

République Algérienne Démocratique et Populaire

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



جامعة عبد الحميد بن باديس مستغانم
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DÉPARTEMENT D'AGRONOMIE

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

BAKELLI Mohammed
HABIBI Abdelouahed

Pour l'obtention du diplôme de

Master en Sciences agronomiques

Spécialité: Protection des cultures

THÈME

Evaluation préliminaire de l'effet *in vitro* de deux entomopathogènes autochtones *Beauveria* sp. (*Clavicipitaceae*) et *Fusarium* sp. (*Nectriaceae*) sur les larves du ver blanc

Soutenu publiquement le : 11/07/2019

DEVANT LE JURY :

Présidente M^{me} BERGHEUL S.

M.C.B Univ. Mostaganem

Encadreur M^{me} BADAOUI M.I

M.C.B Univ. Mostaganem

Examinatrice M^{me} SAIAH F.

M.C.B Univ. Mostaganem

Thème réalisé au Laboratoire de Protection des Végétaux

Année Universitaire: 2018/2019

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 **M^{me} BADAOUI M.I.** 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} BERGHEUL S.** qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury, et d'apporter son jugement sur ce travail.

Nous remercions également à **M^{me} SAIAH F.** d'avoir accepté de faire partie du jury et d'examiner ce mémoire.

Tous nos remerciements vont encore au personnel de laboratoire pédagogique de protection des cultures de l'ex ITA. Et au personnel de la ferme agricole de Stidia, Merci à toutes les personnes qui nous ont aidés de près ou de loin pour la réalisation de ce modeste travail.

Dédicaces

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 mon cher père **Yahia**,

J'espère que j'ai répondu aux espoirs qu'il a fondé en moi, que dieux l'accueil dans son vaste paradis, A ma chère maman, tous les mots du monde ne sauraient t'exprimer l'immense amour que je te porte,

à ma chère grande mère qui m'ont toujours soutenu par leur encouragement et leur conseil,

à mes chères frères *Salah, Brahim, Youcef et Omar* et mes chères sœurs pour leurs encouragement et l'appui lors de mes études.

A ma chère fiancée.

A tous mes oncles & mes tantes & toutes les familles

BAKELLI et HAMMOUALI

à mes chères amies *Zaki, Mustapha, Redwan et Younes* particulièrement mon chère collègue *HABIBI Abdelouahed*

à tous mes collègues de protection des cultures

Mohammed BK

Dédicaces

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

Je dédie ce travail à :

Mes chers parents,

*Qui sont ma raison de vivre et qui m'ont entouré de tous
Soins imaginables pour atteindre à cet aboutissement
Je ne trouverai jamais de mots pour vous exprimer mon
Profond*

A mes chers frères Sobhi, Walid, Khalid et Azzouz.

A ma chère femme

*A mes chers amis : Bakelli, Mohamed, Anouar, Younes, Islam,
Nail, Bakare, Kamal.*

À tous mes collègues de protection des cultures

﷥﷔﷕﷔ Abdelouahed

Résumé

Les vers blancs sont des ennemies naturelles des cultures. Les pertes causées par ces derniers sont importantes, ce qui a conduit à la mise au point de nombreuses méthodes de lutte. La présente étude a pour but de proposer une solution alternative basée sur l'utilisation des entomopathogènes pour lutter contre ces ravageurs. Elle porte d'une part sur la recherche des champignons entomopathogènes et d'autre part, la mise en évidence de leur activité insecticide vis-à-vis des larves de ver blanc.

Les résultats des tests de pathogénicité ont mis en exergue la présence de deux entomopathogènes autochtones ; il s'agit de *Beauveria* sp. et *Fusarium* sp1 qui ont prouvé leur efficacité vis-à-vis les différents stades de la mineuse de la tomate *T. absoluta* et le ver blanc.

La comparaison de l'effet de ces deux champignons entomopathogènes sur la mortalité des larves de ver blanc a démontré que *Beauveria* sp. est le plus actif et le plus rapide à éliminer ce ravageur avec un taux de mortalité supérieure à 50% à partir du 4^{ième} jour. De plus l'efficacité de *Beauveria* sp. augmente en présence du sol en utilisant les colonies poudreuses de couleur blanche.

Après l'identification du ravageur, il s'est avéré que l'espèce étudiée est probablement *Phyllognathus* sp.

Mots clés: Lutte biologique, Champignons entomopathogènes, *Beauveria* sp., *Fusarium* sp.,

Activité larvicide, ver blanc.

Abstract

White grubs are natural enemies of crops. The losses caused by these are important, which led to the development of many control methods. The present study aims to propose an alternative solution based on the use of entomopathogenic to fight against these pests. It deals on the one hand on the search for entomopathogenic fungi and on the other hand, the demonstration of their insecticidal activity vis-à-vis white worm larvae.

The results of the pathogenicity tests highlighted the presence of two indigenous entomopathogenic; it is *Beauveria* sp. and *Fusarium* sp1, which have proved effective against the different stages of the *T. absoluta* tomato leaf miner and the white worm.

The comparison of the effect of these two entomopathogenic fungi on the mortality of white worm larvae showed that *Beauveria* sp. is the most active and fastest at eliminating this pest with a mortality rate greater than 50% from the 4th day. In addition the effectiveness of *Beauveria* sp. increases in the presence of the soil by using white powdery colonies.

After the identification of the pest, it was found that the species studied is probably *Phyllognathus* sp.

Keywords: Biological control, Entomopathogenic fungi, *Beauveria* sp., *Fusarium* sp.,
Larvicidal activity, white worm.

ملخص

اليرقات البيضاء هي أعداء طبيعيين للمحاصيل. الخسائر الناجمة عن هذه مهمة ، مما أدى إلى تطوير العديد من أساليب التحكم. تهدف هذه الدراسة إلى اقتراح حل بديل يعتمد على استخدام المبيدات الحشرية لمكافحة هذه الآفات. إنه يتناول من ناحية البحث عن الفطريات المسببة للأمراض ، ومن ناحية أخرى ، يُظهر نشاط مبيدات الحشرات تجاه يرقات الدودة البيضاء. أبرزت نتائج اختبارات الأمراض وجود اثنين من العوامل المسببة للحشرات الأصلية. إنه *Beauveria sp.* و *Fusarium sp1* ، والتي أثبتت فعاليتها ضد المراحل المختلفة على نافقة والديدان البيضاء.

أظهرت مقارنة تأثير هذين الفطريات المسببة للأمراض على موت يرقات الديدان البيضاء أن *Beauveria sp* هو الأكثر نشاطاً والأسرع في القضاء على هذه الآفة بمعدل وفيات أكبر من 50% من اليوم الرابع. بالإضافة إلى فعالية *Beauveria sp*. يزيد في وجود التربة باستخدام المستعمرات البودرة البيضاء. بعد التعرف على الآفة ، وجد أن الأنواع المدروسة ربما تكون *Phyllognathus sp*.

الكلمات المفتاحية: مكافحة البيولوجية، فطريات مضرّة بالحشرات، *Fusarium sp.*، *Beauveria sp.*، مبيد يرقات، اليرقات البيضاء.

Remerciement	
Résumé	
Abstract	
ملخص	
Liste des figures	
Liste des planches	
Liste des abréviations	Page
Introduction générale.....	1

Partie bibliographique

Chapitre I: Généralités sur les vers blancs

Introduction.....	2
I. Systématique des vers blancs.....	2
II. Air de répartition des vers blancs.....	2
II.1 En Algérie.....	2
II.2 A Mostaganem.....	3
III. Stades de développement du ver blanc.....	3
III.1 Œuf.....	4
III.2 Stades larvaires.....	4
III.3 Nymphe.....	4
III.4 Adulte.....	5
IV. Plantes hôtes.....	6
V. Méthodes de lutte.....	7
V.1 Lutte chimique.....	7
V.2 Lutte culturale.....	8
V.3 Lutte biologique.....	8

Chapitre II: Les champignons entomopathogènes

Introduction.....	10
I. Classification des champignons entomopathogènes.....	10
II. Mode d'action des champignons entomopathogènes.....	12
III. Exemples des champignons entomopathogènes.....	13
III.1 <i>Beauveria bassiana</i>	13
III.1.1 Taxonomie.....	14
III.1.2 Morphologie.....	14

III.2 <i>Fusarium</i> sp.	15
III.2.1 Taxonomie	15
III.2.2 Morphologie.....	15
IV. Les toxines fongiques.....	16
IV.1. Activité insecticide du Beauvericine	17
Introduction	18

Partie expérimentale

Chapitre I: Recherche des champignons entomopathogènes

I. Matériels et méthodes	18
I.1 Origine des souches fongiques	18
I.2 Régénération des champignons	19
I.3 Identification des champignons.....	19
I.4 Tests de pathogénicité sur les larves de <i>Tuta absoluta</i> et du ver blanc.....	20
I.4.1 Matériels biologiques	20
I.4.2 Méthode d'inoculation	22
I.4.3 Ré-isolement des champignons entomopathogènes	24
II. Résultats et discussion	25
II.1 Régénération de <i>Beauveria</i> sp.	25
II.2 Identification des souches fongiques	26
II.2.1 <i>Fusarium</i> sp.....	26
II.2.2 <i>Penicillium</i> sp.....	26
II.2.3 <i>Aspergillus</i> sp.....	27
II.3 Essai de pathogénicité des champignons sur les larves de <i>Tuta absoluta</i> et du ver blanc.	28
II.3.1 Action des différents champignons.....	28
II.3.1.1 Symptômes sur la mineuse de tomate <i>Tuta absoluta</i>	28
II.3.1.2 Symptômes sur le ver blanc	29
II.3.2 Ré-isolement des champignons entomopathogènes.....	30
II.3.2.1 Ré-isolement à partir des larves de <i>Tuta absoluta</i>	30
II.3.2.2 Ré-isolement à partir des larves du ver blanc	33

Chapitre II

Evaluation de l'activité larvicide des champignons entomopathogènes sur le ver blanc

Introduction	35
--------------------	----

I. Matériels et méthodes	35
I.1 Matériels biologiques	35
I.2 Préparation des solutions sporale	36
I.3 Evaluation de l'effet larvicide de <i>Beauveria</i> sp. et <i>Fusarium</i> sp1 vis-à-vis le ver blanc ...	37
I.3.1 Comparaison de l'effet larvicide de deux aspects différents de <i>Beauveria</i> sp. (blanc et vert).....	37
I.3.2 Effet de l'absence ou la présence du sol sur l'activité larvicide de <i>Beauveria</i> sp. (blanc)	38
I.3.3 Evaluation de l'effet larvicide des entomopathogènes <i>Beauveria</i> sp. et <i>Fusarium</i> sp1	38
II. Résultats et discussion	40
II.1 Comparaison de l'effet larvicide des deux aspects différents de <i>Beauveria</i> sp. (blanc et vert	
II.2 Effet de l'absence ou la présence du sol sur l'activité larvicide de <i>Beauveria</i> sp.	
II.3 Evaluation de l'effet larvicide des entomopathogènes <i>Beauveria</i> sp. et <i>Fusarium</i> sp1	
III. Essai d'identification du ravageur.....	40
Conclusion.....	47
Référence bibliographiques	
Annexes	

Liste des Figures

Figure 01 : Évolution des superficies infestées par le ver blanc dans la wilaya de Mostaganem	03
Figure 02: Les stades biologiques de développement du ver blanc.....	03
Figure 03: Larve de ver blanc	04
Figure 04: Nymphe du ver blanc	05
Figure 05: Quelques espèces de <i>Rhizotrogini</i> ,	06
Figure 06: Dégâts des vers blancs. A: sur céréale et B: sur vignoble.....	07
Figure 07: Oiseaux prédateurs des vers blancs	08
Figure 08: Schéma du cycle biologique des champignons entomopathogènes	12
Figure 09: Symptôme de muscardine blanche sur insecte causé par <i>B. bassiana</i>	13
Figure 10: Clé d'identification des Mucédinés à conidies disposées en grappes (<i>Beauveria</i> sp.)	14
Figure 11: : Clé d'identification des Mucédinés à conidies disposées en têtes (<i>Fusarium</i> sp.)...	16
Figure 12: Structure chimique du Beauvericine.	16
Figure 13: Souches fongiques utilisées pour les testes biologiques	18
Figure 14: Régénération des souches fongiques.....	19
Figure 15: Préparation des lames pour les observations microscopiques	20
Figure 16: Souches fongiques utilisées pour la préparation des solutions sporales.....	21
Figure 17: Prélèvement des larves de <i>Tuta Absoluta</i>	21
Figure 18: Site de la récolte des larves de ver blanc,	22
Figure 19: Dispositif expérimental du test de pathogénicité sur les larves de <i>Tuta absoluta</i>	23
Figure 20: Dispositif expérimental du test de pathogénicité sur les larves de ver blanc.....	23
Figure 21: Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) (x40) de <i>Fusarium</i> sp1.....	26
Figure 22: Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) (x40) de <i>Fusarium</i> sp2.....	26
Figure 23: Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) (x40) de <i>Penicillium</i> sp.....	27
Figure 24: Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) (x40) d' <i>Aspergillus</i> sp.....	27
Figure 25: Action de <i>Fusarium</i> sp1 sur une larve de ver blanc.....	30

Figure 26: Lots traités par <i>Beauveria</i> sp. en absence (A) et en présence (B) du sol.....	38
Figure 27: Effet de deux concentrations de spores de <i>Beauveria</i> sp. (blanc) sur la mortalité des larves du ver blanc	40
Figure 28: Effet de deux concentrations de spores de <i>Beauveria</i> sp. (vert) sur la mortalité des larves du ver blanc.....	41
Figure 29: Mortalité corrigée des larves du ver blanc sous l'effet de <i>Beauveria</i> sp. blanc (B-D) et vert (V-D).....	41
Figure 30: Effet de deux concentrations de spores de <i>Beauveria</i> sp. (blanc) sur la mortalité des larves du ver blanc en absence du sol.....	42
Figure 31: Mortalité corrigée des larves du ver blanc sous l'effet de <i>Beauveria</i> sp en présence et absence de sol.....	43
Figure 32 : Effet de deux concentrations de spores de <i>Fusarium</i> sp1 sur la mortalité des larves du ver blanc.....	44
Figure 33: Mortalité corrigée des larves du ver blanc sous l'effet de <i>Beauveria</i> sp. (B-D) et <i>Fusarium</i> sp1 (F-D)	45
Figure 34: : couple Femelle (A) et Mâle (B) de <i>Phyllognathus</i> sp.....	46

Liste des tableaux

Tableau 01: Champignons entomopathogènes appartenant à différents Phylums.....	11
---	----

Liste des planches

Planche 01: Protocole de ré-isolement des champignons à partir d'insectes infectés.....	24
Planche 02: Changement de couleur de <i>Beauveria</i> sp.,	25
Planche 03: Actions des champignons sur la larve (F), les nymphes (A, B et C) et les adultes (D et E) de <i>Tuta absoluta</i>	28
Planche 04: Symptômes de la muscardine blanche sur les larves (A, B et C) et la nymphe (D) du ver blanc après traitement par <i>Beauveria</i> sp.....	29
Planche 05: Etapes du test de pathogénicité de <i>Beauveria</i> sp. sur les larves de <i>T. absoluta</i>	31
Planche 06: Etapes du test de pathogénicité de <i>Fusarium</i> sp1 sur les larves de <i>T. absoluta</i>	32
Planche 07: Etapes du test de pathogénicité de <i>Beauveria</i> sp. sur les larves du ver blanc	33
Planche 08: Etapes du test de pathogénicité de <i>Fusarium</i> sp1 sur les larves du ver blanc	34
Planche 09: Matériels fongiques et animale des tests biologiques.....	35
Planche 10: Etapes de la préparation des solutions entomopathogènes.....	36
Planche 11: Dispositif expérimental du test de pathogénicité sur les larves du ver blanc.	37

Liste des abréviations

Sotravitis : Société de Transformation des Produits Viticoles

FAO: Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture

INPV: Institut National de Protection des végétaux

°C: Degré Celsius

sp : Espèce

et al.: et collaborateurs

mn: minute

ml: millilitres

PDA: Potato Dextrose Agar

TL50%: Temps Létale de 50% de population

% : Pourcent

Introduction générale

Les vers blancs des vignobles sont des coléoptères de la famille des *Scarabaeidae*. Ils causent parfois, d'importants dégâts sur cette culture stratégique ; en effet les dommages causés principalement par les larves, sont surtout visibles au printemps et se caractérisent dans les cas les plus graves par une destruction complète du système racinaire en laissant la terre à nu. Les adultes de beaucoup d'espèces phytophages nuisent aux feuilles ou aux fleurs (Balachowsky, 1962). Les pertes économiques provoquées par ce ravageur depuis son signalement ont conduit à la mise au point de nombreuses méthodes de lutte. La lutte chimique reste le moyen le plus fréquent pour contrôler les larves du vers blancs pratiquée dans tous les pays infestés par ce bio-agresseur, avec d'autres méthodes de lutte tel que la lutte biologique.

Parmi les interventions en faveur d'une lutte biologique, il y a l'emploi des entomopathogènes. Ces derniers occupent une place particulière dans la recherche d'organismes capables de réguler les pullulations des insectes nuisibles (Carruthers, 1990). La lutte biologique, précisément par l'utilisation des champignons entomopathogènes est une alternative très prometteuse pour assurer une protection phytosanitaire performante.

L'objectif principal de cette étude ; est de vérifier la possibilité d'utiliser les champignons entomopathogène pour contrôler les populations larvaires du ver blanc. C'est dans ce contexte que s'insère notre travail expérimental en se focalisant sur :

1. La recherche des champignons entomopathogènes
2. L'évaluation de l'activité larvicide de deux entomopathogènes autochtones *Beauveria* sp. et *Fusarium* sp. vis-à-vis les larves du ver blanc afin d'envisager leur utilisation comme moyen de lutte alternatif préservant l'environnement.

Partie bibliographique

Chapitre I

Généralités sur les 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 vers blancs sont les larves de certains coléoptères comme le scarabée (Coleoptera : Scarabaeidae). Ils forment un groupe important d'insectes qui se nourrissant de plantes, dont plusieurs peuvent causer des dégâts considérables sur plan économique (Belbel et Smaili, 2015). Les pullulations incontrôlables des vers blancs et la non-maitrise des facteurs de leur dynamique de population font d'eux des ravageurs fortement nuisibles aux cultures (Yahiaoui et Bekri, 2014).

I. 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 cultures. 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* (Annexe 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 *Geotrogus* (Montreuil, 2003).

II. Air de répartition des vers blancs

II.1 En Algérie

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 foyers sont beaucoup plus étendus et peuvent embrasser de vastes espaces, dans ce même pays on observe des développements en terres lourdes (Oranie). Dans certaines régions ces insectes causent des ravages atteindre 50% de la récolte de céréales, notamment sur les hauts-plateaux d'Algérie (Balachowsky, 1992).

II.2 A Mostaganem

Les communes les plus endommagées par le ver blanc dans la wilaya de Mostaganem sont : Ben Abdelmalek Ramdane, Sidi Ali, Hadjaj, Ouled Malla. Ces dernières sont à forte vocation céréalière et viticole (Bousnane et Ghani, 2017).

La figure 01 indique l'évolution dans le temps des dégâts enregistrés en fonction des superficies infestées au cours des six campagnes agricoles allant de 2011-2012 à 2016-2017.

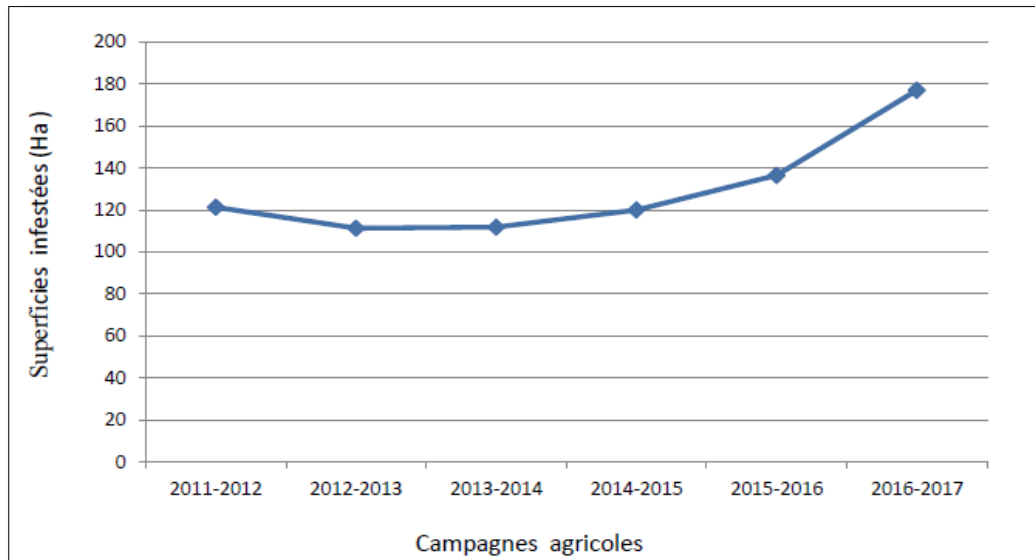


Figure 01 : Évolution des superficies infestées par le ver blanc dans la wilaya de Mostaganem (Bousnane et Ghani, 2017)

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).

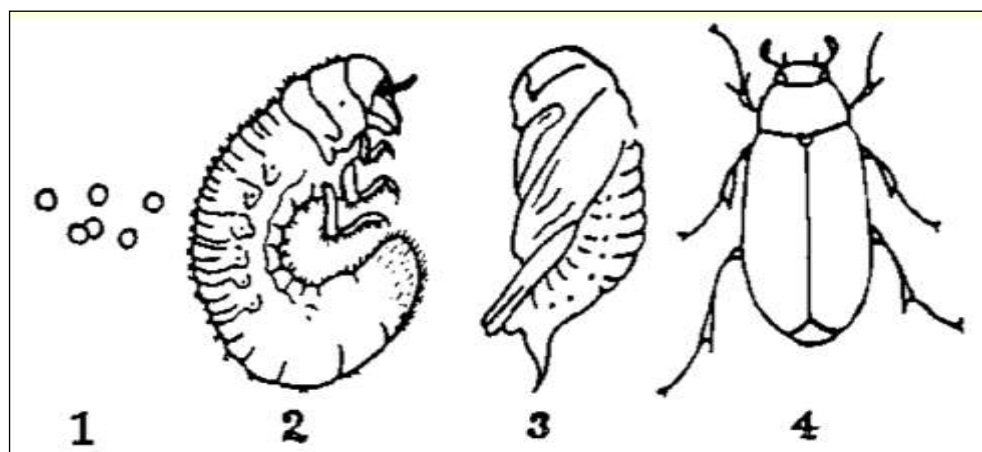


Figure 02: Les stades biologiques de développement du ver blanc, 1: œufs, 2: larve, 3: nymphe et 4: adulte (Duval et *al.*, 1993).

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 03). 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 (Robert et *al.*, 1976).

Les larves effectuent des déplacements horizontaux et verticaux dans le sol pour s'alimentent 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 et *al.*, 1993).



Figure 03: Larve de ver blanc (Originale, 2019)

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-nympe 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: Nympe du ver blanc. Face latérale (1), ventrale (2) et dorsale (3),
(Originale, 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.).

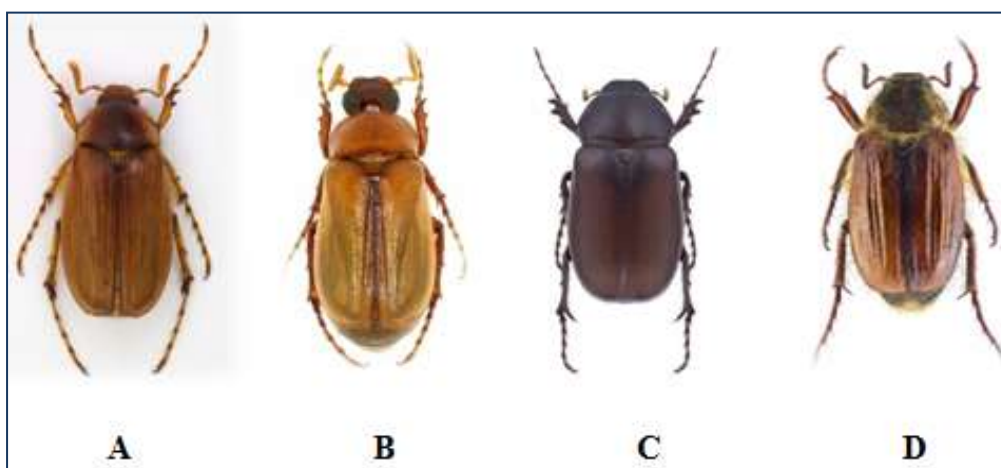


Figure 05: Quelques espèces de *Rhizotrogini*, **A:** *Geotrogus* sp. (Ballerio et al., 2014),
B: *Rhizotrogus* sp. (Daniel, 2009), **C:** *Schizoycha* sp. (Alexander, 2016) et
D: *Amphimallon* sp. (Linné, 1758).

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. 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 (INPV, 2015) et **B:** sur vignoble (Bousnane et Ghani, 2017).

V. Méthodes de lutte

La détermination préalable de la présence de vers blancs dans le sol à protéger doit être entreprise par des sondages. Elle consiste à effectuer dès la fin de l'été de l'année du vol, à l'aide d'une bêche des trous de 0,50 mètres de côté en fouillant le terrain jusqu'à 30 cm de profondeur à raison de 10 trous par hectare. Le comptage des vers blancs se fera en rapportant le nombre de larves au mètre carré. 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.

V.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).

V.2 Lutte culturale

Les larves de ver blanc sont très sensibles au changement climatique, ainsi qu'à la déshydratation, durant l'été les vers blancs se tiennent dans la couche superficielle du sol où ils détruisent 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. Quand il retourne profondément le sol et remonte en surface les larves, ce qui les expose au soleil et aux oiseaux prédateurs (Figure 07). Le travail du sol peut réduire la population de 50 à 80% et le sarclage à 6-8 cm de profondeur après plantation les supprime à 30-50%.

La date de plantation, l'irrigation et le choix variétal peuvent réduire les populations voire annuler les pertes dues aux vers blancs (Vercambre, 1990). D'ailleurs, c'est sans doute le changement des pratiques agricoles dans la plupart des régions, avec le retournement régulier des pâturages 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).



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

V.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.

Parmi les mammifères, le rôle de la Taupe reste mal précisé; d'après Regnier, des populations importantes de Campagnols et Mulots provoquent une régression très nette de *Melolontha melolontha*.

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 espèces des genres *Beauveria*, *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). En Europe, c'est plutôt vers les champignons entomopathogènes que la recherche s'est tournée en particulier avec *Beauveria brognartii*, soit en tentant de contaminer les larves dans le sol par épandage et enfouissement de grains de graminées (orge) préalablement contaminés, soit en pulvérisant des spores sur les feuilles des arbres au moment des phases d'alimentation des adultes, pour contaminer les femelles avant la ponte (Abgrall, 1991). C'est en 1995 avec le produit Bétel® que cette technique était remise à l'honneur, Combiné au Suxon, le Bétel® protège efficacement les plantations : l'insecticide a un effet immédiat, qui persiste les trois premières années, le temps nécessaire à l'entomopathogène pour se propager dans le sol. Puis, en 2004, son emploi est interdit (François-Régis, 2016).

Chapitre II

Les 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. Classification des champignons entomopathogènes

D'après Ferron (1975) et 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 (annexe 02).

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 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 *phyllum Ascomycota* (Humber, 2012). Actuellement, les champignons entomopathogènes appartiennent à quatre divisions différentes : *Chytridiomycota*, *Zygomycota*, *Basidiomycota* et *Ascomycota*. Le tableau 01 regroupe plusieurs espèces de champignons appartenant à différents phyllum 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> Witalczil	<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>	Balazy, 1993	
	<i>Z. radicans</i>		
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>Coccidiodyctyon</i>	<i>Coccidiodyctyon 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>H. citrifomis</i>	Humber, 2012
	<i>Hymenostilbe</i> Petch Emend.	<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 croît rapidement dans l'hémocœle. 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 08) (Ferron *et al.*, 1993).

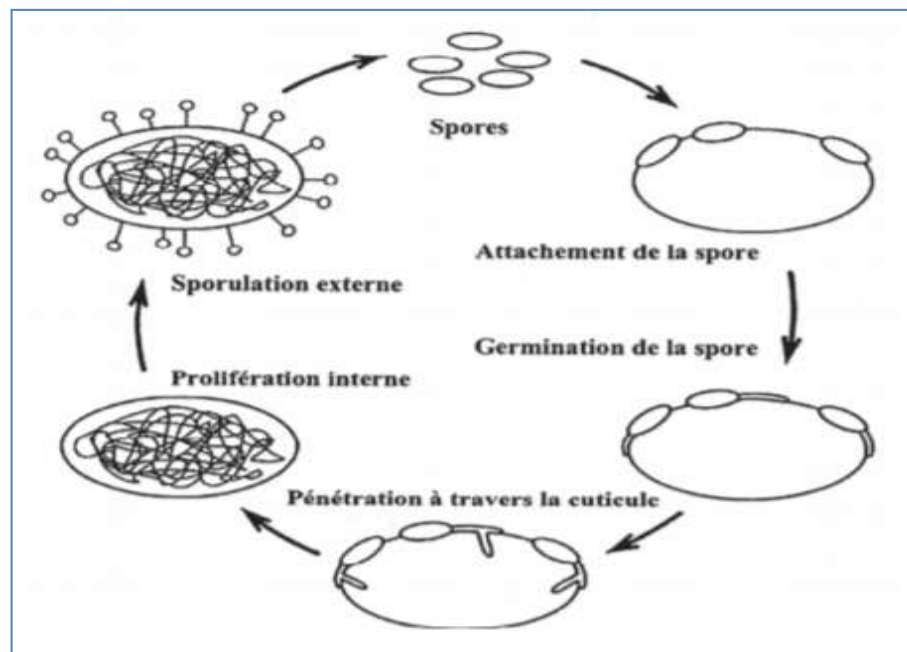


Figure 08: Schéma du cycle biologique des champignons entomopathogènes (Ferron *et al.*, 1993)

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* spp, *Rhynia radicans*, *Fusarium* spp et *Paecilomyces farinosus*.

III.1 *Beauveria bassiana*

Le champignon *Beauveria bassiana* est une espèce fréquemment retrouvée dans les sols du monde entier, très utilisé en lutte biologique. Plusieurs études ont démontré le potentiel insecticide de ce mycète. Ce champignon peut être utilisé contre différents insectes ravageurs appartenant à divers ordres, notamment les coléoptères (Todorova *et al.*, 1996) telle que la coccinelle maculée, *Coleomegilla maculata* (Coccinellidae), le scarabée argentin, *Cyclocephala signaticollis* (Scarabeidae) et le doryphore de la pomme de terre (*Leptinotarsa decemlineata*) (Chrysomelidae) (Todorova *et al.*, 1994). Cette espèce à un large spectre d'action et une grande virulence peut infecter l'hôte par simple contact (Meyling *et al.*, 2009) et causer la maladie de muscardine blanche.

Le champignon *B. bassiana* infecte l'insecte par contact et n'a pas besoin d'être ingéré par son hôte pour causer l'infection contrairement à plusieurs agents microbiens. Le champignon prolifère à l'intérieur de l'organisme le corps de l'insecte se déshydrate, la viscosité du sang augmente et l'insecte meurt (Biodokha *et al.*, 1993). L'individu infecté est recouvert d'une importante couche de mycélium blanc, évoquant la neige c'est le symptôme de la maladie de muscardine blanche chez les insectes (Figure 09). Ce mode d'action rend tous les stades (œuf, larve, adulte) sensibles. L'insecte infecté véhicule le champignon lors de son déplacement jusqu'à sa mort.



Figure 09: Symptôme de muscardine blanche sur insecte causé par *B. bassiana* (Michael, 2002).

III.1.1 Taxonomie

D'après Rehner et Buckley (2005), la classification récente de *Beauveria bassiana* est comme suit :

Règne : *Fungi*

Phylum : *Ascomycota*

Sous-phylum : *Pezizomycotina*

Classe : *Sordariomycete*

Sous-classe : *Hypocreomycetidae*

Ordre : *Hypocreale*

Famille : *Cordycipitaceae*

Genre : *Beauveria*

Espèce : *Beauveria bassiana*

III.1.2 Morphologie

Ce champignon forme des hyphes transparents et septaux de 3,5 µm de diamètre. Cette espèce produit des colonies cotonneuses de couleur blanchâtre à jaunâtre. Le genre est caractérisé par un conidiophore à base renflée et à extrémité terminale en zigzag formant de façon sympodiale de petites spores unicellulaires (Annexe 03). Le conidiophore continue de croître après avoir donné naissance aux spores et chaque spore laisse une cicatrice en relief (aspect denticulé). Les bouquets de conidiospores donnent un aspect en "fausse tête" (Figure 10). On distingue deux types de spores selon la présence ou l'absence d'oxygène: les conidiospores formées en présence d'air et les blastospores en condition d'anaérobiose. Les conidiospores prennent une forme sphérique ou ovale tandis que les blastospores sont uniquement ovales. Les deux types de spores peuvent avoir le même effet pathogène sur les insectes infectés (Weiser, 1972).

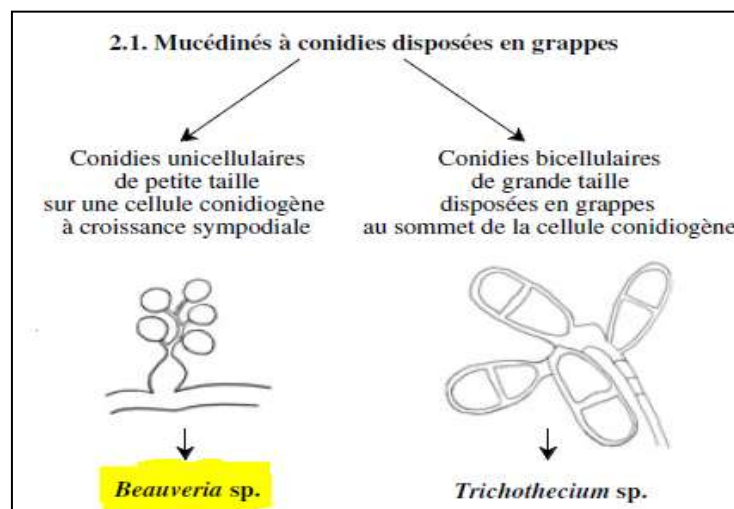


Figure 10: Clé d'identification des Mucédinés à conidies disposées en grappes (*Beauveria sp.*) (Chabasse et al., 2002).

III.2 *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). Cette revue de 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.2.1 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.2.2 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 11).

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 (Annexe 04). Les phialides sont courtes, larges et formées sur le mycélium aérien ; les microconidies sont absentes ; les macroconidies sont fusiformes courbées et septées; les chlamydospores 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 chlamydospores.

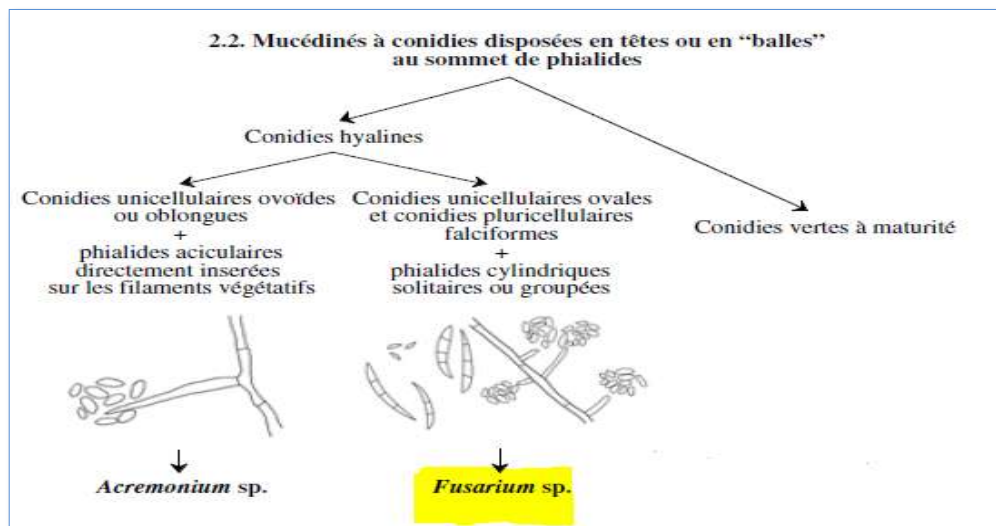


Figure 11: Clé d'identification des Mucédinés à conidies disposées en têtes (*Fusarium* sp.) (Chabasse et al., 2002).

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 spp.* (Logrieco et al., 1998). La beauvericine est un hexadepsipeptide cyclique (Figure 12) 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).

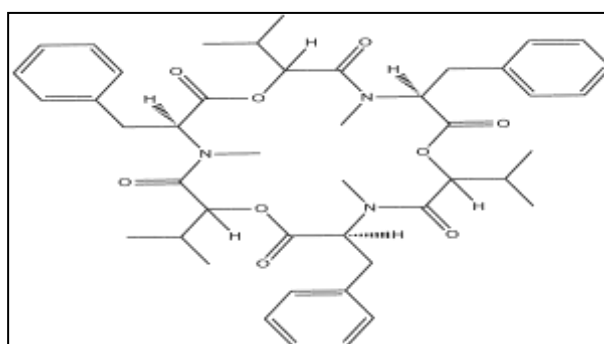


Figure 12: Structure chimique du Beauvericine.

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 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, réduisent la menace des agents insecticides pour les cellules humaines et révèlent la mécanisme d'autres mycotoxines.

Partie expérimentale

Chapitre I

Recherche des champignons entomopathogènes

Introduction

Les champignons entomopathogènes sont des agents de contrôle naturels importants pour de nombreux insectes, y compris plusieurs ravageurs (Carruthers, 1990). Le contrôle biologique, en particulier lorsqu'il est accompli par les entomopathogènes, est une technique qui devrait être considérée comme un important facteur de 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 des champignons entomopathogènes par:

- L'identification d'une gamme de champignons.
- L'évaluation de leurs pathogénicité vis-à-vis les larves de *Tuta absoluta* et du ver blanc.

I. Matériels et méthodes

Le présent travail a été réalisé au sein du laboratoire pédagogique de la Protection des végétaux à l'Université de Mostaganem.

I.1 Origine des souches fongiques

Les isolats fongiques utilisés lors de cette expérimentation (Figure 13) ont été isolés à partir des cadavres d'insectes appartenant à différents ordres. Il s'agit de six isolats purs non identifiés et un entomopathogène autochtone du genre *Beauveria* qui a prouvé son efficacité sur les larves de *Tuta absoluta* (Badaoui, 2017).

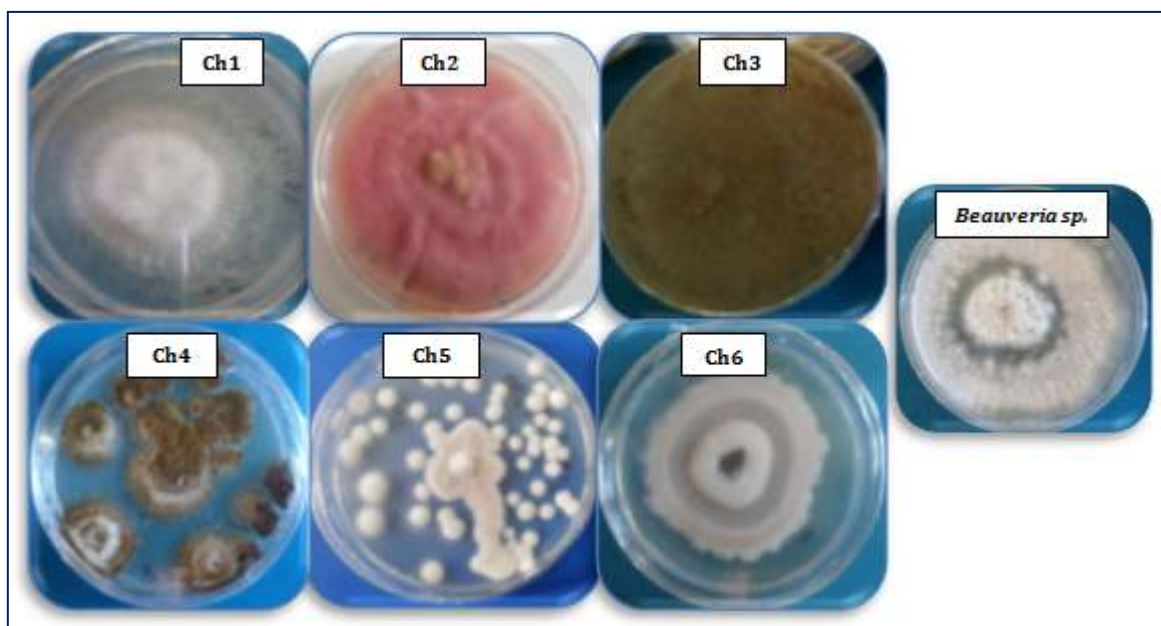


Figure 13: Souches fongiques utilisées pour les testes biologiques

I.2 Régénération des champignons

A l'aide d'un scalpel stérile, les champignons ont été régénérés par la technique de repiquage (Figure 14). Le repiquage des isolats à identifier s'est effectué sur le milieu PDA à la suite du prélèvement des explants fongiques en bordure des colonies conservées depuis 2014 dans des boîtes de Pétri contenant le même milieu de culture. Les cultures ont été incubées à 25 C° pour permettre le développement des champignons.



Figure 14: Régénération des souches fongiques

I.3 Identification des champignons

L'identification des champignons fait essentiellement appel aux caractères cultureux et à la morphologie, 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 l'étude des deux aspects : macroscopiques et microscopiques (Botton *et al.*, 1990).

- a) L'observation macroscopique qui permet l'étude de la forme, la couleur et la taille des colonies
- b) L'observation microscopique qui permet la détermination de la forme du mycélium, l'absence ou la présence des cloisons, la couleur et le mode de ramification des phyalides ainsi que la forme des conidies.

Un ou plusieurs fragments ont été prélevés des bordures des colonies développées puis déposés dans une goutte de bleu méthylène entre lame et lamelle (Figure15). Il faut savoir répéter le montage afin de saisir le meilleur moment de sporulation de champignon.

Les champignons ont été identifiés par les caractères morphologiques et microscopiques, en se basant sur des bibliographies d'identification des moisissures (Chabasse et *al.*, 2002; Dufresne, 2018) (Annexe 03).

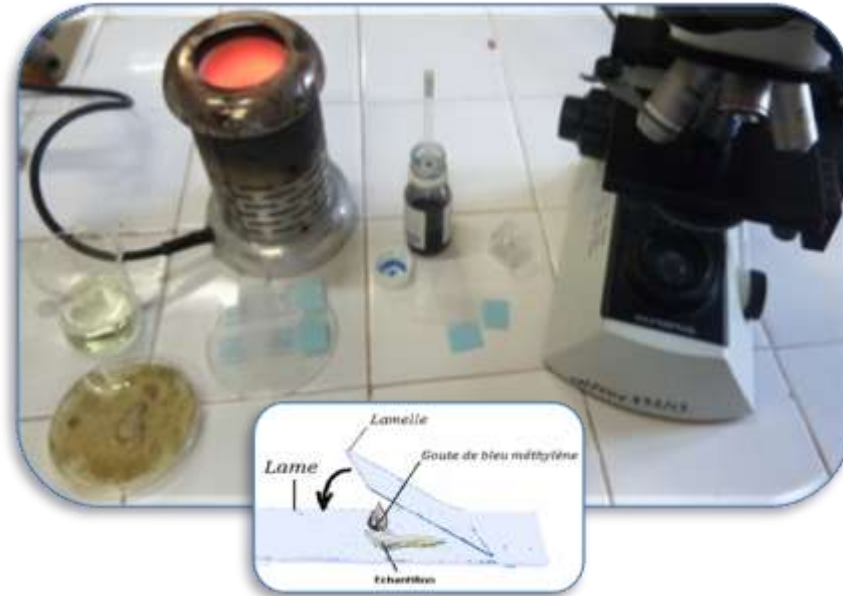


Figure 15: Préparation des lames pour les observations microscopiques

I.4 Tests de pathogénicité sur les larves de *Tuta absoluta* et du ver blanc

Avant toute étude portant sur un agent pathogène isolé d'un insecte contaminé, il faudrait au préalable vérifier la pathogénicité de ce dernier par des contaminations artificielles suivi par le ré-isolement du germe à partir des organismes malades, afin de confirmer sa causalité dans l'induction des symptômes observés sur l'hôte (Postulat de Kock) (Lakhdari et *al.*, 2015).

Des tests de pathogénicité ont été réalisés sur les larves de *T. absoluta* et du ver blanc, pour vérifier la sensibilité de ces ravageurs aux souches fongiques préalablement régénérées.

I.4.1 Matériels biologiques

A. Matériel fongique

Pour chaque champignon, les solutions fongiques ont été préparées à partir des cultures âgées de 15 à 20 jours et ayant bien sporulé. Les colonies prélevées de celles-ci ont été introduites dans des tubes contenant 20 ml d'eau distillée stérilisée (Figure 16). Les solutions fongiques ont été agitées manuellement jusqu'à l'homogénéisation des suspensions, par la suite une goutte de tween 20 a été ajoutée dans chaque tube.



Figure 16: Souches fongiques utilisées pour la préparation des solutions sporales.

B. Matériels animal

Deux bio- agresseurs ont été utilisés pour les tests de pathogénicité ; il s'agit de la mineuse de la tomate *T. absoluta* et du ver blanc.

Les larves de *T. absoluta*, proviennent de l'exploitation expérimentale de l'Université de Mostaganem (Mazagran). Les feuilles de tomate infestées d'insectes ont été ramenées au laboratoire en vue d'être triées dans le but de séparer les larves des feuilles endommagées. A l'aide d'une épingle les larves sont enlevées légèrement de la feuille puis transférées dans une boîte de Pétri (Figure 17) pour être utiliser dans les tests de pathogénicité.

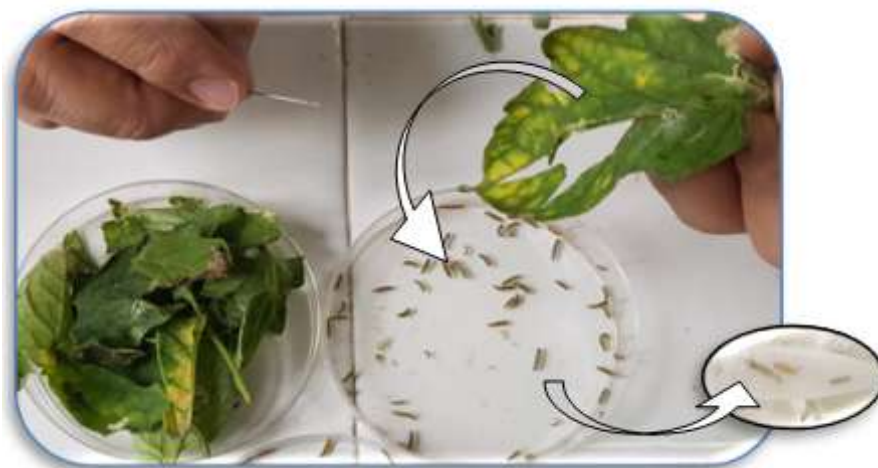


Figure 17: Prélèvement des larves de *Tuta absoluta*

Les larves de ver blanc soumises aux tests de pathogénicité ont été récoltées à proximité du vignoble (Figure 18 (B)) géré par la ferme expérimentale de Sotravitis (Figure 18 (A)), situé à la commune de Stidia à 15 km de la wilaya Mostaganem. Les sorties sur terrain ont été déroulées pendant la période comprise entre les mois de Mars et Avril 2019.

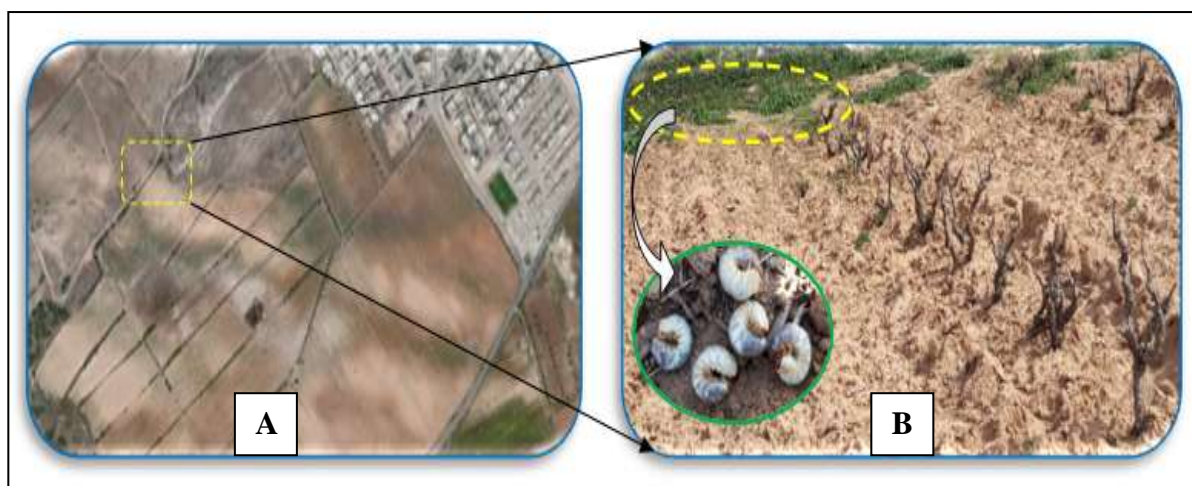


Figure 18: Site de la récolte des larves de ver blanc, A: vue aérien de Sotravitis (Google Earth, 2019) et B: lieu de prélèvement.

I.4.2 Méthode d'inoculation

La méthode d'inoculation par trempage a été adoptée pour assurer le contact direct du champignon avec l'insecte. Cette technique est recommandée par la FAO comme méthode standard de la détection et de mesure de la résistance des insectes aux insecticides et particulièrement pour mesurer la toxicité des champignons par contact (Butt et Goettel, 2000).

I.4.2.1 Traitement des larves de *T. absoluta*

L'inoculation a été réalisée dans des conditions stériles que possible. Les larves ont été trempées pendant cinq secondes dans la suspension cryptogamique, par la suite elles ont été déposées délicatement dans une boîte de Pétri contenant un papier absorbant stérile et une feuille de tomate dépourvue de mine à raison de 7 individus par boîte avec deux répétitions pour chaque souche (Figure 19). Quant aux lots témoins, les larves ont été trempées dans l'eau distillée stérile additionnée d'une goutte de tween 20.



Figure 19: Dispositif expérimental du test de pathogénicité sur les larves de *T. absoluta*.

I.4.2.2 Traitement des larves du ver blanc

La même technique utilisée pour le traitement des larves de *T. absoluta* a été adoptée pour l'inoculation des larves de ver blanc. Pour chaque solution fongique trois individus traités ont été répartis dans des boîtes de Pétri à 3 compartiments, contenant du papier stérile. Pour chaque champignon une seule répétition a été réalisée (Figure 20).

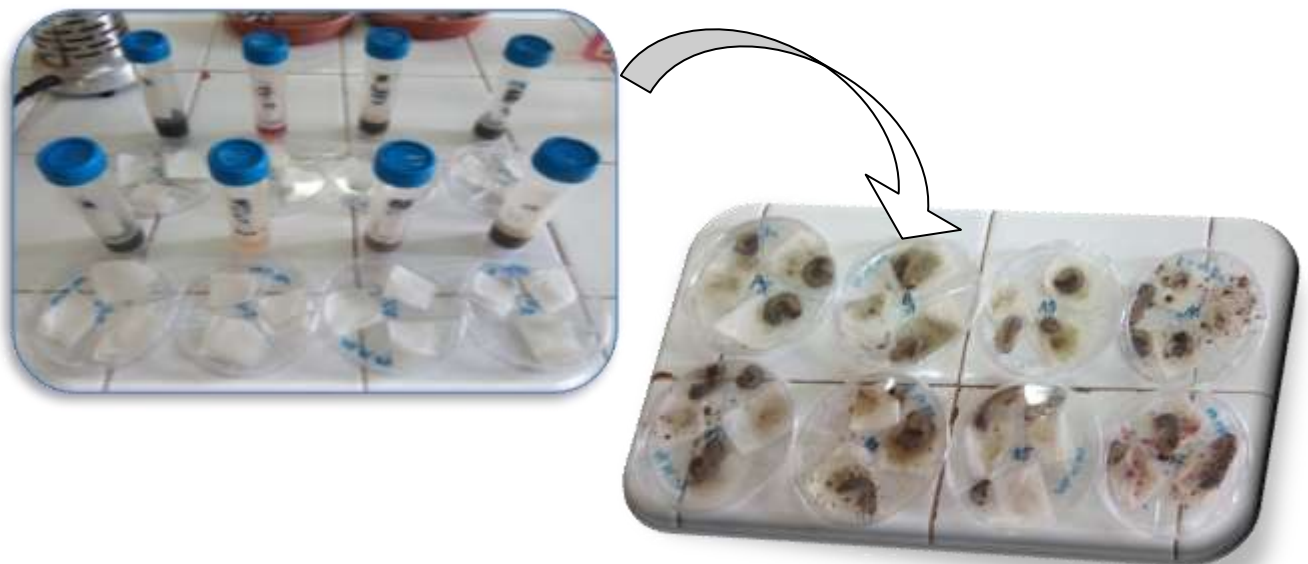


Figure 20: Dispositif expérimental du test de pathogénicité sur les larves du ver blanc.

Les larves de *T. absoluta* et du ver blanc traitées par les sept isolats fongiques ont été maintenues à une température de 25 °C pour favoriser le développement des champignons. Les observations sont notées quotidiennement pour vérifier leur éventuel effet insecticide.

I.4.3 Ré-isolément des champignons entomopathogènes

La sporulation des champignons entomopathogènes s'effectue sur la partie extérieure de l'insecte hôte dans des conditions humides et à l'intérieur si le milieu environnant est trop sec (Hurpin et Vago, 1958). Pour les larves de ver blanc le ré-isolément des entomopathogènes consiste à découper des fragments de cadavre d'insecte momifié puis à les déposer sur le milieu de culture PDA et les incubés à une température de 25° C pour favorisé le développement mycélien des souches fongiques.

Les spécimens de *T. absoluta* momifiés et bien sporulés (Planche 01) ont été enlevés complètement en prenant soin de ne pas dissocier les filaments fongiques qui recouvrent l'insecte. Ils sont ensuite placés dans le milieu de culture PDA afin d'isoler à nouveau le germe entomopathogène.

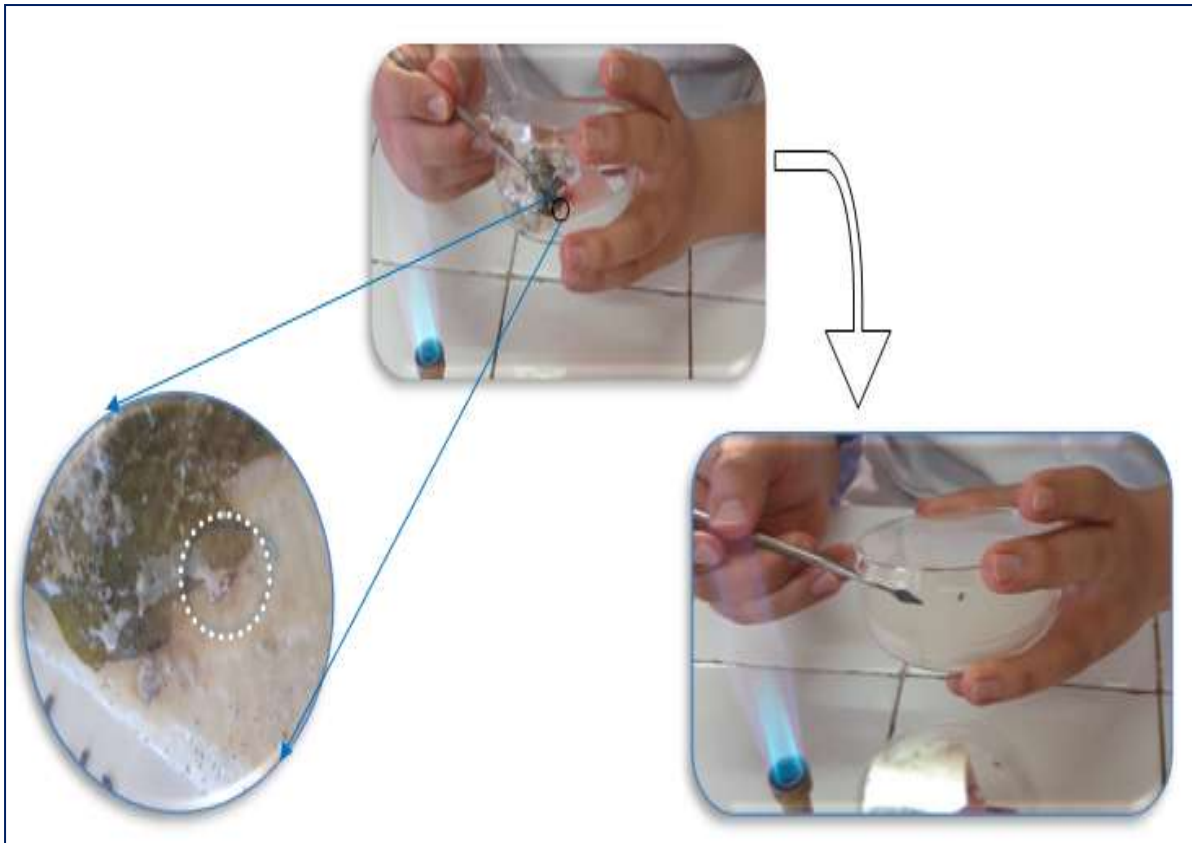


Planche 01: Protocole de ré-isolément des champignons à partir d'insectes infectés.

II. Résultats et discussion

II.1 Régénération de *Beauveria* sp.

Le champignon *Beauveria* sp. est caractérisé par la couleur blanche des colonies qui sont floconneuses et poudreuses. Lors de la régénération de cette espèce, deux aspects différents ont été observés dans la même boîte de Pétri, l'un de couleur verte et l'autre saumon. Des repiquages successifs à partir de la colonie bicolore ont permis d'obtenir au début ces deux aspects distincts (Planche 02 (A) et (B)), par la suite des colonies cotonneuses de couleur blanchâtre semblable à la souche mère ont été obtenues. Cela indique que cet isolat change de couleur mais garde sa capacité à revenir à son état initial.

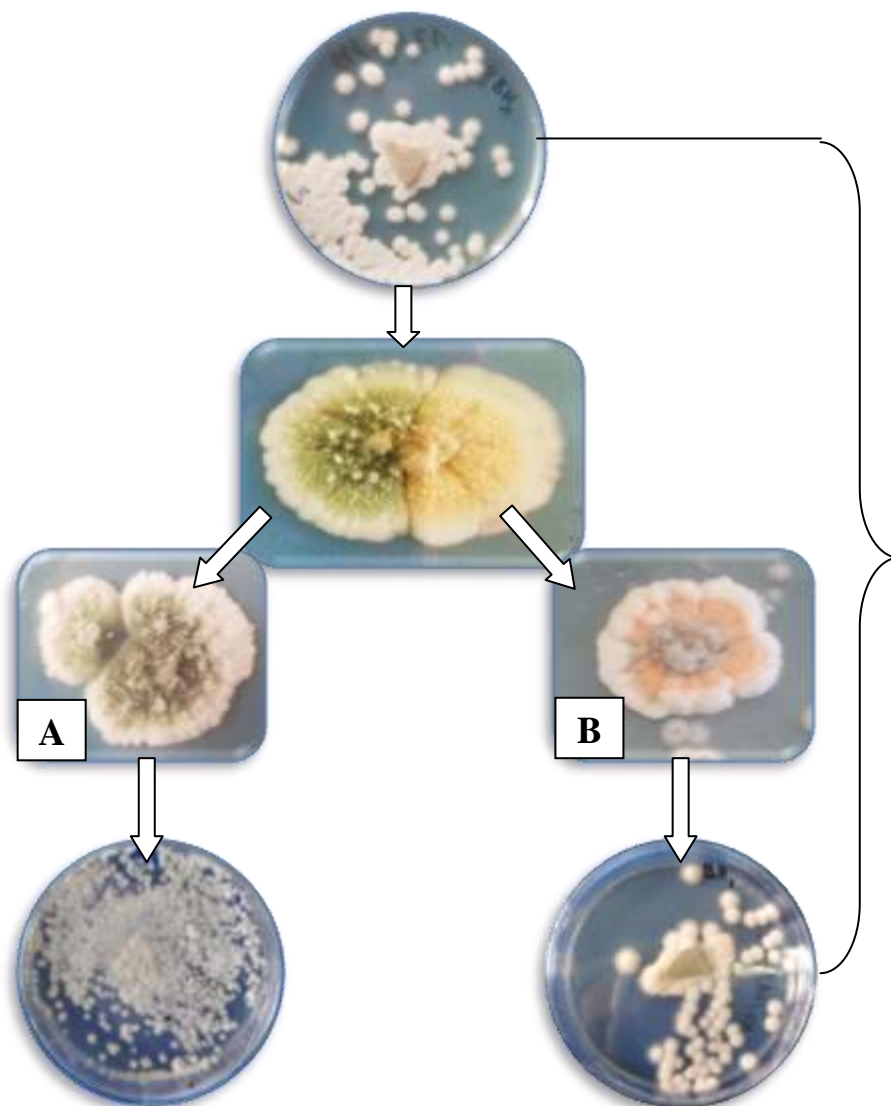


Planche 02: Changement de couleur de *Beauveria* sp., **A** : colonie verte et **B** : colonie saumon

II.2 Identification des souches fongiques

II.2.1 *Fusarium* sp.

L'analyse microscopique a montré la présence de macroconidies fusiformes et cloisonnées c'est le principal caractère des *Fusarium*. Les observations macroscopiques ont montré la présence de deux souches différentes. Ces champignons cultivés sur le même milieu de culture, forment des colonies duveteuses ou cotonneuses de couleur blanche puis devient soit rose orange (*Fusarium* sp1) (Figure 21), soit reste blanche (*Fusarium* sp2) (Figure 22).

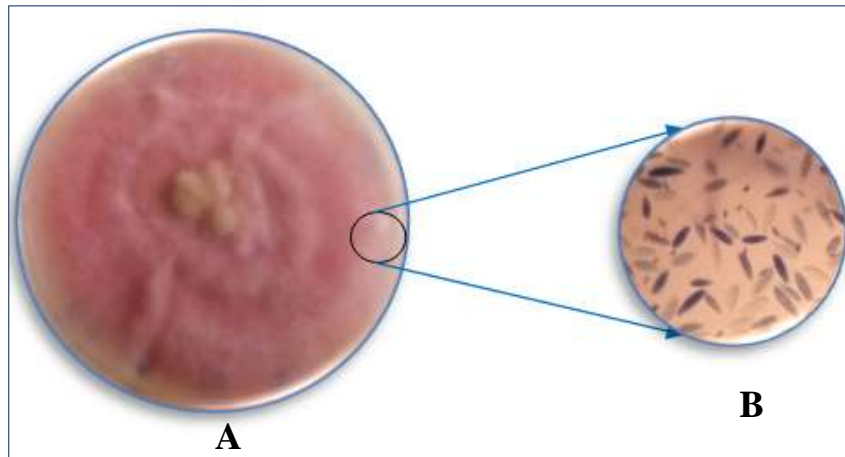


Figure 21: Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) (x40) de *Fusarium* sp1

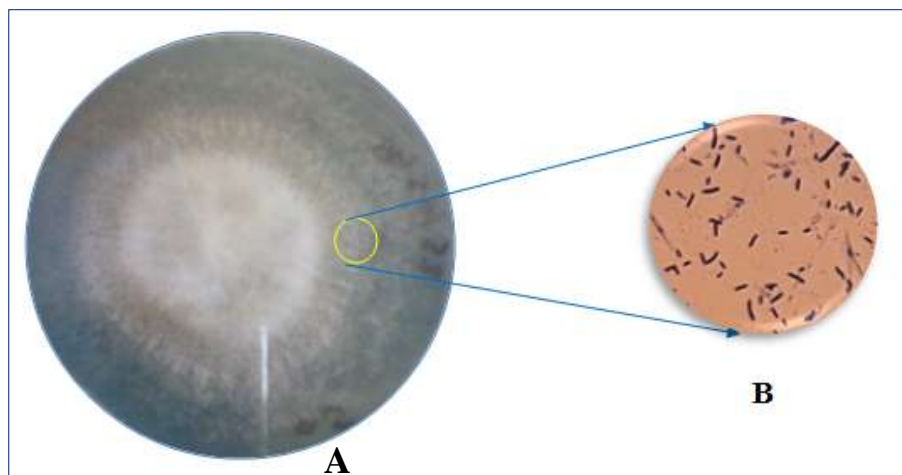


Figure 22: Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) (x40) de *Fusarium* sp2

II.2.2 *Penicillium* sp.

L'observation microscopique a démontré la présence d'un mycélium cloisonné avec des conidiophores lisses ramifiés qui possède une forme ressemblant à celle d'un pinceau, sur lesquels sont portés les phialides ; portant à leur tour des conidies hyalines ou de couleur vive lorsqu'elles sont en masse. Elles sont de forme sphérique assemblées en chaînettes.

Sur le milieu de culture PDA, la colonie de *Penicillium* sp. est colorée en vert, sa croissance mycélienne, est plus ou moins rapide (Figure 23).

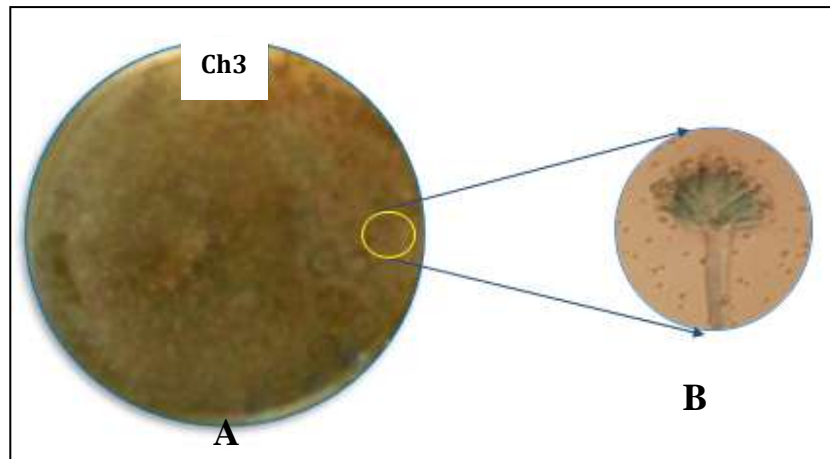


Figure 23: Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) (x40) de *Penicillium* sp.

II.2.3 *Aspergillus* sp.

Les *Aspergillus* sont caractérisés par un thalle végétatif formé de filaments mycéliens hyalins, de diamètre fin et régulier, septés et ramifiés. L'identification du genre est basée sur la mise en évidence des têtes aspergillaires ((Figure 24).

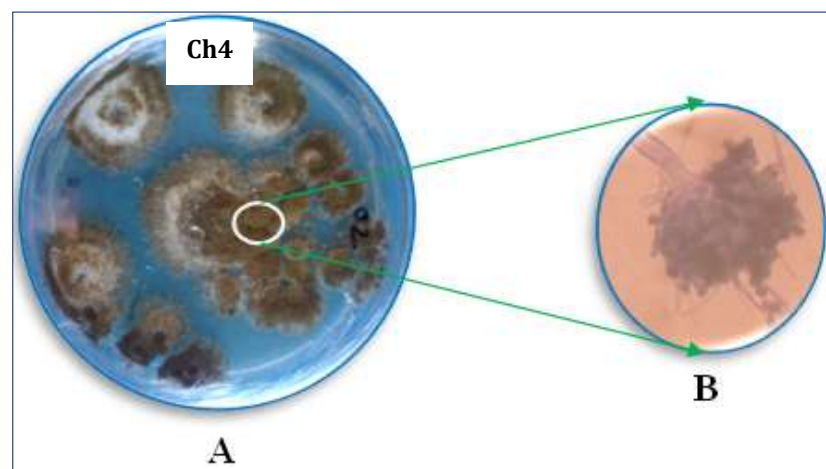


Figure 24: Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) (x40) d'*Aspergillus* sp.

Plusieurs analyses microscopiques ont été réalisées pour l'identification des deux souches restantes (Ch5 et Ch6) (Figure 13), mais nous n'avons pas pu les identifier.

II.3 Essai de pathogénicité des champignons sur les larves de *Tuta absoluta* et du ver blanc

II.3.1 Action des différents champignons

Les résultats obtenus suite à l'inoculation des larves de *T. absoluta* et du ver blanc par les suspensions cryptogamiques des sept isolats (*Beauveria* sp., *Fusarium* sp1, *Fusarium* sp2, *Penicillium* sp., *Aspergillus* sp., et les deux isolats non identifiés (Ch5 et Ch6)) ont engendré une forte mortalité des spécimens traités. Il est à noter que les larves dans les lots témoin ont complété leurs cycle biologique jusqu'à l'émergence des adultes.

II.3.1.1 Symptômes sur la mineuse de tomate *Tuta absoluta*

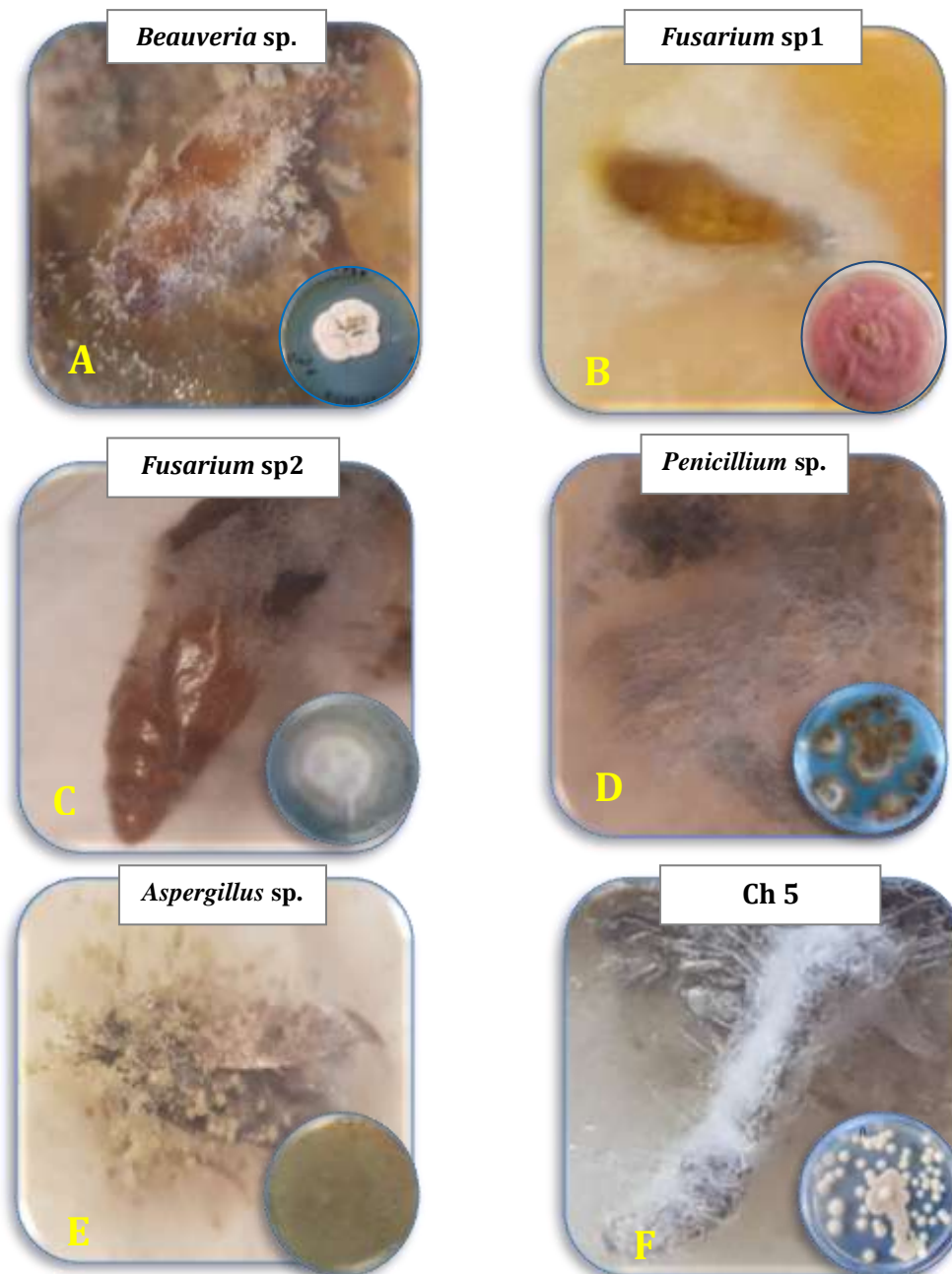


Planche 03: Actions des champignons sur la larve (F), les nymphes (A, B et C) et les adultes (D et E) de *Tuta absoluta*

L'analyse des individus de *T. absoluta* traitée par la souche Ch5 montre que ce champignon s'enroule avec son mycélium de couleur blanchâtre sur toute la surface de la larve (Planche 03(F)).

Après une semaine du traitement, la majorité des larves soumises à l'action des différents champignons sont transformées en nymphes. Avec le temps nous avons remarqué une extériorisation du mycélium sur :

- Les nymphes préalablement traitées par les champignons *Beauveria* sp., *Fusarium* sp1 et *Fusarium* sp2 (Planche 03 (A,B et C)).
- Les adultes qui ont immergé après inoculation par *Penicillium* sp. et *Aspergillus* sp. (Planche 03 (D et E)). Ce dernier donne un aspect de pique d'aiguille avec des spores poudreuses de couleur verdâtre

II.3.1.2 Symptômes sur le ver blanc

A- Action de *Beauveria* sp.

Les larves mortes suite au traitement par *Beauveria* sp. ont été examinées plusieurs fois afin de vérifier le développement des hyphes mycélien de ce champignon.

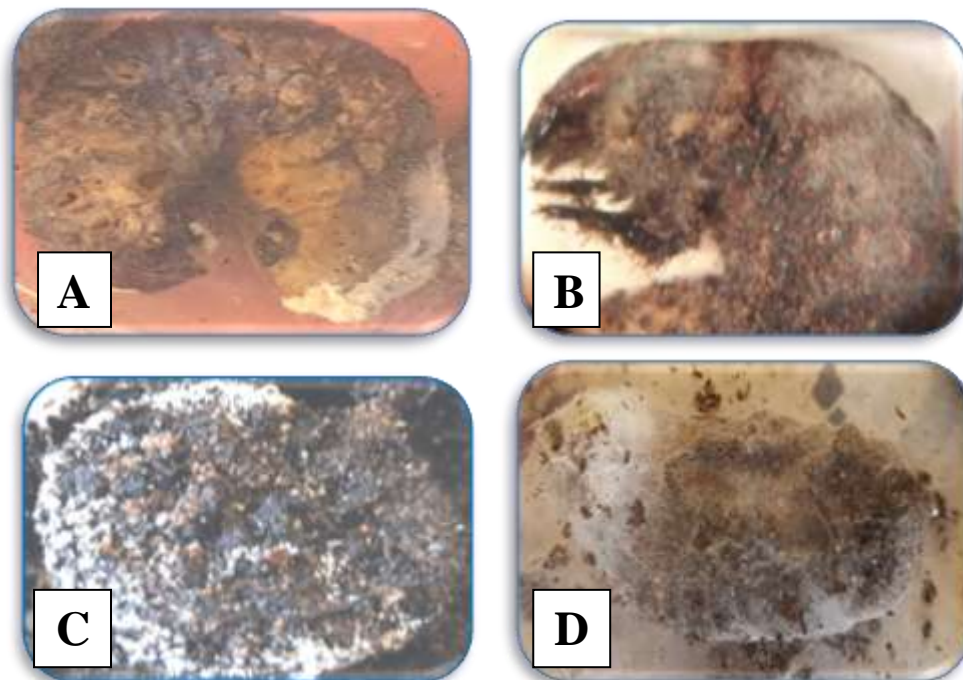


Planche 04: Symptômes de la muscardine blanche sur les larves (A, B et C) et la nymphe (D) du ver blanc après traitement par *Beauveria* sp.

Après infection fongique sur l'insecte hôte ; *Beauveria* sp. donne les symptômes sur la cuticule de la larve (Planche 04 (A)) en commençant par la partie molle du corps, par la suite les hyphes recouvrent toute la surface de l'insecte et forment un mycélium blanc qui entoure complètement l'insecte (Planche 04 (B)). Quand les conidies atteignent la maturité le cadavre de l'insecte devient blanc nuageux (Planche 04 (C)) c'est le symptôme qui permet de déterminer la maladie de la muscardine blanche chez les insectes.

B. Action de *Fusarium* sp1

Après traitement des larves par le *Fusarium* sp1 les spores se fixent sur la cuticule de l'insecte. Son mycélium, de couleur blanchâtre, couvre toute la surface du corps en commençant par la tête (Figure 25).



Figure 25: Action de *Fusarium* sp1 sur une larve de ver blanc.

II.3.2 Ré-isolément des champignons entomopathogènes

La pathogénicité d'un agent induit des symptômes observables sur l'hôte saine inoculée. Afin de confirmer les postulats de Kock et s'assurer que ces symptômes sont provoqués par le même pathogène, les tissus d'insecte infecté par les champignons ont été ré-isolés sur milieu PDA, puis comparées morphologiquement à l'aspect de la souche utilisée pour l'inoculation.

II.3.2.1 Ré-isolément à partir des larves de *Tuta absoluta*

Pour vérifier la pathogénicité des isolats testés, des prélèvements des larves momifiées suite à l'inoculation ont été effectués. Ils sont ensuite placés dans le milieu de culture (PDA) pour isoler à nouveau le champignon entomopathogène; après l'incubation à 25°C, il s'en est suivi l'observation du développement des isolats fongiques. Les planches 05 et 06, représentent les étapes du test de pathogénicité de *Beauveria* sp. et *Fusarium* sp1 sur les larves de *T. absoluta*.

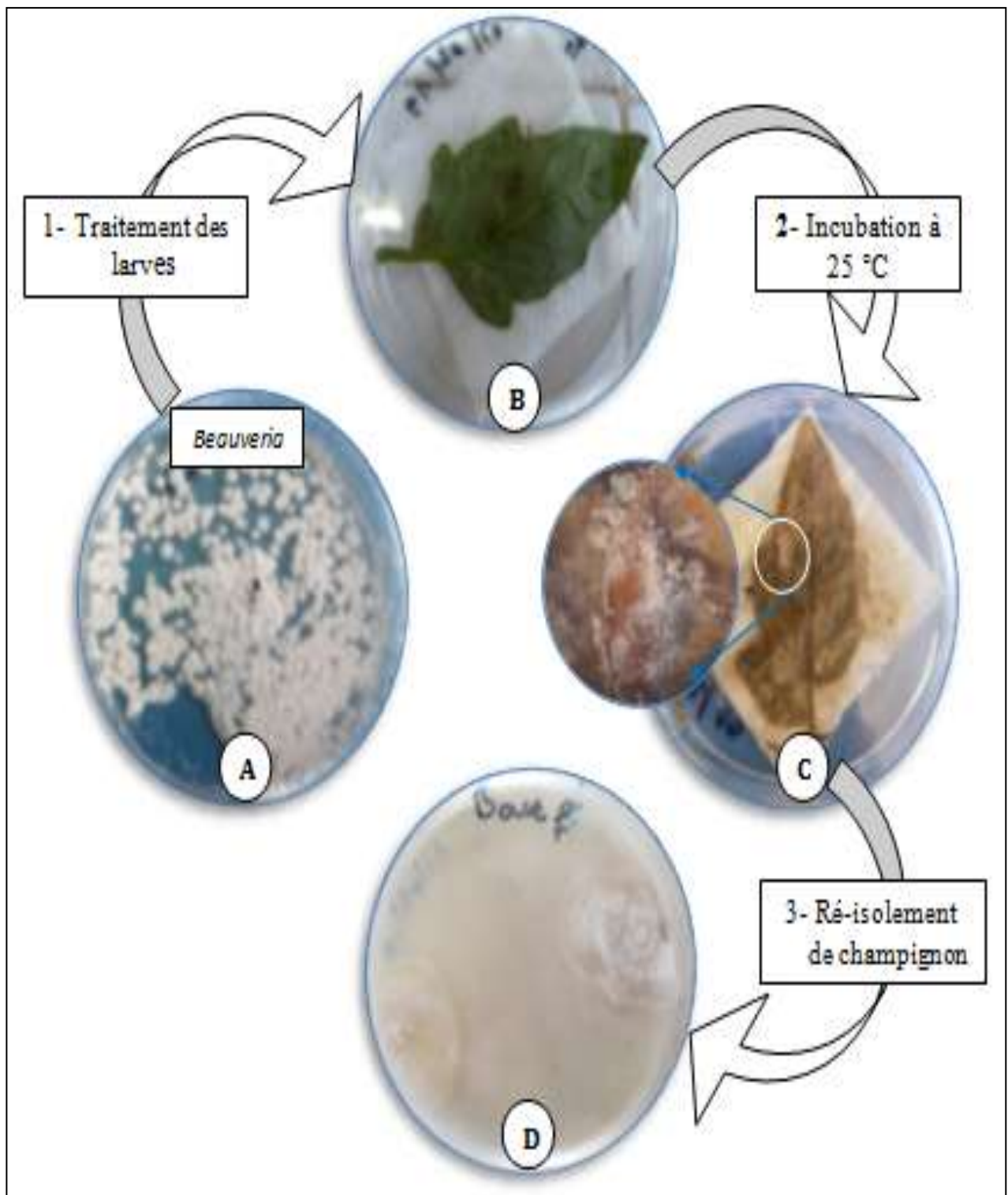


Planche 05: Etapes du test de pathogénicité de *Beauveria* sp. sur les larves de *T. absoluta*
(A: culture de *Beauveria* sp., B: larves traitées, C: symptôme sur larve, D: ré-isolément de *Beauveria* sp)

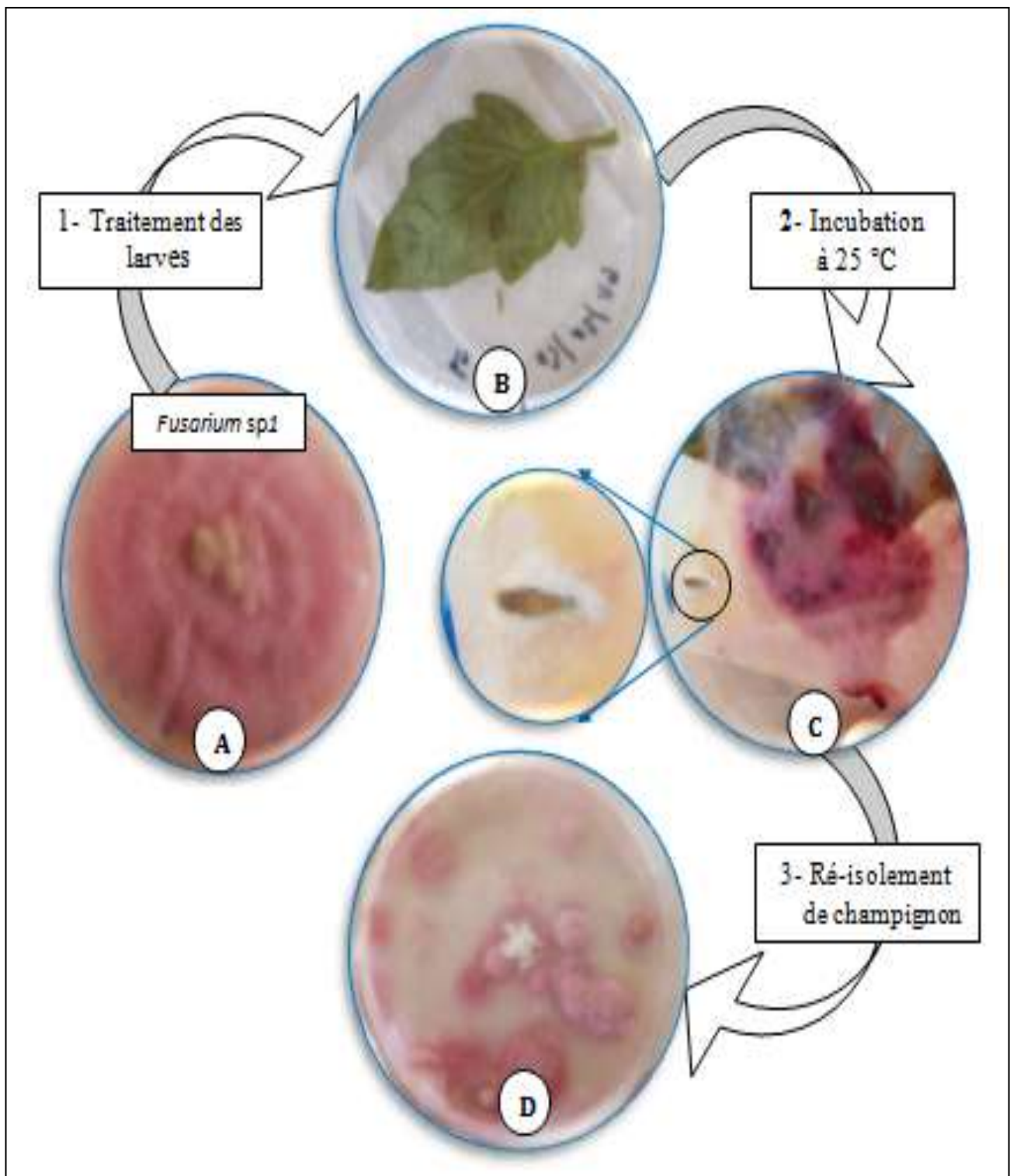


Planche 06: Etapes du test de pathogénicité de *Fusarium sp1* sur les larves de *T. absoluta* (A: culture de *Fusarium sp1*, B: larves traitées, C: symptôme sur larve, D: ré-isolément de *Fusarium sp1*)

II.3.2.2 Ré-isolément à partir des larves du ver blanc

Après l'incubation des fragments de larve du ver blanc qui présentent les symptômes de mycose entomopathogène de *Beauveria* sp. (Planche 07) et de *Fusarium* sp. (Planche 08). Ces mêmes champignons ont été ré-isolés ce qui confirme que ces symptômes sont provoqués par les mêmes pathogènes.

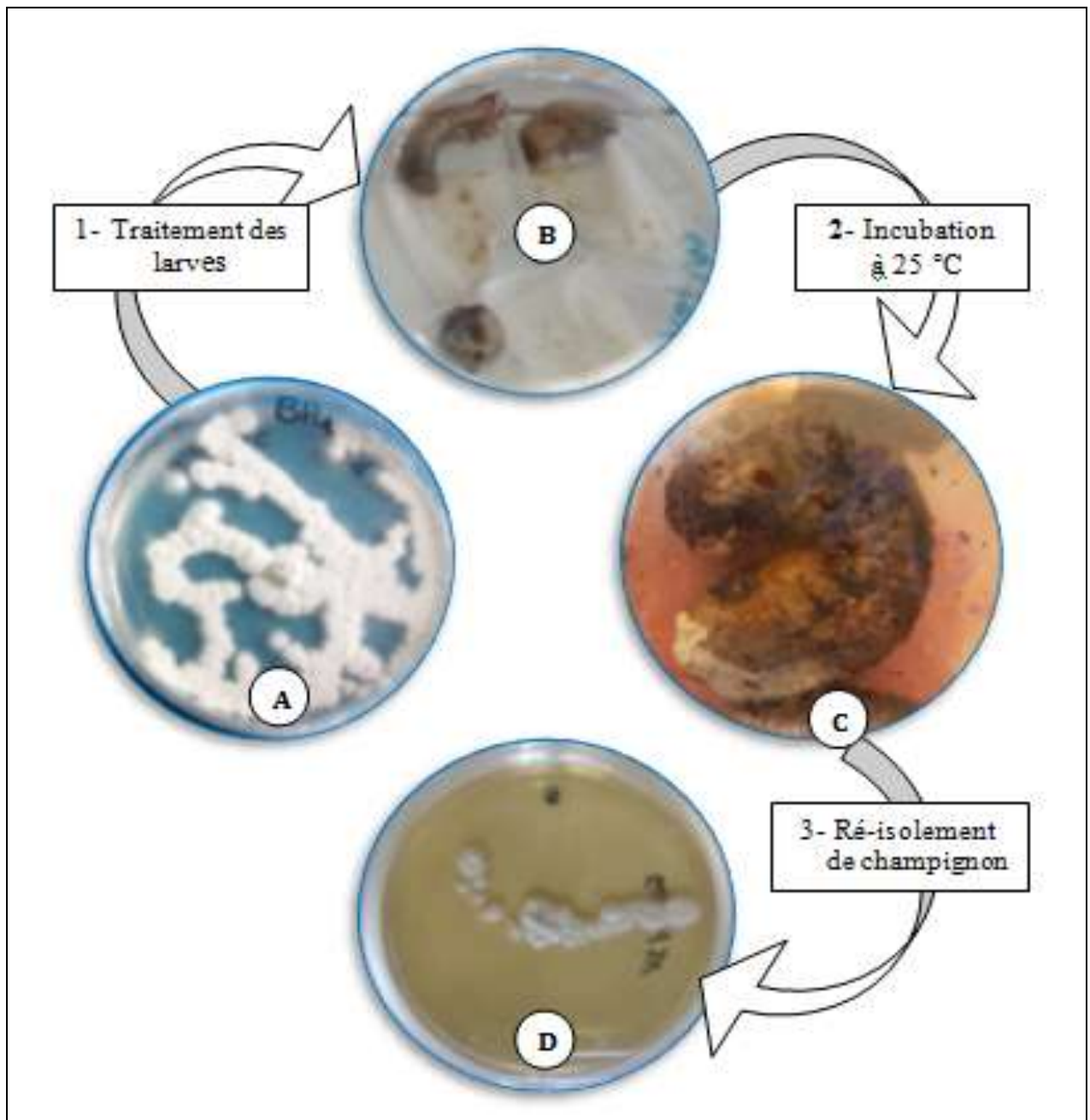


Planche 07 : Etapes du test de pathogénicité de *Beauveria* sp. sur les larves du ver blanc

(A: culture de *Beauveria* sp., B: larves traitées, C: symptôme sur larve, D: ré-isolément de *Beauveria* sp)

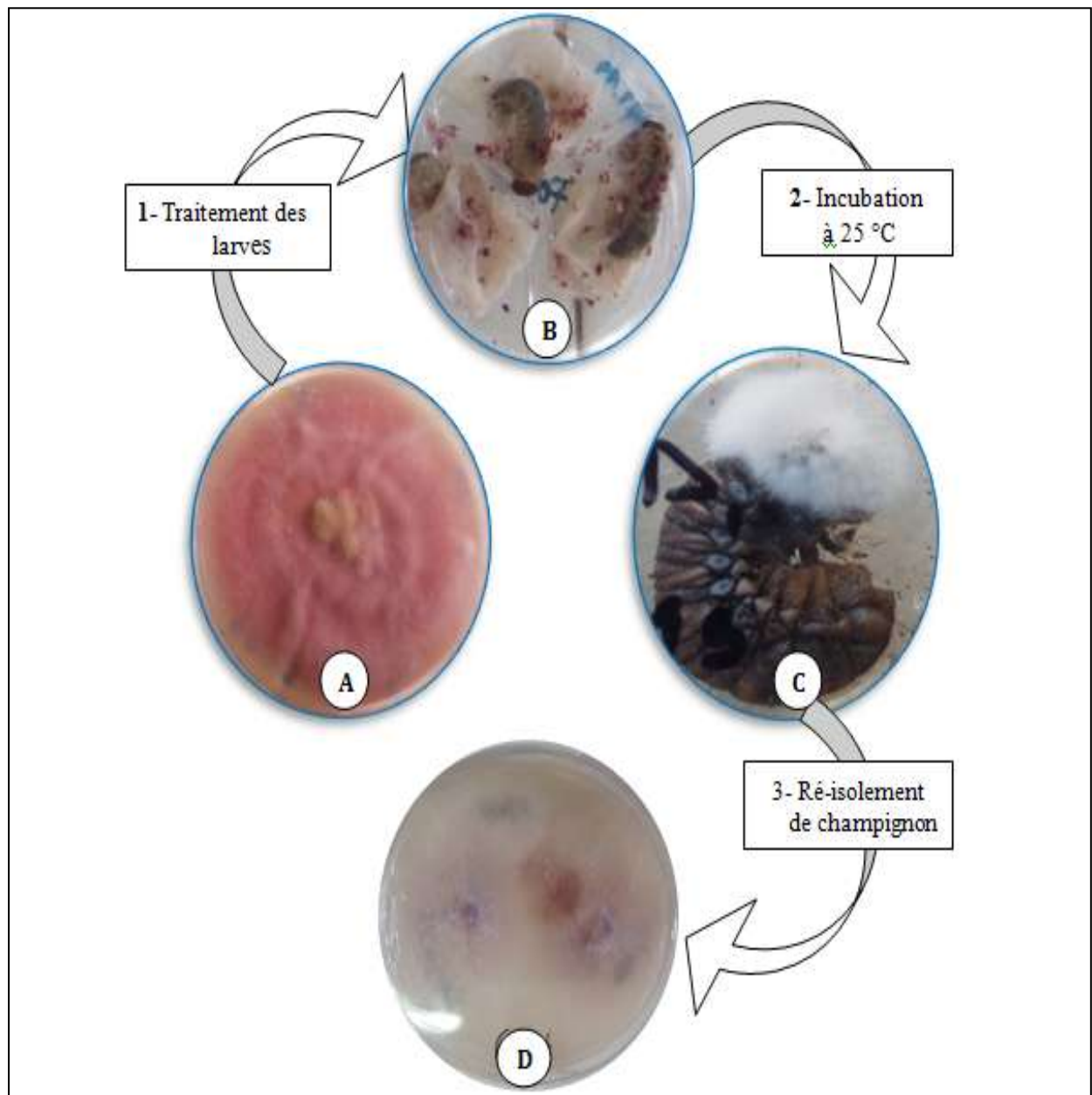


Planche 08: Etapes du test de pathogénicité de *Fusarium sp1* sur les larves du ver blanc (A: culture de *Fusarium sp1*, B: larves traitées, C: symptôme sur larve, D: ré-isolament de *Fusarium sp1*)

Les résultats des tests de pathogénicité avec les sept isolats fongiques (*Beauveria sp.*, *Fusarium sp1*, *Fusarium sp2*, *Penicillium sp.*, *Aspergillus sp.*, et les deux isolats non identifiés (Ch5 et Ch6)) ont mis en exergue la présence de deux entomopathogènes autochtones ; il s'agit de *Beauveria sp.* et *Fusarium sp1*. Ces derniers ont prouvé leur efficacité vis-à-vis les différents stades des deux bio-agresseurs testés (la mineuse de la tomate et le ver blanc).

Chapitre II

*Evaluation de l'activité larvicide
des champignons
entomopathogènes sur le ver blanc*

Introduction

Les dégâts provoqués en agriculture par les vers blancs sont importants dans le monde. Il est admis maintenant par tous que la lutte chimique a des conséquences néfastes sur l'environnement (Coderre et Vincent, 1992), ce qui nécessite la recherche de nouveaux moyens de bio-control. Les microchampignons entomopathogènes jouent un rôle important dans la régulation naturelle des populations d'insectes nuisibles (Wraight, 1987).

C'est pour cette raison des tests biologiques sur les larves du ver blanc ont été réalisés dans ce chapitre à fin d'évaluer l'activité insecticide de deux champignons entomopathogènes autochtones il s'agit de *Beauveria* sp. et *Fusarium* sp1. en comparant :

- L'effet de deux aspects différents de *Beauveria* sp. (blanc et vert) sur les larves de ver blanc.
- L'effet de l'absence et la présence du sol sur l'activité larvicide de *Beauveria* sp.
- L'activité larvicide des entomopathogènes *Beauveria* sp. et *Fusarium* sp1.

I. Matériels et méthodes

I.1 Matériels biologiques

Suite aux résultats des tests de pathogénicité satisfaisants obtenus avec *Beauveria* sp. et *Fusarium* sp1 sur la mineuse de tomate *T. absoluta* et le ver blanc il a été intéressant d'approfondir l'étude de leur effet sur les larves du ver blanc (Planche 09). Ce dernier est considéré comme l'un des ravageurs nuisibles des cultures ce qui nous a conduit à chercher une solution biologique basée sur l'utilisation de ces deux entomopathogènes connus pour leurs capacités à contrôler les populations d'insectes d'ordres différents.

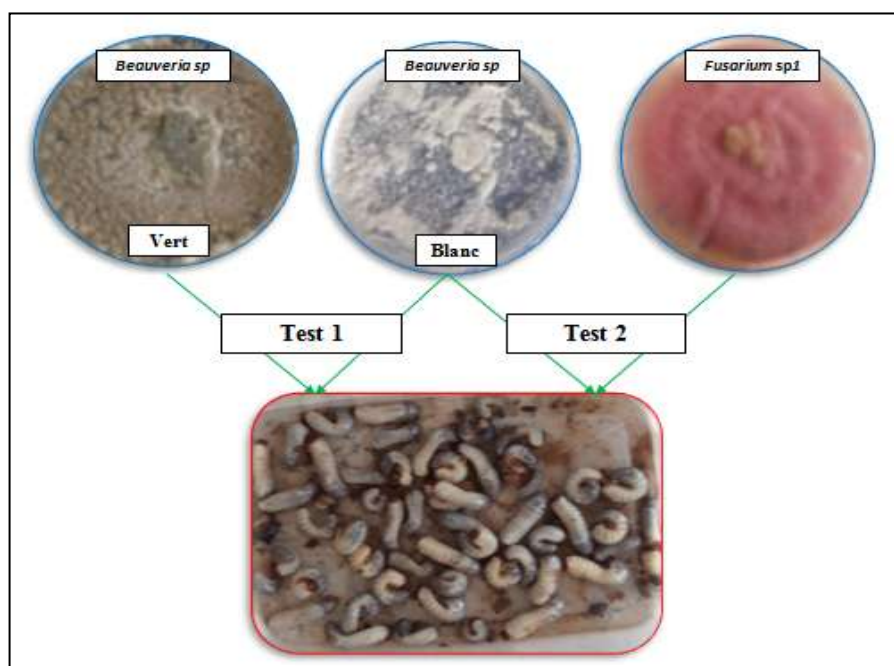


Planche 09: Matériels fongiques et animale des tests biologiques

I.2 Préparation des solutions sporale

Les solutions-mères destinées à l'infection des larves ont été obtenues en raclant avec un scalpel stérile la surface des cultures fongiques, puis en plongeant ce prélèvement dans un bécher qui contient 20 ml d'eau distillée stérile. Le bécher et son contenu sont ensuite soumis pendant une dizaine de minutes à l'action d'un agitateur magnétique, afin de détacher les conidiospores de leur substrat. Les solutions sont filtrées et la concentration de chacune d'elles est déterminée par dénombrement des spores à l'aide de la cellule de Malassez » (Planche 10). Les concentrations utilisées ont été obtenus à partir de la dilution des la suspensions-mères.

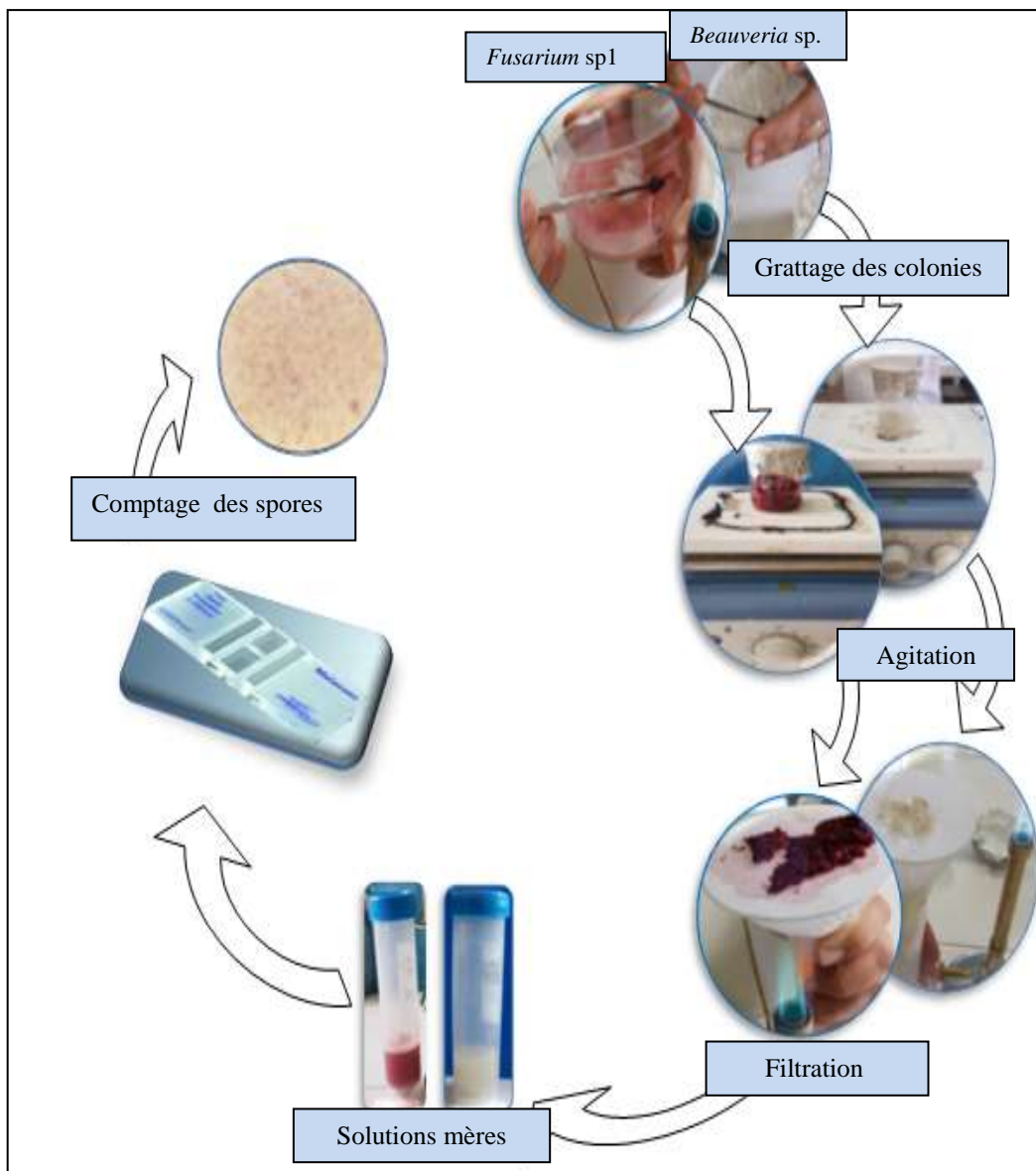


Planche 10: Etapes de la préparation des solutions entomopathogènes

I.3 Evaluation de l'effet larvicide de *Beauveria sp.* et *Fusarium sp1* vis-à-vis le ver blanc

I.3.1 Comparaison de l'effet larvicide de deux aspects différents de *Beauveria sp.* (blanc et vert)

Pour comparer l'effet des deux aspects différents de *Beauveria sp.* (vert et blanc) observées dans le chapitre précédant (Planche 02) ; deux concentrations ont été préparées en diluant les suspensions mères soit : B-D₁ = 5x10⁶ et B-D₂= 5x10⁵ spores/ml pour *Beauveria sp.* dont les colonies sont blanches et V-D₁ = 5x10⁶ et V-D₂= 5x10⁵ spores/ml pour *Beauveria sp.* vert. Cinq larves du ver blanc ont été placées délicatement dans une boîte en plastique stériles. Le traitement a été effectué par pulvérisation des suspensions fongiques (Planche 11) additionnées d'une goutte de tween 20 sur des lots de 15 individus. Pour chacune des concentrations trois répétitions ont été réalisées et même pour le témoin qui est constitués des larves traitées par l'eau distillée stérile contenant une goutte de tween 20. Après traitement, les larves ont été recouvertes par le sol stérile et maintenues à une température de 25°C.



Planche 11: Dispositif expérimental du test de pathogénicité sur les larves du ver blanc. Lots inoculés par *Beauveria sp.* blanc (A), *Beauveria sp.* vert (B) et lot témoin (C).

I.3.2 Effet de l'absence ou la présence du sol sur l'activité larvicide de *Beauveria* sp. (blanc)

Pour vérifier l'effet de la présence ou l'absence du sol sur les taux de mortalité des larves suite au traitement fongique par *Beauveria* sp. (blanc); la même méthodologie utilisée pour le premier test a été adoptée, sauf que le sol stérile a été remplacé par du papier absorbant et les boîtes ont été protégées avec du papier aluminium (Figure 26).

Cette technique est une confrontation directe champignon- insecte, elle consiste à pulvériser deux lots de quinze larves par deux solutions cryptogamiques de 5×10^5 spores/ml (B-D₁ sans sol) et 5×10^6 spores/ml (B-D₂ sans sol). Les résultats obtenus ont été comparés avec ceux des mêmes doses en présence du sol.

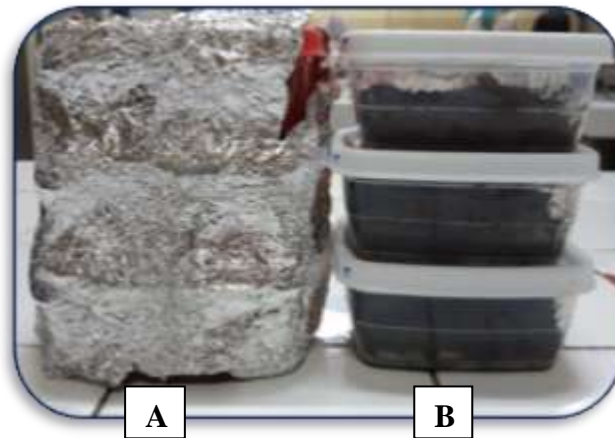


Figure 26: Lots traités par *Beauveria* sp. en absence (A) et en présence (B) du sol

I.3.3 Evaluation de l'effet larvicide des entomopathogènes *Beauveria* sp. et *Fusarium* sp1

Ce bio-test consiste à comparer l'efficacité de deux champignons entomopathogènes *Beauveria* sp. et *Fusarium* sp1 sur la mortalité des larves du ver blanc.

L'inoculation des larves par *Fusarium* sp1 a été effectuée par pulvérisation de la suspension fongique sur chaque individu pour assurer une bonne répartition et une meilleure pénétration des spores dans le corps de l'insecte. Les individus témoins ont été pulvérisés avec de l'eau distillée stérilisée contenant une goutte de tween 20. Trois répétitions ont été retenues à raison de cinq individus pour chacune.

Les concentrations utilisées ont été obtenus à partir de la dilution de la suspension mère. Deux concentrations ont été préparées soit : F-D1= 10^7 spores/ml et F-D2= 10^6 spores/ml.

Les résultats de l'infestation des larves de ver blanc par *Fusarium* sp1 ont été comparés avec ceux obtenus suite au traitement par *Beauveria* sp. blanc.

Tous les bio-essais réalisés dans ce chapitre ont été conduits pendant 20 jours. Les observations ont été réalisées quotidiennement afin de déterminer l'effet insecticide des deux entomopathogènes autochtones *Beauveria* sp. et *Fusarium* sp1 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.

Pour éliminer tous les risques de mortalité naturelle, les mortalités dans les boîtes traitées (M1) ont été exprimées selon la formule de Schneider et Oreilli en mortalités corrigées (MC), tenant compte des mortalités observées dans les boîtes témoins (Mt):

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

M1 : Pourcentage de la mortalité dans le lot traité

Mt : Pourcentage de la mortalité dans le lot témoin

Pour évaluer l'efficacité des entomopathogènes testés sur les larves du ver blanc, un autre paramètre a été obtenu directement à partir des données de la mortalité corrigée illustrées sur les graphes. Il s'agit de la TL50 qui représente le temps létal au bout duquel on obtient 50 % de mortalité de la population traitée.

II. Résultats et discussion

III. Essai d'identification du ravageur

La détermination de l'espèce de ver blanc en examinant la morphologie des larves n'été pas possible. Alors il été nécessaire d'attendre l'émergence des adultes pour procéder à une identification préliminaire basée sur la comparaison de nos spécimens avec des photos sur internet. Après consultation d'un ouvrage de Balachowsky qui traite le sujet de l'entomologie appliquée à l'agriculture nous avons constaté une forte ressemblance avec l'espèce *Phyllognathus* sp.

D'après Balachowsky (1962), le cycle évolutif des *Phyllognathus* sp. est d'un an. Les principales phases peuvent se situer de la façon suivante: Vie imaginaire en été, ponte à partir du mois d'août, vie larvaire en automne et hiver, nymphose en mai-juin. Les *Phyllognathus* sont rencontrées dans les îles Canaries et tout le nord de l'Afrique. Leur présence est attestée du Maroc jusqu'à l'Egypte, y compris dans les régions désertiques (oasis), atteignant l'Iran et la Crimée vers l'est (Baraud, 1992).

Phyllognathus sp. possède l'aspect typique des Dynastidae, il est caractérisé par un corps brun uniforme et luisant, et un dimorphisme sexuel accusé. Le mâle porte sur la tête une corne recourbée et effilée vers l'arrière, tandis que son thorax est profondément échancré (Figure 34). La femelle est dépourvue de corne céphalique et d'échancrure thoracique (Balachowsky, 1962).



Figure 34: couple Femelle (A) et Mâle (B) de *Phyllognathus* sp. (Originale, 2019)

La biologie de ce Coléoptère, malgré l'importance des dégâts que ces larves occasionnent dans les vignobles des pays méditerranéens, est peu connue et son éthologie dans la nature est assez mal définie (Balachowsky, 1962)

Conclusion

Comme toutes les cultures, la vigne est l'hôte d'un bon nombre de parasites dont les dommages sont parfois très préjudiciables. Parmi ces parasites, le ver blanc provoque des dégâts variables selon les années et les régions. 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.

Les programmes des traitements chimiques suivis par les agriculteurs n'ont pas aboutis à contrôler la pullulation de ce bio-agresseur à cause de son biotope édaphique qui rend son élimination très difficile. La recherche des solutions alternatives pour réduire ses dégâts, devient la préoccupation majeure du ministère de l'Agriculture. Le présent travail représente une contribution dans la recherche des agents biologiques pour freiner le développement des populations du ver blanc.

La recherche des entomopathogènes autochtones a permis d'identifier cinq isolats représentés par les genres *Beauveria*, *Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*. Les tests de pathogénéicité menés sur la mineuse de tomate *T. absoluta* et le ver blanc ont permis de ne garder pour la suite de l'étude que deux souches (*Beauveria* sp. et *Fusarium* sp1) ayant présenté une virulence certaine, les autres isolats se développent d'une manière saprophyte sur les insectes.

Les résultats des tests de l'activité insecticide montrent que les larves du ver blanc sont sensibles à l'effet de *Beauveria* sp. en comparaison avec le deuxième entomopathogène *Fusarium* sp1. Des taux de mortalité supérieure à 50% au 4ième jour ont été observés pour *Beauveria* sp. à la dose de 5×10^6 spores/ml ; tandis que pour *Fusarium* sp1 moins de 30% de la population larvaire a été éliminé au même jour en utilisant une dose supérieure (10^7 spores/ml). De plus l'efficacité de *Beauveria* sp. augmente en présence du sol en en utilisant les colonies poudreuse de couleur blanche.

Les tests de pathogénéicité de *Beauveria* sp., a mis en exergue la faible efficacité de ce champignon sur les larves de ver blanc. En effet, cet entomopathogène à besoin d'une concentration supérieur à 10^6 spores/ml, pour pouvoir contrôler ce ravageur.

L'identification préliminaire du ravageur en se basant sur les caractères morphologiques de l'insecte indique que l'espèce étudiée est probablement *Phyllognathus* sp.

Ces résultats bien que préliminaires, témoignent d'une activité insecticide de *Beauveria* sp. vis-à-vis les larves du ver blanc. Comme perspectives il serait recommandé de relancer ces tests sur l'insecte avec des concentrations supérieurs à celles testées dans cette expérimentation afin de choisir la dose optimale qui contrôle ce phytophage. En même temps l'identification avec précision de ce bio-agresseur est essentielle pour mener une lutte biologique efficace.

Références bibliographiques

- Abgrall J.-F. (1991).** Observations biologiques et essais de lutte contre le hanneton commun
- Alexander S., (2016).** [en ligne], (page consultée le : 15/05/2019).[www.alsphotopage.com](http://alsphotopage.com)
<http://alsphotopage.com/image/show/id/13240>
- 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 Frères Mentouri , p 03, 60 pages.
- 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.
- 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.
- Balachowsky A.S., (1962).** Entomologie appliquée à l'agriculture, tome I ,*Ed Masson* .Paris.
- Ballerio A., Rey A., Uliana M., Rastelli M., Rastelli S., Romano M. & Colacurcio L., (2014).** Piccole Faune. Coleotteri Scarabeoidei d'Italia. M. Serra Tarantola ed., Brescia, [en ligne], (page consultée le : 15/05/2019). http://www.societaentomologicaitaliana.it/Coleotteri_Scarabeoid_d'Italia%202014/scarabeidi/Geotrogus_geneibBIG.htm
- Baraud J., (1992).** - *Faune de France, 78 : Coléoptères Scarabaeoidea d'Europe* . Féd. Fr. Soc. Sci. Nat et Soc. Linn. Lyon, 856 pp.
- Bassi A., (1835).** Del mal del segno, calcinaccio o moscardino, mallatia che afflige i bachi da seta, e sul modo di leberarne le bigattiage anche le piu infestante. Lodi, tipogtafia Orceri. Réédition.
- 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.
- Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P., (1990).** Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, Ed. Masson, Paris
- Boukli hacene, S. (2012).** - Bioécologie des Coléoptères (Arthropodes-Insectes) du marais salé de l'embouchure de la Tafna (Tlemcen). Diplôme de Doctorat en Ecologie animale, Université de Tlemcen, 159 P.
- 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

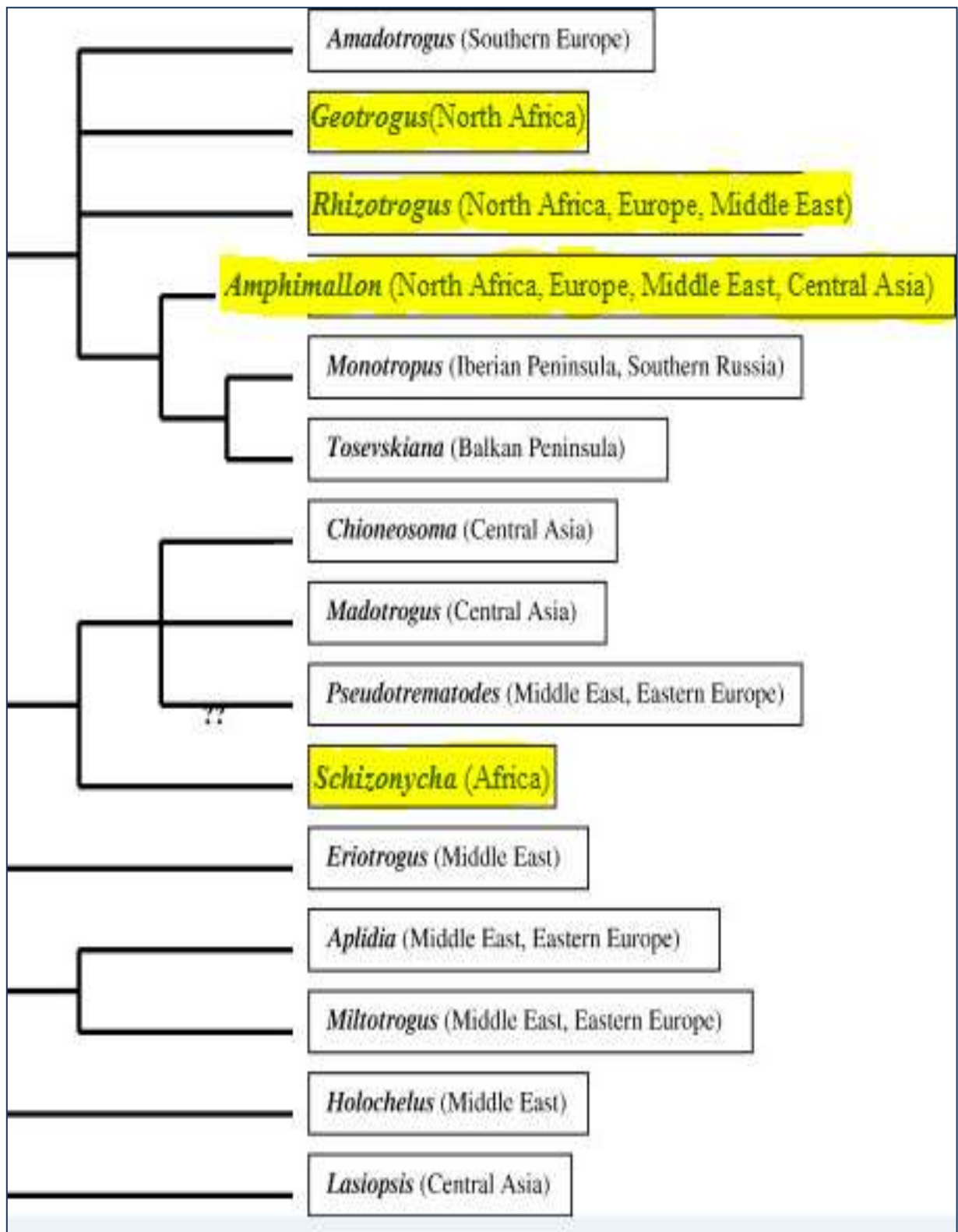
- blanc de la vigne. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master ; Université de Mostaganem, 37 p.
- Butt T. M., Jackson C. W. & Magan N., (2001).** Introduction - Fungal Biological Control Agents: Progress, Problems and Potential, p. 1-8 in *Fungi as biocontrol agents*, Eds. Butt T. M., Jackson C. W. & Magan N.; CABI, New York, 390 p.
- Chapot H. et Delucchi V. L. (1964) :** Maladies, troubles et ravageurs des agrumes au Maroc. Publ. INRA-Rabat, Les maladies † virus : 5-13.
- Carruthers, R.I. and Hural, K. (1990).** Fungi as naturally occurring entomopathogens. In: Baker, R.R. and Dunn, P.E. (Eds) *Direction in Biological Control: Alternatives for Suppressing Agricultural Pests and Diseases*. Alan R.Liss. New York, pp. 115-138
- 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.
- Daniel P., (2009)** INSECTERRA: Forum Insectes & Entomologie - La terre des insectes. [en ligne], (page consultée le : 15/05/2019). <http://insecterra.forumactif.com/t6751-rhizotrogus-mascarauxi-rhizotrogus-sp-portugal>
dans les vergers à graine. RFF XLIII – 6 – 1991, p. **489-500**.
- de diagnostic en phytoprotection . Québec.
depsipeptide antibiotique toxique to *Artemia salina*. *Tetrahedron Lett*; 10:4255–4258. doi: 10.1016/S0040-4039(01)88668-8.
- Duval et al., (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 attaquées](http://eap.mcgill.ca/agrobio/ab360-06.htm#Dommages_et_plantes_attaquées).
- François-Régis Goebel Pierre Martin., (2016).**La lutte contre le ver blanc de la canne à sucre à la Réunion : histoire d'une réussite, Cirad UPR Aida. [Enligne], (page consultée le : 19/06/2017) <http://www.cirad.fr>.
- Farrell B.D. - 1998,** Inordinate fondness explained: why are there so many beetles? *Science*, 281, 555-559.
- 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.
- Ferreira J.F., Marques E.J., Marques I.M.R., Oliveira J.V. et Santos Junior, H.J.G., 2005.** Efeito de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin sobre ovos de *Alabama argillacea* (Huebner.) (*Lepidoptera: Noctuidae*). *Magistra* 17 (3), 19–123.
- Ferron P, Fargues J, Riba G (1991).** 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
- Ferron P., (1975).** Les champignons, entomopathogènes: évolution des recherches au cours des dix dernières années. *Bull. S.R.O.P. (3):1-54.*
- Grove, J.F.; Pople, M., (1980).** The insecticidal activity of beauvericin and the enniatin complex. *Mycopathologia* 1980, 70, 103–105.
- Hajek A., Goettel M.,(2007).** Guidelines for evaluating effects of entomopathogens on non-target organisms. In: Lacey L.A., Kaya H.K., editors. *Field Manual of Techniques in Invertebrate Pathology: Application and Evaluation of Pathogens for Control of Insects and Other Invertebrate Pests*. 2nd ed. Springer; Dordrecht, the Netherlands: pp. 815–833.
- Hamill, R.L.; Higgins, G.E.; Boaz, H.E.; Gorman, M., 1969.** The structure of beauvericin, a new desipeptide antibiotic toxic to *Artemia salina*. *Tetrahedron Lett.* 1969, 49, 4255–4258.
- Humber R.A., (2012).** Identification of entomopathogenic fungi. *Manual of techniques in invertebrate pathology*. Published by Elsevier Ltd. pp151-187.
- Hurpin B., (1955).** Sur la résistance des vers blancs aux conditions défavorables .*Revue des Sociétés savantes de Haute-Normandie.* 5: 99-118.
- I.N.P.V , (2015).** Le ver blanc des céréales : comment y faire face ? L'institut national de la protection des végétaux INPV [En ligne] (Page consultée le 23/06/2019)
<http://www.inpv.edu.dz>.
- Jean-Philippe.L , Moisan-De Serres.J , Bourdon.K., (2015).** Les vers blancs. Laboratoire
- 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.
- Linné, (1758).** [en ligne], (page consultée le : 15/05/2019). https://www.kaefer-derwelt.de/amphimallon_solstitiale.htm

- 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.
- Meyling N.V., Lübeck M., Buckley E.P. Eilenberg J. et Rehner S.A., (2009).** Community composition, host range and genetic structure of the fungal Entomopathogen *Beauveria* in adjoining agricultural and seminatural habitats. *Mol ecol* 18:1282–1293
- Michael, (2002)** en ligne], (page consultée le : 15/05/2019) <http://aesgsf.free.fr/V5/varios-hongos-beauveria-bassiana.html>
- Montreuil O., (1997).** *Amphimallon menorcanum* Reitter, 1902, nouveau synonyme de *Rhizotrogus pallidipennis* Blanchard, 1850 (Coleoptera, Melolonthinae). *Bolletín de la Societat d'Hisòria Natural de les Balears*, **40** : 147-149.
- Nicolai V. M. et Jorgen E., (2007).** Ecology of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* in temperate agroecosystem: Potential for conservation biological control. *Metarhizium anisopliae* reveal that it is rhizosphere competent. *Appl. environ.*68, 6383-6387
- Strong D.R., Lawton J.H. et Southwood T.R.E. - 1984,** *Insects on plants : community patterns and mechanisms.* Harvard University Press, Cambridge
- Saiah F., (2014).** Contribution à L'étude sur la lutte biologique à l'égard de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lépidoptera ; 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.
- 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.
- Teetor-Barsch G.H., Roberts D.W., (1983).** Entomogenous *Fusarium* species. *Mycopathologia.*84:3– 16. Doi: 10.1007/BF00436991.
- 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
- Todorova, S.I., Côté, IC. et Cod erre, D. (1996).** Evaluation of the effects two *Beal/veria bassiana* (Balsamo) vuillemin srtains on the development of *Coleomegilla macuiatae* iellgi Timberlall{e (col, Coccinellidae). *l Appi. Ent.* 120: 159-163.

- Torres-Gregorio J., Argente J., Diaz M.A. et Yuste A., 2009.** Aplicacion 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.
- Vercambre B., (1990).** Le ver blanc (*Hoplochelus marginalis*) sur prairies. Compte-rendu des prospections réalisées dans les communes des Aviron et de Saint-Leu (27 et 28/06/1990). s.l. : CIRAD-IRAT, 23 p.
- Weiser, J. (1972).** Beauveria Vuill. In: Nemoci hmyzu. Naklad. Ceskoslov. Akademie, Praha, pp. 361-377.
- Wraight R.J et Roberts D.W. (1987).** Insect control effort with fungi. *Devel. Industr. 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 agricultures. MONTPELLIER – 22 et 23 octobre.

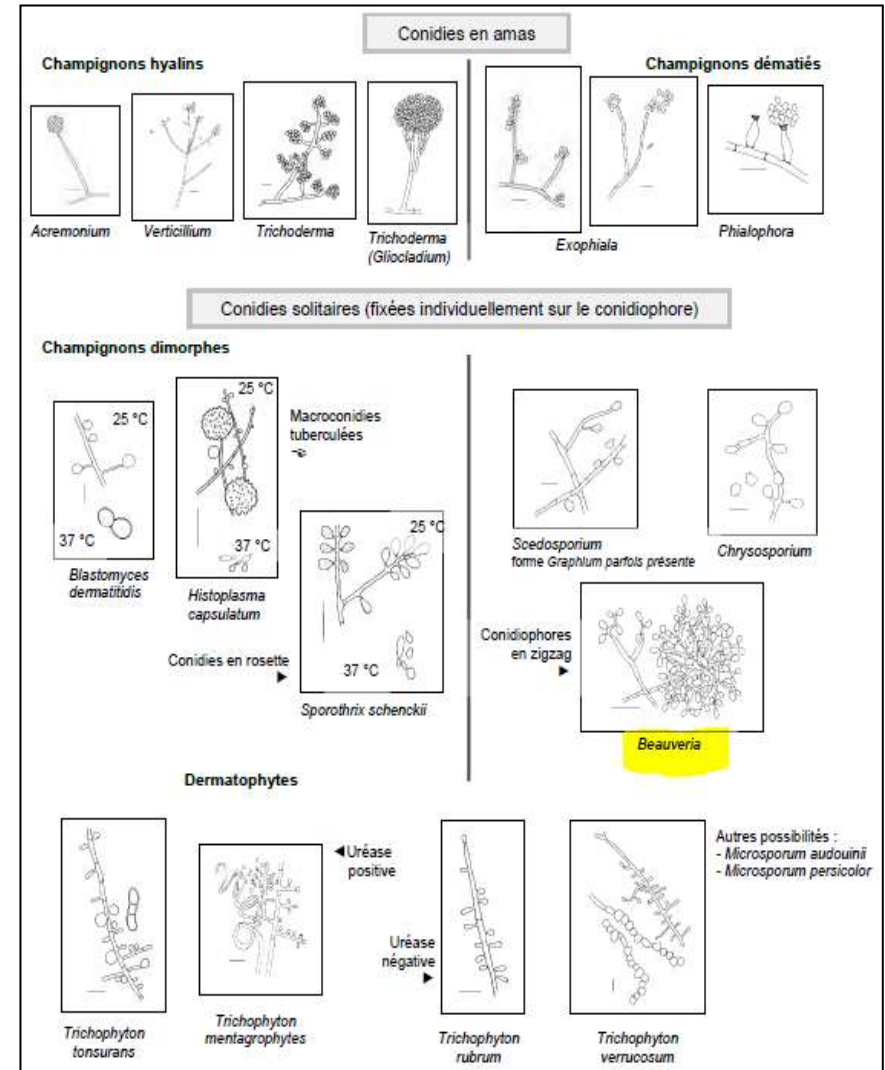
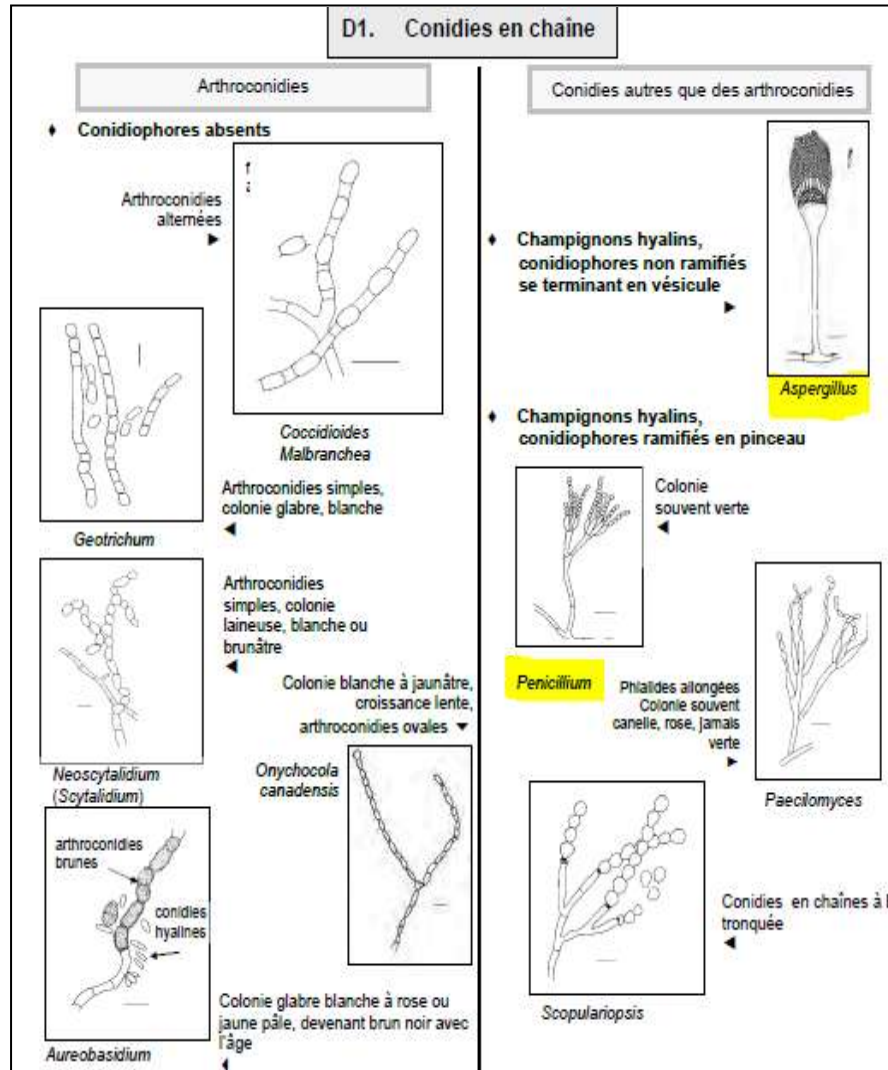
Annexes

Annexe 01: Phylogénie et distribution des *Rhizotrogini* (Montreuil, 2003)

Annexe 02: Classification des champignons entomopathogènes d'Ainsworth et Bisby (1971)

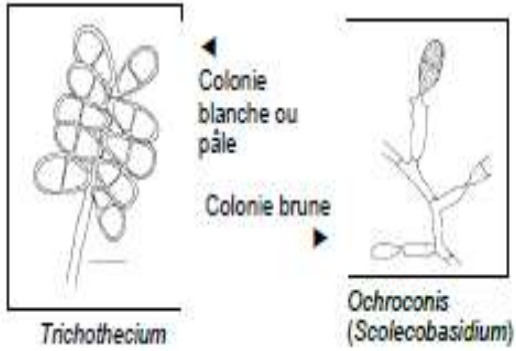
Genre	Espèce	Phylum	Auteur
<i>Batkoa</i> Humber	<i>B. apiculata</i>	Zygomycota	Balazy, 1993.
<i>Batkoa</i> Humber	<i>B. major</i>	Zygomycota	Balazy, 1993
<i>Conidiobolus</i> Brefeld	<i>C. coronatus</i>	Zygomycota	Soper et al., 1988
<i>Conidiobolus</i> Brefeld	<i>C. obscurus</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Conidiobolus</i> Brefeld	<i>C. thromboides</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Entomophaga</i> Batko	<i>E. aulicae</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Entomophaga</i> Batko	<i>E. maimaiga</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Entomophaga</i> Batko	<i>E. grylli</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Entomophaga</i> Batko	<i>E. calopteni</i>	Zygomycota	Humber, 1989
<i>Entomophthora</i> Fresenius	<i>E. culicis</i>	Zygomycota	Keller, 2002
<i>Entomophthora</i> Fresenius	<i>E. muscae</i>	Zygomycota	Keller, 2002
<i>Entomophthora</i> Fresenius	<i>E. planchoniana</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Erynia</i> Nowakowski	<i>E. aquatica</i>	Zygomycota	Keller, 1991
<i>Erynia</i> Nowakowski	<i>E. conica</i>	Zygomycota	Balazy, 1993
<i>Erynia</i> Nowakowski	<i>E. rhizospora</i>	Zygomycota	Keller, 1991
<i>Erynia</i> Nowakowski	<i>E. ovispora</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Furia</i> Batko	<i>F. americana</i>	Zygomycota	Keller, 1991
<i>Furia</i> Batko	<i>F. F. virescens</i>	Zygomycota	Balazy, 1993
<i>Massospora</i> Peck	<i>M. cicadina</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Neozygites</i> Witlaczil	<i>N. fresenii</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Neozygites</i> Witlaczil	<i>N. parvispora</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Neozygites</i> Witlaczil	<i>N. floridana</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Pandora</i> Humber	<i>P. blunckii</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Pandora</i> Humber	<i>P. neoaphidis</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Zoophthora</i> Batko	<i>Z. phalloides</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Zoophthora</i> Batko	<i>Z. phytonomi</i>	Zygomycota	Humber, 2012
<i>Zoophthora</i> Batko	<i>Z. radicans</i>	Zygomycota	Balazy, 1993
<i>Septobasidium</i>	<i>Septobasidium sp</i>	Basidiomycota	Henk et vilgalys, 2007
<i>Auriculoscypha</i>	<i>Auriculoscypha sp</i>	Basidiomycota	Henk et vilgalys, 2007
<i>Uredinella</i>	<i>Uredinella, sp</i>	Basidiomycota	Henk et vilgalys, 2007
<i>Coccidioidictyon</i>	<i>Coccidioidictyon sp</i>	Basidiomycota	Sung et al., 2007
<i>Ordonia</i>	<i>Ordonia sp</i>	Basidiomycota	Sung et al., 2007
<i>Aschersonia</i>	<i>A. aleyrodis</i>	Ascomycota	Chaverri et al., 2008.
<i>Aschersonia</i>	<i>A. Montagne</i>	Ascomycota	Liu et al., 2005; 2006;
<i>Ascospaera</i> Spiltoir & Olive	<i>A. aggregata</i>	Ascomycota	Anderson et al. 1998.
<i>Beauveria</i> Vuillemin	<i>B. bassiana</i> (Balsamo)	Ascomycota	Rehner et al., 2011
<i>Beauveria</i> Vuillemin	<i>B. brongniartii</i> (Saccardo)	Ascomycota	Rehner et al., 2011
<i>Cordyceps</i>	<i>C. militaris</i>	Ascomycota	Kepler et al., 2012
<i>Cordyceps</i>	<i>C. tuberculata</i>	Ascomycota	Kepler et al., 2012
<i>Fusarium</i> Link	<i>Fusarium sp</i>	Ascomycota	O'donnell et al., 2011
<i>Gibellula</i> Cavara	<i>G. pulchra</i>	Ascomycota	Tzean et al., 1997
<i>Gibellula</i> Cavara	<i>G. leiopus</i>	Ascomycota	Tzean et al., 1997.
<i>Hirsutella</i> Patouillard	<i>H. saussurei</i>	Ascomycota	Rombach & Roberts, 1989
<i>Hirsutella</i> Patouillard	<i>H. thompsonii</i>	Ascomycota	Hodge, 1998.
<i>Hymenostilbe</i> Petch Emend.	<i>H. citrifomis</i>	Ascomycota	Humber, 2010
<i>Hymenostilbe</i> Petch Emend.	<i>H. rhossiliensis</i>	Ascomycota	Hodge, 1998.
<i>Hymenostilbe</i> Petch Emend.	<i>H. saussurei</i>	Ascomycota	Hodge, 1998.
<i>Hymenostilbe</i> Petch Emend.	<i>H. thompsonii</i>	Ascomycota	Rombach & Roberts, 1989
<i>Isaria</i> Persoon	<i>I. farinosa</i>	Ascomycota	Humber, 2012
<i>Isaria</i> Persoon	<i>I. fumosorosea</i>	Ascomycota	Humber, 2012
<i>Paecilomyces</i> Bainier	<i>P. lilacinus</i>	Ascomycota	Humber, 2012
<i>Lecanicillium</i> Gams et Zare	<i>L. lecanii</i>	Ascomycota	Zare et al., 2001.
<i>Metarhizium</i> Sorokin	<i>M. anisopliae</i>	Ascomycota	Bischoff et al., 2009
<i>Metarhizium</i> Sorokin	<i>M. flavoviride</i>	Ascomycota	Driver et al., 2000
<i>Metarhizium</i> Sorokin	<i>M. majus</i>	Ascomycota	Kepler et al., 2012.
<i>Metarhizium</i> Sorokin	<i>M. acridum</i>	Ascomycota	Kepler et al., 2012.
<i>Nomuraea</i> Maublanc	<i>N. rileyi</i>	Ascomycota	Kepler et al., 2012
<i>Tohypocladium</i>	<i>T. niveum</i>	Ascomycota	Humber, 2012
<i>Tohypocladium</i>	<i>T. cylindrosporium</i>	Ascomycota	Hodge et al., 1996.
<i>Torrubiella</i> Boudier	<i>T. ratticaudata</i>	Ascomycota	Sato et al., 2010
<i>Torrubiella</i> Boudier	<i>T. aranicida</i>	Ascomycota	Sung et al., 2007

Annexe 03: Identification des champignons d'importance médicale (Dufresne et St-Germain, 2018)

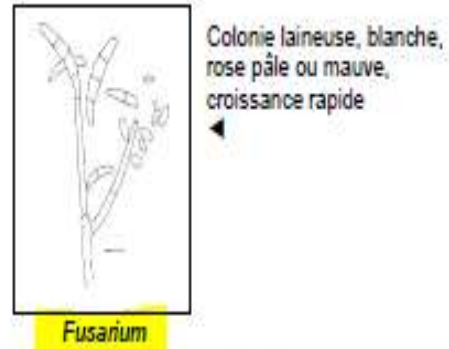


**E.2 Conidies pluricellulaires présentes
(conidies unicellulaires parfois aussi présentes)**

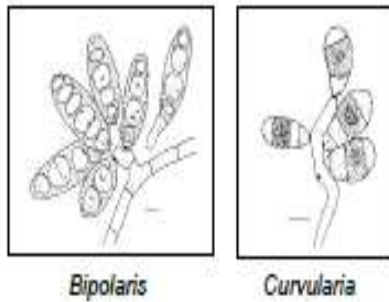
Conidies bicellulaires



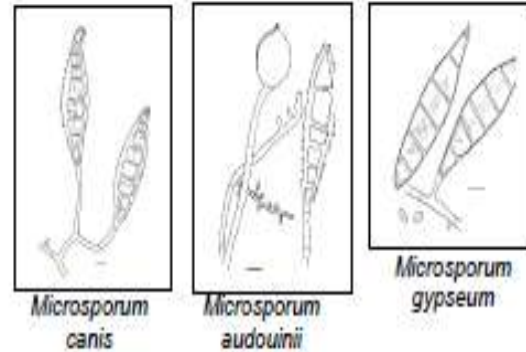
**Macroconidies pluricellulaires avec
microconidies unicellulaires**



Conidies avec plus de 2 cellules



Dermatophytes



Annexe 04: Composition du milieu de culture PDA (Potato-Dextrose-Agar)

- Pomme de terre200g
- Glucose..... 20g
- Agar-agar..... 20g
- Eau distillé1000ml