étaler afin qu'elle ne soit plus qu'un film, y transférer les pièces de faible épaisseur : antennes, ailes, moitié des pattes, éventuellement palpe, et balancier..., déposer ces pièces en ordre serré et longitudinal.

4- Dans une goutte de baume séparée de la précédente, déposer les gros fragments en fonction de leur épaisseur décroissante : thorax, abdomen, tête, genitalia pour le mâle ; thorax, abdomen, tête pour la femelle, en les espaçant autant que possible.

5- Lorsque le baume est sec, les lamelles sont mises en place, en deux temps, la première goutte étant plus rapidement sèche : déposer sur le baume sec une goutte de baume frais ; déposer la lamelle délicatement en l'abaissant et en la faisant pivoter jusqu'à contact du baume frais; si le baume est bien sec avant la mise en place des lamelles aucune pièce ne bougera.

B. Spécimens montés à sec (collés ou piqués sur minutie).

- débarrasser l'épingle de toutes ses étiquettes ;
- faire glisser de cette épingle, la paillette portant un spécimen collé ou une minutie ;
- plonger le tout très rapidement dans de l'Alcool à 70°, uniquement pour mouiller et empêcher la formation de bulles d'air.
- immerger le tout dans du liquide de Barber**. Les spécimens sont rapidement libérés en les faisant glisser le long de la minutie, et ceux qui sont collés se détachent en 15 à 30mn environ; le liquide de Barber regonfle les spécimens rétractés, les éclaircit et fait réapparaître leur coloration;
- transférer les spécimens dans la solution alcoolique phéniquée si le montage doit suivre, dans de l'alcool à 70° si celui-ci est différé.

*Baume du Canada phénolé : baume sans xylol, fluidifié par adjonction de solution saturée de phénol dans l'alcool absolu, dans des proportions à peu près égales; si le baume est trop concentré, certains organes fragiles (articles antennaires, spermathèques) peuvent être déformés ; s'il est trop fluide, les lamelles peuvent glisser sur les préparations fraîches, et la formation de bulles d'air au cours de la dessiccation est plus fréquente.

**Liquide de Barber : la formule de la solution utilisée sous ce nom au service des Diptères du Laboratoire d'Entomologie du Muséum national d'Histoire naturelle de Paris, diffère quelque peu de celle qui est donnée par BORROR et DELONG (1971) toutes deux rapportées ci-dessous :

	Muséum	B. et D.
alcool à 95°	330 ml	50 ml
eau distillée	300 ml	50 ml
acétate d'éthyle	150 ml	20 ml
ether sulfurique	120 ml	-
benzène	-	7 ml
acide acétique	quelques gouttes	-

2) METHODES DE PREPARATION POUR CONSERVATION EN COLLECTION ET ETUDE DES COCHENILLES

La préparation s'étale sur 24 heures:

Première phase: Matériel nécessaire : pinces, micro-aiguilles lancéolées (Technique de fabrication de J. Menier), anneau monté sur mandrin, potasse 10%, alcool 70°, fuschine acide.

-Vider le contenu du tube de récolte dans une boîte de Pétri à sec, nettoyer le fond du tube à l'alcool à 70° afin d'éliminer tous résidus; prélever quelques individus en bon état (femelles et larves); déposer les spécimens dans de la potasse à 10% (éclaircir au maximum pour observation).

-Faire chauffer la potasse avec les individus jusqu'à naissance de l'ébullition, veiller à ce qu'ils soient toujours bien immergés.

-Nettoyage sous bino de chaque individu en les brossant, en les comprimant sans les déchirer, afin d'éliminer l'amas graisseux qui se trouve à l'intérieur de l'abdomen et qui gêne considérablement l'observation.

-Déposer les individus dans quelques gouttes de fuchsine acide durant 24h pour les ramollir un maximum et pour faciliter un dernier nettoyage des parties internes.

Deuxième phase : Matériel : acide acétique pur, xylène pur, baume du canada pur, essence de lavande pure, lame et lamelle n° 16.

-Déposer les individus dans de l'acide acétique pour rinçage; très important: l'individu doit se trouver dans un état de propreté parfaite, au besoin écraser l'individu sans le déchirer, en dernier ressort inciser l'abdomen pour extraire les dernières impuretés et graisses.

-Déposer les individus dans du xylène pour rinçage (favorise la dissolution des graisses), et les placer dans un bain d'essence de lavande.

-Déposer 1 goutte de baume du Canada sur la lame après nettoyage minutieux (aucune impureté ne doit rester dessus), placer l'individu au centre de cette goutte en l'immergeant.

-A l'aide d'une pince, saisir la lamelle, la plonger dans le xylène très rapidement, la placer près de la goutte de baume du Canada en chassant les bulles; le xylène sert également à nettoyer les instruments au cours de l'opération.

-Etiqueter chaque lame, mettre à l'étuve à 40° jusqu'à complet séchage du baume qui prendra une coloration jaune.

3) METHODE POTASSE - LACTOPHENOL

Dans le cas de dissection d'individus conservés à sec, on emploie la méthode de préparation suivante :

- Détacher l'abdomen du reste du corps, le potasser en chauffant (potasse 10%). On potasse également les individus frais.
- Une fois potassé, rincer à l'eau distillée.
- Brosser l'abdomen à l'aide de pinceau ou pinces (la plume d'oiseau est excellente), afin d'éliminer au maximum les écailles et les poils.
- Inciser avec des pinces-ciseaux latéralement au niveau des stigmates, retirer les génitalia en écartant l'abdomen.
- Colorer les pièces génitales dans du noir de chlorazol pour obtenir une observation plus nette (le noir de chlorazol permet de repérer par sa coloration, les intimas cuticulaires qui sont souvent incolores, transparentes et très fines (cf. J. Carayon : Emploi du noir chlorazol en anatomie microscopique des insectes).
- Tremper le tout dans de l'eau distillée, et passer dans un bain de lactophénol qui a pour effet principal de gonfler les pièces.
- Déposer les pièces génitales et l'abdomen dans de l'alcool à 100° pour déshydratation, les tremper dans de l'alcool benzylique, laisser sécher librement, et faire un montage dans du baume du Canada entre lame et lamelle, mettre à l'étuve pour séchage.

Remarque : pour la distinction mâle-femelle, on emploie des caractères généraux externes : forme des chrysalides ; forme des antennes ; taille du corps ; forme du frein* ;

(*Le frein est une soie libre, simple ou multiple, issue de la base costale de l'aile postérieure et qui vient s'engager dans un crampon (le retinacle) situé sous l'aile antérieure. Ce dispositif rend les ailes solidaires 2 par 2 pendant le vol.

- pour la femelle : amas de soies
- pour le mâle : 1 soie épaisse

4) METHODE DE MONTAGE AU MARC - ANDRE II

- Sortir les individus de l'alcool de leur tube d'origine, les déposer dans du lactophénol*, les immerger ensuite dans un bain de potasse diluée froide (salière d'eau distillée + 2 pastilles de potasse à 10 ou 15% et les observer sous la bino; les individus vont progressivement virer à la couleur rose.
- Les replonger dans du lactophénol et mettre à chauffer jusqu'à première ébullition, les sortir et laisser refroidir.
- Déposer au centre d'une lame une goutte de Marc André II**, placer un spécimen dans la goutte, le positionner face dorsale, ventrale ou latérale, et le recouvrir d'une lamelle, passer du vernis à ongle incolore sur la lamelle pour sceller le tout.

En cas de démontage des pièces, mettre la lame à tremper dans de l'eau et le tout se détache.

*Lactophénol : .50% acide lactique
.50% acide phénique
mélanger au bain-marie

**Marc André II : . 50 cm³ eau distillée
. 20 g hydrate de chloral
(dissoudre au bain-marie)
. 30 g glycérine
. 20 g de gomme arabique.

Dissoudre la gomme arabique dans l'eau distillée, ajouter de l'hydrate de chloral déjà dissous au bain-marie, et de la glycérine. Filtrer le tout, laisser évaporer l'eau de façon à obtenir un liquide sirupeux.

5) ETUDE MORPHOLOGIQUE D'UN COLEOPTERE

a) Dissection : Matériel - Pinces très fines n° 5
- Micro-ciseaux Patscheff Wolff
- Aiguille à coudre aiguisée en forme
de scalpel montée sur un mandrin

A partir d'un spécimen sec collé sur paillette ou piqué :

-Tremper l'individu pour ramollissement dans du liquide de Barber*

-Poser l'individu sur papier sopalin pour dissection, le présenter en positionnant les pattes de façon à ne rien abîmer au passage

-Séparer l'abdomen du reste du corps en introduisant le scalpel dans les membranes connectrices, reliant l'abdomen au métathorax.

(Cette opération de détachement des 2 parties peut se pratiquer avec de l'entraînement sur individu sec).

-L'abdomen détaché ramolli, le plonger dans de la potasse à 10%** sur platine chauffante. Dès naissance de l'ébullition baisser la température et tenir au chaud. Renouveler la potasse de temps en temps ou au besoin rajouter un peu d'eau distillée. Le temps de trempage est fonction de chaque individu.

-Avec pinces à potasse, saisir l'abdomen et le tremper dans de l'eau distillée en remuant délicatement.

Pour la femelle : Placer l'abdomen face sternale vers l'opérateur, avec pinces et ciseaux inciser latéralement la membrane pleurale jusqu'au milieu du dernier segment et couper délicatement avec pinces fines la membrane connectrice reliant les VIIIème sternite et tergite (le VIIIème segment), aux sternite et tergite VII.

Pour le mâle : Si l'on voit le génitalia au travers de l'abdomen, immobiliser avec une pince, introduire l'autre dans l'abdomen, pincer le foramen et le sortir de l'édéage.

Si la membrane est peu discernable, la colorer légèrement au noir de chlorazol.

Une fois l'appareil génital retiré de l'abdomen, sécher l'abdomen et le réemboîter dans la cavité abdominale à l'aide de colle (sécotine ou arabique).

Réinstaller l'individu complet sur sa paillette d'origine, ou une nouvelle paillette.

b) Montages : Préparation et conservation des pièces génitales pour observation.

Première méthode: montage à l'euparal

Matériel : -euparal pur assez épais
-colle UHU ou colle Limpidol
-paillette perforée - lamelle porte objet 10x10
-alcool 100°

Colorer les pièces génitales dans du noir de chlorazol et passer dans un bain d'eau distillée.

-Déshydrater les génitalia dans l'alcool 100°.

-Préparer la paillette perforée, coller au verso une lamelle porte objet avec colle UHU de façon à boucher la cavité.

-Placer les génitalia dans une goutte d'euparal préalablement déposée dans la cavité de la paillette. (Se servir de pinces trempées dans alcool 100° pour positionner les pièces génitales dans l'euparal).

Pour démonter des pièces génitales conservées dans l'euparal, les tremper dans de l'alcool 100°.

Deuxième méthode: montage à la gélatine glycinée

-Appliquer le même traitement de préparation décrit ci-dessus.

-Faire ramollir en chauffant sur platine de la gélatine glycinée*** et la verser dans un tube à génitalia à moitié rempli.

-Introduire les pièces génitales dans ce tube, le reboucher et le placer à l'extrémité de l'épingle de l'insecte concerné.

Troisième méthode: collage

Les pièces génitales sont collées (colle UHU ou autre) sur une paillette placée sous la paillette recevant le reste de l'individu.

*Liquide de Barber : 330 cc alcool à 95°
 300 cc eau distillée
 150 cc acétate d'ethyl
 120 cc ether ordinaire
 10 à 20 gouttes acide acétique

**Potasse 10% : 100 g potasse
 1l eau distillée

***Gélatine glycerinée : 10 g gélatine
 70 cc eau distillée
 80 g glycérine pure
 2 grs acide phénique

c) Dessins à la chambre claire des pièces génitales (croquis ci-joints)

Remarque : quelques caractères permettent de distinguer le mâle de la femelle :- la taille de l'insecte femelle souvent plus grande
 - les antennes sont plus épaisses chez le mâle et ont des structures particulières.
 - les tarses sont plus épais chez les mâles.

6) PREPARATION DE PIECES GENITALES DE CICADAIRES

- Découper l'abdomen à sec pour la femelle, et l'apex pour le mâle (4 derniers segments)
- Sur platine chauffante, mettre les pièces à ramollir dans de l'acide acétique (50% eau distillée + 50% acide acétique)
- Une fois bien ramollies les passer dans un bain d'eau distillée
- Caler les pièces sur fond de sable dégraissé à l'alcool à 90°, dans de l'eau distillée.

Si nécessaire, potasser les pièces, surtout pour les femelles, et les colorer au noir de chlorazol bien dilué avec eau distillée et potasse.

7) PRERARATION DES OBJETS POUR MICROSCOPIE A BALAYAGE

- Nettoyage des individus à photographier avec solution mouillante : teepol - mercryl - eau bouillante + lessive.
Pour les Coléoptères utiliser du mercryl pur ou dilué.
- Placer les individus dans un pilulier avec la solution mouillante choisie, et les mettre dans un bac à ultra-sons pendant quelques minutes.

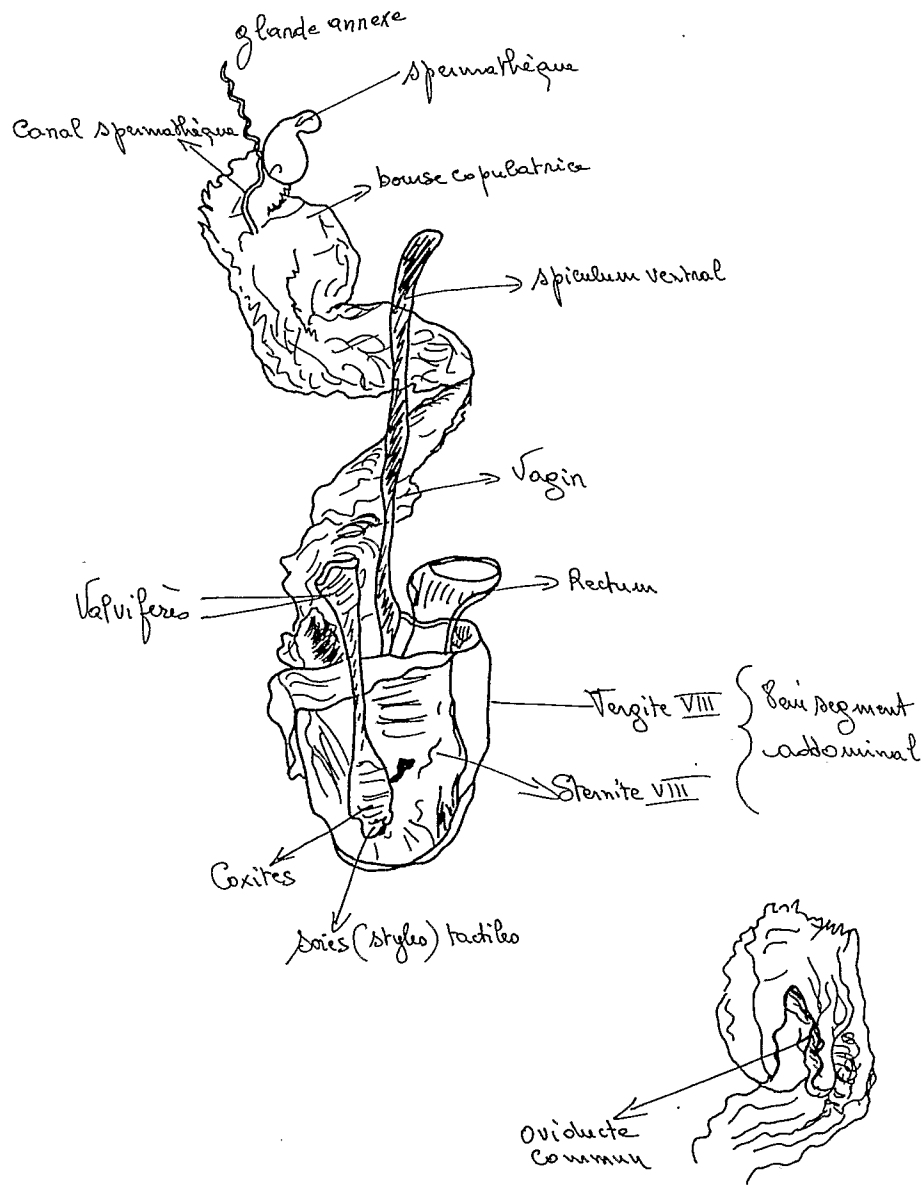
- Les sortir, les placer dans un bain d'eau distillée et procéder au nettoyage sous bino avec pinces, pinceaux. Ne pas hésiter à renouveler plusieurs fois l'opération ultra-sons et bains eau distillée, car les individus devront être parfaitement nettoyés, vu la très haute sensibilité du microscope à détecter toute impureté existante et pouvant altérer la qualité de l'image.
 - Déposer une fois brossés sous bino, les individus dans de l'alcool à 70° et les passer à nouveau aux ultra-sons.
 - Les sortir pour les déposer sur un papier absorbant et laisser sécher librement à l'air.
 - Monter chaque individu sur un porte objet en les collant avec Scotch double face, et déposer une goutte de graphite colloidal entre la bête et le bord du porte-objet de façon à bien le fixer.
(En cas d'erreur de manipulation, tremper le tout dans l'alcool).
- Très important : mettre en évidence les parties à étudier.
- Métallisation à l'or : faire le vide partiel, remplir la chambre avec de l'argon qui permet d'éliminer toute trace d'humidité, placer les porte-objets dans la cuve, et métalliser.

La phase photographie est illustrée par les clichés ci-joints.

DESSINS SCHEMATISES REALISES A LA CHAMBRE CLAIRE

Myxomelidae Gasterocinae

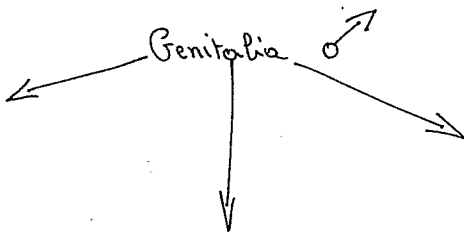
Genitalia ♀



Face dorsale



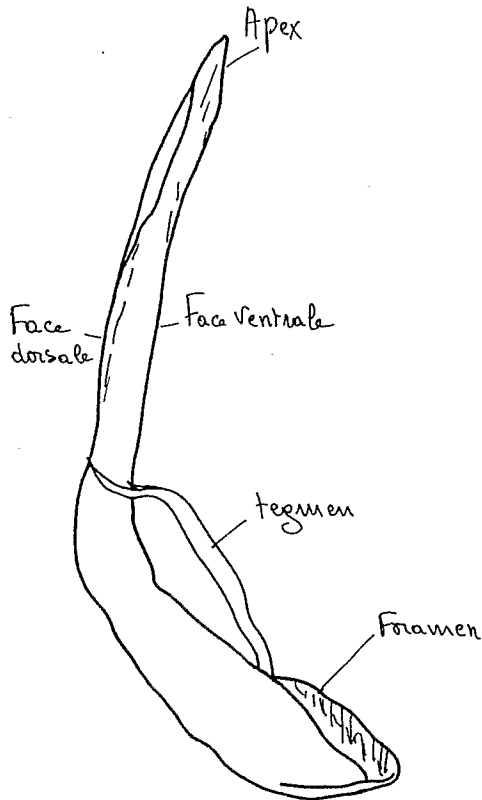
Genitalia ♂



Face ventrale

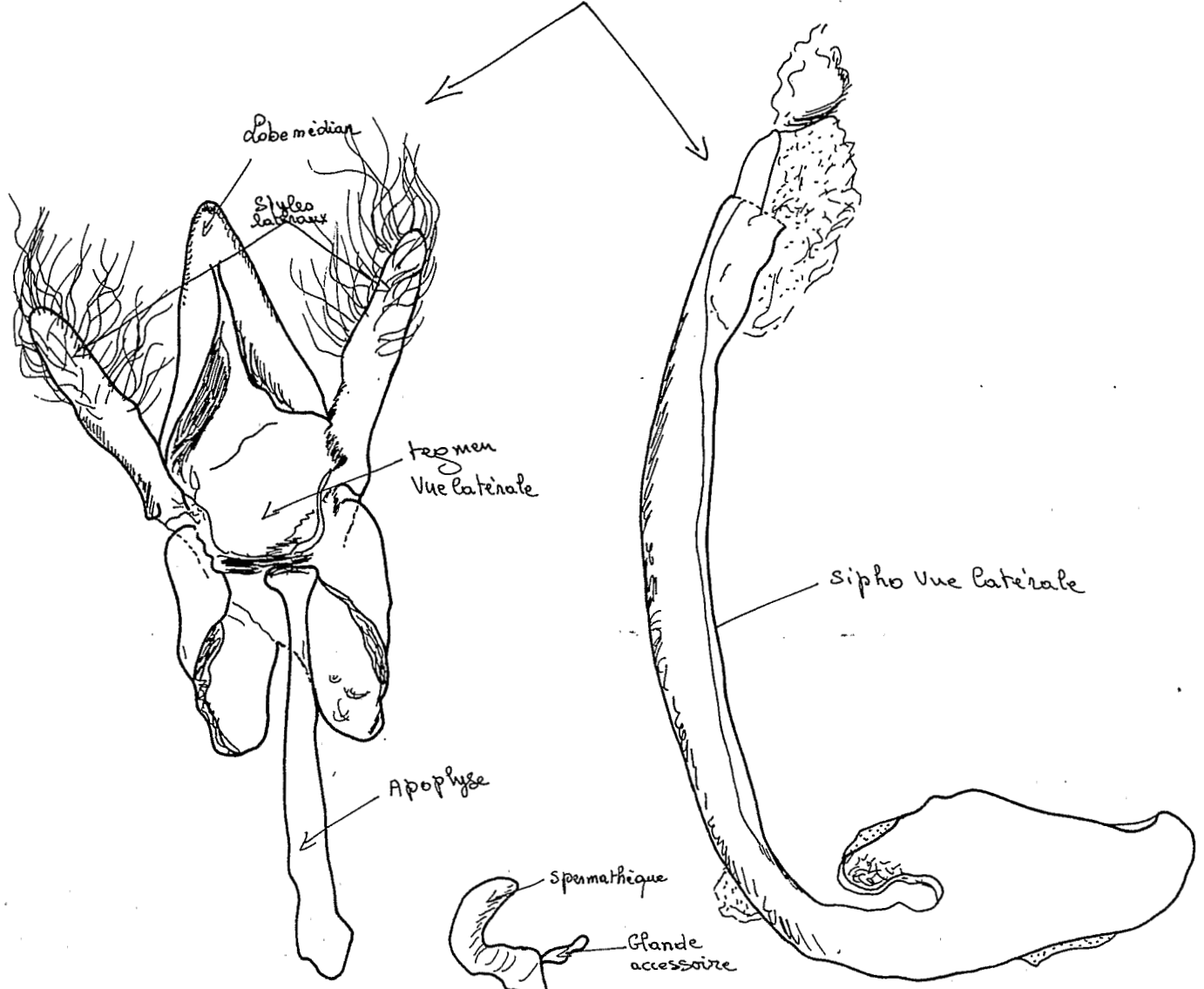


Face laterale

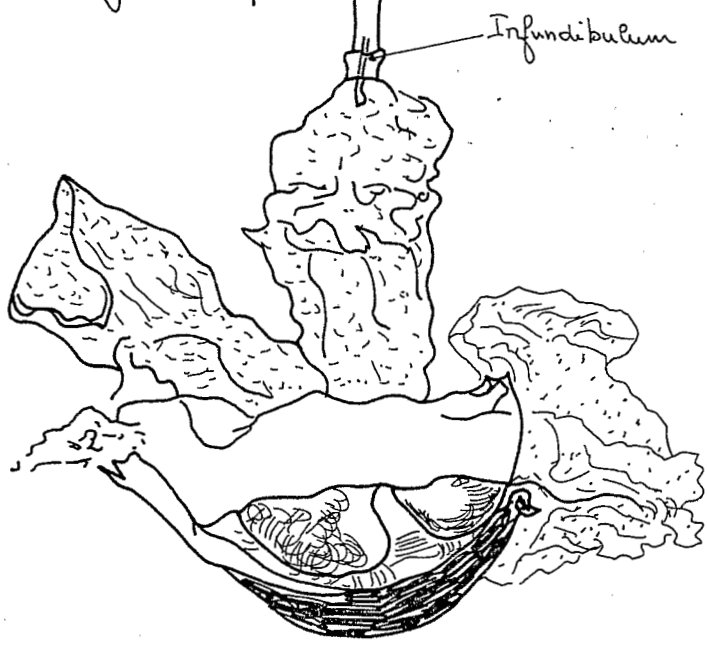


Coccinellidae (Seymus)

Genitalia ♂

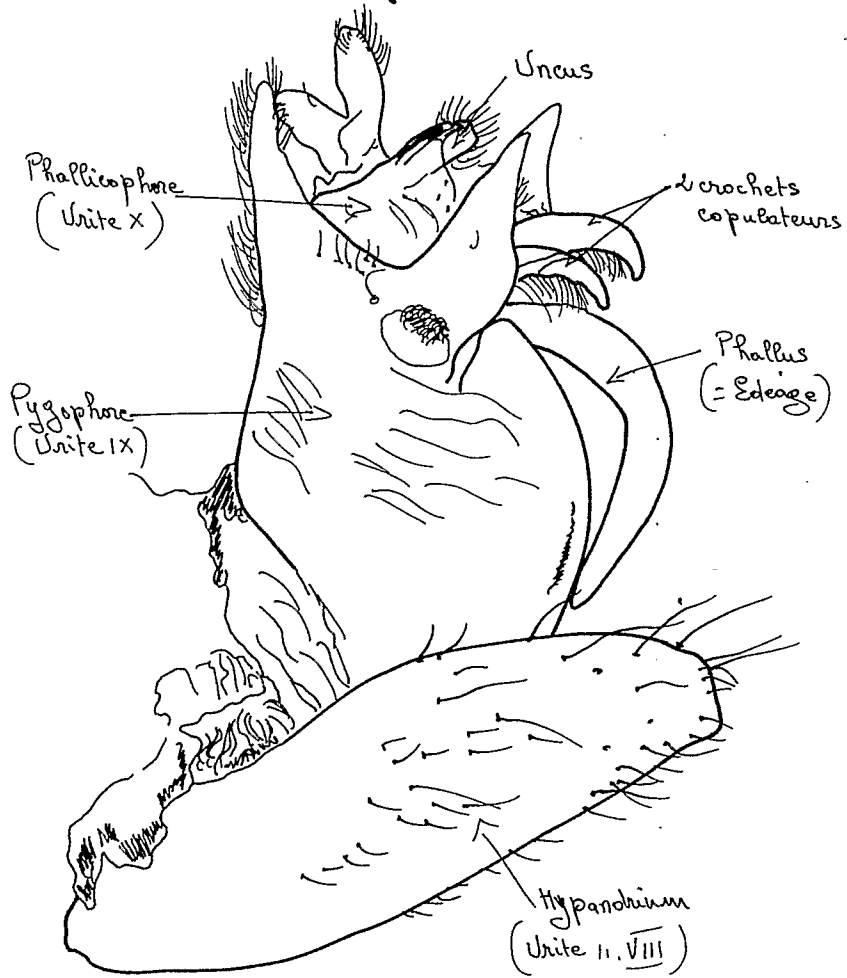


Genitalia ♀

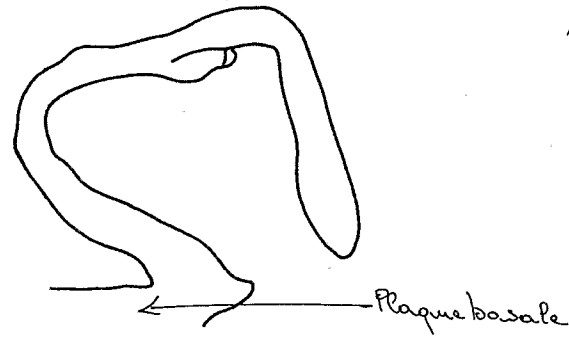
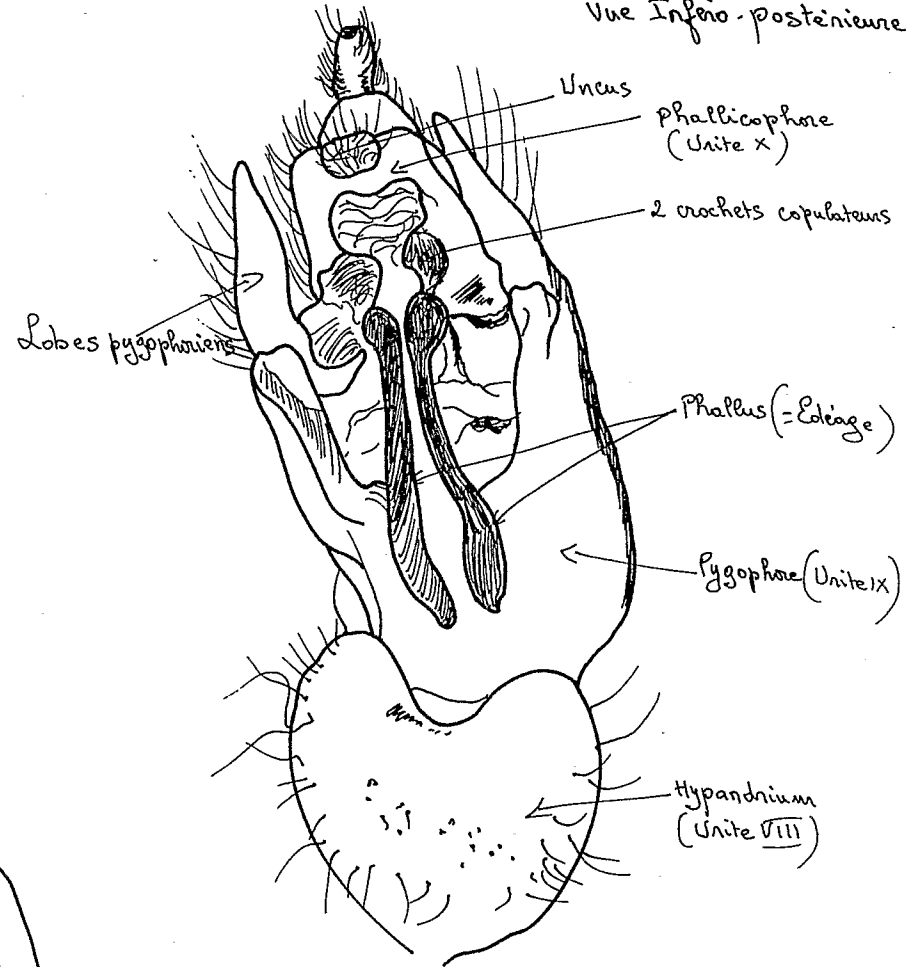


Ueana lifuana Tibicinidae

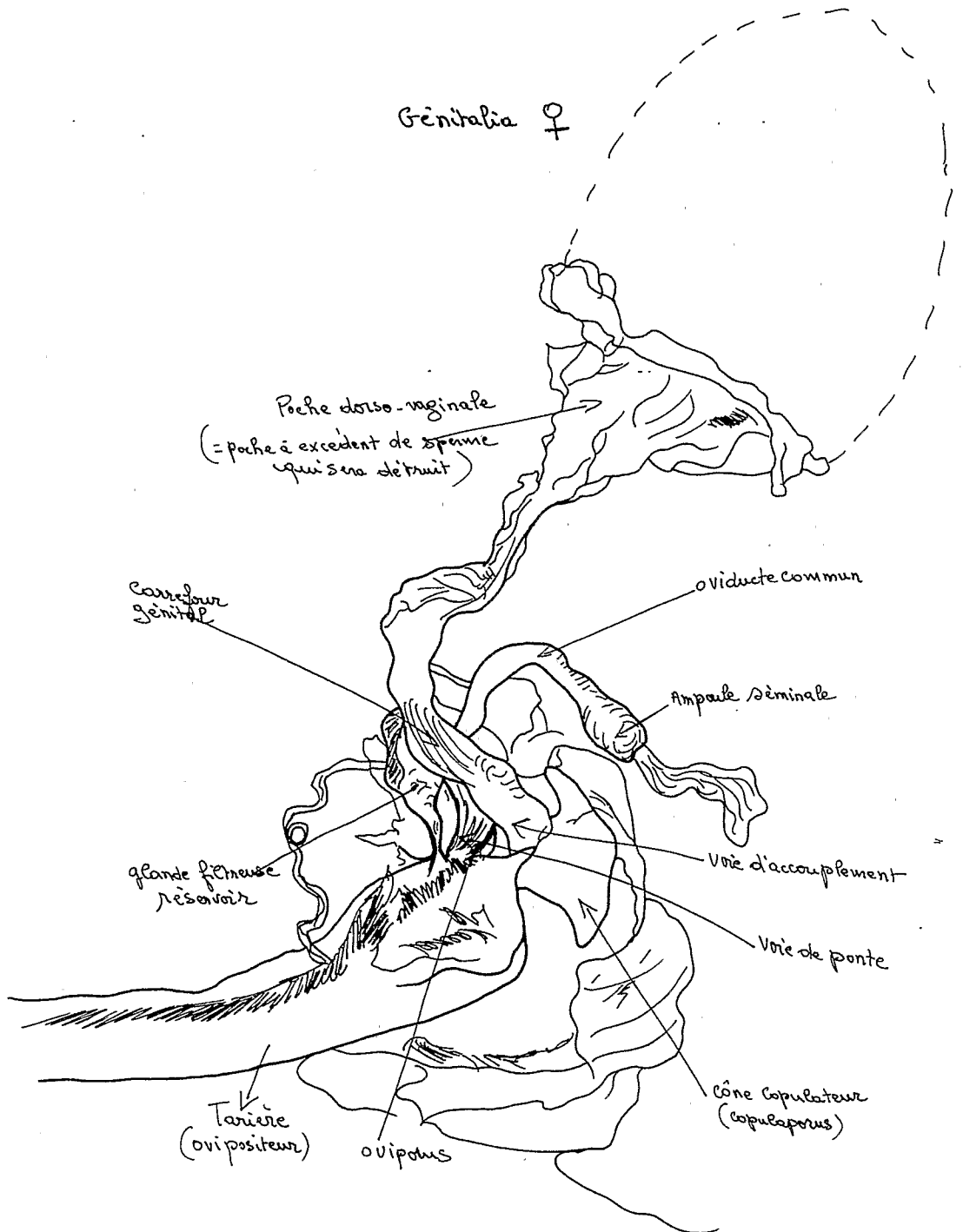
Genitalia ♂ vue profil



Genitalia ♂
Vue Infero-postérieure



Ueana lifwana Tibicinidae



QUELQUES CLICHES DE SCYMNUS COLEOPTERES (COCCINELLIDAE)
REALISES AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE A BALAYAGE

