

République Algérienne Démocratique et Populaire

Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie



مستغانم باديس بن الحميد عبد جامعة
كلية الحياة و الطبيعة علوم

DÉPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

ALLOUT Nacer

SEKKOUTI Ammi saïd

Pour l'obtention du diplôme de

Master en Sciences agronomiques

Spécialité: Protection des cultures

THÈME

Recherche des effets *in vitro* d'un entomopathogène et des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques (*Lavandula* sp., *Origanum* sp., *Salvia* sp. et *Thymus* sp.) sur les larves du ver blanc

DEVANT LE JURY

Présidente	M ^{me} SAIAH F.	M.C.B	Université de Mostaganem
Examinatrice	M ^{me} BERGHEUL S.	M.C.B	Université de Mostaganem
Encadreur	M ^{me} BADAOUI M.I	M.C.B	Université de Mostaganem

Année universitaire : 2019/2020

Remerciement

Tout d'abord, merci à dieu tout puissant ALLAH qui nous a réunis dans le chemin de la science et qui nous a porté la foi, la force et le courage pour accomplir ce travail.

Nous tenons à témoigner toute nos gratitude et tous nos respects à notre promotrice Mme BADAOUI M.I. Maitre de Conférence à l'Université de Mostaganem. Nos plus sincères remerciements et reconnaissances pour sa confiance, sa sincérité, sa rigueur, sa patience et son exigence dans le travail, que dieu vous bénisse.

Nous remercions M^{me} SAIAH F. Maitre de Conférence à l'Université de Mostaganem, qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury, et d'apporter son jugement sur ce travail.

Nos Remerciements vont également à M^{me} BERGHEUL S. Maitre de Conférence à l'Université de Mostaganem, d' avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce mémoire.

Tous nos remerciements vont encore au personnel de laboratoire de protection des cultures de l'ex ITA . nous devons parallèlement remercier le personnel de la ferme agricole de sotravitis,

Merci à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce modeste travail.

Dédicace

Avant tout, je dois rendre grâce à dieu
De m'avoir donné le courage de terminer ce travail.

Tout d'abord je dédie ce modeste travail :

à

Toutes les familles

ALLOUT et NAALOUFI

Particulièrement mon collègue **AMMI SAID**

À tous mes collègues de protection des cultures

Dédicace

*A*vant tout, je dois rendre grâce à dieu de
m'avoir donné le courage de terminer ce travail.

Je dédie ce travail à ma famille.

*Tout d'abord à mon cher père, à ma chère mère, aux près
de qui je trouve le réconfort et le repos, j'espère être à la
hauteur de ses espérances et ne jamais les décevoir.*

*A mon cher grand père et à ma chères grand mère qui
m'ont toujours soutenu par leur encouragement et leur
conseil.*

*A ma chère frère djabre à mes chères sœurs
Aicha, houda, Amina, Hanane, Bouchra.*

A ma chère fiancée.

A tous mes oncles & mes tantes & toutes les familles,

SEKKOUTI, BOULENACH

A mes très chers amis : NOUREDDINE, DAOUD

Particulièrement mon cher collègue ALLOUT NACER

À tous mes collègues de protection des cultures.

Résumé

Le ver blanc des cultures cause des dégâts considérables sur plusieurs cultures. Il est considéré comme une menace sérieuse pour l'agriculture en Algérie. Face à cet insecte dangereux, les agriculteurs sont orientés vers la lutte chimique. La présente étude a pour objectif de proposer des solutions alternatives basées sur l'utilisation des produits naturels afin de mener une lutte biologique.

La première partie concerne la recherche des entomopathogènes autochtones capables de contrôler les populations de ver blanc. Elle porte d'une part sur l'isolement et l'identification d'un champignon entomopathogène présent sur une larve momifiée de cet insecte et d'autre part, la mise en évidence de l'activité larvicide de ce pathogène.

Les résultats obtenus ont montré l'existence d'une seule espèce de champignon entomopathogène, il s'agit de : *Fusarium* sp.. Le test de pathogénicité de cette souche confirme sa causalité dans l'induction des symptômes observés sur l'hôte. En outre, les tests de virulence sur les larves mettent en exergue l'efficacité de cet entomopathogène autochtone, avec un taux de mortalité supérieure à 60%.

La deuxième partie de notre travail porte sur la vérification de l'efficacité des huiles essentielles de quatre plantes aromatiques : *Lavandula* sp., *Origanum* sp., *Salvia* sp. et *Thymus* sp. sur les larves du ver blanc.

Les résultats obtenus *in vitro*, montrent que les larves du ver blanc sont sensibles à l'effet des HEs de *Salvia* sp. et d'*Origanum* sp. en comparaison avec celui des HEs de *Lavandula* sp. et de *Thymus* sp.. L'utilisation de la sauge et de l'origan pour contrôler ce bio-agresseur a permis d'observer des taux de mortalité supérieure à 50% pour *Salvia* sp. au 10^{ième} jour à la dose de 0.5% et au 6^{ième} jour à la dose de 1% pour *Origanum* sp..

Mots clés : Bio-control, Champignon entomopathogène, huiles essentielles, ver blanc

Abstract

The white grub of crops causes considerable damage on several crops. It is considered a serious threat to agriculture in Algeria. Faced with this dangerous insect, farmers are oriented towards chemical control. The objective of this study is to propose alternative solutions based on the use of natural products in order to carry out biological control.

The first part concerns the search for indigenous entomopathogens capable of controlling white grub populations. It focuses on the one hand on the isolation and identification of an entomopathogenic fungus present on a mummified larva of this insect and on the other hand, the demonstration of the larvicidal activity of this pathogen.

The results obtained showed the existence of a single species of entomopathogenic fungus, namely: *Fusarium* sp .. The pathogenicity test of this strain confirms its causality in the induction of symptoms observed on the host. In addition, virulence tests on larvae highlight the effectiveness of this indigenous entomopathogen, with a mortality rate of over 60%.

The second part of our work focuses on verifying the effectiveness of essential oils from four aromatic plants: *Lavandula* sp., *Origanum* sp., *Salvia* sp. and *Thymus* sp. on white grub larvae.

The results obtained in vitro show that the larvae of the white grub are sensitive to the effect of EOs of *Salvia* sp. and *Origanum* sp. in comparison with that of the HEs of *Lavandula* sp. and *Thymus* sp .. The use of sage and oregano to control this pest has shown mortality rates of over 50% for *Salvia* sp. on the 10th day at a dose of 0.5% and on the 6th day at a dose of 1% for *Origanum* sp ..

Keywords: Bio-control, entomopathogenic fungus, essential oils, white grub

ملخص

تسبب اليرقة البيضاء للمحاصيل أضرارًا كبيرة في العديد من المحاصيل. يعتبر تهديدًا خطيرًا للزراعة في الجزائر. في مواجهة هذه الحشرة الخطرة ، يتجه المزارعون نحو مكافحة الكيماوية. الهدف من هذه الدراسة هو اقتراح حلول بديلة تعتمد على استخدام المنتجات الطبيعية من أجل إجراء مكافحة البيولوجية.

r يتعلق الجزء الأول بالبحث عن مسببات الأمراض الفطرية الأصلية القادرة على التحكم في تجمعات اليرقات البيضاء. يركز من ناحية على عزل وتعريف الفطر الممرض للحشرات الموجود على يرقة محنطة لهذه الحشرة ، ومن ناحية أخرى ، عرض نشاط مبيد اليرقات لهذا العامل الممرض r. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها وجود نوع واحد من الفطريات الممرضة للحشرات وهي *Fusarium sp* : .. ويؤكد اختبار الأمراض لهذه السلالة سببها في تحريض الأعراض التي لوحظت على المضيف . بالإضافة إلى ذلك ، فإن اختبارات الفوعة على اليرقات تسلط الضوء على فعالية هذا الممرض للحشرات الأصلي ، مع معدل وفيات يزيد عن 60 %.

r. يركز الجزء الثاني من عملنا على التحقق من فعالية الزيوت الأساسية من أربعة نباتات عطرية : *Lavandula sp.* ، *Origanum sp.* ، *Salvia sp.* و *Thymus sp.* على يرقات اليرقات البيضاء r. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها في المختبر أن يرقات اليرقات البيضاء حساسة لتأثير EOs of *Salvia sp.* و *Origanum sp.* بالمقارنة مع HEs من *Lavandula sp.* و *Thymus sp.* وقد أظهر استخدام المريمية والأوريغانو لمكافحة هذه الآفة معدلات وفيات تزيد عن 50 % بالنسبة لسالفيا *Salvia sp.* في اليوم العاشر بجرعة 0.5 % وفي اليوم السادس بجرعة 1 % لأوريغانوم س r.

الكلمات المفتاحية: مكافحة الحيوية ، الفطريات الممرضة للحشرات ، الزيوت الأساسية ، اليرقة

البيضاء

Sommaire

Remerciement	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Sommaire	
Liste des abréviations	
Liste des figures et des planches	
Liste des tableaux	
Introduction générale	1

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Le ver blanc

Introduction.....	2
I .Air de répartition	2
II.. Systématique des vers blancs.....	2
III. Stades de développement du ver blanc	4
III.1 Œuf.....	4
III.2 Stades larvaires.....	4
III.3 Nymphe	5
III.4 Adulte	6
IV. Principales espèces et leur cycle biologique :	7
IV.1 Hanneton Européen (<i>Rhizotrogus majalis</i>)	7
IV.2 Hanneton Commun (<i>Phyllophaga spp</i>)	7
IV.3 Scarabée japonais (<i>Popillia japonica</i>)	8
IV.4 Ver blanc des céréales (<i>Geotrogus deserticola</i>).....	8
V .Plant hôte	10
VI. Méthode de lutte.....	10
VI.1 Lutte chimique.....	10
VI.2 La lutte culturale	11
VI.3 Lutte biologique	12

Chapitre II : Les champignons entomopathogène

Introduction.....	13
I. Les Champignons entomopathogènes.....	13
I.1 Position systématique des champignons entomopathogènes.....	14
II. Mode d'action des champignons entomopathogènes	16
III. Exemples des champignons entomopathogènes.....	17
III.1 <i>Fusarium sp.</i>	17
III.1.1 Taxonomie.....	17
III.1.2 Morphologie.....	18
IV. Les toxines fongiques	19
IV.1 Activité insecticide du <i>Beauvericine</i>	19

Chapitre III : Plantes aromatiques étudiées

Introduction	21
I. Plantes aromatiques étudiées	21
I.1 Lavande	21
I.2 Origan	22
I.3 Sauge	22
I.4 Thym	23
II. Propriétés insecticides des plantes.....	23
III. Cibles des toxines naturelles des plantes	24
IV. Les huiles essentielles (HE)	24

Partie Expérimentale

Chapitre I : Recherche des champignons entomopathogènes

Introduction	26
I. Matériel et méthodes	26
I.1 Origine de l'isolat.....	26
I.2 Isolement et purification	26
I.3 Identification.....	27
I.4. Test de pathogénicité	29
I.4.1 Matériel animal	29
I.4.2 Méthode d'inoculation	29

I.4.3 Ré-isolement du champignon.....	30
I.5 Etude de la virulence	30
I.5.1 Préparation de la solution entomopathogène.....	30
I.5.2 Essai biologique.....	30
II. Résultats et discussion.....	32
II.1 Identification de la souche fongique isolée.....	32
II.2 Test de pathogénicité de <i>Fusarium</i> sp. sur les larves de ver blanc.....	33
II.3 Evaluation de l'activité larvicide de <i>Fusarium</i> sp. isolé.....	34
II.3.1 Confrontation directe en absence du sol.....	34
II.3.2 Confrontation directe en présence du sol.....	35

Chapitre II : Activité larvicide des HEs de quatre plantes aromatiques sur le ver blanc

Introduction	37
I. Matériel et méthodes	37
I.1 Matériels biologiques	37
I.1.1 Matériel végétal	37
I.1.2 Matériel animal	37
I.2 Tests biologiques.....	37
II . Résultats et discussion.....	40
II.1 Evaluation de l'efficacité de l'HE d' <i>Origanum</i> sp. sur les larves du ver blanc..	40
II.2 Evaluation de l'efficacité de l'HE de <i>Thymus</i> sp. sur les larves du ver blanc...	41
II.3 Evaluation de l'efficacité de l'HE de <i>Salvia</i> sp. sur les larves du ver blanc.....	43
II.4 Evaluation de l'efficacité de l'HE de <i>Lavandula</i> sp. sur les larves du v b.....	44
Conclusion.....	46
Références bibliographiques.....	47
Annexes	

Liste des abréviations

Sotravitis : Société de Transformation des Produits Viticoles

INPV: Institut National de Protection des Végétaux

°C: Degré Celsius

et al.: et collaborateurs

mn: minute

ml: millilitres

PDA: Potato Dextrose Agar

TL50%: Temps Létale de 50% de population

DL50 : Dose létale médiane

HE : Huile essentielle

Liste des figures et des planches

Figure 01 : Phylogénie et distribution des Rhizotrogini	03
Figure 02: Stades de développement du ver blanc	04
Figure 03: Larves de ver blanc	05
Figure 04: Stade nymphale	05
Figure 05: Adultes de ver blanc	06
Figure 06 : Dégâts des vers blancs.	10
Figure 07: Oiseaux prédateurs des vers blancs	11
Figure 08: Symptôme de la muscardine blanche causé par <i>Beauveria bassiana</i>	12
Figure 09: Schéma du cycle biologique des champignons entomopathogènes	16
Figure 10: Clé d'identification des Mucédinés à conidies disposées en têtes	18
Figure 11: Structure chimique du Beauvericine	19
Figure 12 : Partie aérienne de la lavande	21
Figure 13 : Fleurs d' <i>Origanum vulgare</i>	22
Figure14 : Partie aérienne de la sauge	22
Figure 15: Partie aérienne de <i>Thymus vulgaris</i>	23
Figure 16: Larve de ver blanc atteinte de mycose	26
Figure 17 : Isolement du champignon à partir de l'insecte momifié	27
Figure 18 : Purification du champignon	27
Figure 19 : Clé d'identification des Mucédinés	28
Figure 20 : Site de la récolte des larves de ver blanc	29
Figure 21 : Dispositif expérimental du test de pathogénicité.....	30
Figure 22 : Test de virulence de <i>Fusarium</i> sp. sur les larves de ver blanc	31
Figure 23 : Aspect macroscopique de <i>Fusarium</i> sp. sur milieu de culture Sabouraud et PDA	32
Figure 24 : Aspect macroscopique et microscopique de <i>Fusarium</i> sp.	32
Figure 25 : Mortalité des larves de ver blanc exposées à la concentration 10^7 spores/ml de l'entomopathogène <i>Fusarium</i> sp.	34
Figure 26 : Temps létal moyen (TL50) des larves de ver blanc traitées par <i>Fusarium</i> sp....	35

Figure 27: Mortalité des larves de ver blanc exposées à la concentration 10^7 spores/ml de l'entomopathogène <i>Fusarium sp.</i> en présence du sol	35
Figure 28: Temps léthal moyen (TL50) des larves de ver blanc traitées par <i>Fusarium sp.</i> en présence du sol	36
Figure 29: Symptômes de mycose chez les nymphes (A) et l'adulte (B) de ver blanc.....	36
Figure 30: Préparation des différentes concentrations du phytopréparation.....	38
Figure 31 : Dispositif expérimental du test de toxicité	38
Figure 32: Effet des différentes concentrations de l'HE d' <i>Origanum sp.</i> sur la mortalité des larves de ver blanc	40
Figure 33: Mortalité corrigée des larves du ver blanc traitées par l'HE d' <i>Origanum sp.</i>	41
Figure 34: Effet des différentes concentrations de l'HE de <i>Thymus sp.</i> sur la mortalité des larves de ver blanc	42
Figure 35: Mortalité corrigée des larves du ver blanc traitées par l'HE de <i>Thymus sp.</i>	42
Figure 36: Effet des différentes concentrations de l'HE de <i>Salvia sp.</i> sur la mortalité des larves de ver blanc	43
Figure 37: Mortalité corrigée des larves du ver blanc traitées par l'HE de <i>Salvia sp.</i>	43
Figure 38: Effet des différentes concentrations de l'HE de <i>Lavandula sp.</i> sur la mortalité des larves de ver blanc	44
Figure 39 : Mortalité corrigée des larves du ver blanc traitées par l'HE de <i>Lavandula sp.</i> ...44	
Planche 01: Espèces des hannetons.....	09
Planche 02: Test de pathogénicité de <i>Fusarium sp.</i> sur les larves de ver blanc	33

Liste des tableaux

Tableau 01: Champignons entomopathogènes appartenant à différents Phylums15

Introduction générale

Introduction générale

Le ver blanc est un ennemi naturel de plusieurs cultures, il représente le modèle biologique dans ce travail de fin d'étude. Les pertes causées par ce ravageur sont importantes (Amine khodja et Bekkouche , 2016). En Algérie, les Melolonthini et plus particulièrement *Geotrogus deserticola* (Blanch.) commet de gros dégâts sur les racines des végétaux les plus variées et notamment sur les céréales (Mesbah et Boufersaoui , 2002).

La polyphagie de cette espèce et sa large répartition dans l'espace et sur des hôtes variés rendent difficile la mise au point d'une lutte chimique efficace. Parallèlement il est admis maintenant que l'utilisation des pesticides a conduit progressivement à des problèmes d'ordres génétiques, environnementaux et sanitaires (Roush et McKenzie, 1987), ce qui nécessite la recherche de nouveaux moyens de bio-control.

Parmi les interventions en faveur d'une lutte biologique, il y a l'emploi des entomopathogènes et des extraits des plantes aromatiques pour réguler les pullulations des insectes nuisibles. La lutte biologique, par l'utilisation des champignons entomopathogènes est une alternative très prometteuse pour assurer une protection phytosanitaire performante. Aussi il y a l'utilisation d'insecticides botaniques qui sont des substances d'origines naturelles. Précisément les huiles essentielles (HEs) ont fait l'objet de plusieurs travaux de recherche qui démontrent leur efficacité dans la protection des cultures en réduisant les pertes occasionnées par les insectes ravageurs par leur effet insecticides (Aiboud, 2012).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude expérimentale dont les objectifs sont :

1. La recherche des souches d'entomopathogènes autochtones capables de contrôler les populations larvaires du ver blanc.
2. L'évaluation de l'activité larvicide des HEs de quatre plantes aromatiques (*Lavandula* sp., *Origanum* sp., *Salvia* sp. et *Thymus* sp.) sur ce bio-agresseur afin d'envisager leur utilisation comme moyen de lutte préservant l'environnement.

Partie bibliographique

CHAPITRE I

Vers blancs

Introduction

Les insectes phytophages représentent aujourd'hui plus de la moitié de toutes les espèces d'insectes (Strong et *al.*, 1984). Parmi les neuf ordres d'insectes phytophages, les coléoptères présentent la plus importante diversité (Farrell, 1998). Les hannetons sont des coléoptères d'assez grande taille, dont les larves sous terraines appelées vers blancs sont des ravageurs des cultures depuis des temps immémoriaux (Nageleisen et Meyer, 2015). Ils forment un groupe important d'insectes se nourrissant de plantes, dont plusieurs peuvent causer des dégâts considérables sur le plan économique. Ces insectes font partie de la grande famille de Scarabaeidae, dont plus de 30 000 espèces ont été dénombré à travers le monde (Belbel et Smaili, 2015).

Les pullulations incontrôlables de cet insecte et la non-maitrise des facteurs liés à sa dynamique de population font de lui un ravageur fortement nuisible aux cultures (Yahiaoui et Bekri, 2014).

I. Air de répartition

En Afrique du nord, l'aire de répartition de la plupart des espèces de ver blanc est également limitée à des zones géographiques relativement restreintes ou à des biotopes particuliers. Le centre de groupement est Algérien mais un certain nombre d'espèces vivant également au Maroc et en Tunisie (Amine Khodja et Bekkouche, 2016).

En Algérie, les Melolonthini et plus particulièrement *Geotrogus deserticola* (Blanch.) ont commis de gros dégâts sur les racines des végétaux les plus variés et notamment sur les céréales. Ils habitent principalement le Tell et les Hautes plateaux et leur limite sud s'arrête au nord du Sahara (Mesbah et Boufersaoui, 2002). D'après Balachowsky (1962), leur biotope est très variable : forêts, plaines, steppes, zone céréalières, hautes plateaux et sable littoraux.

II. Systématique des vers blancs

Les vers blancs appartiennent à l'ordre des coléoptères. Leur classification a été proposée par Peverimhoff (1933, 1938) et suivi par Sainte Claire et Mequignon (Balachowsky, 1962). La super famille des Scarabaeoidea appartient au sous-ordre de polyphaga et comprend une grande famille les Scarabaeidae. Ces insectes constituent une classe parmi laquelle beaucoup d'espèces phytophages nuisent aux feuilles ou aux fleurs de plusieurs productions végétales. Beaucoup de ces espèces nuisibles appartenant à la sous-famille des Melolonthinae et sont représentées par les genres *Polyphylla*, *Anoxia*, *Melolontha* d'une part, et d'autre part, de divers genres très voisins les uns des autres groupés sous le terme de *Rhizotrogini* (figure 01). Cette tribu comprend de nombreux genres

principalement répandus en Asie et en Afrique du Nord. En Eurasie vivent surtout des *Amphimallon* et des *Rhizotrogus*, tandis qu'en Afrique du Nord, les vers blancs appartiennent essentiellement aux genres: *Pseudoapterogyna* et *Géotrogus* dont les adultes sont plus ou moins aptères (Montreuil, 2003).

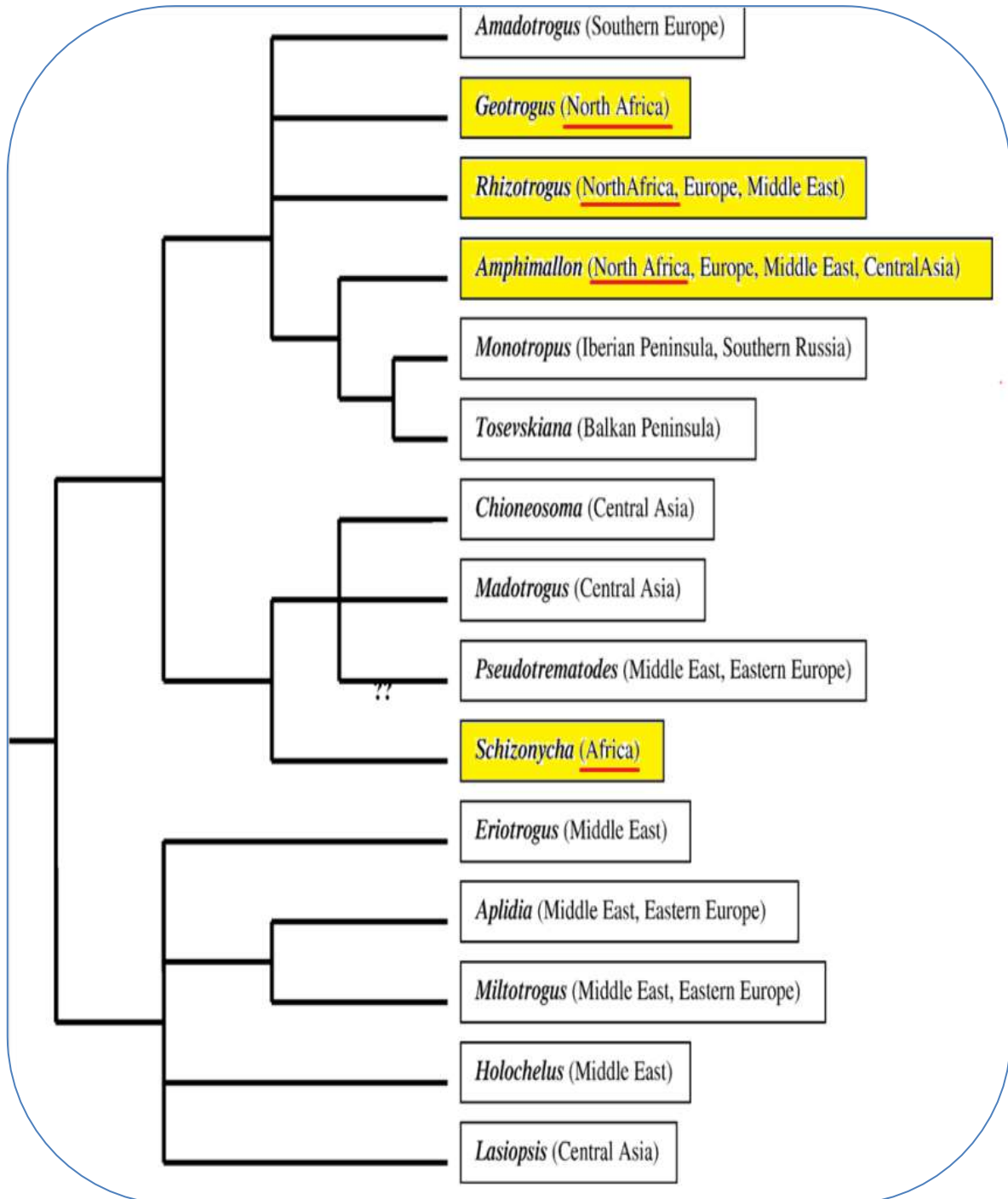


Figure 01 : Phylogénie et distribution des Rhizotrogini (Montreuil, 2003 in Bousnane et Ghani, 2017)

III. Stades de développement du ver blanc

Les coléoptères sont des insectes à métamorphose complète (holométabole), Ils passent par quatre états biologiques distincts: œuf, larve, nymphe et adulte

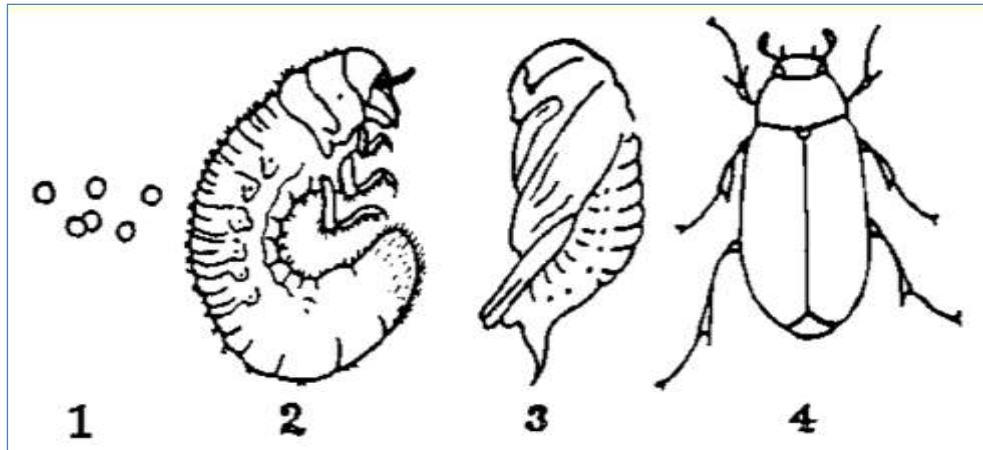


Figure 02: Stades de développement du ver blanc. **a:** œufs, **b:** larves, **c:** nymphe et **d :** adulte (Amine khodja et Bekkouche, 2016)

III.1 Œuf

Pondus par les femelles dans le sol, les œufs sont sphériques (un millimètre au moment de la ponte, deux millimètres après absorption de l'eau du sol), de couleur blanche, et pourvus d'une coque résistante. Chaque ponte contient de 10 à 15 œufs. Les dépôts se font généralement en plusieurs fois. Chaque reproductrice dépose au total entre 40 et 60 œufs à une température de 25°C, l'incubation (délai écoulé entre la ponte et l'éclosion) dure de 15 à 21 jours (Amine Khodja et Bekkouche, 2016).

III.2 Stades larvaires

Les larves des Scarabaeidae, très typiques, ont un aspect particulier qui les distingue de celles des autres familles de coléoptères. Leur corps est mou et enroulé en demi-cercle sur lui-même (Figure 02.b). Les larves sont translucides à l'éclosion et tournent au blanc laiteux par la suite. La tête chitineuse est bien visible et dotée de fortes mandibules, ils peuvent atteindre une longueur de 2 à 4 cm, selon les espèces (Roberts, 1981).

Les larves effectuent des déplacements horizontaux et verticaux dans le sol pour s'alimenter aux dépens des racelles des plantes pendant l'automne et l'hiver, elles passent l'été et le printemps enfouies dans une loge en arrêt de développement et remontent vers la surface du sol en septembre avec les premières pluies (Duval, 1993).



Figure 03: Larves de ver blanc (Original, 2020)

III.3 Nymphe

La nymphe est de couleur jaunâtre, avec un pronotum convexe et anguleux latéralement ; il est deux fois plus large que long. Les bords latéraux de l'abdomen sont légèrement convexes. On distingue la présence de huit paires de stigmates abdominaux saillants de taille décroissante de la base vers l'apex (Figure 04).

Pour préparer sa nymphose, la larve âgée de troisième stade ne s'alimente plus. Elle vide son intestin et se forme une loge aux parois lissées grâce à ses mouvements de rotation. Bien à l'abri, la pré-nymphe va subir sa dernière mue qui apparaît sous forme d'une peau ratatinée (ou exuvie) à l'extrémité d'une momie jaune immobile couverte d'une nouvelle cuticule cirée. Elle est le lieu de profondes transformations des organes (Fegrouche, 2014).



Figure 04: Stade nymphale, face latérale (1), face ventrale (2), face dorsale (3), (Bakelli et Habibi, 2019)

III.4 Adulte

Les vers blancs sont des larves de plusieurs espèces de coléoptères. Les *Rhizotrogini* sont répons en Algérie ; ils se rassemblent à la fois par leur taille (1.5 à 2 cm. de longueur), leur couleur (brun fauve plus ou moins foncé et homogène), leurs caractères anatomiques (antennes de 7 à 10 articles avec de 3 à 6 feuillets très; abondante pilosité sur la majeure partie du corps, etc.).



Figure 05: Adultes de ver blanc (Bakelli et Habibi ,2019)

Les élytres recouvrent généralement tout l'abdomen et ne laissent visibles que le pro pygidium et le pygidium. Les stigmates, au nombre de 7, accusent une disposition variée et ont servi à différencier les grandes divisions des *Scarabaeidae*. Ainsi se reconnaissent à la forme des antennes qui sont terminées par une massue très caractéristique composée de 3 à 7 articles dilatés en feuillets très mobiles souvent plus nombreux et plus développés chez les males. Ainsi que par les caractères généraux de leur écologie et leur éthologie (Balachowsky, 1992).

Certains adultes ne se nourrissent pas et survivent grâce aux réserves accumulées dans leur corps par la larve. D'autres adultes consomment des substances à fort pouvoir énergétique (nectar des fleurs, fruits pourris, sève suintant des blessures d'arbres) pour subvenir à leurs besoins durant la course à la reproduction (Slipinski, 2007).

Les adultes émergent au début de l'été et ne vivent en général que quelques semaines au cours desquelles ils n'ont qu'un seul objectif, se reproduire. Dans la plupart des cas, même l'adulte meurt dès qu'il s'est reproduit (Boukli, 2012). Un accouplement se produit en début de vie imaginale, se produit car le male est attiré par les odeurs ou phéromones émis par la femelle. Ce premier accouplement est suivi un mois après par un deuxième accouplement.

IV. Principales espèces et leur cycle biologique :

La durée du cycle évolutif dépend beaucoup du climat, elle est en fonction d'une part du nombre et de la durée des phases d'arrêt du développement pendant la vie larvaire, d'autre part de la température et de l'humidité pendant les périodes d'activité (Houadeg, 1996)

IV.1 Hanneton Européen (*Rhizotrogus majalis*)

Cette espèce se nourrit des racines de Maïs, des différents fourrages, et des céréales, les larves se distinguent par le motif en « Y » que forment les soies de l'écusson anal, L'adulte (Planche 01 (A)) est un hanneton de taille moyenne, d'environ 14 mm, brun clair et de forme ovale, elles sont blanches, à la tête brun (Charbonneau, 2008).

Ce ravageur ne produit qu'une seule génération par an. Il hiverne à l'état de larve dans le sol. En avril, les larves du hanneton européen remontent vers la surface et se nourrissent des racines des plantes. Elles cessent de s'alimenter à la mi-mai, Celle-ci dure jusqu'à la mi-juin. Les hannetons adultes sortent du sol entre le début juin et le début juillet pour s'accoupler. Ils se rassemblent pour le vol nuptial et forment alors des essaims visibles à la brunante. Les femelles adultes recherchent ensuite des sols humides et frais dans les pelouses ou les champs avoisinants pour y pondre leurs œufs qui éclosent et les larves nouvellement éclosées commencent à se nourrir des racines du début d'août jusqu'à ce que le sol gèle. (Amine Khodja et Bekkouche, 2016).

IV.2 Hanneton Commun (*Phyllophaga spp*)

Cette espèce se nourrit des racines de soya, et des cultures fourragères, la larve se distingue par la forme ovale de son écusson anal et présente deux rangées parallèles d'épines. Au stade adulte (Planche 01 (B)), ce hanneton est légèrement plus gros (environ 20 mm) que le hanneton européen et de couleur brun rougeâtre à noir (Charbonneau, 2008).

Le hanneton commun a un cycle de vie de trois ans. Les adultes sortent du sol de la mi-mai à la mi-juin pour pondre leurs œufs. Généralement, ils se ressemblent en grand nombre sur les arbres ou arbustes à la nuit tombante pour s'accoupler. Les œufs sont déposés dans un sol humide et éclosent quelques semaines plus tard. Les larves du premier stade larvaire se nourrissent à même des racines des plants et muent en passant au deuxième stade larvaire, avant de s'enfoncer profondément dans le sol pour l'hiver. Le printemps suivant, une fois le sol réchauffé, les larves du deuxième stade larvaire recommencent à se nourrir et restent à l'état larvaire pendant toute la durée de cette deuxième année, mais muent une nouvelle fois pour passer au troisième stade larvaire. Cette deuxième année de leur cycle est donc la plus

nuisible aux cultures. Les larves se préparent de nouveau à hiverner en s'enfonçant profondément dans le sol dès l'arrivée du froid ; elles y restent jusqu'au printemps. La troisième année, les larves du troisième stade larvaire se nourrissent de racines pendant quelque temps, se transforment en pupes, puis en adultes. Ces derniers resteront en dormance dans le sol pendant le reste de la saison et ne sortiront de leur refuge qu'au printemps suivant. (Amine Khodja et Bekkouche, 2016).

IV.3 Scarabée japonais (*Popillia japonica*)

Cette espèce se nourrit des racines de soya et des cultures fourragères, la larve de scarabée japonais se distingue par son écusson anal large et peu profond, en forme de « V ». Il est aussi beaucoup plus petit que l'hanneton européen et celui du hanneton commun. L'adulte du scarabée japonais mesure environ 13 mm de longueur et se reconnaît facilement à sa tête verte métallique brillant et à ses ailes de reflet cuivré, teintées de vert aux extrémités (Planche 01 (C)), avec les douze touffes de poils blanchâtres garnissent les bords de ses ailes (Amine khodja et Bekkouche, 2016).

Le scarabée japonais n'a qu'une seule génération par année. L'insecte hiverne sous forme de larve de troisième stade larvaire enfouie dans le sol. Le printemps suivant, une fois que la température du sol dépasse 15 °C, les larves se rapprochent de la surface et se nourrissent de racines de plantes jusqu'à la mi ou la fin juin, moment où elles se transforment en pupes et deviennent adultes. L'adulte s'extirpe du sol au début juillet et vit une quarantaine de jours. Après l'accouplement, les femelles pondent leurs œufs dans le sol. Ceux-ci éclosent quelques semaines plus tard. Les larves commencent alors à se nourrir de racines et passent par trois stades larvaires avant de se préparer à hiverner, au début octobre, en s'enfonçant sous la ligne de gel (Amine Khodja et Bekkouche , 2016)

IV.4 Ver blanc des céréales (*Geotrogus deserticola*)

Le ver blanc des céréales *Geotrogus deserticola* est l'espèce la plus rencontrée sur céréales en Algérie. C'est un redoutable ravageur qui s'attaque à toutes les espèces végétales notamment les cultures maraîchères, la vigne et surtout les céréales qui sont considérées comme plantes préférentielles (I.N.P.V, 2015). L'adulte fait entre 1.5 et 2 cm de longueur, il a une couleur brune fauve, plus ou moins foncé et homogène, les antennes sont composées de 07 à 10 articles avec 03 à 06 feuilles aux extrémités (Planche 01 (D)). Les larves ont une forme recourbées, de couleur blanche pâle à tête brune, elles font de 3.5 à 04 cm au dernier stade de développement (Yahiaoui et Bekri , 2014).

L'accouplement se fait à la surface du sol, ensuite les femelles retournent dans la terres cultivées et les prairies avoisinantes pour pondre leur œufs, Les larves effectuent leur développement dans les sols a des différentes profondeurs, Le développement larvaire se caractérise par 03 stades larvaires: L1 dure environs 6 mois, L2 dure environs de 12 à 15 mois , L3 dure plus de trois mois , le cycle évolutif du ver blanc dure deux ans et demi à trois années (I.N.P.V, 2015) .

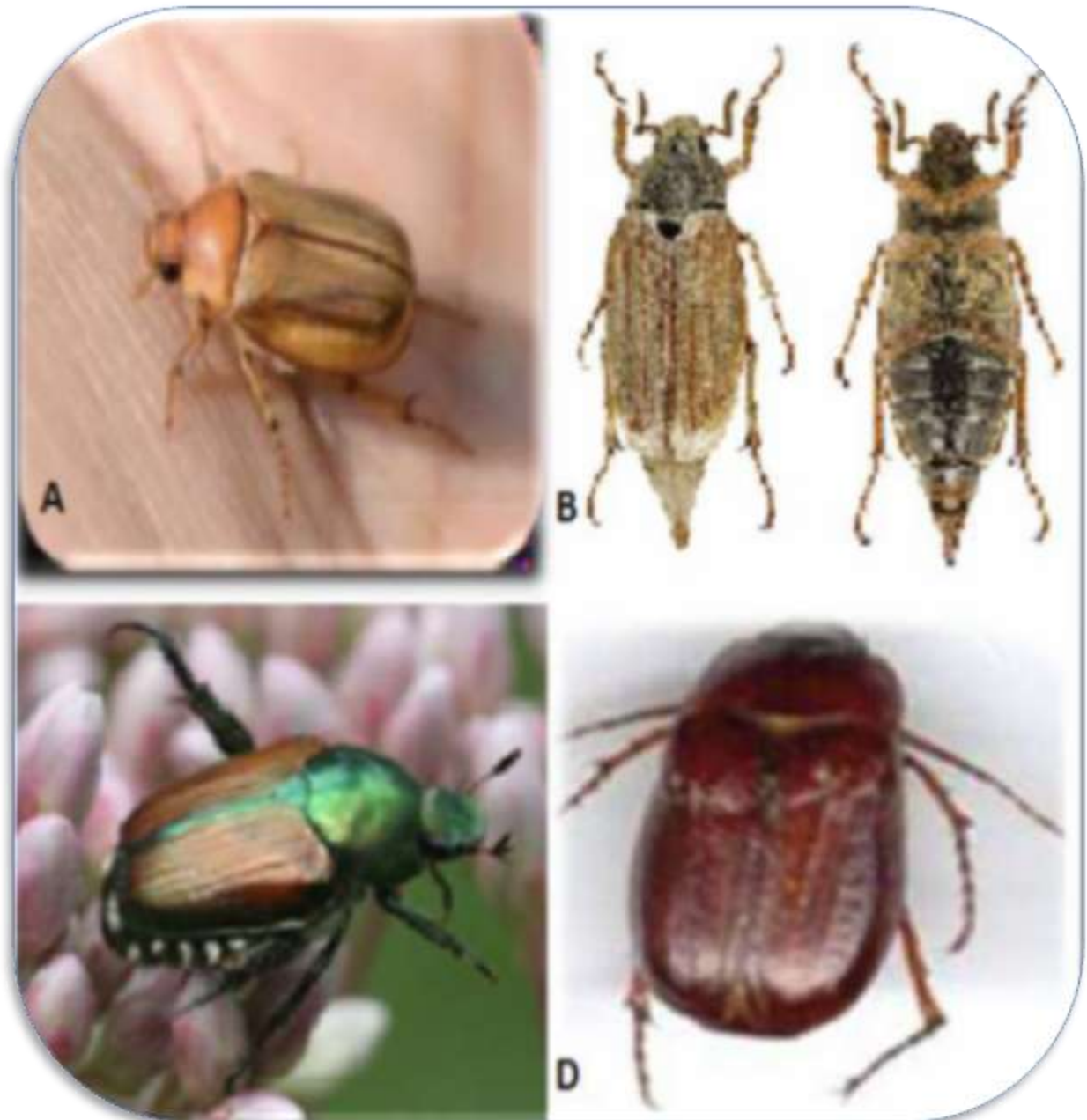


Planche 01 : Espèces des hannetons. **A :** hanneton Européen (*Rhizotrogus majalis*), **B :** hanneton commun (*Phyllophaga* sp.), **C :** scarabée japonais (*Popillia japonica*) et **D :** ver blanc des céréales (*Geotrogus deserticola*) (Bousnane et Ghani, 2017)

V. Plantes hôtes

Les vers blancs sont extrêmement polyphages et leurs habitudes alimentaires diffèrent selon leur stade de développement, les larves, qui ont une mobilité réduite, se nourrissent principalement de racines des pelouses. Cependant, elles peuvent aussi s'attaquer à un large éventail de cultures, dont le maïs, le soya, les céréales (figure 06(A)), les cultures fourragères, la pomme de terre, la betterave, le haricot, la tomate, les vignobles (figure 06(B)), plusieurs cultures ornementales ainsi qu'à de nombreuses mauvaises herbes. Au fur et à mesure que les larves consomment le système racinaire, les plantes attaquées flétrissent et dépérissent. Sur végétaux ligneux, les attaques du système racinaire peuvent causer de gros dégâts, surtout sur sujets jeunes et en sols sableux (Jean et *al.*, 2015).



Figure 06 : Dégâts des vers blancs. **A** : sur céréale (I.N.P.V, 2015) et **B** : sur vignoble (Bousnane et Ghani, 2017).

VI. Méthode de lutte

Plusieurs méthodes de lutte ont déjà fait l'objet d'études, mais la lutte chimique demeure jusqu'à présent l'arme la plus utilisée pour minimiser les dégâts des vers blancs dans les cultures.

VI.1 Lutte chimique

A. Traitement automnale: Consiste à un procéder de l'épandage du produit insecticide entre les lignes de la vigne, qui sera suivi d'un laboure du sol par "cover cropping" afin d'assurer la pénétration de produit. Il existe encore une autre méthode de lutte qui consiste en l'enrobage de la semence de céréales par un insecticide approprié. C'est une opération qui permet d'éloigner les vers blancs du système racinaire après le stade de levée des céréales (INPV, 2015).

B. Traitement printanière: Le traitement est localisé au niveau des parcelles de céréales (bordure des zones nues). Cette méthode est à appliquer pour les parcelles des céréales infestées de 5 à 9 larves/m². La quantité de produit utilisé est la moitié de celle recommandée pour le traitement intégral. Il est recommandé d'effectuer ce traitement de préférence 10 à 15 jour avant les semis. Il faut maintenir les traitements engagés durant une période d'au moins deux années successives pour parvenir à rompre le cycle biologique de l'insecte en question et de juguler le niveau de population (INPV, 2015).

VI.2 La lutte culturale

Les larves sont très sensibles aux chocs, ainsi qu'à la déshydratation. Durant l'été les vers blancs se tiennent dans la couche superficielle du sol où ils dévorent les racines. C'est à ce moment-là (avant la mi-septembre) que le traitement mécanique à l'aide d'outils à dents, fixes ou animées, ou à disques est le plus efficace. Le labour quand il bouscule profondément le sol et remonte en surface les larves, ce qui les expose au soleil et aux oiseaux (figure 07). D'ailleurs, c'est sans doute le changement des pratiques agricoles dans la plupart des régions, avec le retournement régulier des prairies de fauche ou leur mise en culture, qui est à l'origine de la baisse spectaculaire de présence du ver blanc. Cette méthode est cependant difficile à appliquer en forêt en raison de la présence de nombreuses souches et racines. De plus une fois la plantation réalisée, l'intervention sera limitée aux interlignes (Abgrall, 1991).

En zone connue par la présence de hannetons, il est conseillé de vérifier la présence ou absence de vers blancs dans toutes surfaces à planter par quelques sondages et le cas échéant d'effectuer un labour au cours de l'été avant plantation. (Abgrall, 1991).



Figure 07: Oiseaux prédateurs des vers blancs (Bousnan et Ghani, 2017)

VI.3 Lutte biologique

Afin d'assurer une protection phytosanitaire et un rendement soutenu de la productivité agricole, il est important de développer des approches à risque réduit pour l'environnement afin de lutter contre les populations d'insectes nuisibles. Plusieurs solutions sont proposées pour remplacer l'emploi des produits chimiques. La lutte biologique représente toute forme d'utilisation d'organismes vivants ayant pour but de limiter ou contrôler la pullulation et/ou la nocivité des divers ennemis des cultures.

Les nichoirs à oiseaux attirent les prédateurs naturels (étourneaux sansonnets, carouges) des vers blancs (figure 07). Les concepts écologiques de lutte biologique et de lutte intégrée sont des alternatives à considérer (Coderre et Vincent, 1992).

Les insectes prédateurs bénéfiques, comme les fourmis, se nourrissent d'œufs de hanneton. Certaines guêpes parasitoïdes (scolies du genre *Tiphia*) et mouches (tachinaires du genre *Hyperecteina*) aident à contrôler les populations de hanneton avec un taux de parasitisme pouvant atteindre 75% chez *Amphimallon solstitialis*. Quelques espèces sont spécifiques à un seul type de hanneton, mais d'autres peuvent lutter contre plusieurs espèces dans une région donnée.

Les entomopathogènes comme les espèces des genres *Beauveria* (figure 08), *Metarhizium*, *Verticillium*, *Erynia*, *Hirsutella*, *Entomophthora* et *Entomophaga*, sont les plus utilisées en lutte biologique, elles infectent leurs hôtes en pénétrant par la cuticule grâce à diverses enzymes libérées lors de la germination des spores (Nicolai et Jorgen, 2007).

L'utilisation de prédateurs ou parasites pour lutter contre les pullulations de hannetons a fait l'objet de recherche dès la fin du 19ème siècle. Aux USA, un nématode *Neoplectana glaseri* Steiner (Rhabditoidea) spécifique des lamellicornes, dont l'élevage en masse est facile, a été utilisé contre le hanneton japonais (*Popillia japonica*).



Figure 08: Symptôme de la muscardine blanche causé par *Beauveria bassiana* (Michael, 2002).

CHAPITRE II

Champignons entomopathogènes

Introduction

Les premières observations scientifiques des champignons entomopathogènes ont eu lieu aux environs des années 1830, avec l'ouvrage de (Bassi, 1835) sur la muscardine du ver à soie. Parmi les microorganismes utilisés en lutte biologique, plus de 700 espèces de champignons sont entomopathogènes (Starnes et *al.*, 1993) et jouent un rôle important dans la régulation naturelle des populations d'insectes (Wraight et Roberts, 1987).

Ces champignons entomopathogènes sont des agents de lutte de grand intérêt puisqu'ils ont l'avantage d'affecter tous les stades de développement de l'insecte, y compris les œufs (Ferreira et *al.*, 2005). Des études réalisées sur différents isolats fongiques ont montré que les entomopathogènes comme *Beauveria bassiana* et *Metharizium anisopliae* peuvent être des agents prometteurs pour le contrôle du phytophage (Torres-Gregorio et *al.*, 2009).

I. Les Champignons entomopathogènes

Les entomopathogènes sont des agents pathogènes qui provoquent des maladies chez les insectes, ceux qui s'attaquent à des ravageurs des cultures présentent donc un intérêt pour la lutte biologique (Lydie, 2010). Ils appartiennent à plusieurs taxons à savoir les virus, les bactéries, les champignons, les nématodes et les protozoaires. (Ignoffo, 1973).

Parmi les micro-organismes utilisés en bio-contrôle, plus de 700 espèces de champignons sont entomopathogène (Starnes et *al.*, 1993) et jouent un rôle important dans la régulation naturelle des populations d'insectes (Wraight et Roberts, 1987).

Les espèces des genres *Beauveria*, *Metarrhizium*, *Verticillium*, *Erwinia*, *Hirsutella*, *Entomophthora* et *Entomophaga*, sont les plus utilisées en lutte biologique (Goettel, 1992). Le potentiel des champignons entomopathogènes comme agents de protection biologique, résulte des propriétés des populations de l'hôte, du pathogène et des conditions du milieu. Leur sensibilité vis-à-vis les conditions environnementales (rayonnement solaire, température, humidité) reste leur principal inconvénient (Silvy et Riba, 1999). Un certain nombre de mycoses se manifestent par des envahissements superficiels, n'entraînant pas de troubles sérieux. Mais la majorité des champignons entomopathogènes infectent leurs hôtes en pénétrant par la cuticule grâce à diverses enzymes libérées lors de la germination des spores (Nicolai et Jorgen, 2007).

I.1 Position systématique des champignons entomopathogènes

La taxonomie des champignons entomopathogènes a connu un grand intérêt à partir des années 70 (Feng et *al.*, 1994). Selon la classification d'Ainsworth et Bisby (1971) in Hawksworth et *al.* (1983), les champignons entomopathogènes appartiennent à quatre groupes: les champignons imparfaits, les Entomophtorales, les Coelomomyces et les Ascomycètes.

A présent, la systématique ou l'étude de la diversité biologique en vue de sa classification, se concentre, à la lumière des découvertes récentes, sur une classification phylogénétique remplaçant la classification classique (Saiah, 2014). La classification classique établit des groupes ou taxons en fonction d'un simple critère de ressemblance globale. Une classification phylogénétique suppose que l'on regroupe les êtres vivants en fonction de leurs liens de parenté (Vega et *al.*, 2012).

A la suite de l'avènement de la biologie moléculaire, de nombreux concepts taxonomiques (règne, embranchement) ont changé. Cela va conduire à l'abandon des termes de Deutéromycètes, hyphomycètes et Fungi Imperfecti (Blackwell et *al.*, 2006), dans lequel de nombreux champignons entomopathogènes ont été habituellement classés, et leur reclassement dans le phylum Ascomycota (Humber et Hansen, 2005). D'après Vega et *al.* (2012), les champignons entomopathogènes appartiennent à quatre divisions différentes: Chytridiomycota, Zygomycota, Basidiomycota et Ascomycota. Le tableau 01 regroupe plusieurs espèces de champignon appartenant à différents phylums et reconnu comme étant entomopathogènes.

Tableau 01: Champignons entomopathogènes appartenant à différents Phylums (Saiah, 2014 in Badaoui, 2017)

Phyllum	Genre	Espèce	Auteur
Zygomycota	<i>Batkoa</i> Humber	<i>B. apiculata</i> et <i>B. major</i>	Balazy, 1993
	<i>Conidiobolus</i> Brefeld	<i>C. coronatus</i>	Soper et al., 1988
		<i>C. obscurus</i> et <i>C. thromboides</i>	Humber, 2012
	<i>Entomophaga</i> Batko	<i>E. aulicae</i> , <i>E. maimaiga</i> et <i>E. grylli</i>	
		<i>E. calopteni</i>	Humber, 1989
	<i>Entomophthora</i> Fresenius	<i>E. culicis</i> et <i>E. muscae</i>	Keller, 2002
		<i>E. planchoniana</i>	Humber, 2012
	<i>Erynia</i> Nowakowski	<i>E. aquatica</i> et <i>E. rhizospora</i>	Keller, 1991
		<i>E. conica</i>	Balazy, 1993
		<i>E. ovispora</i>	Humber, 2012
	<i>Furia</i> Batko	<i>F. americana</i>	Keller, 1991
		<i>F. F. virescens</i>	Balazy, 1993
<i>Massospora</i> Peck	<i>M. cicadina</i>	Humber, 2012	
<i>Neozygites</i> Witlaczil	<i>N. fresenii</i> , <i>N. parvispora</i> et <i>N. floridana</i>		
	<i>Pandora</i> Humber		<i>P. blunckii</i> et <i>P. neoaphidis</i>
<i>Zoophthora</i> Batko	<i>Z. phalloides</i> et <i>Z. phytonomi</i>		
	<i>Z. radicans</i>	Balazy, 1993	
Basidiomycota	<i>Septobasidium</i>	<i>Septobasidium sp</i>	Henk et vilgalys, 2007
	<i>Auriculoscypha</i>	<i>Auriculoscypha sp</i>	
	<i>Uredinella</i>	<i>Uredinella,sp</i>	
	<i>Coccidioidictyon</i>	<i>Coccidioidictyon sp</i>	Sung et al., 2007
	<i>Ordonia</i>	<i>Ordonia sp</i>	
Ascomycota	<i>Aschersonia</i>	<i>A. aleyrodis</i>	Chaverri et al., 2008.
		<i>A. Montagne</i>	Liu et al., 2006;
	<i>Ascospaera</i> Spiltoir	<i>A. aggregata</i>	Anderson et al. 1998.
	<i>Beauveria</i> Vuillemin	<i>B. bassiana</i> (Balsamo)	Rehner et al., 2011
		<i>B. brongniartii</i> (Saccardo)	
	<i>Cordyceps</i>	<i>C. militaris</i> et <i>C. tuberculata</i>	Kepler et al., 2012
	<i>Fusarium</i> Link	<i>Fusarium sp</i>	O'donnell et al., 1998
	<i>Gibellula</i> Cavara	<i>G. pulchra</i> et <i>G. leiopus</i>	Tzean et al., 1997
	<i>Hirsutella</i> Patouillard	<i>H. saussurei</i>	Rombach et Roberts, 1989
		<i>H. thompsonii</i>	Hodge et al., 1996
	<i>Hymenostilbe</i> Petch Emend.	<i>H. citrifomis</i>	Humber, 2012
		<i>H. rhossiliensis</i> et <i>H. saussurei</i>	Hodge et al., 1996
		<i>H. thompsonii</i>	Rombach et Roberts, 1989
	<i>Isaria</i> Persoon	<i>I. farinosa</i> et <i>I. fumosorosea</i>	Humber, 2012
	<i>Paecilomyces</i> Bainier	<i>P. lilacinus</i>	
	<i>Lecanicillium</i> Gams et Zare	<i>L. lecanii</i>	Zare et al., 2001.
	<i>Metarhizium</i> Sorokin	<i>M. anisopliae</i>	Bischoff et al., 2009
		<i>M. flavoviride</i>	Driver et al., 2000
		<i>M. majus</i> et <i>M. acridum</i>	Kepler et al., 2012.
<i>Nomuraea</i> Maublanc	<i>N. rileyi</i>	Kepler et al., 2012	
<i>Tolypocladium</i>	<i>T. niveum</i>	Humber, 2012	
	<i>T. cylindrosporum</i>	Hodge et al., 1996	
<i>Torrubiella</i> Boudier	<i>T. ratticaudata</i>	Sato et al., 2010	
	<i>T. aranicida</i>	Sung et al., 2007	

II. Mode d'action des champignons entomopathogènes

Généralement, les champignons entomopathogènes tuent ou réduisent la vigueur des hôtes qu'ils infectent. Ces ennemis naturels sont plus efficaces lorsque l'insecte ciblé est préalablement affaibli par un autre facteur comme un stress nutritif. Compte tenu de leur mode de transmission et de leurs besoins abiotiques, ils sont généralement très efficaces lorsque la densité des populations d'insectes ciblés est très élevée, quoi qu'il en soit, le système immunitaire des insectes peut fortement influencer la pathogénicité de ces ennemis naturels (Benserradj, 2014).

La cuticule de l'insecte est une barrière structurellement et chimiquement complexe pour la pénétration du champignon. Les champignons peuvent infecter les insectes par pénétration directe à travers la cuticule (Clarkson et Charnley, 1996), au contact de la cuticule de l'insecte, la spore, l'unité infectieuse du champignon, germe et pénètre au travers du tégument en combinant des pressions mécanique et enzymatiques (St Leger, 1993).

Le champignon croit rapidement dans l'hémocoèle. Les insectes susceptibles au champignon meurent généralement dans un délai de 3 à 10 jours. Quand l'insecte meurt, le champignon entre dans un stade hyphale, colonise les organes internes puis sporule à la surface de l'insecte. Le cycle infectieux est généralement le même pour tous les champignons entomopathogènes le processus de pénétration est l'étape la plus importante de la pathogène. Le mode d'infection des champignons entomopathogènes se divise en quatre étapes distinctes ; l'adhésion, la germination, la pénétration et la dissémination (Figure 09) (Ferron et *al.*, 1993).

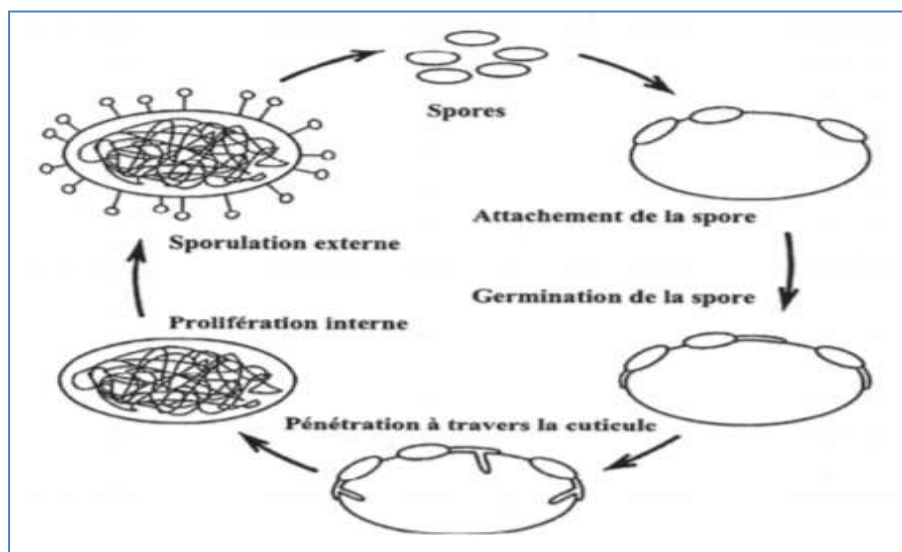


Figure 09: Schéma du cycle biologique des champignons entomopathogènes (Ferron et *al.*, 1993)

III. Exemples des champignons entomopathogènes

Une quinzaine d'espèces de champignons entomopathogènes ont été identifiées pour leurs effets contre certains ravageurs. Parmi celles-ci, l'hyphomycète *Beauveria bassiana* vient certainement en première place, notamment en considérant la diversité des ravageurs pouvant être affectés par ce champignon (Coderre et Vincent, 1992). Mais il y a aussi *Aspergillus* sp., *Rhynia radicans*, *Fusarium* sp. et *Paecilomyces farinosus*.

III.1 *Fusarium* sp.

Les espèces de *Fusarium* sont connues pour leur abondance dans la nature et leurs diverses associations avec des plantes et des animaux vivants et morts. Chez les animaux, le *Fusarium* se trouve principalement en relation avec les insectes, la plupart des espèces sont saprotrophes et des membres relativement abondants du microbiote du sol (Leslie et Summerell, 2006). La littérature des 50 dernières années comprend les relations non pathogènes et pathogènes entre le *Fusarium* et les insectes. Une attention particulière est accordée à la gamme d'hôtes, en particulier entre les plantes et les insectes, et au potentiel microbien possible du champignon pour lutter contre les insectes nuisibles.

III.1.1 Taxonomie

Selon Butler et Hafiz Khan (1971), la classification récente de *Fusarium* sp. est comme suit:

Règne : *Fungi*

Phylum : *Ascomycota*

Sous-phylum : *Pezizomycotina*

Classe : *Sordariomycete*

Sous-classe : *Hypocreomycetidae*

Ordre : *Hypocreale*

Famille: *Nectriaceae*

Genre: *Fusarium*

Espèce: *Fusarium* sp.

III.1.2 Morphologie

Cette espèce forme des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur blanche puis devient rose claire par la suite. Le principal caractère morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées (figure 10).

Le thalle végétatif des conidiophores courts et souvent ramifiés. Ils portent des phialides qui peuvent avoir un ou plusieurs sites de bourgeonnement pour la production des conidies. Les phialides sont courtes, larges et formées sur le mycélium aérien ; les microconidies sont absentes ; les macroconidies sont fusiformes courbées et septés; les chlamydozoospores sont intercalaires ou terminales formées par le mycélium ou par les conidies.

Le diagnostic d'espèce repose sur l'aspect des colonies (pigmentation), mais surtout sur la morphologie microscopique: présence d'un seul type ou deux types de spores, disposition en chaîne ou en amas des micronides, taille des phialides et nombre de sites de logettes, aspect de la cellule podale, abondance des chlamydozoospores.

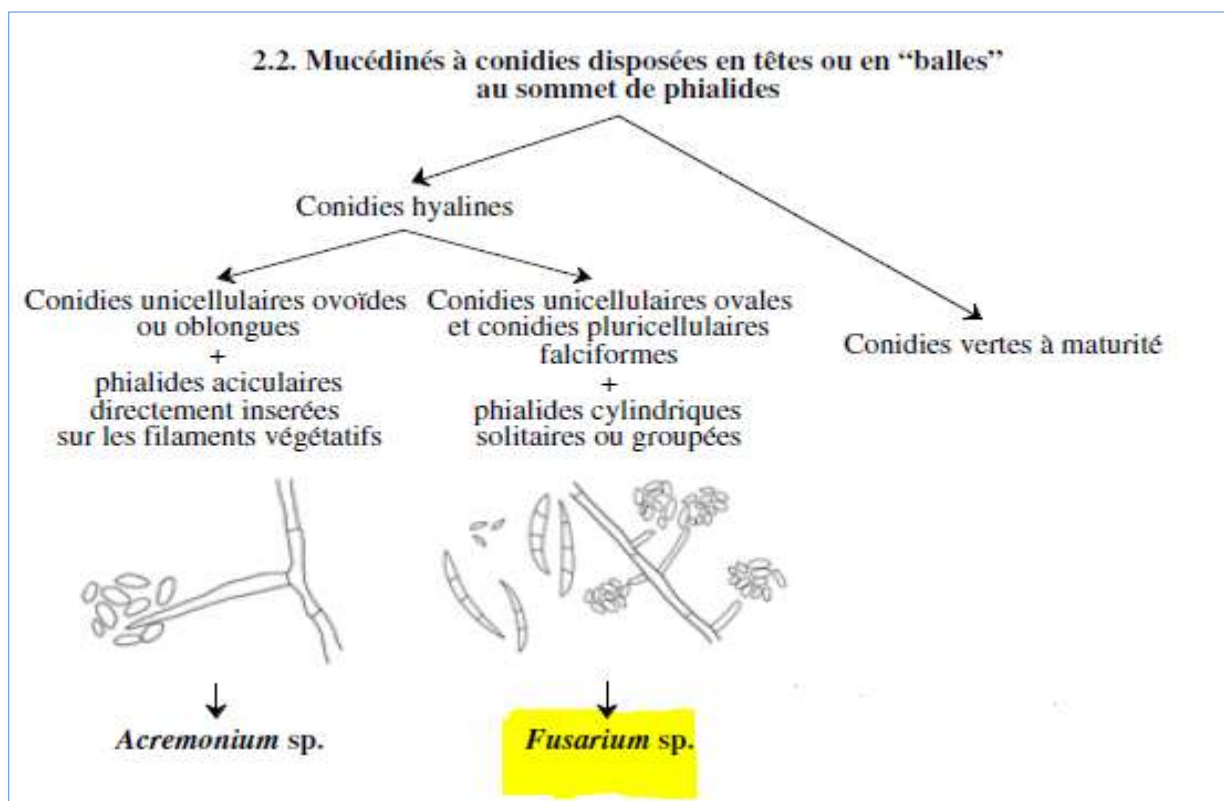


Figure 10: Clé d'identification des Mucédinés à conidies disposées en têtes (*Fusarium* sp.)

(Chabasse et *al.*, 2002).

IV. Les toxines fongiques

Les mycotoxines sont des composés naturels toxiques, élaborés par de nombreuses espèces de moisissures. Ce sont des métabolites secondaires produits par les champignons et n'ayant pas de rôle évident dans l'économie de la cellule vivante qui les synthétise. Ces mycotoxines présentent des origines chimiques très diverses correspondant à la différence de leurs voies de biosynthèse: il s'agit de composés dérivés des acides aminés.

La beauvericine est une mycotoxine célèbre produite par de nombreux champignons, tels que *Beauveria bassiana* et *Fusarium sp.* (Logrieco et al., 1998). La beauvericine est un hexadepsipeptide cyclique (Figure 11) qui appartient à la famille des antibiotiques enniatins. Sa structure est semblable à celle des enniatines, qui sont également produites par plusieurs espèces de *Fusarium*, mais la beauvericine diffère par la nature de l'acide N-méthylamino. En raison de cette différence entre la beauvericine et les enniatines, leur bioactivité est évidemment différente (Shin et al., 2009).

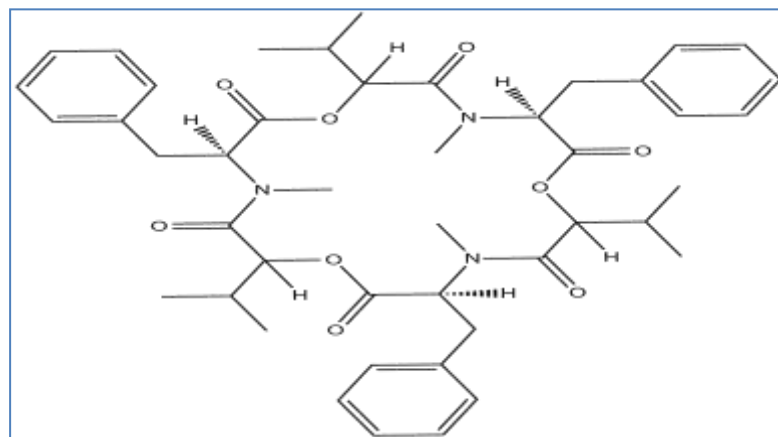


Figure 11: Structure chimique du Beauvericine

IV.1 Activité insecticide du Beauvericine

L'activité insecticide de la beauvericine a été découverte pour la première fois par Hamill et ses collaborateurs en 1969. La Beauvericine a été confirmée en tant que composé actif de *B. bassiana* contre *Artimia salina*, considéré comme un organisme modèle pour étudier l'activité insecticide. Par la suite, l'effet insecticide de la beauvericine au niveau du microgramme a été étudié sur *Calliphora erythrocephala*, *Aedes aegypti*, *Lygus spp.*, *Spodoptera frugiperda* et *Schizaphis graminum* (Jestoi, 2008). Bien que la Beauvericine ait une forte activité insecticide contre un large spectre d'insectes nuisibles, elle a été appliquée comme agent insecticide du commerce pour deux raisons principales:

- Premièrement, en raison du mouvement des insectes, l'utilisation d'un champignon entomopathogène produit de la beauvericine comme agent insecticide a des avantages que l'utilisation directe du composé. Le champignon entomopathogène pourrait se propager dans les corps d'insectes et se propager largement par le mouvement des insectes. Le champignon entomopathogène donnerait une bonne efficacité de contrôle des insectes même si une petite quantité des spores du champignon entomopathogène était utilisée.
- Deuxièmement, une évaluation minutieuse de la production de beauvericine devrait garantir que celle-ci ne s'augmente pas au-delà des seuils fixés par l'EPA (Leland et al., 2005). Bien que la beauvericine ne soit pas appliquée directement en tant que agent insecticide du commerce, le mécanisme insecticide de la beauvericine mérite toujours d'être étudié. Il existe peu de rapports sur le mécanisme insecticide de la beauvericine. Malgré les similitudes entre les structures chimiques de la beauvericine et d'autres mycotoxines cycliques de l'hexadepsipeptide, la beauvericine est plus efficace contre *Aedes aegypti* (Grove et Pople, 1980) et peut avoir un mécanisme d'action unique. La découverte du mécanisme actif de la beauvericine contre les insectes sera utile pour trouver de nouveaux insecticides, réduisant la menace des agents insecticides pour les cellules humaines et révélant le mécanisme d'autres mycotoxines.

CHAPITRE III

Plantes aromatiques étudiées

Introduction

Les produits biodégradables provenant de plantes constituent une bonne alternative qui permet aux producteurs de pouvoir assurer la protection de leurs cultures à un coût relativement faible. En même temps la réduction de l'emploi des pesticides chimiques due à l'utilisation des extraits des plantes contribue énormément à la réduction de la pollution de l'environnement et cela permet également d'améliorer la santé publique des populations (Bonzi, 2007).

La famille des Lamiacées connue également sous le nom des Labiées, comprend environ 258 genres pour 6900 espèces plus ou moins cosmopolites, mais dont la plupart se concentre dans le bassin méditerranéen tel que le thym, la lavande et le romarin. La plupart des genres ont une importance économique due à leur richesse en huiles essentielles (HEs) et leur utilisation en tant que condiments ainsi que infusions très prisées (Botineau, 2010). La production des huiles essentielles à partir des plantes aromatiques pourrait constituer à ce titre une source économique importante pour notre pays (Bouhaddouda, 2016).

Dans le deuxième chapitre de la partie expérimentale, notre travail a porté sur l'étude de l'effet insecticide des huiles essentielles de quatre espèces de la famille des Lamiacées : *Lavandula* sp., *Origanum* sp., *Salvia* sp. et *Thymus* sp..

I. Plantes aromatiques étudiées

I.1 Lavande

La lavande est un sous-arbrisseau de la famille des Lamiacées à tiges et feuilles persistantes, atteignant jusqu'à 1 mètre de longueur, de couleur vert pâle, avec des fleurs bleu-violet (Quezel et Santa, 1962). Elle est utilisée depuis longtemps en médecine traditionnelle comme anticonvulsivant et antispasmodique (Gilani et al., 2000), comme traitement pour diverses maladies du centre système nerveux (épilepsie et migraine) (Nadkarni, 1982). L'huile essentielle de cette plante est utilisée en parfumerie et la cosmétique, (Gilani et al., 2000).



Figure 12 : Partie aérienne de la lavande

I.2 Origan

Le terme origan provient du latin *Origanum*, lui-même issu de grec origanon. En le décomposant étymologiquement, on trouve oros, la montagne et ganos, éclat, aspect riant, d'où la signification « qui se plaît sur la montagne ». L'origan ornait les montagnes méditerranéennes en abondance et assurait leur beauté (Dubois et *al.*, 2005).

Le genre *Origanum* comprend environ 70 espèces, sous-espèces, variétés et hybrides, caractérisés par une extrême variabilité dans leurs caractères morphologiques (longueur de la tige, arrangement, nombre et longueur des branches, formes des feuilles,...) (Kintzios, 2002).



Figure 13 : Fleurs d'*Origanum vulgare* (Bigou, 2013)

I.3 Sauge

Le genre *Salvia* comprend près de 1000 espèces à travers le monde, et représente l'un des plus grands genres dans la famille des Lamiacées (Lakušić et *al.*, 2013). La sauge est une plante annuelle et biennale d'origine méditerranéenne, elle préfère les terrains chauds et calcaires (Djerroumi et Nacef, 2004).

En Algérie les espèces qui ont été déterminées sont dans l'ordre d'une trentaine. Plusieurs appellations ont été données à la sauge. Selon Ibn El Beytar, les andalous la nomment «essalma» qui ajoute qu'elle est appelée «salbia» par les botanistes en Espagne. L'algérien indique l'expression «souekennebi» comme synonyme de saleme (Khireddine, 2013).



Figure 14 : Partie aérienne de la sauge (Belabbas et Riad, 2019)

I.4 Thym

Le genre *Thymus* est l'un des 220 genres les plus diversifiés de la famille des labiées. Comme beaucoup de labiées elles sont connues pour leurs huiles essentielles aromatiques (Morales, 2002). Le nom "*Thymus*" dérive du mot grec «thymos» qui signifie parfumer à cause de l'odeur agréable que la plante dégage (Pariente, 2001). Le thym est un élément caractéristique de la flore méditerranéenne, connue surtout pour ses qualités aromatiques, il a aussi de très nombreuses propriétés médicinales



Figure 15: Partie aérienne de *Thymus vulgaris* (Roubaudi, 2006)

II. Propriétés insecticides des plantes

Il existe un grand nombre de plantes qui ont des propriétés pesticides, les flores locales cultivées ou spontanées offrent beaucoup de possibilités pour la lutte phytosanitaire, un exemple bien connu est celui du Neem ou Margousier d'Inde (*Azadirachta indica*), un arbre présent un peu partout en Afrique, toutes ses parties, mais surtout ses graines, contiennent une substance active (azadirachtine) que l'on peut utiliser comme insecticide, et qui est efficace contre un grand nombre d'insectes tels que la noctuelle de la tomate (*Helicoverpa armigera*), la teigne des choux (*Plutella xylostella*), la coccinelle des cucurbitacées (*Henosepilachna elaterii*), les thrips et les pucerons. Les autres produits végétaux possédant des propriétés insecticides sont le pyrèthre, la roténone (extraite du Derris), le piment, l'ail, le curcuma ou le tabac dont les extraits sont surtout efficaces contre les pucerons et les thrips (P.I.P, 2011).

En outre, beaucoup d'autres plantes ont des effets insectifuges (basilic, carotte citronnelle, écorce de citrus, eucalyptus, oignon, tagète et même les feuilles de tomate), fongicides (ail, amarante, manioc amer, oignon, papayer, piment rouge, ricin), nématodes (crotalaire, lilas de Perse, ricin, tagète). Leur efficacité dépend de l'organe de la plante utilisé (graines, écorce, feuilles, tiges, bulbes) et du moment de prélèvement de celui-ci (P.I.P, 2011).

III. Cibles des toxines naturelles des plantes

Les substances actives contenues dans ces plantes agissent de différentes manières sur les maladies et insectes, pour les maladies, elles inhibent le développement des champignons et efforcent les défenses immunitaires des plantes contre la plupart des parasites (mildiou, oïdium). Sur les insectes, elles ont un :

- a) Effet répulsif : les insectes sont repoussés par le goût et l'odeur de ces substances.
- b) Effet insecticide : par ingestion des feuilles traitées, certains insectes meurent.
- c) Effet sur le comportement sexuel : après traitement avec certaines plantes alternatives, on constate un changement de comportement ou de diminution de la capacité de reproduction pouvant aller jusqu'à la stérilité complète de l'insecte.
- d) Effet physique : une toxicité de contact qui provient de la formation d'un film imperméable sous forme de cuticule isolant l'insecte de l'air et provoquant son asphyxie.
- e) Effet sur le système nerveux : Parmi les molécules qui agissent sur le système nerveux des insectes, les plus connues appartiennent généralement au groupe des alcaloïdes, des pyréthrinoïdes et des huiles essentielles (Abbad et Abbad, 2015).

IV. Les huiles essentielles (HE)

Les huiles essentielles des plantes font partie ces dernières années des voies les plus explorées dans la régulation des ravageurs. Elles peuvent être utilisées comme une alternative aux insecticides synthétiques pour les programmes de lutte antivectorielle (Govindarajan et al., 2013). Ce sont à la fois des insecticides de contact qui agissent par leurs propriétés physiques et chimiques, et des adjuvants des molécules liposolubles et dans certains cas des synergistes, leur toxicité s'exprime de différentes manières : activités ovicide, larvicide, anti nutritionnelle et inhalatoire (Regnault-Roger et Hamraoui, 1994).

Mis à part l'inhibition de l'éclosion des œufs, les vapeurs d'huiles essentielles accroissent la mortalité des larves. Papachristos et al. (2002) ont démontré la toxicité de *Lavandula hybrida*, *Rosmarinus officinalis* et *Eucalyptus globulus* sur les œufs d'*Acanthos celidesobtectus* avec une différence de sensibilité significativement corrélée à l'âge. C'est au-delà de trois jours que la sensibilité est la plus forte, probablement à cause d'une plus grande perméabilité du chorion ou de la membrane vitelline facilitant ainsi la diffusion des vapeurs.

En effet, les vertus thérapeutiques des plantes médicinales et aromatiques ont été expérimentées depuis des siècles et la valorisation de leurs huiles essentielles dans différentes applications notamment en tant que anti-inflammatoires, antiseptiques, antifongiques, (Haddouchi et Benmansour, 2008).

Les huiles végétales sont des esters acides gras à poids moléculaire élevé. Elles sont visqueuses, peu volatiles et insolubles dans l'eau. Elles sont divisées en huiles siccatives ou semi siccatives, selon leur capacité à s'épaissir en présence d'oxygène. Leur extraction se fait par pression et qui présentent une toxicité de contacte induite par la formation d'un film imperméable isolant l'insecte de l'air et provoquant son asphyxie (Regnault-Roger et Hamraoui, 1994)

Il existe plusieurs techniques d'extraction des huiles essentielles comme :

- **L'entraînement à la vapeur d'eau** qui est l'une des méthodes officielles pour l'obtention des huiles essentielles. De la vapeur d'eau fournie par une chaudière traverse la matière végétale située au dessus d'une grille. Durant le passage de la vapeur à travers le matériel, les cellules éclatent et libèrent l'huile essentielle qui est vaporisée sous l'action de la chaleur pour former un mélange « eau + huile essentielle ». Le mélange est ensuite véhiculé vers le condenseur et l'essencier avant d'être séparé en une phase aqueuse et une phase organique (Lucchesi, 2005).
- **L'hydrodistillation** qui consiste à immerger la matière première dans un bain d'eau. L'ensemble est porté à ébullition et l'opération est généralement conduite à pression atmosphérique. La distillation peut s'effectuer avec ou sans recyclage communément appelé cohobage. (Hajji et *al.*, 1985).
- **L'extraction par solvants** est une technique qui utilise des solvants comme l'hexane, le toluène ou les dérivés colorés. Le solvant est ensuite éliminé par distillation. Elle ne doit pas être employée si l'huile essentielle préparée est à usage thérapeutique, car il pourrait y rester des traces de solvant. Elle est parfois utilisée dans l'industrie des parfumes (Raynaud, 2006)

Partie expérimentale

CHAPITRE I

Recherche des champignons entomopathogènes

Introduction

Les champignons entomopathogènes sont des agents de contrôle naturels pour de nombreux ravageurs (Carruthers, 1990). Le contrôle biologique par l'utilisation des entomopathogènes, est une technique qui permis la réduction de la densité de la population des ravageurs dans les programmes de lutte intégrée contre les bio-agresseurs.

L'objectif de ce chapitre est la recherche de champignon entomopathogène et l'évaluation de son pathogénicité vis-à-vis les larves du ver blanc.

I. Matériel et méthodes

I.1 Origine de l'isolat

L'insecte utilisé pour l'isolement des microorganismes entomopathogènes appartient à l'ordre des coléoptères (Coleoptera: Scarabaeidae). Il s'agit d'une larve de ver blanc morte présentant des hyphes mycéliens de couleurs jaune et verdâtre (figure 16). Le sujet atteint de mycose a été conservé par notre encadreur au laboratoire dans des conditions semi-contrôlé.



Figure 16: Larve de ver blanc atteinte de mycose (Originale, 2018).

I.2 Isolement et purification

Le cadavre de ver blanc montrant un symptôme de mycose entomopathogène a été découpé. Les fragments de larve sont ensuite déposés directement sur le milieu de culture PDA (Potato-Dextrose-Agar) à raison de deux fragments par boîte Pétri (figure 17). Les boîtes ont été incubées à une température de 25 ° C jusqu'à la multiplication importante du pathogène.

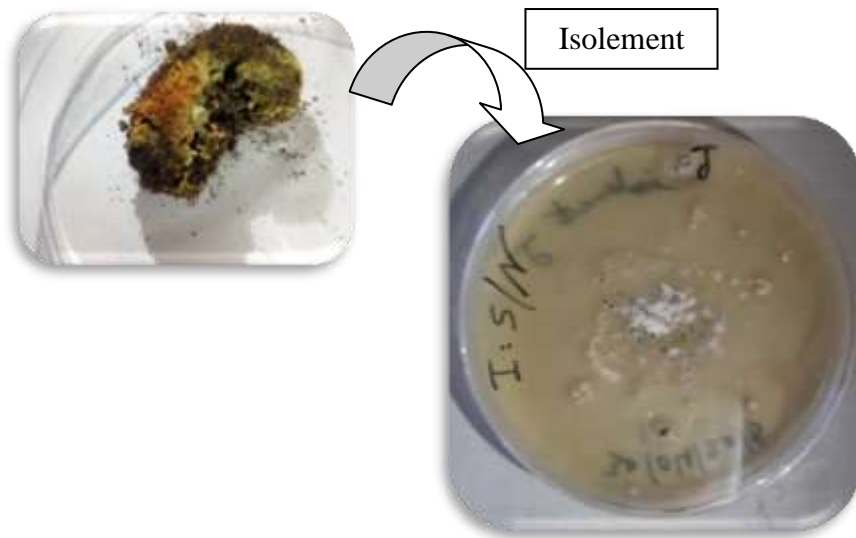


Figure 17 : Isolement du champignon à partir de l'insecte momifié (Originale, 2018).

La purification des isolats développés a été effectuée par des repiquages successifs jusqu'à l'obtention d'une culture pure (figure 18). Le repiquage des champignons à identifier s'est effectué à la suite du prélèvement des explants fongiques qui ne présente aucune contamination en bordure des colonies développées autour de l'insecte. Les fragments du mycélium ont été déposés dans des boîtes de Pétri contenant le milieu de culture PDA ou Sabouraud puis incubées en maintenant les mêmes conditions que précédemment.

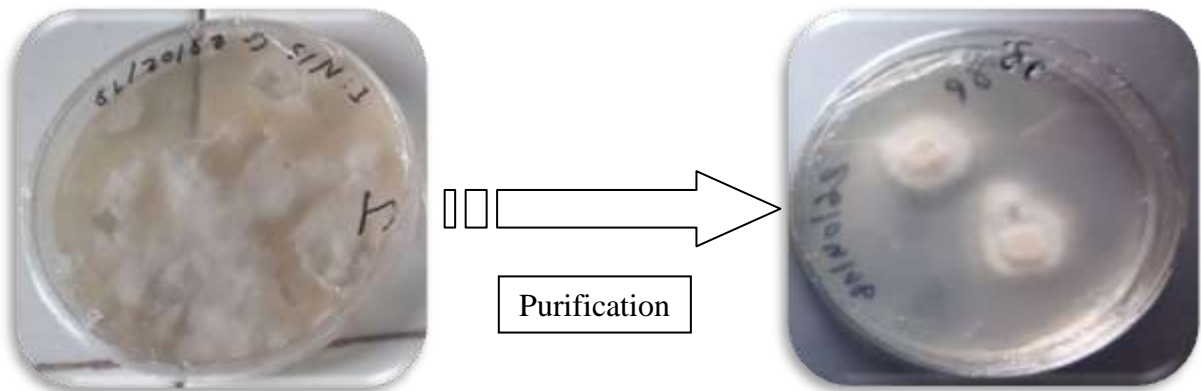


Figure 18 : Purification du champignon (Originale, 2018).

I.3 Identification

L'identification reste l'opération la plus difficile dans le domaine de la mycologie, elle a pour but de classer les souches fongiques par genres et espèces selon les critères d'identification. Elle est basée sur les deux aspects : microscopiques et macroscopiques, (Botton et *al*, 1990).

- L'étude de l'aspect macroscopique des colonies se base en général sur la forme, la taille et la couleur de celle-ci. La technique utilisée est simple, elle consiste à observer à l'œil nu les boîtes de Pétri contenant les champignons purifiés.
- L'identification microscopique prend en considération les caractères suivants : la forme du mycélium, la présence ou l'absence de cloisons, la couleur, le mode de ramification, la forme et la taille des spores.

Un ou plusieurs fragments de culture seront prélevés, et ensuite déposés dans une goutte d'eau entre lame et lamelle. De même, il faut savoir répéter le montage afin de saisir le meilleur moment. La souche purifiée a été identifiée en se basant sur une bibliographie spécialisée à l'identification des moisissures (Chabasse et *al.*, 2002) qui établit des clés de détermination à partir des caractères cultureux et morphologiques.

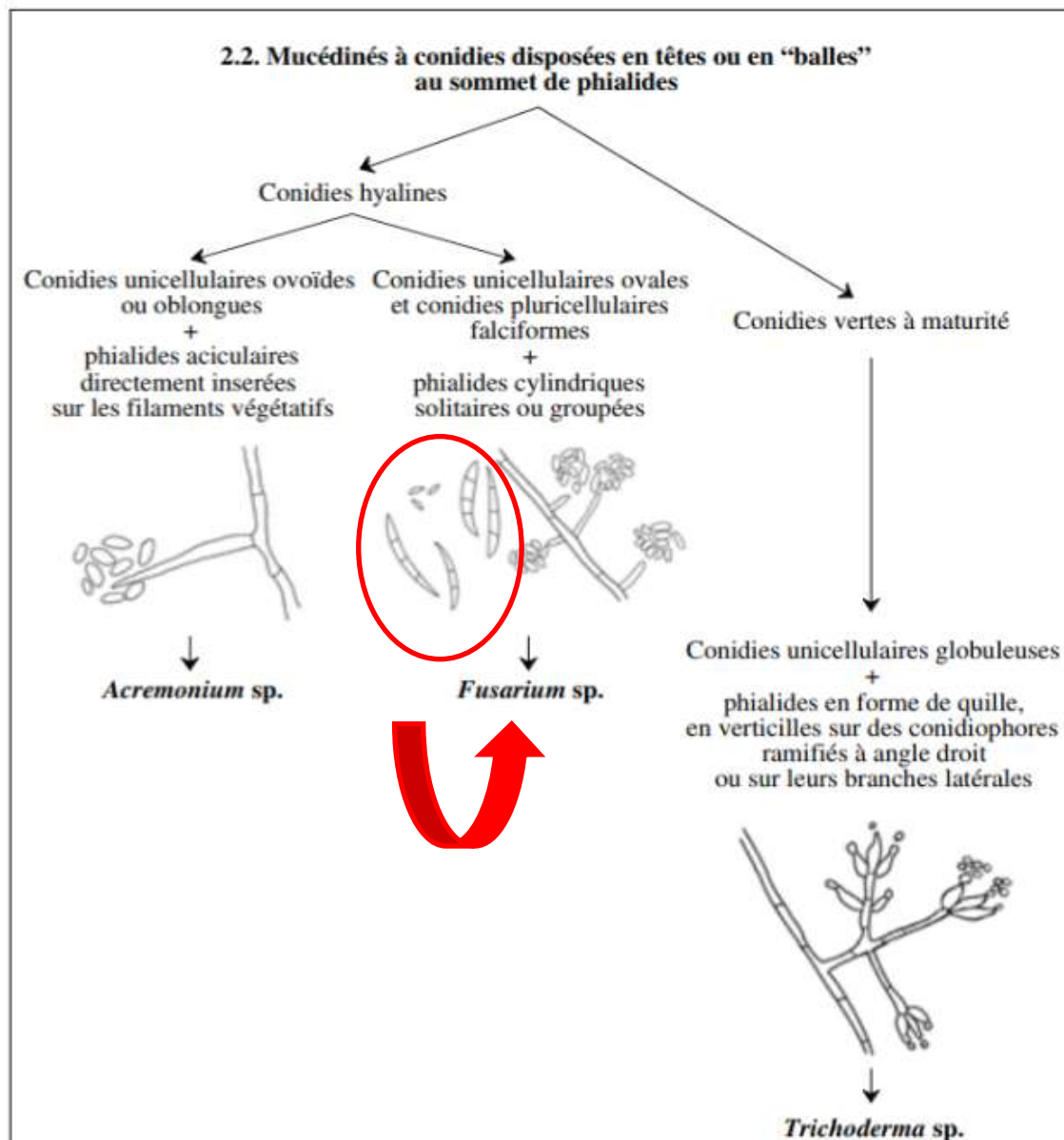


Figure 19 : Clé d'identification des Mucédinés (Chabasse et *al.*, 2002).

I.4 Test de pathogénicité

En 1890, Robert Koch publia ce qu'on a appelé depuis les postulats de Koch, servant à déterminer si une maladie donnée est causée par un microbe donné. Avant toute étude portant sur un agent pathogène isolé d'un insecte contaminé, il faudrait au préalable vérifier, la pathogénicité de ce dernier, afin de confirmer sa causalité dans l'induction des symptômes observés sur l'hôte (Saiah, 2014). C'est dans ce but que s'inscrit la suite de notre travail expérimental qui consiste vérifier l'effet du champignon préalablement isolé et identifié sur les larves du ver blanc.

I.4 Matériel animal

L'insecte étudié dans cette expérimentation est le ver blanc (figure 20), qui est considérée comme l'un des ravageurs nuisibles des cultures. La récolte des larves a été réalisée à proximité du vignoble géré par la ferme expérimentale de Sotravitis, situé à la commune de Stidia à 15 km de la wilaya Mostaganem. .



Figure 20 : Site de la récolte des larves de ver blanc, A: vue aérien de Sotravitis et B: lieu de prélèvement (Bakelli et Habibi 2019).

I.4.2 Méthode d'inoculation

Le traitement consiste à pulvériser l'inoculum cryptogamique additionné d'une goutte de tween 20, sur huit larves de ver blanc réparties de la manière suivante : quatre larves ont été placées dans une boîte en verre stérile et le reste dans une boîte en plastique contenant du sol stérile (figure 21).

Les boîtes ont été incubées à 25°C à l'obscurité afin d'éliminer l'influence de la lumière. Les observations sont notées une semaine après, pour vérifier l'éventuel effet insecticide du germe testé.



Figure 21 : Dispositif expérimental du test de pathogénicité

I.4.3 Ré-isolément du champignon

Les spécimens momifiés suite au traitement fongique ont été découpés puis placés dans le milieu de culture PDA afin d'isoler à nouveau le pathogène pour vérifier si la mortalité est réellement due à l'infestation par ce champignon.

I.5 Etude de la virulence

Afin d'évaluer la sensibilité du ravageur à l'entomopathogène isolé, des essais d'inoculation *in vitro* à base de cet isolat ont été réalisés sur les larves de ver blanc .

I.5.1 Préparation de la solution entomopathogène

La suspension sporale destinée à l'infection des larves, a été obtenue en grattant avec un scalpel la surface des cultures (âgée de 10 à 15 jours et bien sporulée) puis en mettant ce prélèvement dans 20 ml d'eau distillée stérile. Après agitation, et filtration la concentration de la solution entomopathogène a été déterminée en dénombrant les spores par la cellule de Malassez. Une seule dose de 10^7 spores/ml a été appliquée.

I.5.2 Essai biologique

L'inoculation des larves de ver blanc par la suspension des spores de *Fusarium sp.* a été effectuée selon la méthode de pulvérisation. Le produit leur sera administré par voie tégumentaire au moyen d'un pulvérisateur à main contenant la solution entomopathogène.

Deux techniques ont été adoptées la première technique est une confrontation direct champignon- insecte, elle consiste à pulvériser l'inoculum cryptogamique additionné d'une

goutte de Tween 20; sur cinq (05) larves placées dans une boîte en verre stériles dont le fond est recouvert d'une couche de papier absorbant afin d'éliminer l'excès de la solution. Quant aux témoins, ils sont pulvérisés d'eau distillée stérile contenant une goutte de tween 20. Pour la concentration de 10^7 spores/ml ainsi que pour le témoin, trois répétitions ont été réalisées. L'évaluation du pouvoir pathogène a été effectuée sur la base de 15 individus par lot. Les larves traitées ont été maintenues à une température de 25°C à l'obscurité

La même méthodologie utilisée pour la première technique a été adoptée pour la deuxième, sauf que le papier absorbant a été remplacé par le sol stérile (figure 22).

Les observations sont effectuées quotidiennement afin de déterminer l'effet larvicide de *Fusarium* sp. sur les larves du ver blanc. Les comptages des insectes morts sont effectués après 24 heures de contact jusqu'à la mort complète de tous les larves ou leur transformation en nymphes. Les larves mortes ont été examinées afin de vérifier la présence de la muscardine.



Figure 22 : Test de virulence de *Fusarium* sp. (10^7 sp/ml) sur les larves de ver blanc

Pour éliminer tous les risques de mortalité naturelle, Les mortalités dans les boîtes traitées (M1) ont été exprimées selon la formule d'Abbott (1925) en mortalités corrigées (MC), tenant compte des mortalités observées dans les boîtes témoins (Mt) selon la formule suivante :

Mortalité corrigée :

$$(MC \%) = (M1 - Mt) * 100 / (100 - Mt)$$

M1 : est le pourcentage de la mortalité dans le lot traité.

Mt : est le pourcentage de la mortalité dans le lot témoin Pour estimer l'efficacité de champignon.

II. Résultats et discussion

II.1 Identification de la souche fongique isolée

Les observations ont montré la présence d'une souche dont les colonies présentent une couleur et une vitesse de croissance variables en fonction du milieu de culture utilisé (figure 23). Le repiquage sur deux milieux gélosés différents a montré la présence de colonies mycéliennes de couleur jaune à orange et blanche à crème respectivement pour les milieux de culture Sabouraud et PDA.

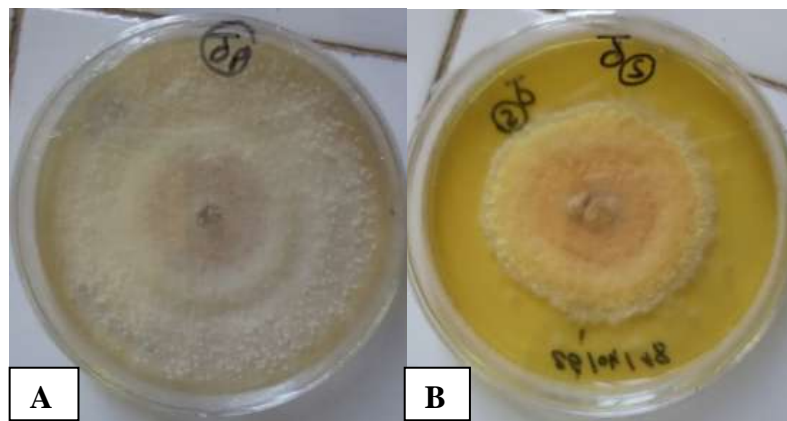


Figure 23 : Aspect macroscopique de *Fusarium sp.* sur milieu de culture (A) PDA et (B) Sabouraud.

L'observation microscopique révèle la présence des macro-conidies fusiformes et cloisonnées (figure 24(B)) caractéristiques du genre *Fusarium*. Ce champignon possède un appareil végétatif constitué des filaments mycéliens hyalins présentant des ramifications et des cloisons. Les phialides sont courtes et larges et formées sur le mycélium aérien.

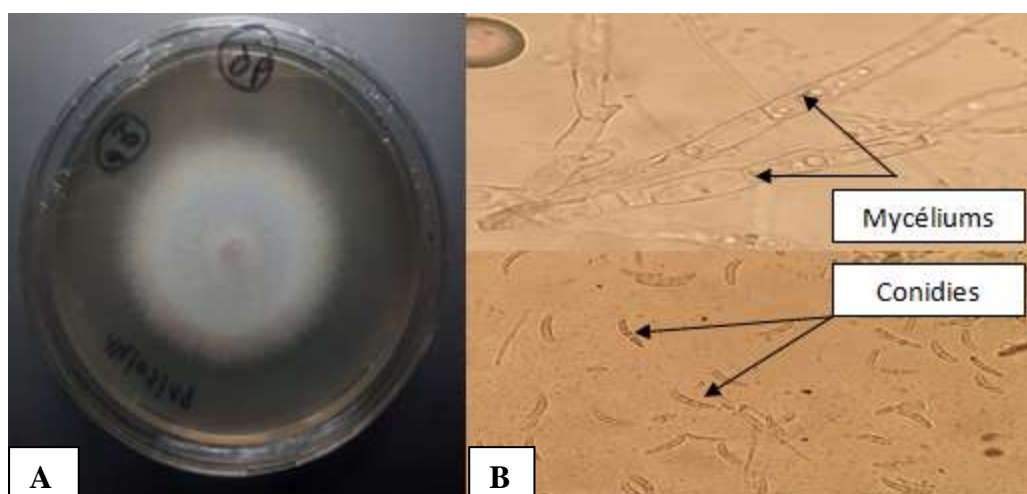


Figure 24 : Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) (x40) de *Fusarium sp.*

II.2 Test de pathogénicité de *Fusarium sp.* sur les larves de ver blanc

La pathogénicité d'un microorganisme induit des symptômes sur les organismes sains inoculés. Ceci peut être vérifié par des contaminations artificielles suivi par le ré-isolement du germe à partir des organismes malades (Saiah, 2014).

La vérification de la pathogénicité de *Fusarium sp.*, a été réalisée par évaluation de son aptitude à induire l'infection et / ou des mortalités chez les larves de ver blanc. En effet, les tests de pathogénicité ont révélé que le traitement a donné lieu à des symptômes de mycose qui diffèrent selon le stade de développement du pathogène dans son hôte. L'entomopathogène autochtone *Fusarium sp.* a été isolé à nouveau à partir des larves mortes ayant présenté un duvet blanc sur la cuticule suite au traitement fongique (planche 01).



Planche 01: Test de pathogénicité de *Fusarium sp.* sur les larves de ver blanc

A ce stade d'étude, on peut avancer que l'entomopathogène autochtone *Fusarium* sp. a un effet sur les larves de ver blanc et peut être considéré comme traitement susceptible d'être préconisé dans le cadre de la lutte biologique contre les ravageurs des cultures.

II.3 Evaluation de l'activité larvicide de *Fusarium* sp. isolé

II.3.1 Confrontation directe en absence du sol

La figure 25 représente les taux mortalité des larves de ver blanc traitée par *Fusarium* sp à la dose de 10^7 spores/ml. Elle montre les variations de mortalité en fonction du temps comparativement au témoin.

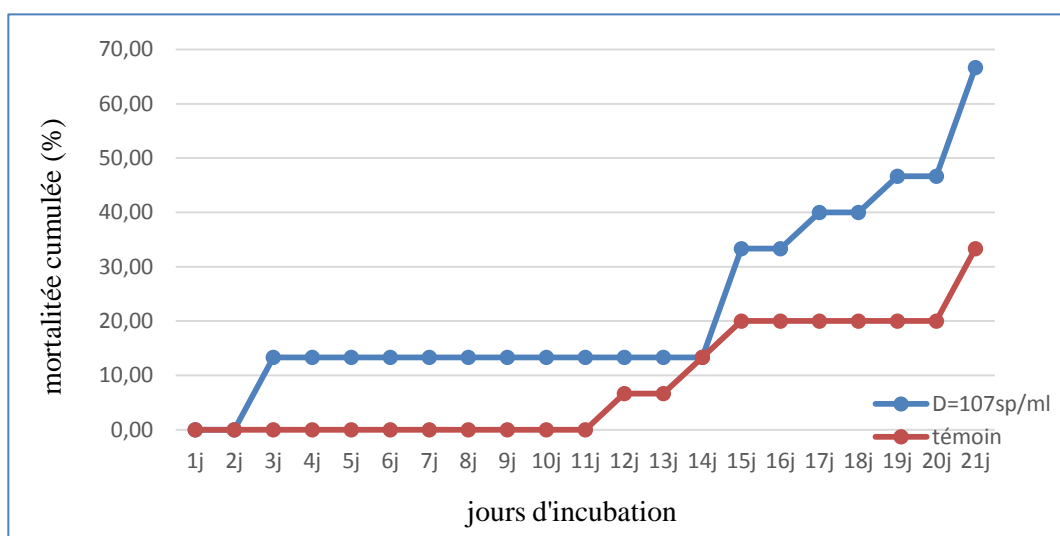


Figure 25 : Mortalité des larves de ver blanc exposées à la concentration 10^7 spores/ml de l'entomopathogène *Fusarium* sp.

Du troisième au quatorzième jour les mortalités ont resté stable ne dépassant pas le taux de 14%. À partir du quinzième jour nous avons remarqué une augmentation remarquable des larves éliminées par l'entomopathogène *Fusarium* sp. pour atteindre un maximum de 67% au vingtième jour. Parallèlement, il a été observé pour le témoin qu'aucune mortalité n'a été enregistrée jusqu'au onzième jour. En plus nous avons constaté une large différence de mortalité entre le lot témoin et le lot traité.

Un autre paramètre a été étudié afin de comparer les différents traitements en fonction du temps létal moyen défini par la mortalité de 50 % des individus traités. Le traitement des larves par *Fusarium* sp. a entraîné la mortalité de 50% des individus après vingt jours en absence du sol (figure 26).

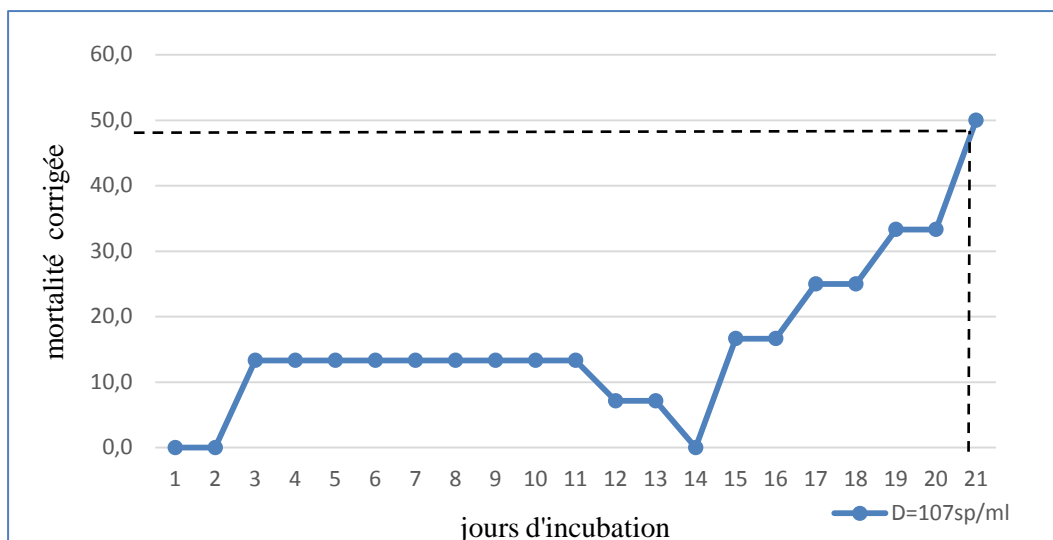


Figure 26 : Temps léthal moyen (TL50) des larves de ver blanc traitées par *Fusarium sp.*

II.3.2 Confrontation directe en présence du sol

Les résultats du traitement des larves de ver blanc par *Fusarium sp.* en utilisant la technique de confrontation directe en présence du sol sont représentés sur la figure 27.

Après six jours de contamination aucune larve n'a été éliminée. Les premières mortalités ont été enregistrées le septième et le dixième jour respectivement pour le lot traité à la dose de 10^7 spores/ml et lot témoin. Le maximum de la mortalité larvaire est atteint

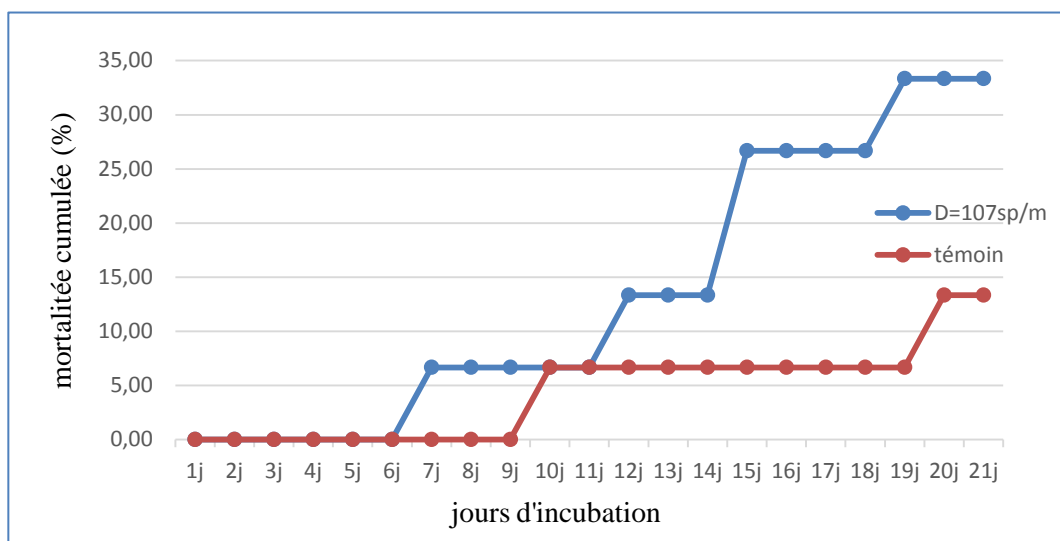


Figure 27: Mortalité des larves de ver blanc exposées à la concentration 10^7 spores/ml de l'entomopathogène *Fusarium sp.* en présence du sol

Seulement 33.33% des larves ont été contrôlées suite à l'application du champignon. Un pourcentage inférieur à 50% n'a pas permis d'estimer le temps léthal moyen TL 50 des individus traités par l'entomopathogène en présence du sol (figure 28).

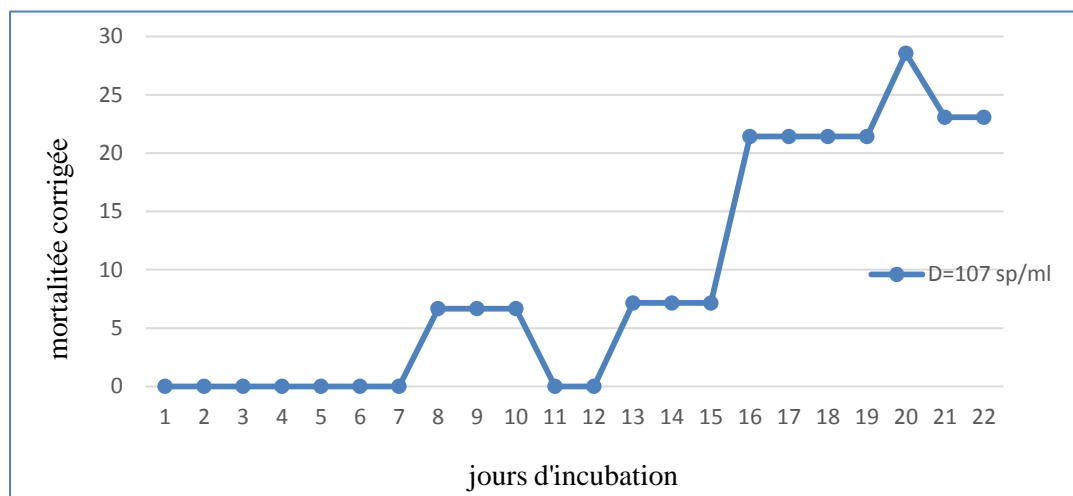


Figure 28: Temps léthal moyen (TL50) des larves de ver blanc traitées par *Fusarium* sp. en présence du sol

Il est nécessaire de noter que l'efficacité du champignon augmente en absence du sol. Pour les deux techniques la dose de 10^7 spores/ml n'a pas réussi à éliminer les larves en un temps court. Les cadavres des larves issues de cette faible dose n'ont pas sporulé en totalité, cela peut être dû aux faibles quantités de spores reçus par rapport à leurs poids (Steinkraus, et Tugwell, 1997).

Après 21 jours du traitement la majorité des larves sont transformées en nymphes ; avec le temps nous avons remarqué une extériorisation de mycélium sur les nymphes et les adultes qui ont immergé. Cela confirme l'efficacité de l'entomopathogène autochtone isolé, mais il faut augmenter les doses à tester. Il est reconnu que la mortalité des insectes infectés par les champignons entomopathogènes dépend du nombre de spores entrant en contact avec l'insecte (Steinkraus, et Tugwell, 1997).

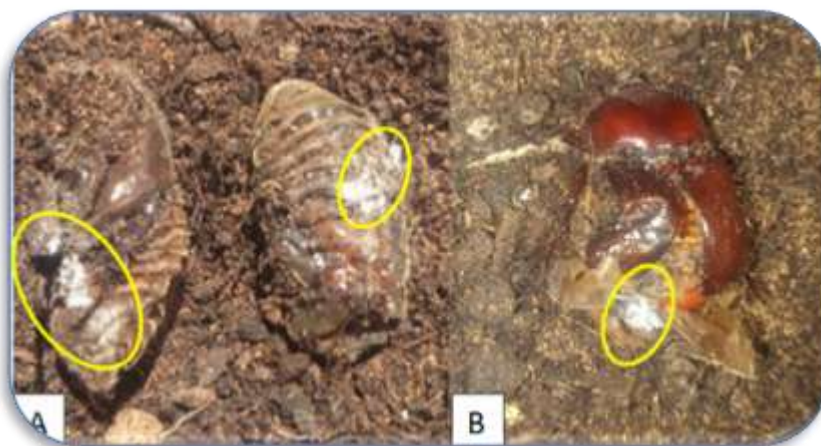


Figure 29: Symptômes de mycose chez les nymphes (A) et l'adulte (B) de ver blanc

CHAPITRE II

Activité larvicide des HEs de quatre plantes aromatiques sur le ver blanc

Introduction

L'emploi des extraits de plantes comporte des avantages certains. En effet les plantes constituent une source de substances naturelles qui présente un grand intérêt dans l'application contre les insectes et d'autres parasites des plantes et du monde animal (Bonzi, 2007).

Les huiles essentielles des plantes commencent à avoir beaucoup d'intérêt comme source potentielle de molécules naturelles bioactives. Ils font l'objet d'étude pour leur éventuelle utilisation comme alternative pour les traitements insecticide dans ce but nous avons effectué des tests *in vitro* pour évaluer l'effet larvicide des HEs de quatre plantes aromatiques (*Lavandula* sp., *Origanum* sp., *Salvia* sp. et *Thymus* sp.) vis-à-vis le ver blanc.

I. Matériel et méthodes

I.1 Matériels biologiques

I.1.1 Matériel végétal

Les huiles essentielles de *Lavandula* sp., d'*Origanum* sp., de *Salvia* sp. et de *Thymus* sp. nous ont été fournis par notre encadreur. Pour les huiles de l'origan et du thym étaient conservé au réfrigérateur depuis l'année précédente, tandis que pour les huiles de la lavande et de la sauge nous avons assisté à l'extraction qui a été réalisée par nos collègues du département de biologie (spécialité : Biotechnologie et Valorisation des Plantes) à l'aide d'un dispositif d'entraînement à la vapeur d'eau.

I.1.2 Matériel animal

Les larves de ver blanc soumises au test de toxicité ont été récoltées du même endroit que dans la première partie de cette expérimentation (figure 20)

I.2 Tests biologiques

Le lancement des bio-essais a été effectué au laboratoire en déposant délicatement cinq larves de ver blanc dans une boîte en plastique. Le traitement des larves a été effectué par pulvérisation des solutions contenant les HEs des quatre plantes, additionnés d'une goutte de tween 20 sur des lots de 15 individus. Chaque lot reçoit une seule pulvérisation de chaque phytopréparation de telle sorte que les larves soient bien imbibes. Les doses utilisées ont été obtenus à partir de l'huile essentielle diluée avec l'acetone à 60%. Quatre concentrations ont été préparées soit : 1%, 0.5%, 0.25% et 0,125% (figure 30).



Figure 30: Préparation des différentes concentrations du phytopréparation

Pour chacune des concentrations de chaque extrait ainsi que pour le témoin, trois répétitions ont été réalisées (figure 31). Les lots témoin sont constitués des larves traitées par l'acétone 6%. Après traitement, les larves ont été recouvertes par du sol provenant de la parcelle d'où les larves ont été ramassées.



Figure 31 : Dispositif expérimental du test de toxicité

Les observations ont été effectuées quotidiennement afin de déterminer l'effet larvicide des huiles essentielles de *Lavandula* sp., d'*Origanum* sp., de *Salvia* sp. et de *Thymus* sp. sur les individus de ver blanc. Les comptages des insectes morts sont effectués après 24 heures des traitements. Il est à noter que le lancement des bio-essais a eu lieu au

laboratoire mais les observations ont été faites à la maison, ceci suite à la fermeture de l'université due à la pandémie (COVID 19) qui a touché le monde entier cette année.

Pour éliminer tous les risques de mortalité naturelle, Les mortalités dans les boîtes traitées (M1) ont été exprimées selon la formule d'Abbott (1925) en mortalités corrigées (MC), tenant compte des mortalités observées dans les boîtes témoins (Mt) selon la formule suivante (Bouchikhi Tani, 2011) :

$$\text{Mortalité corrigée (MC \%)} = (M1 - Mt) * 100 / (100-Mt)$$

M1 : est le pourcentage de la mortalité dans le lot traité

Mt : est le pourcentage de la mortalité dans le lot témoin

II. Résultats et discussion

Les résultats de toxicité des HEs de *Lavandula* sp., d'*Origanum* sp., de *Salvia* sp. et de *Thymus* sp. sur les larves du ver blanc sont représentés en annexes. Ils montrent les variations des mortalités cumulées et des mortalités corrigées en fonction du temps et des doses comparativement aux témoins.

II.1 Evaluation de l'efficacité de l'HE d'*Origanum* sp. sur les larves du ver blanc

La figure 32, illustre les taux de mortalité des larves de ver blanc traitées par des doses croissantes de l'huile essentielle d'*Origanum* sp. en fonction du temps d'exposition.

II.2 Evaluation de l'efficacité de l'HE de *Thymus* sp. sur les larves du ver blanc

La figure 34, représente les variations de la mortalité des larves en fonction du temps sous l'effet des différentes doses de l'huile essentielle de *Thymus* sp..

II.3 Evaluation de l'efficacité de l'HE de *Salvia* sp. sur les larves du ver blanc

La figure précédente illustre les variations de la mortalité des larves en fonction du temps sous l'effet des différentes doses de l'HE de *Salvia* sp..

II.4 Evaluation de l'efficacité de l'HE de *Lavandula* sp. sur les larves du ver blanc

Les résultats de la toxicité de l'HE de *Lavandula* sp. sur les larves du ver blanc sont représentés sur la figure 38.

Suite aux bio-tests réalisés *in vitro*, on peut avancer que les HEs d'*Origanum* sp. et de *Salvia* sp. présentent une efficacité vis-à-vis les larves du ver blanc supérieure à celle enregistrée pour les HEs de *Lavandula* sp., et de *Thymus* sp..

Conclusion

Conclusion

Le ver blanc a provoqué des dégâts considérables en Algérie. Les programmes de lutte suivis par l'INPV n'ont pas aboutis à contrôler les pullulations de ce phytophage à cause de son biotope édaphique qui rend son élimination très difficile. La recherche des méthodes alternatives, devient la préoccupation, majeure du ministère de l'Agriculture. Notre travail consistait à évaluer l'activité larvicide d'un entomopathogène (*Fusarium* sp.) et des HEs de quatre plantes aromatiques; *Lavandula* sp., *Origanum* sp., *Salvia* sp. et *Thymus* sp. vis-à-vis du ver blanc.

Les résultats de l'isolement et de l'identification ont mis en évidence la présence d'un entomopathogène autochtone il s'agit de *Fusarium* sp.. Ce dernier a été rapporté comme entomopathogènes sur les pucerons, les thrips, les acariens et sur les aleurodes (Aiswary et al., 2007). La vérification de la pathogénicité de ce champignon a été réalisée par évaluation de son aptitude à induire l'infection chez les larves de ver blanc. Tandis que le degré de virulence a été estimé en fonction de la TL50 et de la détermination de la sensibilité du phytophage envers les traitements en présence et en absence du sol. Il est nécessaire de noter que l'efficacité du champignon augmente en absence du sol et que plus la dose est élevée, plus la mortalité est rapide et importante.

Les résultats de l'activité insecticide des HEs de quatre plantes aromatiques vis-à-vis les larves du ver blanc, montrent que les HEs de *Thymus* sp. et de *Lavandula* sp. se sont montrées moins toxiques vis-vis des larves du ravageur, leur utilisation a permis d'observer des taux de mortalité moins importants que ceux enregistrés pour les HEs d'*Origanum* sp. et de *Salvia* sp..

Ce travail témoigne d'une activité larvicide moyenne de *Fusarium* sp. et des HEs d'*Origanum* sp. et de *Salvia* sp. sur le ver blanc. Comme perspectives, il serait préconisable de relancer ces tests sur le ravageur et ses auxiliaires indigènes, afin de choisir la dose optimale qui contrôle le phytophage et en même temps protège ses ennemis naturels utilisés dans le cadre de la lutte intégrée.

Références bibliographiques

- Abbott, W.S , (1925).** A method of computing the effectiveness of an insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265-267.
- Abgrall J.-F. (1991).** Observations biologiques et essais de lutte contre le hanneton commun dans les vergers à graine. RFF XLIII – 6 – 1991, p. **489-500**.
- Amine khodja,M., Bekkouche, S., (2016).** Etude bio écologique et systématique des vers blancs (Melolonthinae, Rhizotrogini) dans deux stations (Ain Smara et el Meridj Constantine –Est Algérien), mémoire de master II , Constantine : Université des Frères Mentouri , 45 p .
- Badaoui M.I,(2017).** Contribution à l'étude de la dynamique des populations de Tuta absoluta Meyrick (Lepidoptera ; Gelechiidae) et essais de contrôle biologique sur la culture de tomate. Thèse de doctorat ; université de Mostaganem, Algérie,151 p.
- Bakelli M. et Habibi A. ,(2019).** Evaluation préliminaire de l'effet in vitro de deux entomopathogènes autochtones Beauveria sp. (Clavicipitaceae) et Fusarium sp. (Nectriaceae) sur les larves du ver blanc. en vue de l'obtention du Diplôme de Master ; université de Mostaganem, 6-19-30p.
- Balachowsky A.S., (1962).** Entomologie appliquée à l'agriculture, tome I ,*Ed Masson* .Paris.
- Bassi A., (1835).** Del mal del segno, calcinaccio o moscardino, mallatia che afflige i bachi da seta, e sul modo di leberarne le bigattage anche le piu infestante. Lodi, tipografia Orceri. Réédition.
- Belbel,CH. et Smaili,A. , (2015).** Etude bio écologique des vers blancs (Scarabeidae, Rhizotrogini) dans la région de Mila. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master. Université des Frères Mentouri Constantine.
- Benserradj O., (2014).** Evaluation de Metarhizium anisopliae à titre d'agent de lutte biologique contre les larves de moustiques. En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat 3ème cycle LMD. Université Constantine 1, 179p.
- Blackwell M., Hibbett D.S., Taylor J.W. et Spatafora J.W., (2006).** Research coordination networks: a phylogeny for the kingdom Fungi (Deep Hypha). Mycologia, 98, 829-837.
- Bonzi S., (2007).** Efficacité des extraits aqueux de quatre plantes dans la lutte contre les champignons transmis par les semences de sorgho (*Sorghum bicolor (L.) Moench*) : cas particulier de *Colletotricum* graminicola (Ces.) Wilson et *Phoma sorghina* (Sacc.) Boerema, Dorenbosch et Van Kesteren, Mémoire de diplôme d'études approfondies en gestion intégrée des ressources naturelles. Burkina faso.
- Botton B., Breton A., Fevre M., Ganthier S., Gux PH., Larpënt J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y. et Veau P., (1990).** Moisissure utiles et nuisibles importances industrielles.2 Ed.3 Ed. Milan Barcelone mexico. Paris. 120p
- Bouchikhi Tani,Z., (2011).** Lutte contre la bruche du haricot *Acanthoscelides obtectus* (Coleoptera, Bruchidae) et la mite *Tineola bisselliella* (Lepidoptera, Tineidae) par des plantes aromatiques et leurs huiles essentielles. Thèse de doctorat, Tlemcen, Université Abu bakr Belkaid.

- Bousnane N. et Ghani A., (2017).** Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des huiles essentielles de deux plantes aromatiques *Thymus vulgaris* et *Origanum vulgare* sur le ver blanc de la vigne. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master ; université de Mostaganem, 37 p.
- Chabasse D., Bouchara.J-P., Gentile L., Brun S., Cimon B. et Penn P., (2002).** Cahier de formation, Biologie médicale- Les moisissures d'intérêt médical, N° 25, Mars. ed Bioforma. Paris. 157pp.
- Clarkson J.M et Charnley A.K. (1996).** New insights into the mechanisms of fungal Pathogenesis in insects, *Trends Microbiol.*4 :197-204.
- Coderre D. et Vincent, C. (1992).** La lutte biologique : toile de fond de la situation. In Vincent, C. et Coderre, D. (réd.), La lutte biologique (chap. 1, p. 3-16). Boucherville (Québec), Gaëtan Morin Éditeur.
- Duval , (1993).** Le hanneton commun et les vers blancs. Projet pour une agriculture écologique, Université de McGill (Macdonald Campus). [http://eap.mcgill.ca/agrobio/ab360-06.htm#Dommages et plantes attaquÃ©es](http://eap.mcgill.ca/agrobio/ab360-06.htm#Dommages%20et%20plantes%20attaqu%C3%A9es).
- Farrell B.D., (1998).** "Inordinate fondness" explained: Why are there so many beetles" *Science*, 281,
- Fegrouche R., 2014.** Bioécologie de *Sphodroxia maroccana* (Coleoptera : Melolonthidae). Effets collatéraux du contrôle des larves de ce ravageur sur la faune entomologique non ciblent dans les parcelles de régénération du chêne-liège de la forêt de la Mamora (Maroc). Thèse de doctorat. Spécialité : Biologie et Écologie des Populations. Université Mohammed V– Agdal. 189 pages.
- Ferron P, Fargues J, Riba G (1993).** Fungi as microbial insecticides against pests. In: Handbook of applied mycology. Humans, animals and insects (Arora DK, Mukerji KG, Eds). Marcel Dekker, New York, vol 2, 665-706
- Goettel M.S. et Inglis J. (1997).**The safety of fungal Biocontrol agents to invertebrates.*Journal of Applied Entomology*131, p 118- 125.
- Govindarajan M. , Sivakumar R., Rajeswary M. et Yogalakshmi K., (2013).** Chemical composition and larvicidal activity of essential oil from *Ocimum basilicum* (L.) against *Culex tritaeniorhynchus*, *Aedes albopictus* and *Anopheles subpictus* (Diptera: Culicidae) , *Experimental Parasitologie* 134 , pp7-11.
- Grove , J.F.; Pople, M., (1980).** The insecticidal activity of beauvericin and the enniatin complex. *Mycopathologia* 1980, 70, 103–105.
- Hawksworth D.L., Sutton B.C., Ainsworth G.C., et James P.W., (1983).** Dictionnaire de Ainsworth et bisbydes champignons, 7th ed, Commonwealth Mycol.inst.,Kew, United kingdom.445p.
- Humber R.A. et Hansen K.S. (2005).** Host by Fugus. ARSEF index. ([http : // www.arsef.fpsnl.cornelledu/mycology/ARSEF](http://www.arsef.fpsnl.cornelledu/mycology/ARSEF) ; [22/08/2007]).
- Ignoffo C.M., (1973).** effects of entomopathogens on vertebrates. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 217, 141-172.

- Jestoi M., 2008.** Emerging Fusarium -Mycotoxins Fusaproliferin, Beauvericin, Enniatins, And Moniliformin—A Review. *Crit. Rev. Food Sci.* 2008, 48, 21–49.
- Leland J.E.; McGuire, M.R.; Grace, J.A.; Jaronski, S.T.; Ulloa, M.; Park, Y.; Plattner, R.D., 2005.** Strain selection of a fungal entomopathogen, *Beauveria bassiana*, for control of plant bugs (*Lygus* spp.)(Heteroptera: Miridae). *Biol. Control* 2005, 35, 104–114.
- Leslie JF, Summerell BA. (2006)** . *Fusarium verticillioides* (Saccardo) Nirenberg. In: Leslie JF, Summerell BA, editors. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing; pp. 388 p.
- Logrieco A., Moretti A., Castella G., KostECKI M., Golinski P., Ritieni A., Chelkowski J. (1998).** Beauvericin production by *Fusarium* species. *Appl. Environ. Microbiol*; 64:3084–3088.
- Lydie S., (2010).** La lutte biologique vers les nouveaux équilibres écosystèmes p :76, édition : Quae.
- Mesbah A. et Boufersaoui A., (2002).** Control of the biological cycle of *Geotrogus deserticola* Blanch, insect coleopteran pests of cereals in Algeria Controle du cycle biologique de *Geotrogus deserticola* Blanch, insecte coleoptere ravageur des céréales en Algérie. *Bulletin de la Societe Zoologique de France*, 1272: 137-148.
- Michael (2002)** en ligne], (page consultée le : 15/05/2019) <http://aesgsf.free.fr/V5/varios-hongos-beauveria-bassiana.html>
- Nicolai V. M. et Jorgen E.,(2007).** Ecology of the Entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhiziumanisopliae* in temperate agroecosystem : Potential for conservation biological control. *Metarhiziumanisopliae* reveal that it is rhizosphère comptant. *Apple. environ.* 68, 6383-638.
- Papachristos D.P. et Stamopoulos D.C., (2002).** Rappelent , toxic and reproduction inhibitory effects of essential oil vapours on *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera : Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 38 (2) , pp : 117-128 .
- Regnault-Roger C et Hamraoui A., (1994).** Inhibition of reproduction of *Acanthoscelides obtectus* (Say) (Coleoptera), a kidneybean (*Phaseolus vulgaris*) bruchid, by aromatic essential oils. *Crop Protection* 13, 624-628.
- Roberts, D. W. (1981).** Toxins of entomopathogenic fungi. In : *Microbial Control of Pest and Plant Diseases (1970-1980)*. H. D. Burges (ed.). *Academic Press, NY*, pp. 441-465.
- Roush R.T. et McKenzie J.A. (1987).** Ecological genetics of insecticides and acaricides resistance *Annual Review of entomology* 32, p. 83-88.
- Saiah F., (2014).** Contribution à L'étude sur la lutte biologique à l'égard de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera ; Gracillariidae), mineuse des Citrus. Thèse de doctorat ; université de Mostaganem, Algérie, 119 p.
- Shin, C.G.; An, D.G.; Song, H.H.; Lee, C., 2009.** Beauvericin and enniatins H, I and MK1688 are new potent inhibitors of human immunodeficiency virus type-1 integrase. *J. Antibiot.* 2009, 62, 687–690.

- Silvy C. et Riba G., (1999).** Biopesticides contre maladies, insectes, mauvaises herbes. In : Fraval, A., Silvy, C. éd. La lutte biologique (II). Dossier de l'environnement de l'INRA n°19. Paris, 274p.
- Slipinski A. (2007).** - Australian Ladybird Beetles (Coleoptera: Coccinellidae) Their biology and classification. Australian Biological Resources Study. Sociétés de sciences naturelles. Louis Jean Imp. 226p.
- St Leger R.J.(1993).** Biology and mechanisms of insect-cuticle invasion by deuteromycete fungal pathogens, In: Parasites and pathogens of insects. Beckage NE, Thompson SN,(eds), Federici BA (eds.). Academic Press Inc., New York, USA .2 : 211-225.
- Starnes R.L., Liu C.L et Marone P.G. (1993).** History, use and future of microbial insecticides. *Amer. Entomol.* 39:83-91.
- Steinkraus D.C. et N.P. Tugwell., (1997).** *Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Moniliales) Effects on *LJ'gus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *J. Entomol. Sei.* 32: 79-90
- Strong, D. R. , Lawton J. H. et Southwood T. R. E., (1984).** Insects on Plants: Community Patterns and Mechanisms. *Blackwell Science, Oxford*, Royaume-Uni.
- Torres-Gregorio J., Argente J., Diaz M.A. et Yuste A., 2009.** Application de *Beauveria bassiana* en la lucha biologica contra *Tuta absoluta*. *Agricola Vergel: Fruticultura, Horticultura, Floricultura* 326, p. 129-132.
- Vega F.e., Meyling N.V., Luangsa-ard J.J. et Blackwell M., (2012).** Fungal entomopathogens Insect Pathology. elsevier Inc.150p.
- Wraight R.J et Roberts D.W., (1987).** Effort de lutte contre les insectes avec des champignons. *Devel. Indus. Microbiol.* 28 :77-87.
- Yahiaoui .D et Bekri ,N , (2014).** Etude des méthodes de lutte contre le ver blanc des céréales (*Geotrogus deserticola blanc*) dans la région d'Oran . A PP –Dixième référence internationale sur les ravageurs en agriculture. MONTPELLIER – 22 et 23 octobre .

Annexes

