



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Département : Microbiologie**

**قسم : ميكروبيولوجيا**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Biotechnologie**

**Spécialité : mycologie et biotechnologie fongique**

Intitulé :

---

La lutte biologique par *beauveria bassiana* contre les pucerons verts du pêcher et les cochenilles du manioc à partir de microscope électronique

---

**Préparé par : BENKOBI LINA IKRAM**

**Le : 15 juillet 2021**

**Jury d'évaluation :**

**Président du jury : BENKAHOUL Malika** (MCA - UFM Constantine)

**Rapporteur : ABDELAZIZ Ouided** (MCB- UFM Constantine).

**Examineurs : MEZIANI Meriem** (MCB- UFM Constantine).

*Année universitaire*  
**2020- 2021**

## Remerciement

Je remercie Dieu le tout puissant de m'avoir guidé dans le bon chemin afin de me donner la force et la patience de réaliser ce travail.

Tout d'abord, je tiens à présenter mes remerciements sincères à Mme ABDELAZIZ Ouided maitre de conférence B, pour son encadrement, sa patience, sa disponibilité, son soutien moral, ses encouragements, sa gentillesse et pour sa confiance qu'elle m'avait donnée pendant la réalisation de ce travail

Mes sincères remerciements sont également exprimés aux membres de jury

Mme BENKAHOUL Malika, qui m'a fait l'honneur par sa présence en qualité de président de jury .

Mme Meziani Meriem d'avoir acceptée d'examiner ce travail.

J'adresse aussi mes remerciements à l'enseignant Mr boulahrouf. K pour son aide et ses conseils .

## *Dédicace*

*Ce mémoire représente plus qu'un simple travail, ce mémoire est la finalité de cinq années d'études*

*Je dédie ce modeste travail accompagné d'un profond amour à mes chers parents Lyes et Samia, source de vie, d'amour et d'affection qui m'ont soutenu et encouragés durant des années d'études et qui n'ont jamais dis non à mes exigences*

*A mes frères babou , lotfi et skander*

*A mon cher oncle Dr Bouanika M et ma très chère tante Dr Karima qui sont ma source d'espoir et de motivation et qui m'encouragent tout de le temps*

*A mes cousins seif et zaki*

*A ma grand-mère Sakina que dieu la protège*

*A mes amies, narimen , oumaïma, djihene , amira , amina et roumaïssa et celui qui croit toujours en moi mi prometido med amine*

*Merci d'être là pour moi*

*Benkobi Lina Ikram*

## Table de matière

<b>Introduction</b> .....	1
<b>Partie 1 : Synthèse bibliographique</b>	
<b>Chapitre 1 : Les insectes</b>	
<b>1. <i>Myzus persicae</i></b> .....	4
1.1 Généralités sur les pucerons verts du pécher .....	4
1.2 Description.....	4
1.3 Systématique .....	5
1.4 Mode de reproduction .....	6
1.5 Cycle de vie .....	7
1.6 Dégâts .....	9
1.7 Symptômes.....	9
1.8 La lutte naturelle des pucerons .....	10
1.9 Résistance aux insecticides .....	10
<b>2. <i>Phenacoccus manihoti</i></b> .....	<b>10</b>
2.1 Généralités sur les cochenilles du manioc .....	11
2.2 Description .....	12
2.3 Systématique .....	12
2.4 Cycle de vie et la reproduction .....	13
2.5 Les espèces affectées et les hôtes.....	13
2.6 Symptômes.....	13
2.7 La lutte biologique contre la cochenille du manioc.....	13
2.8 Résistance de la plante hôte .....	13
<b>Chapitre 2 : la lutte biologique</b>	
1. Historique .....	14
1.2 Définition de lutte biologique .....	15
1.3 Stratégies de la lutte .....	15
1.4 Méthodes de lutte biologiques .....	16
1.5 Les étapes de recherche en lutte biologique.....	16
<b>Chapitre 3 <i>Beauveria bassiana</i></b>	
1. Généralités sur les champignons entomopathogènes.....	18
2. Champignon entomopathogène <i>Beauveria bassiana</i> .....	18
2.1 Historique .....	18
2.2 Description .....	19

2.3 Systématique .....	20
2.4 Métabolites secondaires .....	21
2.5 Mode d'infection .....	21
2.5.1 phases d'Adhésion .....	21
2.5.2 phase de germination .....	22
2.5.3 phase de différenciation .....	22
2.5.4 phase de pénétration .....	22
2.5.5 phase de prolifération.....	22
2.6 Facteurs qui influencent <i>B bassiana</i> .....	23
2.7 Avantages de <i>B bassiana</i> .....	24
2.8 Rôles de <i>B bassiana</i> .....	24
2.9 Utilisations de <i>B bassiana</i> .....	24
2.10 Milieux de cultures .....	26

## **Partie 2 : partie expérimentale**

### **Matériels et méthodes**

1. Elevage d'insecte et culture fongique .....	29
2 .Traitement contre les insectes .....	29
3 .Microscopie optique et électronique.....	29
4. Microscopie confocale à balayage laser .....	30

### **Partie 3 : Les résultats**

1. Infection de <i>Myzus persicae</i> par <i>Beauveria bassiana</i> .....	31
2. Microscopie confocale à balayage laser et distribution de <i>B bassiana</i> exprimant <i>sgfp</i> dans la cochenille rose du manioc <i>P manihoti</i> .....	33

### **Partie 3 : Discussion**

1. La pathogénèse du champignon ascomycète <i>Beauveria bassiana</i> .....	38
2. Microscopie confocale à balayage laser .....	42
3. la paroi des hyphes et blastospores .....	43
4. La virulence de <i>Beauveria bassiana</i> .....	43
<b>Conclusion</b> .....	45

### **Références bibliographiques**

### **Résumé**

## ✚ Liste des figures

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
1	Morphe ailé de <i>Myzus persicae</i> (Hullé,2019)	4
2	Description du mode de reproduction des pucerons (Hullé,2019)	6
3	Colonie de <i>Myzus persicae</i> – Individus parthénogénétiques vivipares(Hullé,2019)	7
4	Symptômes typiques induits par le Plum pox virus.(Garcia et al,2013)	7
5	Pucerons de la pomme de terre (clinique des plantes,2016). Lutte biologique (Maqueda,2020).	8
6	Infestation par phenacoccus manihoti et les symptomes associés sur manioc en Asie	10
7	Lutte biologique (Maqueda,2020)..	14
8	La lutte biologique : les insectes au service de la planète. (Consoglobe,2020).	15
9	Vue microscopique des spores et des hyphes du champignon <i>Beauveria bassiana</i>	19
10	Unité infectieuse :Spore de <i>Beauveria bassiana</i> (de Kouassi,2001)	20
11	Présentation générale du processus d'infection chez les insectes par <i>Beauveria bassiana</i> . (Hernandez et al.,2020)	22
12	<i>Beauveria bassiana</i> (Michael,W,2013)	23
13	Micrographie lumineuse de l'infection de <i>Beauveria bassiana</i> sur le puceron après coloration de bleu de coton-lactophénol (Amnuaykanjanasin et al.,2012).	33
14	SEM de la surface des pucerons 24 à 96 h après l'inoculation (PI) avec <i>Beauveria bassiana</i> . (Amnuaykanjanasin et al.,2012)	34
15	Formation du corps hyphal par <i>Beauveria bassiana</i> dans l'hémocèle de la patte du puceron à 60 h PI (Amnuaykanjanasin et al.,2012)	35
16	MET de cellules de <i>Beauveria bassiana</i> dans <i>Myzus persicae</i> gravement malade à 72 h PI. (Amnuaykanjanasin et al.,2012)	36
17	Micrographies optiques du trochanter (T) et de la coxa (Cx) d'une patte de deux pucerons morts remplis d'hyphes (hy) de <i>Beauveria bassiana</i> à 96 h PI. (Amnuaykanjanasin et al.,2012)	38
18	CLSM pour localiser <i>Beauveria bassiana</i> exprimant sgfp (souche GFP3-1) dans l'hémocèle des pattes de cochenilles mortes (Amnuaykanjanasin et al.,2012)	39
19	CLSM de la souche GFP3-1 exprimant sgfp de <i>Beauveria bassiana</i> dans des cochenilles mortes du manioc à sept jours PI. (Amnuaykanjanasin et al.,2012)	40

 **Liste des tableaux**

<b>Tableau</b>	<b>titre</b>	<b>page</b>
1	La systématique de <i>Myzus persicae</i> (Resh et Cardé,2009)	<b>5</b>
2	Les symptômes directes et indirectes de <i>Myzus persicae</i>	<b>8</b>
3	La systématique de <i>Phenacoccus manihoti</i> (CABI,2020)	<b>11</b>
4	La position systématique de <i>Beauveria bassiana</i> (Rehner et Buckley,2005)	<b>20</b>
5	Quelques produits exemplaires de <i>B bassiana</i> et leurs utilisations (Mascrin et Jaronski,2016)	<b>25</b>
6	Les différents milieux utilisés pour la production des isolats de <i>B bassiana</i>	<b>26</b>

## Liste des abréviations

**WP** : Wettable Powder (poudre mouillable)

**ES** : liquid emulsifiable suspension

**CS** : concentrated suspension

**µm** : micro mètre

**G** : Grossissement

**%** : pourcentage

**mm** : millimètre

**GFP** : Green fluorescent protein

**PDA** : Pomme de terre Dextrose Agar

**HR** : Grandeurs hygrométrique

**PI** : post Inoculation

**CLMS** : Confocal laser scanning microscopy

**MEB** : microscopie électronique à balayage

**MET** : microscopie électronique à transmission

**EMS** : Electron Microscopy Sciences

**SEM** : Electron Microscopy Sciences

**KV** : kilovolt

**SDY** : Sabouraud dextrose yeast (levure)

**DDT** : Dichloro-diphényle-trichloro-éthane.

**ml** : millilitre

**BCC** : Biotech Culture Collection

**nm** : nanomètre

**FV** : Fluoview

## Introduction

La lutte biologique est apparue vers le début du vingtième siècle , C'est un moyen de lutte contre des ennemis naturels des ravageurs pour maintenir la densité du ravageur au dessous des niveaux dommageables par l'utilisation des organismes vivants dans le but de limiter des divers ennemis des cultures (rongeurs, insectes, nématodes, maladies des plantes et mauvaises herbes),cette lutte est basée sur l'exploitation de l'Homme et la relation naturelle entre la cible indésirable et auxiliaire qui le tue et limite son développement d'un point de vue écologique et économique, par contre les insecticides chimiques sont nocives pour la santé humaine , animal et pour l'environnement (Iomer et al.,2001)

les micro-organismes utilisés sont les virus, les bactéries, les champignons entomopathogènes ,les nématodes et les protozoaires , ils sont présent dans l'environnement et infectent leur hôte a travers la cuticule et les ouvertures naturelles ou par l'ingestion , ces auxiliaires se multiplient dans l'hôte et causent des dommages , ils ont une résistance capable de s'adapter dans le milieu et de continuer leur cycle de vie (Jourdeuil et al.,1992). Le champignon *Beauveria bassiana* est utilisé mondialement comme agent microbien de lutte biologique contre plusieurs insectes (Boucias et al.,1998) , il est efficace comme mycoinsecticide en milieu aquatique et en agriculture depuis 1965 contre plusieurs ravageurs tel que cochenille du manioc ,ainsi pour lutter contre les pucerons verts du pêcher qui ont de nombreux hôte tel que pomme de terre ,la betterave etc... (Devonshire et al.,1998).

L'objectif globale de ce travail est l'étude de la lutte biologique par *Beauveria bassiana* contre les pucerons verts du pêcher (*Myzus persicae* ) et la cochenille du manioc (*Phenacoccus manihoti*) et processus d'infection a partir des analyses CLSM , MET , MEB et EMS.

---

# **Partie 1 : Synthèse bibliographique**

---

---

# **Chapitre 1: les insectes**

---

## 1. *Myzus persicae*

### 1.1 Généralités sur les pucerons verts du pêcher

Les pucerons verts du pêcher, appartiennent au groupe des insectes nuisibles le plus important, ils sont des suceurs de la sève. Ils font partie à l'ordre des *Homoptera* et répartis en plus de 4000 espèces (Harmel et al., 2008; Kamphuis et al., 2013) . Ils produisent des dommages à leur plante hôte directement par modification de leur métabolisme et consommation des nutriments du phloème (tissu vasculaire) et indirectement par la transmission des virus pathogènes des plantes (Ng et Perry, 2004; Kamphuis et al., 2013).



**Figure 1.** Morphé ailé de *Myzus persicae* (Hullé, 2019)

### 1.2 Description

*Myzus persicae* (Sulzer), est une espèce exceptionnelle et cosmopolite, extrêmement polyphage capable de cultivées dont le pêcher, le colza, la pomme de terre et la betterave ou coloniser plus de 400 espèces végétales sauvages (Roy et al., 2018) considéré comme un vecteur de virus, il a une large variabilité génétique qui a des propriétés comme la couleur, relation avec la plante hôte , cycle de vie et méthodes de résistance aux insecticides (van Emden et Harrington, 2007). Il a des origines asiatique comme son hôte primaire *prunus persica* et il est maintenant distribuer au monde par ce qu'il suivi son hôte partout d'après Capinera (2008), cet insecte est hémimétabole et les différents stades larvaires ont la même morphologie et le même mode de vie que les adultes. les larves ont de couleur verte mais vite devenues jaunâtres, les ailés ont une tête noir , le thorax et abdomen vert jaunâtre avec large dorsale noir .Il mesure entre 1,8 et 2,1 mm en long (capinera, 2008). Par contre les femelles sont parthénogénétiques aptères adultes ont une taille petite a taille moyenne de couleur jaune verdâtre a diverses nuance de vert , rose, rouge ou noir (van Emden et Harrington, 2007) mesure entre 1,7 a 2 mm en long et les cornicules sont longues et inégalement enflées sur toute leur longueur .les appendices sont pales , les œufs sont de mesures 0,6mm de long et

0,3mm de large de forme ovale et de couleur jaune ou vert après ils deviennent noir (Capinera, 2008).

## 1.3 Systématique

Selon Resh et Cardé (2009) la position systématique est la suivante :

**Tableau 1** : Présente la systématique de *Myzus persicae* (Resh et Cardé,2009) .

<b>Règne</b>	<i>Animalia</i>
<b>Embranchement</b>	<i>Arthropoda</i>
<b>Classe</b>	<i>Insecta</i>
<b>Ordre</b>	<i>Homoptera</i>
<b>Famille</b>	<i>Aphididae</i>
<b>Genre</b>	<i>Myzus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Myzus persicae</i> (Sulzer, 1776)

## 1.4 Mode de reproduction

Les pucerons se multiplient de façon clonale à partir de la fin d'hiver jusqu'à l'automne, ne donnant naissance qu'à des femelles parthénogénétiques vivipares. Le puceron mère porte les embryons de ses filles qui elles-mêmes portent déjà les embryons de ses petites filles. On parle de générations « emboîtées » ce qui permet de minimiser le temps de génération, clonalité, viviparité et emboîtement des générations permettent un taux de multiplication extrêmement rapide des populations durant la phase parthénogénétique de leur cycle. Ainsi, le temps de génération est deux semaines et chaque génération avec une fertilité de dizaines de descendants, qui forment rapidement des colonies très denses de plusieurs dizaines de milliers d'individus. Ce sont ces colonies que l'on peut observer sur les tiges des plantes pendant les mois d'été. Tous ces individus sont génétiquement identiques entre eux. Malgré cette multiplication rapide et efficace, les pucerons ont un problème d'ordre physiologique : les individus parthénogénétiques vivipares ne régulent pas leur température corporelle et ils sont sensibles au froid et arrêtent de se développer dans les températures au-dessous de 4°C et meurent lorsque la température est négative. Les femelles parthénogénétiques automnales, appelées sexupares, dans la période d'automne où la température est basse et leur fonctionnement hormonal modifié et donnent naissance à des descendants clonaux mais sexués, mâles ou femelles fécondables et ovipares. Après l'accouplement permettant l'échange des gamètes, les femelles pondent des œufs qui résistent au froid. Ces œufs, déposés sur une plante hôte particulière restent au repos tout l'hiver. A la

fin de l'hiver, c'est de nouveau une femelle parthénogénétique vivipare qui éclot et qui est à l'origine de nouvelles générations clonales. Donc on a deux modes de reproduction c'est-à-dire une phase sexuée pendant l'automne et une phase asexuée parthénogénétique durant la belle saison (Hullé, 2019).

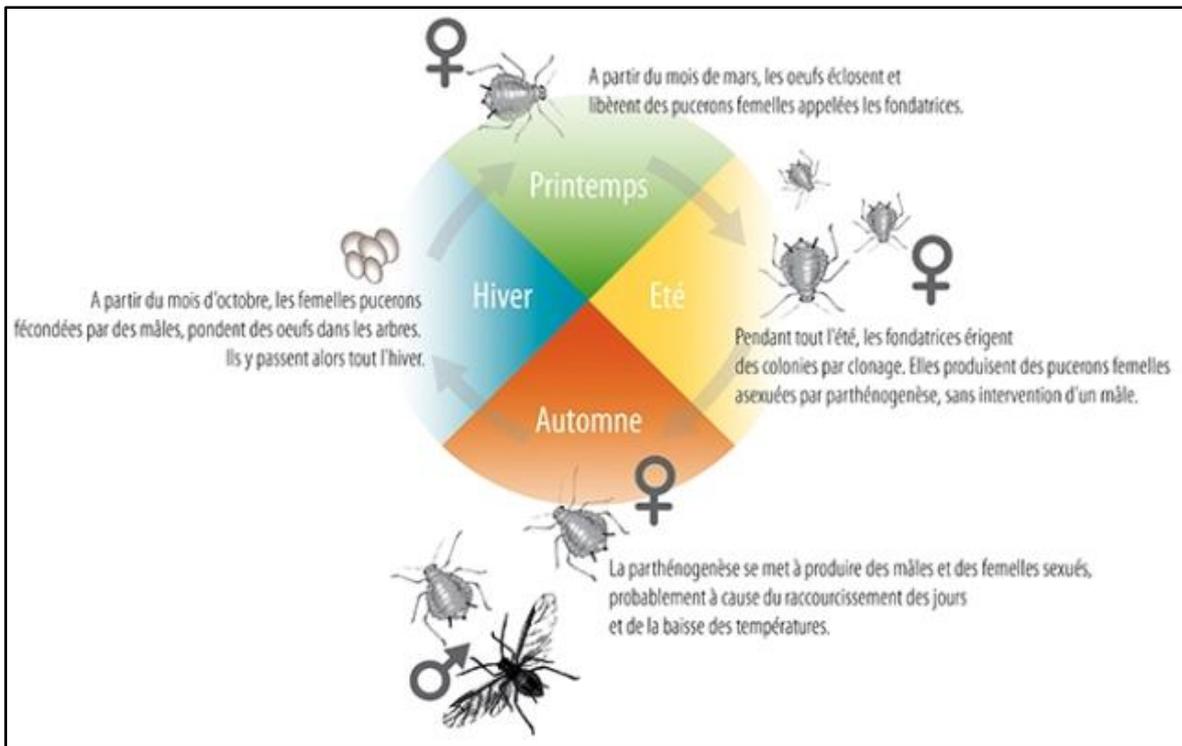


Figure 2. Description du mode de reproduction des pucerons (Hullé, 2019)

### 1.5 Cycle de vie

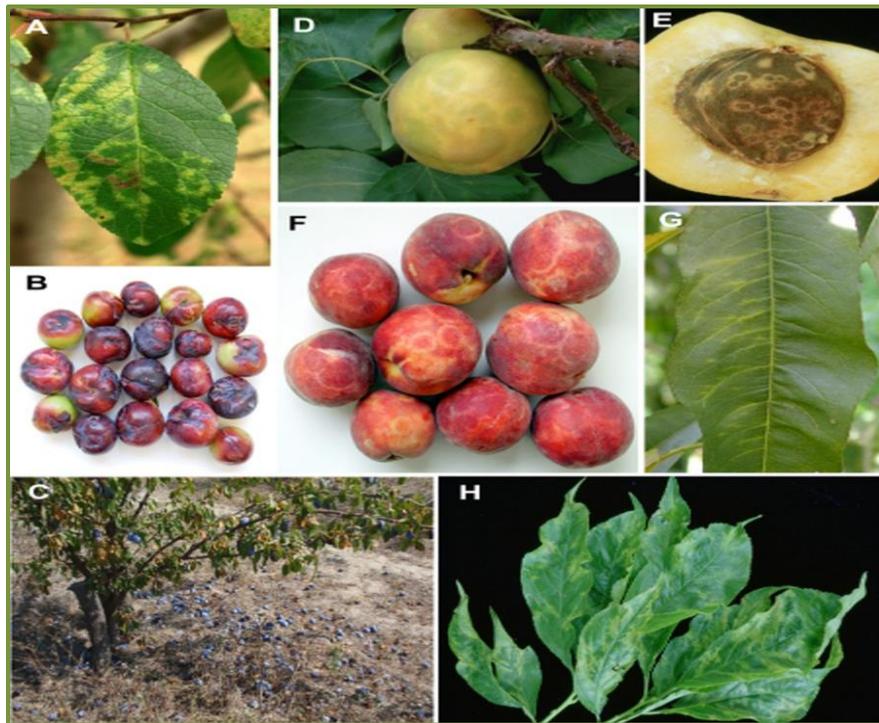
La variation du cycle de vie des pucerons vert implique des méthodes alternatives pour hiverner (holocycle et anholocycle), et peut avoir de considérables significations écologique, génétique et économique. Dans les régions tempérées l'holocycle avec reproduction sexuée et hiverner des œufs sur prunus (hôte primaire), par contre l'anholocycle fonctionne dans les climats chauds (Blackman, 1974). plus de 20 générations annuelles dans les climats doux. Au printemps, lorsque les plantes sortent de leur dormance et commencent à pousser, les œufs des pucerons éclosent et les larves prélèvent les éléments nutritifs de fleurs, de jeunes feuilles et de tiges et perturbe l'équilibre des hormones de croissance et cela provoque la déformation des feuilles et même la mort des jeunes plantes. Dans les climats frais, les adultes retournent vers *Prunus spp.* En automne c'est l'accouplement et les œufs sont déposés c'est la seule génération qui permet la production des œufs qui sont parthénogénétiques (Capinera, 2008).



**Figure 3.** Colonie de *Myzus persicae* – Individus parthénogénétiques vivipares (Hullé, 2019)

### 1.6 Dégâts

*Myzus persicae* a l'habitude de pêcher les prunus comme hôte primaire et colonise des plantes herbacées tel que tournesol ,la betterave ,pomme de terre pendant la belle saison comme hôte secondaire (Hullé, 2019), comprenant sa distribution, la gamme de ses hôtes plus de 400 espèces , les mécanismes des dégâts causés aux plantes, cycle de vie, la capacité de dispersion et l'acquisition d'une résistance aux insecticides grâce a l'utilisation intensif des insecticides (Bass et al., 2014). Ils sont des polyphage avec une large variabilité et une grande plasticité phénotypique (Weber, 1985). les pucerons verts attaquent cinq familles: *Asteraceae*, *Brassicaceae*, *Fabaceae*, *Malvaceae*, *Rosaceae* et les *Solanaceae* (Singh et al., 2015). En s'attaquant aux tissus jeunes des plantes, ce puceron peut atteindre très hautes densités en causant des dégâts directs et indirects comme transmission de plus de 100 virus.



**Figure 4.** Symptômes typiques induits par le Plum pox virus (Garcia et al,2013)

- (A) une feuille de prunier domestique ;
- (B) des fruits de pruniers domestiques ;
- (C) une chute prématurée des fruits de pruniers domestiques ,
- (D) un fruit d'abricot ;( E) un noyau d'abricot ,
- (F) des fruits de pêche ,(G)une feuille de pêcher ; (H) des feuilles de prunier japonais .



**Figure 5.** Pucerons de la pomme de terre (Clinique des plantes,2016).

## 1.7 Symptômes

Tableau 2 : Les symptômes directes et indirectes de *Myzus persicae*

Types des dégâts	Symptômes	Source
<b>Directe</b>	-Stresse hydrique -Flétrissement	Saljoqi (2009)
	-Réduction de la taille et la feuille	Petitt et Amilowitz (1982)
	-Enroulement des feuilles	Sauge et al.( 1998)
	-Réduction de la photo synthèse	Ochieng (2011)
	-Perturbation dans la croissance des racines	Sauge et al. (1998)
	-Retard de la croissance	Petitt et Amilowitz (1982)
	-Rendement réduit	(Raman, 1988)
<b>Indirecte</b>	-Transmission des virus	Ramsey (2007)
	-PLRV (potato leaf roll virus)	Mowry (2005)
	-Sharka	Maison et al. (1982)

## 1.8 La lutte naturelle des pucerons

Les prédateurs et les parasitoïdes, souvent appelés Aphidophages attaquent les pucerons (Völkl et al., 2007). Ainsi que les coccinelles (*coleoptera : coccinellidae*) qui sont des ennemis naturels .les mouches des fleurs (*Diptera: Syrphidae*), les chrysopes (*Neuroptera: Chrysopidae*), les guêpes parasites (*Hymenoptera: Braconidae*),les champignons entomopathogènes tel que *B bassiana* infectent et tuent les pucerons à travers la cuticule (Völkl et al., 2007). Ces organismes sont bénéfiques et permet à contrôler les populations des pucerons (Wadhams et al., 1999).le maintien des espèces végétales contrôlent les pucerons dans des zones marginales de champs, des bandes enherbées qui permet de créer des réservoirs d'auxiliaires aphidiphages à proximité des cultures (Alhmedi et al., 2007).

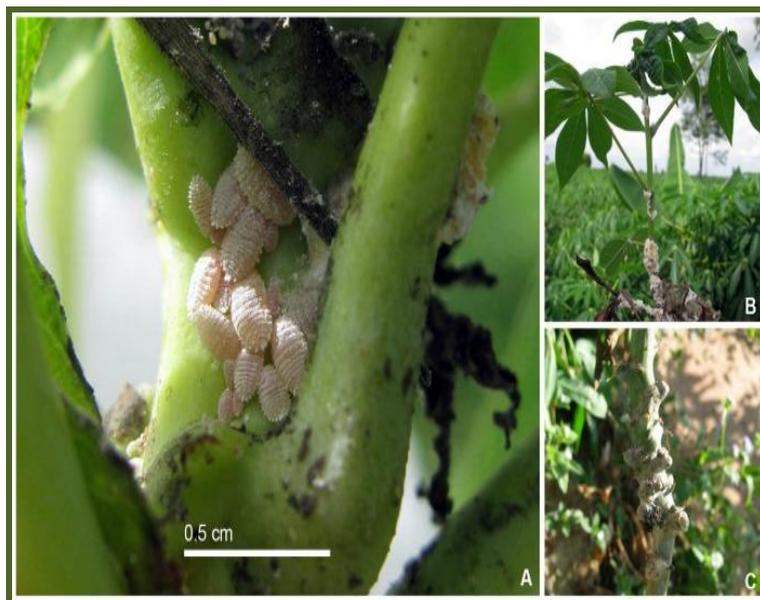
**1.9 Résistance aux insecticides**

Depuis longtemps Les carbamates , les pyréthriinoïdes et les néonicotinoïdes sont utilisés sur les cultures colonisées par le puceron vert du pêcher, des phénomènes de résistance aux insecticides ont été clairement identifiés :

- Une résistance métabolique, c'est-à-dire une surproduction d'enzymes permet de retarder et capable de dégrader les molécules insecticides dans le corps de l'insecte, avant même qu'elles agissent. (Roy et al.,2018)
- Des résistances de cible, on parle d'une mutation qui touche des protéines ciblées par l'insecticide qui inhibe le fonctionnement de protéine qui a un rôle vital pour l'insecte . ce mécanisme permet de diminuer l'efficacité d'insecticide, Ce développement de résistance est amélioré par le caractère de polyphage et par son mode de reproduction ( Roy et al.,2018) Le puceron vert du pêcher tolère aujourd'hui des doses bien au-delà des doses mortelles pour un individu (Barres et Mottet,2018).

**2. *Phenacoccus manihoti*****2.1 Généralités sur cochenille du manioc**

La cochenille du manioc (*Phenacoccus manihoti* par Matile-Ferrero 1977), son origine est l'Amérique du Sud a atteint le statut de ravageur après une introduction en Afrique. Ce ravageur se développe rapidement, et provoque une destruction générale sur le manioc en Afrique (Hahn et Williams, 1973). car le manioc est la principale source de glucides (racines) et de protéines et vitamines (feuilles) (Sylvestre et Arraudeau, 1983).En 1980, le Projet de lutte biologique à l'échelle de l'Afrique dirigé contre le nouveau ravageur a été initié à l'Institut international d'agriculture tropicale (IITA) (Herren, 1982). Les explorations au Paraguay et au Brésil ont donné un complexe d'ennemis naturels (Loehr et Varela, 1982; Yaseen, 1982 ) comprenant le parasitoïde *Epidinocarsis lopezi*.



**Figure 6.** Infestation par *Phenacoccus manihoti* et les symptômes associés sur manioc en Asie. (Parsa et al., 2012)

## 2.2 Description

### ❖ Les œufs

Les œufs sont jaune dorés et enfermés dans des ovisacs laineux situés à l'extrémité postérieure des femelles adultes. Les mesures de longueur 0,30 et 0,75 mm et de largeur entre 0,15 et 0,30 mm (Matile-Ferrero, 1978; Nwanze, 1978).

### ❖ Larve

Les antennes sont à 6 segments aux premiers stades et à 9 segments aux stades suivants. Les mesures de la longueur 0,40-0,75 mm et de la largeur 0,20-0,30 mm pour les premiers stades; 1,00-1,10 mm et 0,50-0,65 mm pour les deuxièmes stades; 1,10-1,50 mm et 0,50-0,60 mm pour les troisièmes stades; et 1,10-2,6 mm et 0,50-1,40 mm pour les quatrièmes stades/adultes nouvellement émergés (Matile-Ferrero, 1978; Nwanze, 1978).

### ❖ Adulte

Les femelles adultes de la cochenille du manioc sont ovoïdes, rose-rose et saupoudrées de cire blanche et poudreuse; les yeux sont relativement proéminents, les pattes sont bien développées et de taille égale (Matile-Ferrero, 1978). La segmentation du corps de la cochenille est apparente. Les segments du corps portent des filaments de cire blancs latéraux et caudaux très courts sous la forme de renflements qui donnent un aspect denté au contour du corps.

### 2.3 Systématique

La cochenille du manioc a été signalée pour la première fois en 1973 dans les régions africaines de Kinshasa et de Brazzaville (République du Congo) (Hahn et Williams, 1973; Sylvestre, 1973). L'insecte était inconnu a ensuite été décrit et nommé en 1977 sous le nom de *Phenacoccus manihoti* (Matile-Ferrero, 1977).

**Tableau 3.** Présente la systématique de *phenacoccus manihoti* (CABI,2020).

<b>Domaine</b>	<i>Eukaryota</i>
<b>Phylum</b>	<i>Arthropoda</i>
<b>Classe</b>	<i>Insecta</i>
<b>Ordre</b>	<i>Hemiptera</i>
<b>Famille</b>	<i>Pseudococcidea</i>
<b>Genre</b>	<i>Phenacoccus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Phenacoccus manihoti</i>

### 2.4 Cycle de vie et la reproduction

Le cycle de vie a été étudié au Congo par Fabres et Boussiengue en 1981, les populations de cochenilles commencent à se développer en février et il y a neuf générations. La génération la plus importante est celle de la saison sèche. Le nombre de la population chutent au début de la saison des pluies, lorsque de nombreuses cochenilles sont emportées par la plante. Dans les champs de manioc. *P. manihoti* se reproduit par oviparité parthénogénétique. Le cycle de vie se compose d'un œuf et de quatre stades larvaires, le quatrième étant la cochenille adulte (Nwanze et al., 1979 ; Iheagwam, 1981 ; Lema et Herren, 1985 ; Le Rü et Fabres, 1987 ; Schulthess et al., 1987) les résultats expérimentaux en laboratoire montrent que la température optimale environ 28°C, aucun développement au-dessus de 35°C et un taux de reproduction net d'environ 500 œufs dans une durée de vie moyenne de 20 jours. L'incubation des œufs dure environ 8 jours. La période de développement moyenne de l'œuf à l'adulte dure environ 33 jours. Les sites les plus favorisés pour la ponte sont les extrémités des pousses terminales, les surfaces inférieures des feuilles et les pétioles des feuilles. Les œufs éclosent en chenilles tous les stades préfèrent les surfaces inférieures des feuilles complètement déployées (Nwanze, 1978).

Les pointes de manioc déformées par l'alimentation offrent un environnement protecteur pour les cochenilles qui se nourrissent de la sève (Calatayud et Le Rü ,1997). Les rampants se déplacent activement à l'intérieur de la plante vers les surfaces supérieures des

feuilles d'où ils sont facilement emportés par le vent et le transport de matériel de plantation de tiges infesté par l'homme sont les principales méthodes par lesquelles l'insecte est dispersé sur de longues distances.

## 2.5 Les espèces affectées et les hôtes

La cochenille du manioc préfère fortement le manioc et les autres espèces de *Manihot*. Les espèces *Talinum triangulare*, *Croton* et *Poinsettia* sont particulièrement adaptées à l'élevage et aux expériences en laboratoire.

Bien qu'il ait été collecté sur des plantes de diverses familles, comme les agrumes et la tomate, mais ne puisse survivre plus d'une génération sur des plantes autres que *Manihot* (Williams et Granara de Willink, 1992).

## 2.6 Symptômes

Sur le manioc, le ravageur provoque un rabougrissement, une déformation et une perte des feuilles, un dépérissement et un affaiblissement des tiges utilisées pour la propagation des cultures (CABI,2020).

## 2.7 La lutte biologique contre la cochenille du manioc

La lutte biologique classique a été l'approche principale et la plus appropriée au problème des ravageurs. Parmi les ennemis naturels le plus réussi introduits pour lutter contre le ravageur le parasitoïde *Apoanagyrus lopezi*, spécifique de *P. manihoti*, qui a un impact biologique et écologique. (Herren et Lema, 1982 ; Lema et Herren, 1985 ; Herren et al., 1987a ; Neuenschwander et Zweigert, 1994),

## 2.8 Résistance de la plante hôte

Le manioc contient deux composants importants dont les niveaux augmentent en réponse à une infestation de cochenilles. La teneur en cyanure agit comme un phagostimulant pour la cochenille, tandis que la rutine a un effet antibiotique sur le ravageur. Il a été constaté que l'utilisation de paillis et de fumier augmentait la résistance du manioc contre les infestations de cochenilles (Tertuliano et al., 1999).

---

# **Chapitre 2 : la lutte biologique**

---

### 1. L'historique

L'être humain a toujours voulu éliminé ses ennemis, là on parle des ravageurs, il y a environ 10000 ans, depuis le début de l'agriculture les fermiers ont eu des obstacles comme les organismes nuisibles. Les chinois sont les premiers a utilisés la lutte biologique dans le monde. Dans les vergers d'agrumes, les fermiers utilisaient des fourmis tisserandes (*Oecophylla smaragdina Fabricius*) indigènes qui consommaient une variété de ravageurs pour protéger les fruits (Peng, 1983). vers la fin du 19ème au 21ème siècle des découvertes et recherches se font sur les prédateurs , parasitoïdes et les maladies s'attaquant aux ravageurs (Waage, 2004). En Florida 1868, la cochenille australienne (*Icerya purchasi Maskell*), un insecte parasite qui suce la sève des arbres d'agrumes, après les dommages qui résultent de la cochenille en Australie a cause de manque des moyens de lutte ,un entomologiste induisit une coccinelle naturellement prédatrice (*Rodolia cardinalis Mulsant*), qui a permis d'aller au premier grand succès de la lutte biologique classique (Jourdheuil et al., 1991).

Après la deuxième guerre mondiale, ils ont développés les propriétés insecticides chimiques de DDT (dichloro-diphényle-trichloro-éthane). Suite au développement de résistance des insectes visés et l'apparition de nouveaux prédateurs et les effets des pesticides sur les organismes non visés et surtout sur l'homme ,Le livre de Rachel L. Carson, Silent spring (1962), a signalé et conduit a l'expulsion du DDT en 1972 et donne des question sur l'avenir des pesticides (Jourdheuil et al., 1991).



**Figure 7.**Lutte biologique (Maqueda,2020).

En 1951 La première réussite Contre une mauvaise herbe le millepertuis par introduction de deux espèces de chrysomèles (*coléoptère herbivore*) (Bourchier, 2004).

Au Québec et en Ontario, depuis 1984, le *Bacillus thuringiensis* est le produit unique qui est utilisés grâce a sa variété contre les insectes, la tordeuse et certaines diptères et coléoptères (Smirnoff, 1991). Ainsi, en 1986, l'Ontario décide de refouler l'usage des pesticides sur les forêts car ils ont des effets nocifs mais elle a encouragée à développer et améliorer *bacillus thuringiensis* au niveau industriel de trichogrammes contre la tordeuse de l'épinette (*Choristoneura sp.*) et construire un marché important (Lambert,2010)

### **1.1 Définition de lutte biologique**

C'est utilisation d'organismes vivants, d'ennemis naturels tel que prédateurs , des parasitoïdes les bactéries les micromycètes et protozoaire tel que les virus ou leurs produits pour inhiber ou éliminer les dommages et les dégâts causés par des espèces nuisible et ravageurs (suty,2010). Le but de la lutte biologique est de réduire et de contrôler les populations des ravageurs pour lequel les dommages sont économiquement acceptables (Waage,2004)



**Figure 8.**La lutte biologique : les insectes au service de la planète. (Consoglobe,2020).

### **1.2 Les stratégies de la lutte**

Avant d'aller plus loin dans la lutte biologique il y a d'autres stratégies tel que la lutte conventionnel c'est à dire la lutte avec des pesticide chimique, son but est l'élimination totale de tous ravageurs présents (Actu-Environnement, 2010).par la suite il y a la lutte intégré inclus des stratégies tel que la lutte biologique, utilisations des pesticides chimiques. son but est de réduire les dommages aux cultures et les menaces à l'environnement et à la santé

humaine (EPA, 2009b), et enfin la lutte autocide par males stérile qui garde leur caractère sexuel, ces males entrent en concurrence avec des males sauvages (Suty, 2010) .

### **1.3 Les méthodes de la lutte biologique**

On distingue trois méthodes :

- **Classique** : consiste à introduire un antagoniste exotique dans un milieu (Cloutier et Cloutier, 1992). Pour lutter contre un organisme nuisible, et pour contrôler le ravageur à long terme. cette méthode nécessite une recherche avant l'attaque spécifique au ravageur exotique et non au organisme indigène (Weeden et al., 2007).
- **Néoclassique** : permet d'introduire un organisme exotiques contre des organismes indigènes.
- **Par conservation** : inclus toutes les méthodes qui consistent à augmenter les populations d'organismes indigènes (suty,2010) .

### **1.4 Les étapes de recherche en lutte biologique**

Pour la recherche en lutte biologique on a plusieurs étapes:

- identifier et étudier l'écologie de l'espèce cible
- cherche les ennemis de l'espèce cible et les cultiver dans un milieu sécurisé
- faire des tests d'efficacité, spécificité, elle prend plusieurs années d'étude
- faire admirer et accepter l'introduction des agents de lutte par comité d'experts
- introduire les agents de lutte biologique dans la zone spécifique on mentionnant la date, lieux et la quantité
- Effectuer un suivi pour confirmer la réussite et l'évaluation et les effets de l'agent de lutte dans une période de cinq a dix ans (Suty,2010).

---

**Chapitre 3 : *Beauveria*  
*bassiana***

---

**1. Généralité sur les champignons entomopathogènes**

La plupart des champignons entomopathogènes appartiennent à l'ordre des *Hypocreales*. Il existe entre 700 et 1 000 espèces de champignons qui possèdent des effets pathogènes chez les insectes ravageurs agricoles et forestiers (St Leger & Wang, 2010). Ces champignons sont importants dans la régulation naturelle des populations d'insectes (Ferron, 1978 ; Wraight et Roberts, 1987). Les espèces des genres *Beauveria*, *Metarhizium*, *Verticillium*, *Erynia*, *Hirsutella*, *Entomophthora* et *Entomophaga*, sont les plus utilisées en lutte biologique, elles infectent les insectes par pénétration directe à travers la cuticule (Goettel, 1992). Leur sensibilité envers les conditions environnementales (rayonnement solaire, température, humidité) reste leur principal inconvénient (Silvy et Riba, 1999).

Ils sont des eucaryotes hétérotrophes avec des noyaux, des organites bien définis et une paroi cellulaire chitineuse. Et ils sont incapables de fixer le carbone et l'azote, donc ils doivent absorber les composés organiques à partir d'autres organismes. Ils peuvent avoir deux modes de vies, soit comme saprophytes, en consommant les matières organiques mortes, ou comme parasites des animaux, des plantes et autres champignons.

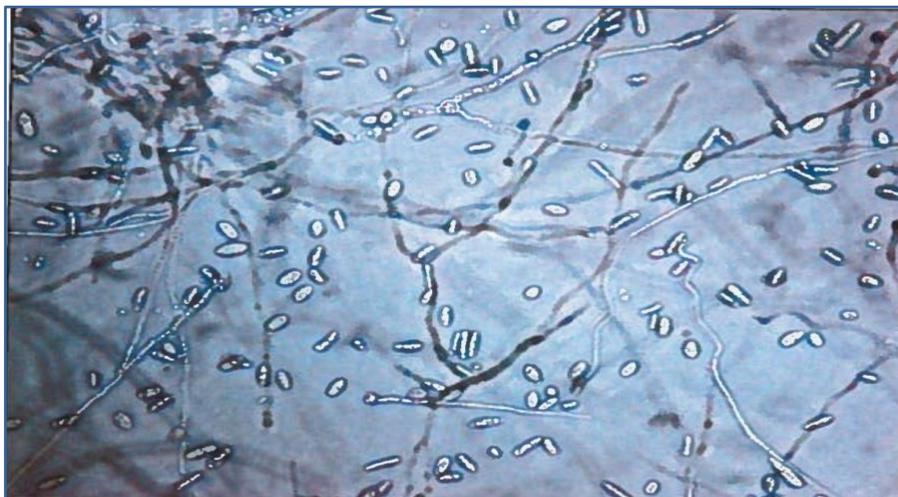
Ces champignons ont deux types de reproduction, la reproduction asexuée (stade anamorphique) et la reproduction sexuée (stade téléomorphique). Ces champignons sont dimorphiques possèdent deux morphologies distinctes qui dépend des conditions environnementales dans lesquelles elles croissent. Dans un cas, on retrouve les hyphes, D'autre part, on retrouve les conidiophores qui se forment sur la partie aérienne du mycélium. Ces structures contiennent des cellules infectieuses de forme sphérique ou ovale. Quelques champignons peuvent produire des blastospores unicellulaires formées par le bourgeonnement des hyphes (Thomas et al., 1987).

**2 . Champignon entomopathogène *Beauveria bassiana*****2.1 Historique**

Dans les années 1800 la maladie calcine ou muscardine blanche causait un problème en France et en Italie (Redaelli et Visocchi, 1940) . En 1835, agostino bassi qui est entomologiste italien a découvert la cause primordiale de la maladie de pérbine qui transforme des atteintes de verre à soie d'Italie en momies blanches, l'aspect d'une couche poudreuse blanche qui enrobe le cadavre a permis au descripteur pour nommé la maladie blanche de muscardine. Balsamo en 1835 a confirmé et nommé cette espèce *Botrytis paradoxa* Balsamo et plus tard *Botrytis bassiana* Balsamo (Balsamo,1835). Ensuite, cette espèce a été nommé à son propre genre *Beauveria* Vuillemin a été établie sur la base de *B. bassiana* Vuillemin

comme espèce type. Ce champignon entomopathogène infecte 700 espèces y compris les arthropodes, les insectes et les acari (Inglis et al. 2001; Zimmermann 2007).

Le genre *beauveria* était censé contenir l'espèce *bassiana* qui est très commune et omniprésente, à moins commun *B. brongniartii*, et un rare *B. album* sont placés dans le *Deuteromycota* parce que leur stades sexuelle étaient inconnus (DeHoog, 1972). Et il y a aussi d'autres espèces comme *amorpha*, *aledonica*, *velata* et *vermiconia* (deHoog et Rao 1975; Samson et Evans 1982; Bissett et Widden, 1986; Rehner et al., 2006). Le genre *Beauveria* est cosmopolite de champignons arthropodes-pathogènes nécrophages du Sol qui comprend des espèces écologiquement et économiquement importantes (Rehner et al. 2011 ; Kepler et al. 2017 ; Chen et al. 2018).



**Figure 9.** Vue microscopique des spores et des hyphes du champignon *Beauveria bassiana*. (sabbahi,2008).

Les spores constituent l'unité infectieuse, alors que les hyphes sont présentés sous forme des filaments. La photo a été prise sous microscopie photonique à un grossissement de x 400.

## **2.2 Description**

C'est un microchampignon entomopathogène qui a été décrit par Jean Beauverie en 1911 et établie par Vuillemin 1912 dans l'ordre des Hyphomycètes, Il cause la maladie de muscardine blanche (Steinhaus,1956). Il est cosmopolite, ubiquitaire et saprophyte (Ishii et al., 2015; Ortiz-Urquiza et al., 2010; Sabbahi, 2008).



**Figure 10.** Unité infectieuse :Spore de *Beauveria bassiana* (de Kouassi,2001)

Génétiquement son génome est constituée de chromosome 7 ou 8 selon isolats, la taille de son génome est entre 34 et 44 Mb (viaud et al.1996).Morphologiquement, cette espèce est caractérisée par la couleur blanche cotonneuse, Ses conidies sont à base renflées mais l'extrémité sous forme de filaments en zigzag qui sont des hyphes transparents et septaux de diamètre entre 2 et 2,5 $\mu$ m. Le conidiophore produit des spores en donnant un aspect denticulé et il y a deux types de spore, les condiospores en présence d'oxygène sous forme sphérique ou ovales et les blastospores en absence d'oxygène sous forme ovale et les deux sont pathogènes pour les insectes (Weiser, 1972 ; Lipa, 1975).

Ce champignon est également psychrophile (Bidochka et al., 1998) car il croît et sporule sur une large variété de milieux de culture et peut être conservé à des températures de 5° à 8°C sans toutefois perdre sa viabilité et sa capacité de sporulation (Tong-kwee et al., 1989). *B. bassiana* est très utilisée en lutte biologique et peut infecter une large gamme d'insecte, (Meyling et al.,2009).

Il se multiplie par reproduction asexuée (Sabbahi, 2008; Ziani, 2008) En effet, il présente aucun danger pour l'environnement, la santé humaine, les mammifères, les oiseaux et les plantes (Saranraj & Jayaparakash, 2017) .

### 2.3 Systématique

La position systématique de Rehner et Buckley(2005) est la suivante :

**Tableau 4** : La position systématique de *Beauveria bassiana* (Rehner et Buckley,2005)

<b>Règne</b>	<i>Fungi</i>
<b>Phylum</b>	<i>Ascomycota</i>
<b>Sous-phylum</b>	<i>Pezizomycota</i>
<b>Classe</b>	<i>Sordariomycete</i>
<b>Sous-classe</b>	<i>Hypocreomycetidae</i>
<b>Ordre</b>	<i>Hypocreale</i>
<b>Famille</b>	<i>Cordycipitaceae</i>
<b>Genre</b>	<i>Beauveria</i>
<b>Espèce</b>	<i>Beauveria bassiana</i>

### 2.4 Métabolites secondaires

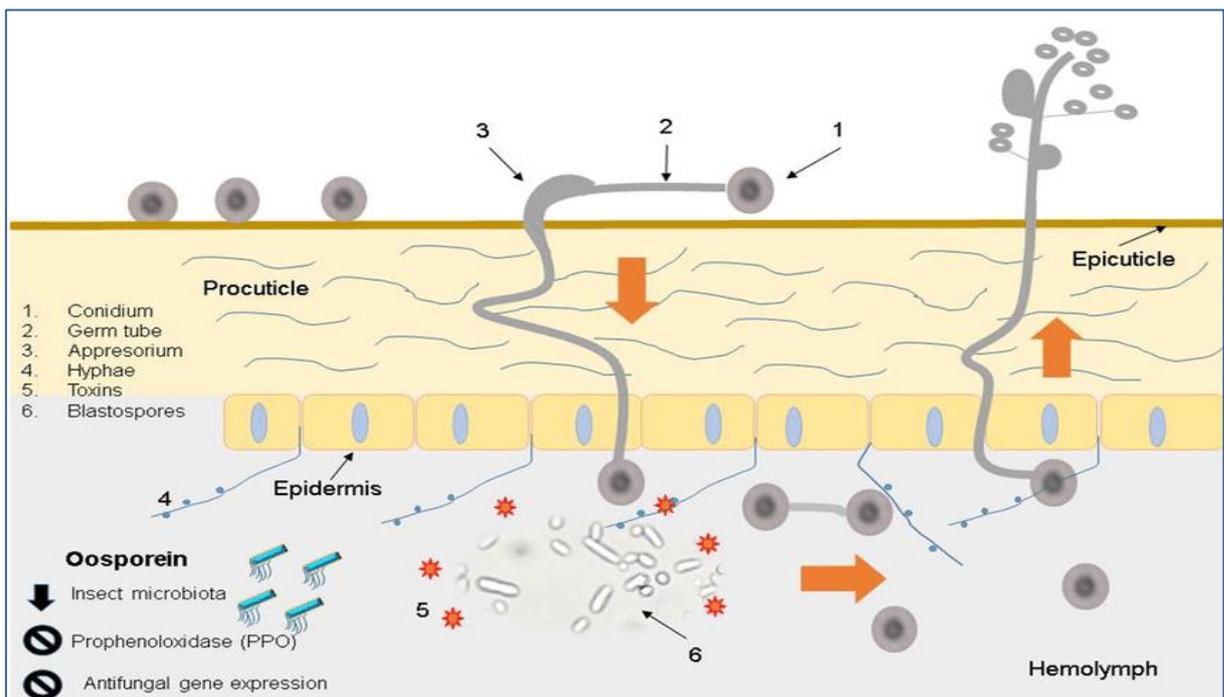
La prolifération, la croissance cellulaires et la reproduction cellulaire sont gérés par le métabolisme primaire. Cependant, la sécrétion des métabolites secondaires apparaissent dans le cas d'épuisement des nutriments dans le milieu (Cortés-Sánchez & Mosqueda-Olivares, 2013). Ces métabolites sont des peptides, des acides organiques, des antibiotiques, des pigments, (Lopes et al., 2013). les pigments permettent une résistance au lumière ultraviolette (Chintapenta et al., 2014).Ce champignon sécrète des enzymes importantes comme les chitinases, les lipases et les protéases. Cependant, ils produisent des enzymes vitales tel que l'amylase, l'asparaginase, la cellulase, la galactosidase (ayodeji et al.,2020) .

Cette espèce a la capacité de produire de la beauvericine, du bassianolide, de la bassiacridine ainsi que des pigments jaunes comme la ténelline et la bassianine. il produit aussi l'oosporéine de pigment rouge non peptidique qui est un métabolite biologiquement actif qui présente une faible toxicité chez l'homme (Amin et al., 2010; Chávez-Ibañez et al., 2014; Patocka, 2016; Vega et al., 2008). Ces métabolites ne sont pas essentiels à la croissance et au développement de *B. bassiana*. En fait, ils sont exploités pour leur activité antifongique, antitumorale ou antibactérienne (Chintapenta et al., 2014). Les métabolites secondaires jouent un rôle important dans la diversification fongique et l'adaptation à plusieurs niches écologiques (da Costa Souza et al., 2016).d'autres métabolites impliqués dans la pathogenèse et la virulence qui ont utilisés dans les domaines industriels, pharmaceutiques et agricoles(Xu et al., 2009).

### 2.5 Mode d'infection

*Beauveria bassiana* peut infecter son hôte par un simple contact, y a des facteurs mycotoxines non enzymatique qui accélèrent l'infection comme les métabolites secondaires (robert,1981) après tuer l'insecte, le champignon produit un antibiotique pour augmenter la compétition des bactéries du tube intestinal de l'insecte. La phase saprophyte va être caractérisée par la momification du cadavre transformé en sclérote. Les hyphes traversent le tégument préférentiellement au niveau inter-segmentaire puis le recouvre d'un feutrage blanc cotonneux (Weiser, 1972).on distingue cinq phases (figure 2):

**2.5.1 La phase d'adhésion** est la première étape du processus d'infection, elle se déclenche par un mécanisme de reconnaissance et de compatibilité des spores avec les cellules tégumentaires de l'insecte (Vey et al., 1982).l'hydrophobine produite par *B bassiana* qui joue un rôle de médiatrice lors de l'adhésion des conidies à la surface de la cuticule (Hegedus et al., 1992, Wang & St Leger, 2007).



**Figure 11.** Présentation générale du processus d'infection chez les insectes par *Beauveria bassiana*. (Hernandez et al.,2020)

**2.5.2 La phase de germination** est La formation d'un tube germinatif dépend des conditions environnementales (température,lumière du soleil, humidité, pluie, vent) et la composition biochimique de la cuticule (Latge et al., 1987).permette de développer la pénétration qui est soutenue par des lipases, des protéases et chitinases qui sont des enzymes hydrolytiques.

**2.5.3 La phase de différenciation** est une phase importante dans le processus d'infection. qui sert de point d'ancrage et de ramollissement de la cuticule ce qui a pour effet de favoriser la pénétration de la spore (Magalhaes et al., 1989).

**2.5.4 La phase de pénétration** Une fois que le champignon a pu accéder à l'hémocèle, il commence à utiliser les nutriments disponibles pour sa croissance et sa reproduction. une fois que l'insecte est mort la cuticule est percée a nouveau de l'intérieur pour que les conidiophores apparaitre et peuvent infecter d'autre insectes (Borges et al., 2010; Mascarin & Jaronski, 2016; Valero-Jiménez et al., 2016; Daza et al., 2019; Litwin et al., 2020) .

**2.5.5 Phase de Prolifération** dans l'hémocèle, ils doivent se confronter a une compétition avec la flore bactérienne et fongique de l'intestin de l'insecte (Boucias et al., 1988). Grace à l'acquisition de produire des enzymes et toxines qui ont des propriétés antifongique et antibactérienne et insecticides comme beauvericine et bassianolide (Vey et al., 2001), les isarolides et l'oosporine (Xu et al., 2008). Finalement, la mortalité des insectes et formation de la muscardine blanche grâce a des hyphes qui traversent les couches de l'exosquelette (Litwin et al., 2020) .



**Figure12.** *Beauveria bassiana* (Michael,W,2013)

## **2.6 Facteurs qui influencent *B. bassiana***

Les principaux facteurs limitant *B bassiana* sont abiotiques tel que la température , l'humidité et les radiation UV, peuvent provoquer une perte de son efficacité et influence la formation d'inoculum et sa conservation, il y a aussi les conditions climatiques qui touchent la physiologie du champignon , sa capacité d'infecter l'hôte ,la progression de l'infection, sporulation sur le cadavre et capacité de dispersion (Sabbahi,2008).

La température et l'humidité affectent la survie de *B bassiana* (fargues et al.1997a,b ;Ouedraogo et al.1997 ;vidal et al.1997), la température optimale est entre 20°C et 25°C, l'efficacité de ce champignon contre les insectes nécessite une humidité élevé (walstad

et al.1970) peut faire son développement avec humidité existante dans insecte hôte ou la surface corporelle de l'hôte (Faria et Wraight, 2001). Cependant les rayons UV peuvent affecter l'efficacité de *B. bassiana*, la lumière du soleil affecte la persistance des conidies sur le feuillage et peut directement affecter la composition génétique de champignon (McCoy et al., 1990). Le pH influence la persistance et l'efficacité de la virulence des champignons entomopathogènes (Inglis et al., 2001) la variation a été notée entre 5 et 6 (Tarocco et al., 2005) et entre 6 et 8,5 (Galani, 1988).

### **2.7 Avantages de *Beauveria bassiana***

Le micro-champignon est un agent important de lutte biologique, il peut infecter l'hôte sans être ingéré. (Wraight et Roberts, 1987). En outre, la persistance des conidies dans le sol peut assurer un contrôle à long terme en provoquant la mycose sur les générations suivantes de l'hôte (Gaugler et Lashomb, 1989). Au niveau de la biosécurité, plusieurs études ont prouvées que ce mycète n'est pas dangereux pour les vertébrés (Faria et Wraight, 2001).

### **2.8 Rôles de *Beauveria bassiana***

*Beauveria* est considéré en tant qu'endophyte (Wagner et Lewis, 2000) *B. bassiana* pousse dans des tiges de maïs, et conduit à une mortalité considérable chez les larves de la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*). Par la suite a été signalée dans le cacao (Posada et Vega 2006), le palmier dattier (Gómez-Vidal et al. 2009), le café (Posada et al. 2007), la tomate (Ownley et al. 2008), le raisin (Jaber 2015), la banane (Akello et al. 2009), le haricot (Akutse et al. 2014), le sorgho (Tefera et Vidal 2009), le pin (Reay et al. 2010), le coton (Gurulingappa et al. 2010). aussi peut être transmis par des grains ce qui conduit à une protection contre la guêpe à galle (*Iraella luteipes*) (Quesada-Moraga et al. 2014). La colonisation endophyte de *Beauveria* sur coton permet une élimination des pucerons et leur reproduction (Gurulingappa et al. 2010). et réduit développement de *Helicoverpa zea* (Lopez et Sword 2015). Colonisation endophyte des tissus végétaux par *Beauveria* peut déclencher une défense systémique induite chez les plantes hôtes ce qui permet d'affecter les herbivores nuisibles (Goettel et al. 2008; Vidal et Jaber 2015). Cependant l'endophyte fongique sera protégé des stress abiotiques environnementaux à l'intérieur de la plante, favorisant une persistance plus longue et moins d'inoculum pour initier la colonisation de l'hôte (Lohse et al. 2015).

### **2.9 Utilisations de *Beauveria bassiana***

*B. bassiana* est agent pathogène des insectes fongiques exploité pour la lutte biologique, en raison de leur distribution omniprésente. Cette espèce représente près de 70% de tous les myco-insecticides commerciaux (Faria et Wraight 2007), généralement les produits

à base de *Beauveria* sont des poudres mouillables (WP) suivies de formulations en suspension concentrée (CS) et en suspension émulsionnable (ES) (Ekesi et al.2007)

**Tableau 5 :** Quelques produits exemplaires de *B bassiana* et leurs utilisations (Mascrin et Jaronski,2016)

Produit	Formulation	Ravageur cible	Concentrations et dosage recommandé	Inscription
Bovebio	WP	Cosmopolites souillant, Dalbulus maidis, tétranyque ortie Bemisia tabaci biotype B	$1.48 \times 10^9$ CFU/g (application rate: 0.74– $8.14 \times 10^{12}$ conidia/ha)	Brésil
BotaniGard	WP ES CS	Pucerons, lépidoptères se nourrissant de feuillage, coléoptères se nourrissant de feuilles, cicadelles, cicadelles, cochenilles, sauterelle, criquet mormon, criquet, criquet taupe; punaises des plantes, psylles, scarabées, lépidoptères perceurs de tige, thrips, charançons, aleurodes, pyrale du maïs	$4.4 \times 10^{10}$ conidia/g or $2.16 \times 10^{10}$ conidia/mL (application rate: 4.0– $8.0 \times 10^{12}$ conidia/ha)	États-Unis, Espagne, Grèce, Italie, Canada, Mexique, approuvé en Allemagne, Suisse, Corée, Autriche
Naturalis –L	CS	Fourmi, puceron, légionnaire, ver de la capsule, tordeuse, punaise chinch, mouche noire des agrumes, doryphore de la pomme de terre, pyrale du maïs, ver gris, Elateridae, hanneton européen, larves de mouche de la grue européenne, fleahopper, moucheron champignon, sauterelle, scarabée vert juin, scarabée japonais, feuille - cicadelle, arpentuse, punaise du Lygus, cochenille, mille-pattes, acarien, grillon taupe, hanneton masqué du nord, psylle du poirier, psylle, charançon des racines, mouche du rivage, tordeuse des gazon, punaise du truie, coccinelle	2.3– $6.9 \times 10^7$ conidia/mL (application rate: 2.3– $6.9 \times 10^{10}$ conidia/ha)	Corée, Mexique, États-Unis, Royaume-Uni, Autriche, Italie, Suisse, Espagne, Grèce

**2.10 Milieux de cultures de *B bassiana***

Différents milieux peuvent être utilisés pour la production des isolats de *B bassiana* (Tableau3) . les milieux liquides sont les plus utilisés dans la production de masse.(Goettel et Roberts,1992).

**Tableau 6** : Les différents milieux utilisés pour la production des isolats de *B bassiana*

<b>Les milieux</b>	<b>Les références</b>
Sorgho , fève de haricot , bagasse de manioc, farine de seigle, farine de manioc , riz, bagasse de canne a sucre résidus de torula.	Calderon et al.,1995 ; soccol et al.,1997
Blé , orge , avoine	Jenkins et al.,1998
Carcasse de crevette séchées	Suresh et chandrasekaran,1998
Grain écrasé ou entier de maïs	Kang et al .,2005
Mélange de sciure du bois , de cosse de riz et de riz blé .	Puzari et al.,1990 ;sahayaraj et namasivayam,2008.

---

# Partie 2: Partie expérimentale

---

Elle s'agit d'un mode opératoire et résultats de l'article : Infection and colonization of tissues of the aphid *Myzus persicae* and cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* by the fungus *Beauveria bassiana*

Les auteurs : Alongkorn Amnuaykanjanasin, Jiraporn Jirakkakul, Cheerapha Panyasiri, Pairat Panyarakkit, Prachumporn Nounurai, Duriya Chantasingh, Lily Eurwilaichitr, Supapon Cheevadhanarak & Morakot Tanticharoen (2012).

---

# **Matériel et méthodes**

---

### 1.Élevage d'insectes et culture fongique

Le puceron vert du pêcher et la cochenille rose du manioc ont été obtenus à l'origine auprès du ministère de l'Agriculture de Thaïlande, puis maintenus en élevage sur des plants de chou frisé et des citrouilles, respectivement, dans une serre de l'usine pilote BIOTEC. La souche BCC2660 de *Beauveria bassiana* a été obtenue auprès de BIOTEC Culture Collection (BCC). La souche fongique a été cultivée et maintenue sur PDA (Difco, USA) à 25 °C. La région d'espace interne transcrite de l'ADN ribosomique nucléaire du champignon a été séquencée (numéro d'accèsion GenBank KC112383), et la séquence a confirmé que le champignon était *B. bassiana*. Des conidies aériennes ont été doucement grattées d'une culture âgée de 7 à 10 jours dans 10 ml d'eau distillée, puis mises en suspension dans 0,1 % de Tween 80 (Fluka, Royaume-Uni) et 0,2 % d'huile de noix de coco (Parisut, Thaïlande). La concentration a été ajustée à  $1 \times 10^8$  conidies  $\text{ml}^{-1}$  pour une utilisation comme inoculum.

(Amnuaykanjanasin et al.,2012)

### 2. Traitements contre les insectes

Deux séries de 30 à 40 pucerons verts du pêcher et 40 cochenilles roses ont été traitées avec une suspension de conidies de *B.bassiana* BCC2660 et du dérivé marqué green fluorescent protein (GFP), Les insectes ont été inoculés soit par une immersion de 10 s dans l'inoculum, soit avec trois pulvérisations de l'inoculum. Vingt insectes témoins ont été traités avec la même solution sans conidies. Les pucerons inoculés ont été placés sur des feuilles de chou frisé et cochenilles sur des morceaux de citrouille. Les plantes de citrouilles ont ensuite été transférées dans des boîtes en plastique et conservées dans un grand carton à 25 °C et 80 % HR. La microscopie optique et à balayage et électronique à transmission a été utilisée pour surveiller le processus d'infection de *B. bassiana* sur et dans le puceron au moins cinq fois : 24, 48, 72, 96 et 120 h post-inoculation (PI). CLSM a été utilisé pour suivre l'infection fongique et la distribution dans la cochenille du manioc à des intervalles de 24 heures pendant 12 jours PI. Trois à cinq pucerons ou cochenilles ont été observés à chaque fois (Amnuaykanjanasin et al.,2012) .

### 3. Microscopie optique et électronique

Pour la microscopie optique, les insectes ont été placés dans une goutte de bleu de coton à 0,05 % dans du lactophénol (Fluka) pour colorer les cellules fongiques, puis observés avec un microscope Olympus CX31 et une optique à fond clair (Olympus, Japon). La distribution et les types et formes cellulaires du champignon et le pourcentage de pucerons infectés morts ont été enregistrés pour chaque période d'observation.

Des pucerons infectés et sains ont également été observés par la microscopie électronique à balayage (MEB) et microscopie électronique à transmission (MET). Nous avons fixé et préparé des échantillons comme décrit par Hoppert et Holzenburg (1998). Brièvement, les pucerons inoculés ont été collectés à 24, 36, 48, 72 et 96 h post inoculation (PI), puis fixés avec 2,5 % de glutaraldéhyde [Electron Microscopy Sciences (EMS), USA] et 2 % de paraformaldéhyde dans un tampon phosphate (0,1 M KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> et Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, pH 7,2), puis fixé dans 1 % OsO<sub>4</sub>. Pour le MEB, les échantillons ont été déshydratés avec un gradient d'éthanol jusqu'à 100 % d'éthanol, puis séchés au point critique avec du CO<sub>2</sub> (modèle de sècheur HCP-2 ; Hitachi, Japon) et recouverts d'un revêtement par pulvérisation d'or-palladium (modèle de revêtement JFC-1100 ; Jeol, Japon). Les photographies ont été prises avec un MEB (modèle JSM-35CF ; Jeol) à 20 kV. Pour la MET, les éprouvettes ont été infiltrées avec une résine époxy (EPON Resin ; Epoxy Resins, USA). Des sections de 70 à 85 nm ont été tranchées avec un couteau en diamant (Pelco, USA) et un microtome Reichert Ultracut E (Reichert, Autriche). Les coupes ont été colorées avec de l'acétate d'uranyle aqueux (EMS), suivi par du citrate de plomb (EMS) et visualisées avec un MET (modèle JEM-1230; Jeol) à une tension d'accélération de 80 kV. (Amnuaykanjanasin et al., 2012).

### **Expression constitutive du gène synthétique de la protéine fluorescente verte (sgfp) chez *B. bassiana* à l'aide de la transformation médiée par *Agrobacterium*.**

Pour construire une protéine fluorescente verte un vecteur binaire pour la transformation fongique, la cassette barre (promoteur *gpdA*, séquence de codage barre et terminateur *trpC*) a été excisée de pZP-Anbar (don aimable du Dr Charley Christian Staats, Université fédérale de Rio Grande do Sul, Brésil) avec EcoRI et HindIII (Fermentas, Lituanie), puis purifiés sur gel et ligaturés à pUC18 digéré avec les mêmes enzymes de restriction. Ce plasmide recombinant a été appelé pBar.

Ensuite, la séquence de codage à barres a été retirée de pBar par digestion avec NcoI et SacII et remplacée par la séquence de codage *sgfp*, qui a été amplifiée à partir du plasmide pCT74 (Lorang et al. 2001) en utilisant les amorces sGFP-F-NcoI (5'-GTCAGCCATGGTGAGCAAGGGGCGAGGAG-3' ; le site NcoI introduit est souligné) et sGFP-R-SacII (5'-TACGATCCGCGGTCAGCTAGAGGATCCCCTTGTACAGC-3' ; le site SacII introduit est souligné).

La réaction PCR a été réalisée dans 50 µl contenant 1 x tampon optimisé DyNAzyme EXT (New England BioLabs, USA), 0,2 mM de chaque dNTP, 1,5 mM Mg, 0,4 mM de chaque amorce et 1 U d'ADN polymérase DynaZyme EXT (New England BioLabs). Le programme de cyclage thermique consistait en 5 min à 95 °C ; 35 cycles de 1 min à 94 °C, 1 min à 55 °C

et 1 min à 72 °C ; et 10 min à 72°C. Le produit PCR a été purifié sur gel et ligaturé aux sites NcoI et SacII de pBar comme décrit. Ce plasmide résultant a été nommé pBar-sGFP.

La cassette *gpdA* promoteur-*sgfp*-*trpC* terminateur a été excisée de pBar-sGFP avec EcoRI et HindIII. La cassette *sgfp* a ensuite été traitée avec un fragment de Klenow d'ADN polymérase I (New England BioLabs) pour créer des extrémités franches et ligaturée à pPZP-Anbar restreint par EcoRI qui a également été traité avec le fragment de Klenow. Le vecteur binaire résultant a été appelé pPZP-sGFP-Bar.

La souche de type sauvage BCC2660 de *B. bassiana* a été transformée avec pPZP-sGFP-Bar en utilisant la transformation médiée par *Agrobacterium* (Wang et al. 2010) avec quelques modifications comme suit.

Deux bouchons hyphes (6 mm de diamètre) ont été placés dans 1 ml d'eau et agités pendant 10 s, puis 500 µl de cette suspension ont été placés dans 50 ml de SDY (Difco). Le mélange a été agité à 200 tr/min, 28°C pendant deux jours. La souche EHA105 d'*Agrobacterium tumefaciens* a été cultivée dans un bouillon Luria-Bertani (Difco) contenant 50 g de kanamycine ml<sup>-1</sup> (Laboratoires A.N.B., Thaïlande) à 28 °C pendant deux jours ou jusqu'à une DO660 de 0,15.

Des blastospores (200 µl de 1 × 10<sup>6</sup> spores ml<sup>-1</sup>) de *B. bassiana* ont été mélangés avec 200 µl d'*Agrobacterium tumefaciens* qui portait le plasmide pPZP-sGFP-Bar. Ce mélange a été pipeté sur papier filtre recouvert d'un milieu d'induction (de Groot et al. 1998) contenant de l'acétosyringone (Sigma-Aldrich, USA). La culture a été incubée à 28°C pendant deux jours, puis le papier filtre a été transféré sur un milieu minimal gélosé (Epstein et al. 1998) contenant 100 µg de glufosinate d'ammonium ml<sup>-1</sup> (Zhejiang Yongnong Chem, China) et 250 µg de céfotaxime ml<sup>-1</sup> (Siam Pharmaceutical, Thaïlande).

La culture a ensuite été incubée à 28 °C pendant 5 à 7 jours. Après deux de ces cycles de culture pour la résistance au glufosinate, les transformants putatifs ont été sélectionnés sur le même milieu sélectif. Les isolats résistants au glufosinate ont été criblés pour la fluorescence de la GFP avec un microscope à fluorescence Zeiss Axiophot (Zeiss, Allemagne) équipé d'un ensemble de filtres FITC (excitation de 450 à 490 nm, barrière de 515 à 565 nm). (Amnuaykanjanasin et al.,2012)

#### **4. Microscopie confocale à balayage laser**

CLSM a été réalisée en utilisant le système FV1000 Fluoview (Olympus, Japon). Toutes les images ont été enregistrées à une résolution de 1 024 × 1 024 pixels. Toutes les images ont été prises à l'aide d'un objectif à immersion dans l'huile 20×, 40× ou 100× avec un zoom numérique 1–3×.

Les paramètres de l'image étaient les suivants : puissance laser : 10-25 %, iris : auto, HV, 400-600 et gain : 1. Pour chaque image, la tension de décalage a été ajustée jusqu'à ce que l'arrière-plan apparaisse noir ou presque. Le filtrage de Kalman ( $n = 4$  ou  $6$ ) était généralement utilisé pour améliorer le rapport signal sur bruit des images. Lorsque le canal de lumière transmise (TD) a été utilisé pour capturer des images de contraste d'interférence différentielle, le laser argon-ion a été réglé à 559 nm. Une série z a été utilisée pour collecter des images à différentes profondeurs d'échantillons. Pour chaque image, dix coupes ont été collectées avec des pas de focale de  $1 \mu\text{m}$ . Les images ont été capturées et stockées sous forme de fichiers TIFF par le logiciel OLYMPUS FLUOVIEW Ver.3.1a (Olympus). (Amnuaykanjanasin et al.,2012) .

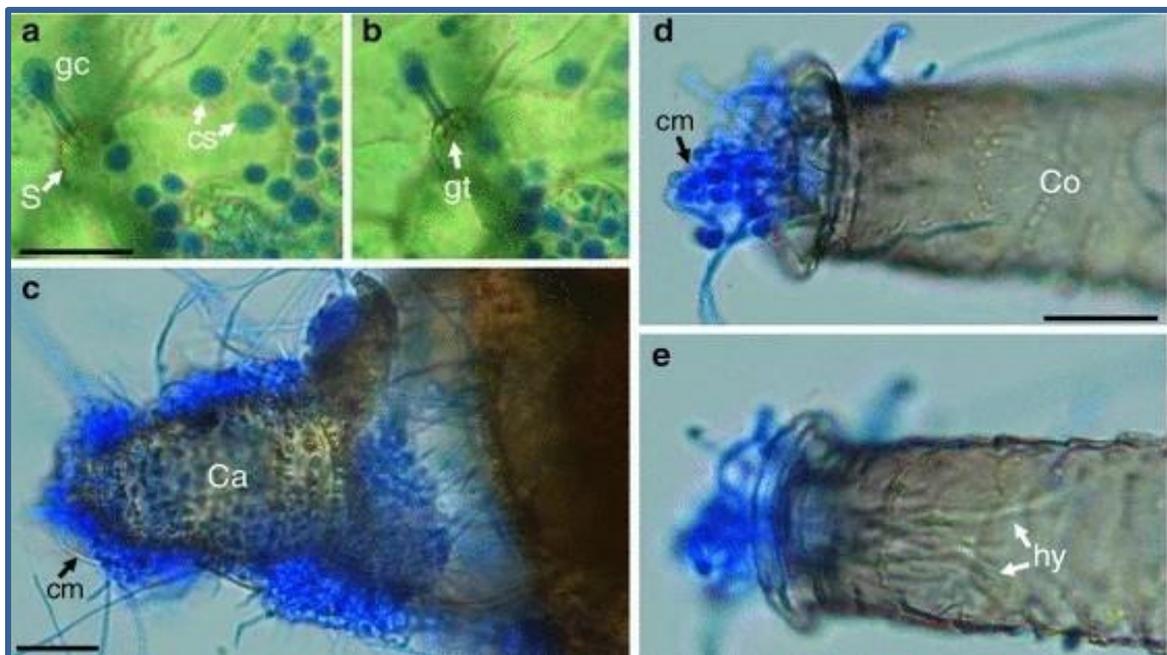
---

## **Partie 3: Les résultats**

---

### 1. Infection de *Myzus persicae* par *Beauveria bassiana*

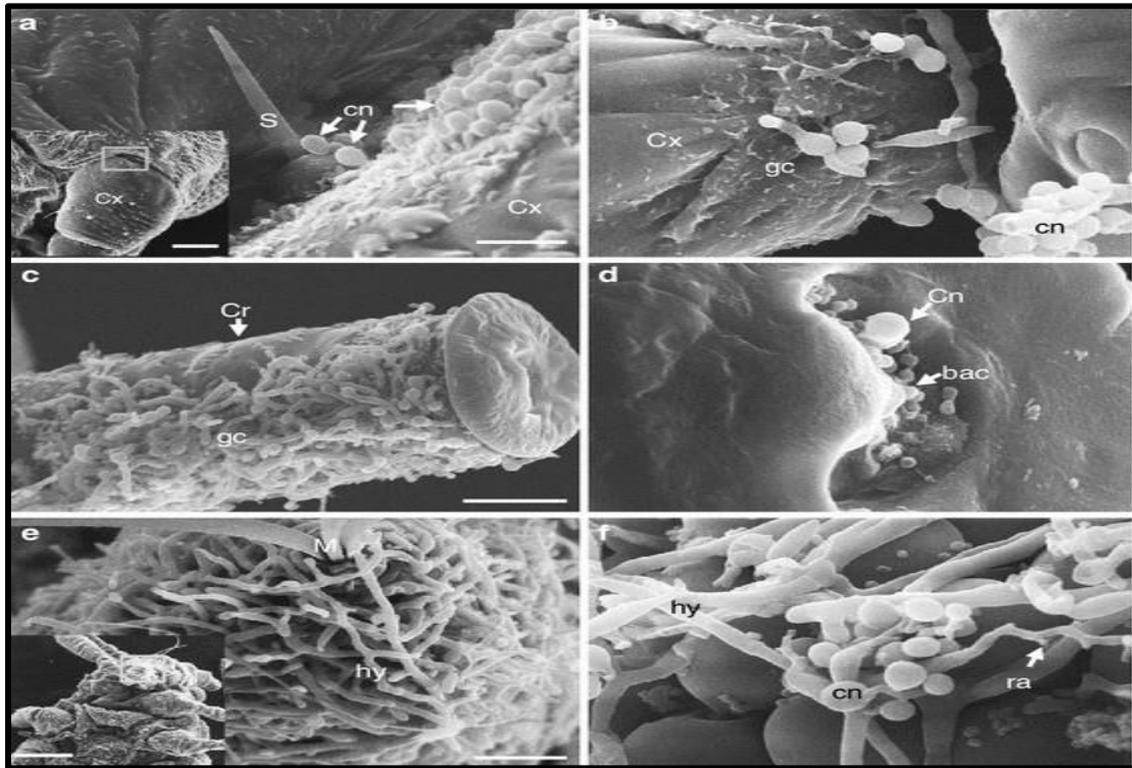
La taille minuscule et le tissu transparent de ce puceron ont facilité une observation claire et non invasive au microscope optique et électronique pour documenter le processus d'infection fongique de 0 à 120 h PI. Immédiatement après l'inoculation, des conidies fongiques étaient visibles à la surface des appendices des insectes ainsi que sur la tête, le thorax ou l'abdomen, et au bout de 12 h, certaines avaient germé. À 24 h PI, de nombreuses conidies attachées avaient germé sur la cuticule. Plutôt que de pénétrer dans la cuticule de l'insecte, les tubes germinatifs et les hyphes avaient pénétré dans le corps de l'insecte par des ouvertures naturelles telles que le stigmate (Figure 13a, b), la cauda (Figure 13. c) et la cornicule (Figure 13.d,e) (Amnuaykanjanasin et al.,2012)



**Figure 13.** micrographie lumineuse de l'infection de *Beauveria bassiana* sur le puceron après coloration de bleu de coton-lactophénol (Amnuaykanjanasin et al.,2012)

- ✓ CS : conidies gonflés
- ✓ S : stigmate
- ✓ gt : tube germinatif ; barre 10µm
- ✓ co : la cornicule
- ✓ d ; plan de surface
- ✓ e : plan interieur
- ✓ hy : hyphes ; barre 20µm
- ✓ cm : masses conidiales teintés de bleu ; barre 10µm

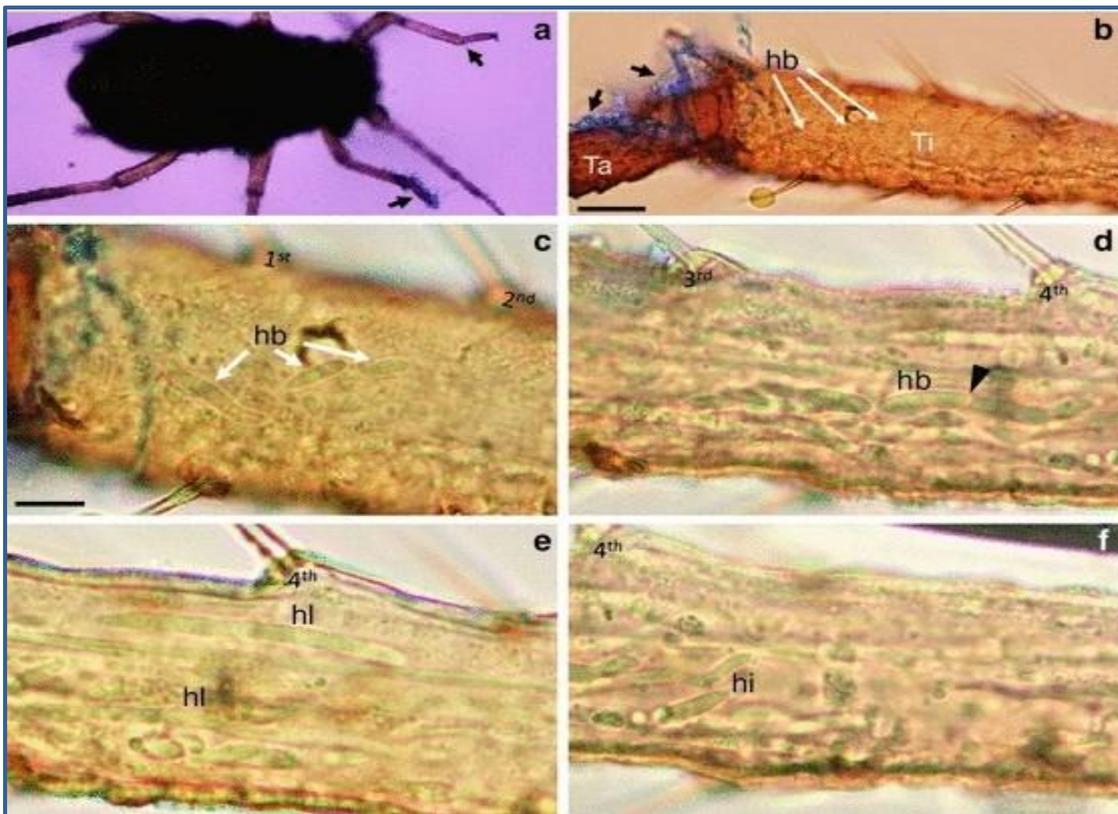
Dans l'analyse SEM, les conidies avaient adhéré à la plupart des parties du corps du puceron, en particulier près des soies sur la surface pliée (Fig. 14.a), ce qui fournit des crevasses adaptées à la fixation des conidies. La germination des conidies et la croissance des hyphes ont souvent été observées près de la membrane intersegmentaire des pattes de l'insecte (Fig. 14.b). Les hyphes étaient également entrés dans l'hôte par les cornicules (Fig. 14.c, d), conformément à nos données de micrographie optique (Fig. 13d, e).



**Figure 14.** SEM de la surface des pucerons 24 à 96 h après l'inoculation avec *Beauveria bassiana*. (Amnuaykanjanasin et al.,2012)

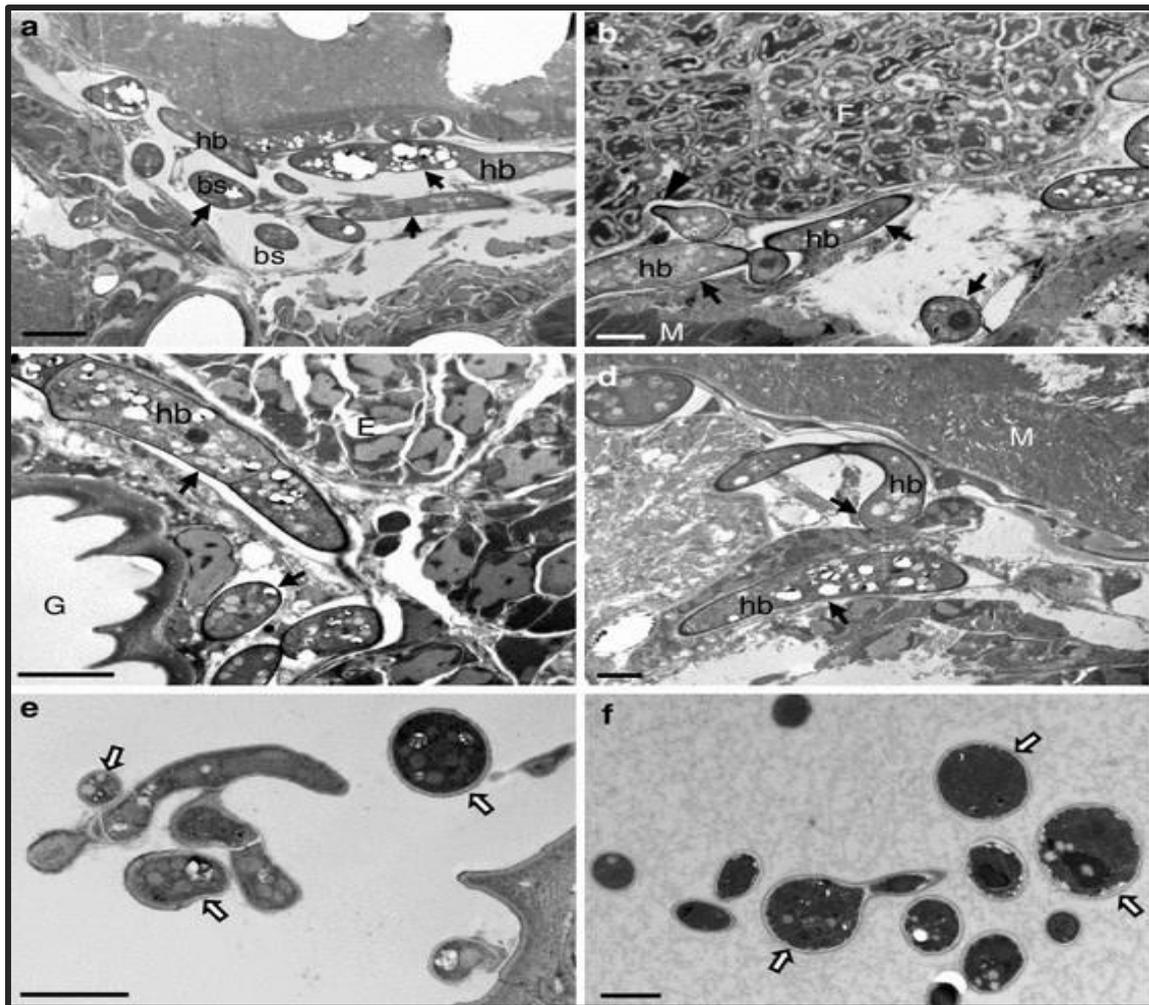
- ✓ Image(a) cn :Conidies à l'emboîture entre la coxa (Cx) et le corps de l'insecte et à la base de la soie (S). Barre 5  $\mu$ m comme en b, d et f ; barrette incrustée 50  $\mu$ m.
- ✓ Image(b) Conidies germées (gc) autour de la coxa des antennes.
- ✓ Image(c) a 48 h PI, de nombreuses conidies avaient germé et les tubes germinatifs s'étaient allongés du côté de la cornicule. Barre 15  $\mu$ m.
- ✓ Image(d) Conidie à l'extrémité de la cornicule, apparemment entourée de cellules bactériennes en forme de cocci (bac).
- ✓ Image(e) À 72 h PI, les hyphes (hy) avaient colonisé et recouvert les pièces buccales suceuses (zone encadrée; barre 150  $\mu$ m). Barre 10  $\mu$ m.
- ✓ Image (f) À 96 h IP, au niveau des segments coxaux, des conidies étaient présentes sur un rachis de type zigzag (ra) .

Entre 48 et 72 h PI, chez des pucerons vivants infectés, il a été vérifié que le champignon se trouvait à l'intérieur du corps de l'hôte, initialement sous forme d'hyphes, et poussait de manière minimale dans l'hémocèle. Nous avons souvent observé des corps hyphes et des blastospores dans l'hémocèle des pattes (Fig. 15). La croissance superficielle de tubes germinatifs courts sur les pattes des pucerons (indiquée par des flèches noires sur la figure (3 a, b) semble avoir été à l'origine de ce développement. La colonisation au niveau de la membrane intersegmentaire s'est propagée aux segments de jambe adjacents, aux tarsi et aux tibias (Fig.15b). À l'intérieur du tibia, des corps hyphes de différentes tailles et formes circulaient dans l'hémocèle de la jambe (Fig.15c-f). Les hyphes qui se sont développés initialement à l'intérieur du corps de l'insecte s'étaient également fragmentés (indiqué par la pointe de flèche sur la figure (15d). Nous avons en fait observé deux cellules fongiques alors qu'elles s'éloignaient l'une de l'autre. De même, des hyphes ont été trouvés dans un homogénat de pucerons qui ne présentaient aucun signe de développement fongique externe. Également à 48-72 h PI, la plupart des pucerons inoculés avaient cessé de s'alimenter et passaient plus de temps à explorer la chambre d'élevage que les pucerons non inoculés. Les pucerons témoins ont également continué à se nourrir. De plus, nous avons observé que les pucerons infectés produisaient moins de descendants que les pucerons non inoculés. (Amnuaykanjanasin et al.,2012)



**Figure 15.** Formation des hyphes par *Beauveria bassiana* dans l'hémocèle de la patte du puceron à 60 h PI (Amnuaykanjanasin et al., 2012) .

- ✓ Image (a) un microscope optique composé vue avec une optique à fond clair
- ✓ Image (b–f) avec une coloration au bleu coton-lactophénol.
- ✓ (a) Les pattes antérieures d'une nymphe vivante et malade ont été colonisées de l'extérieur par le champignon à deux endroits (flèches).
- ✓ (b) Hyphes externes colorés en bleu (flèches noires) dans le tarse (Ta) et nombreux hyphes (hb) dans le tibia (Ti) près du site d'infection externe de la jambe. Barre 5 µm.
- ✓ (c) Gros plan sur trois corps hyphes.
- ✓ (d) Dans la même patte, des hyphes se fragmentent en hyphes/blastospores plus courts (tête de flèche).
- ✓ (e) Deux longs hyphes (hl).
- ✓ (f) hyphe de forme irrégulière (hi, flèche noire) au site prédominant d'infection chez ce puceron. La première à la quatrième (4eme) soies latérales du tibia sont illustrées. Les barres mesurent 2 µm en c–f

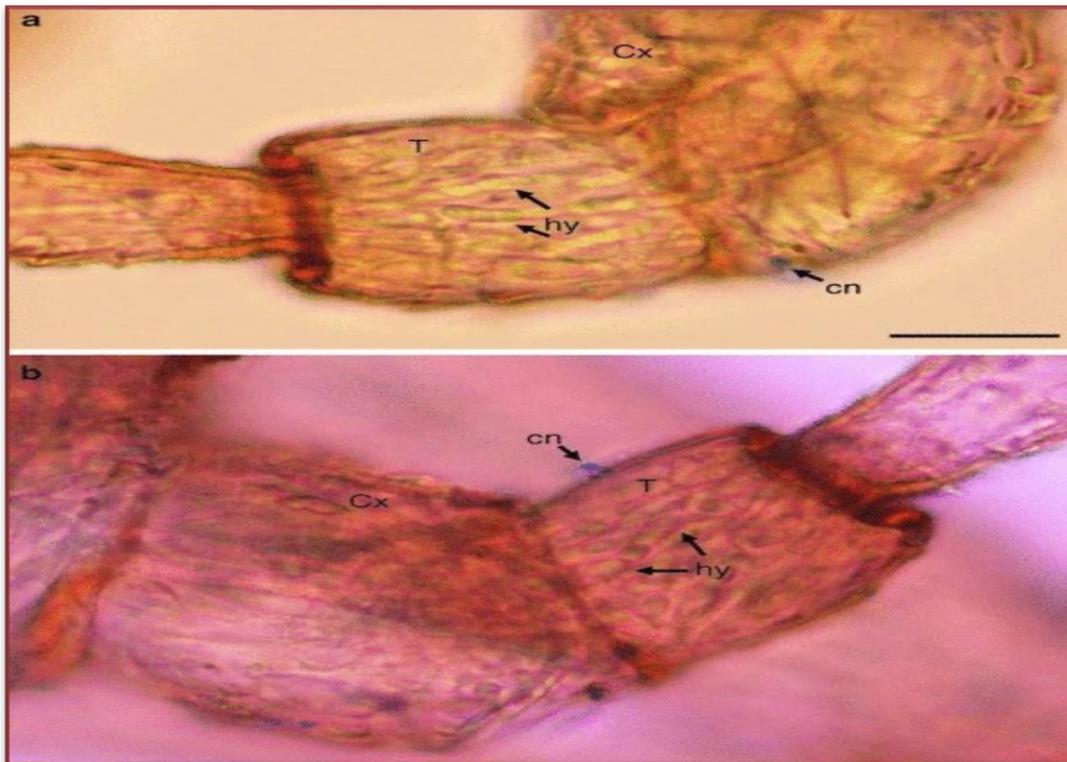


**Figure 16.** MET de cellules de *Beauveria bassiana* dans *Myzus persicae* gravement malade à 72 h PI. (Amnuaykanjanasin et al.,2012) .

- Image (a) Corps hyphes et blastospores (bs) de différentes tailles dans l'hémocèle. Barre 5 $\mu$ m.
- Image (b) Les corps hyphes (hb) ont pénétré le corps gras (Fb) (tête de flèche noire). Le tissu des pucerons autour de la zone colonisée était dégradé. Tissu musculaire (M).
- Image (c) Les corps hyphes et les blastospores ont pénétré dans la paroi intestinale (G) et se sont développés à proximité des embryons (E).
- Image (d) Cellules fongiques autour du muscle (M) de la face dorsale de l'abdomen.
- Image (e) Les blastospores se sont développées et ramifiées dans l'hémolymph.
- Image (f) Les blastospores s'étaient reproduites dans le bouillon SDY. Les corps hyphes allongés qui ont été produits dans l'insecte n'avaient pas de paroi cellulaire bien définie (flèches noires dans a-d), tandis que les blastospores produites in vivo (e) et in vitro dans le bouillon SDY (f) ont une paroi cellulaire plus définie (blanc flèches). Barres 2 $\mu$ m en b–f

L'analyse MET a indiqué que 72 h après l'inoculation, plusieurs organes et tissus internes de certains pucerons avaient été fortement colonisés par *B. bassiana*. Des hyphes et des blastospores de différentes formes et tailles ont été détectés (Fig.16a). Dans certaines zones, les blastospores se trouvaient près des muscles (Fig. 16 b, d) et avaient pénétré les corps adipeux (Fig.16b), et quelques hyphes étaient présents près des embryons de pucerons (Fig.16c). Les blastospores qui flottent librement dans l'hémolymphe étaient pour la plupart sphériques ou ovales et reproduites par bourgeonnement (Fig.16e). Fait intéressant, les blastospores circulant dans l'hémolymphe (Fig.16e) semblaient avoir des parois bicouches plus épaisses, similaires aux blastospores produites dans SDY (Fig.16f), mais différentes de celles infectant les tissus solides (Fig.16a–d). (Amnuaykanjanasin et al.,2012)

À 96-120 h PI, la plupart des pucerons étaient morts. Une croissance importante des hyphes a souvent été observée à l'intérieur des deux segments de patte les plus proches du corps de l'insecte (coxa et trochanter) (Fig.17a, b). De même, des mycéliums denses avaient colonisé l'intérieur de nombreux pucerons morts, de la tête à l'anus, même chez des insectes morts qui n'avaient pas de croissance fongique externe. Certains pucerons gravement infectés présentaient également une paralysie avancée. Ils étaient renversés ou ne pouvaient déplacer que leurs appendices. À la mort des pucerons ou près de celle-ci, les pièces buccales étaient remplies de mycélium et de conidies (Fig.17e). Les mycéliums émergeant de cadavres de pucerons ont produit des conidies aériennes sur un rachis en forme de zigzag (Fig.17f). (Amnuaykanjanasin et al.,2012)



**Figure 17.** Micrographies optiques du trochanter (T) et de la coxa (Cx) d'une patte de deux pucerons morts remplis d'hyphes (hy) de *B. bassiana* à 96 h PI. (Amnuaykanjanasin et al., 2012)

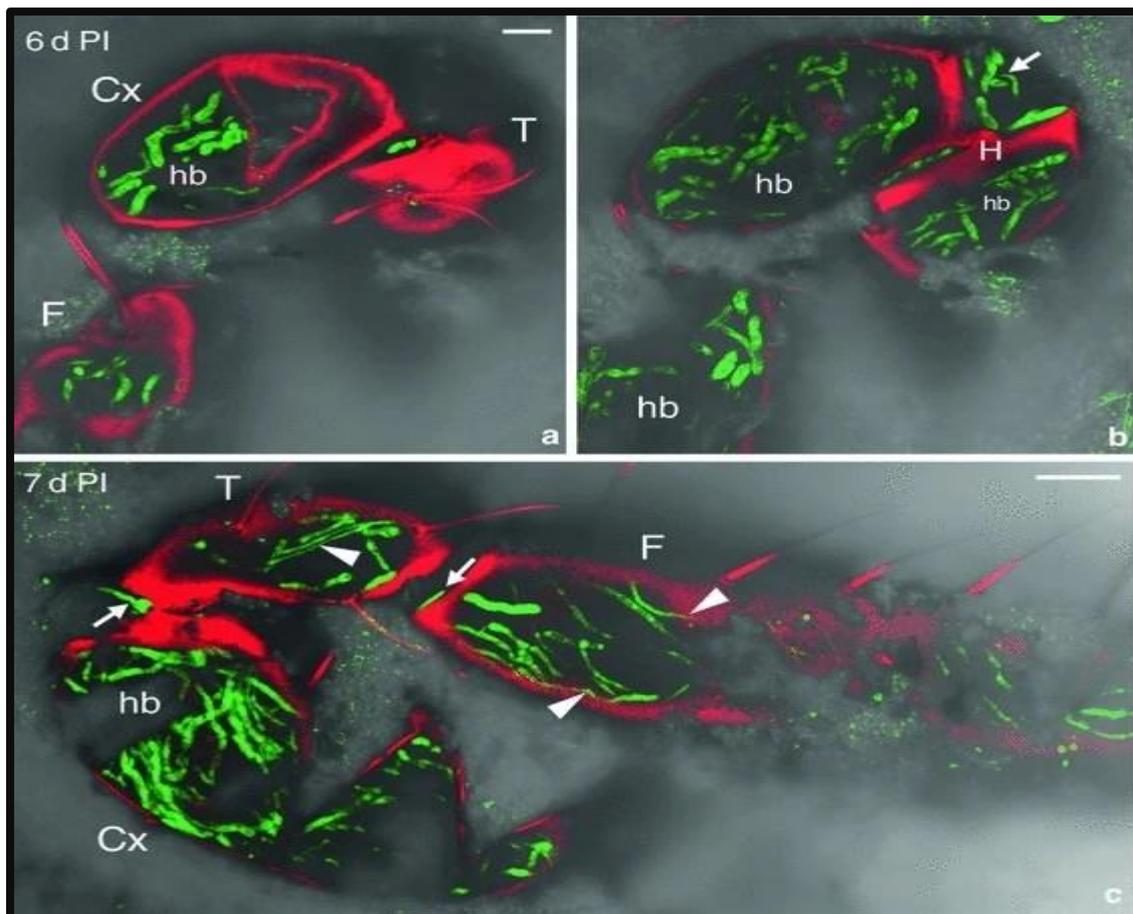
- ✓ Des conidies colorées au bleu de coton au lactophénol (cn) peuvent être observées sur les pattes (pointes de flèche). Barre 10  $\mu$ m.

## 2. Microscopie confocale à balayage laser et distribution de *B. bassiana* exprimant *sgfp* dans la cochenille rose du manioc *P. manihoti*

Des six transformants obtenus après deux cycles de sélection, l'isolat GFP3 avait la fluorescence verte la plus forte. En isolant une seule conidie (Choi et al. 1999), nous avons ensuite généré une seule souche de conidie de *B. bassiana* exprimant *sgfp*, GFP3-1 (déposée dans BCC, accession BMGC155). Nos traitements contre les insectes ont indiqué que les souches de type sauvage et exprimant *sgfp* provoquaient de la même manière une mortalité de 50 à 60 % de la cochenille du manioc en sept jours. Le CLSM de cochenilles inoculées avec la souche GFP3-1 a révélé que la distribution du champignon était similaire à la distribution au sein des pucerons infectés. Cependant, la pathogenèse et la mort des insectes étaient beaucoup plus lentes chez les cochenilles que chez les pucerons. À cinq jours PI, la plupart des cochenilles inoculées étaient encore en vie et peu de cellules fongiques étaient présentes dans l'hôte. La majorité des cellules fongiques à la surface de l'hôte étaient des conidies, qui avaient soit gonflé, soit produit des tubes germinatifs courts, soit n'avaient pas changé du tout. Les cochenilles infectées avaient commencé à mourir au bout de six jours PI. Les hyphes,

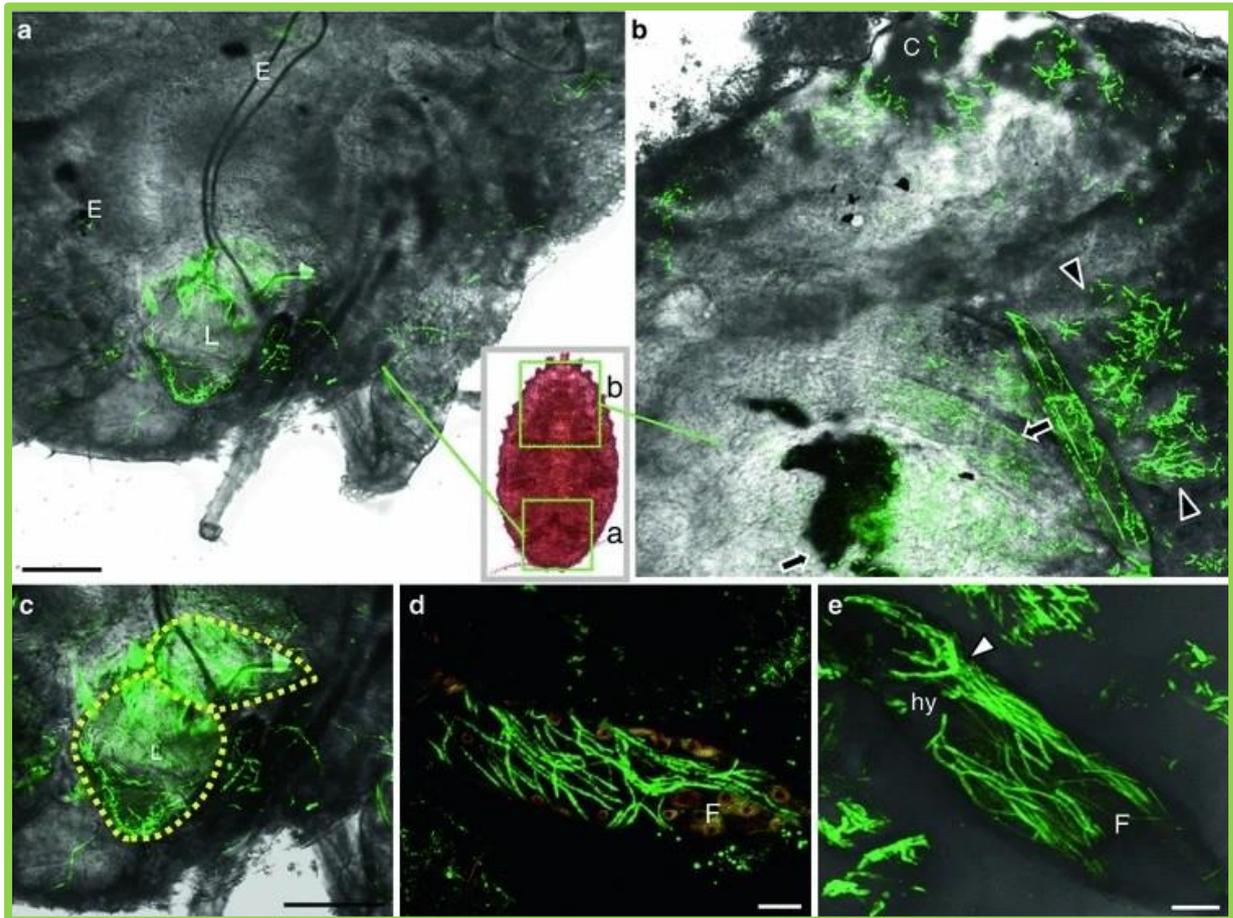
pour la plupart courts, avec des extrémités effilées, s'étaient largement multipliés, notamment dans l'hémocèle de la jambe des segments de la coxa, du trochanter et du fémur (Fig.18a–d).

À sept jours PI, les hyphes avaient commencé à produire des hyphes longs et minces (Fig.18e). Chez les cochenilles mortes, le champignon était limité à certaines zones du corps de l'hôte, la cavité buccale (Fig.19a, c) et les pattes (Fig.19d, e) (où il a probablement pénétré l'hôte), l'hémolymphe (flèches sur la figure 19b) ou les tissus solides périphériques (pointes de flèche sur la figure 19b). Dans l'hémolymphe, seules des blastospores étaient présentes, alors que des hyphes ou de longs hyphes étaient présents sur ou autour des tissus et organes solides (Fig.19b). À des stades ultérieurs, les hyphes se sont multipliés dans le fémur des pattes infectées de deux cochenilles (Fig.19d, e). Curieusement, les nombreux hyphes longs étaient de forme et de taille très uniformes dans le fémur infecté et orientés parallèlement les uns aux autres et au grand axe de la jambe (Fig.19d). À 11 jours PI, le champignon s'est développé plus rapidement, formant souvent un réseau d'hyphes dans les segments de jambe (Fig.19e) dans lesquels le site d'infection d'origine semblait avoir été à la jonction entre le trochanter et le fémur. (Amnuaykanjanasin *et al.*,2012) .



**Figure 18.** CLSM pour localiser *Beauveria bassiana* exprimant *sgfp* (souche GFP3-1) dans l'hémocèle des pattes de cochenilles mortes. (Amnuaykanjanasin et al.,2012)

- Image (a, b) Coupes optiques sélectionnées à des intervalles de 1- $\mu\text{m}$  montrant des hyphes courts, 1 à 2 cellules, fluorescents verts (hb) de *B. bassiana* dans toute la coxa (Cx), le trochanter (T) et le fémur (F) de la jambe à six jours PI. Le champignon est également présent au niveau de la membrane intersegmentaire (flèches blanches, b, c). La charnière coxotrochantérienne (H) a été observée chez (b). Barre 10  $\mu\text{m}$ .
- Image (c) À sept jours après J.-C., les hyphes avaient commencé à produire des hyphes minces (pointes de flèches). Barre 20  $\mu\text{m}$ . Toutes les images montrent la fluorescence verte de la GFP, l'autofluorescence rouge du tissu d'insecte et le signal lumineux transmis



**Figure 19.** CLSM de la souche GFP3-1 exprimant *sgfp* de *Beauveria bassiana* dans des cochenilles mortes du manioc à sept jours PI. (Amnuaykanjanasin *et al.*, 2012).

- Image (a, b) Le champignon n'a été observé que dans certaines parties de l'hôte, y compris la cavité buccale du labium (L en a ; yeux d'insecte, E) et la patte (en b). Des blastospores unicellulaires de forme ovale étaient présents dans l'hémolymphe (entre les pointes de flèches noires). Des hyphes allongés, souvent multicellulaires, ont été trouvés près du tissu solide (flèches noires). En médaillon de la face ventrale de la cochenille montrant l'emplacement des images a et b.
- Image (c) Gros plan de la grande lèvre (L) en (a), délimitée par des pointillés, avec de nombreux hyphes. Barre 80  $\mu\text{m}$ . en (a–c et d) Fémur (F) d'une patte d'insecte, site de croissance importante des hyphes après la mort de l'hôte, avec de longs hyphes, de taille et de forme similaires.
- Image (e) Masse hyphale (hy) dans le fémur d'une autre cochenille. L'origine de l'infection était apparemment au niveau de l'articulation entre le trochanter et le fémur (tête de flèche blanche). Barres 20  $\mu\text{m}$  en (e et f)

---

## **Partie 3 : Discussion**

---

Il y a une différence de développement d'infection chez le puceron et la cochenille du manioc malgré que le processus d'infection initiale par le champignon entomopathogène *B. bassiana* était similaires chez les deux insectes.

### **1. La pathogénèse du champignon ascomycète *B. bassiana***

Le champignon pénètre à travers la membrane intersegmentaire des pattes par ce qu'ils sont moins solide et moins résistante ou à travers des ouvertures naturelles telles que la cavité ou stigmates. Après la pénétration dans l'insecte, un petit nombre des hyphes sont produits. Une fois que la population initiale des hyphes surmonte toute réponse de défense des insectes après 24h puis de 96-120h après la mort de l'insecte, *B. bassiana* passe à une phase mycélienne ; des hyphes minces et longs, qui se développent pour former un vaste réseau d'hyphes dans la cavité de l'insecte. Cette phase semble se produire plusieurs jours plus tôt chez le puceron que chez la cochenille. (Amnuaykanjanasin et al.,2012)

Chez les pucerons infectés, les pattes étaient l'un des sites les plus fréquents d'infection fongique, peut-être parce que les pattes ont une densité plus élevée d'épines ou de structures ressemblant à des cheveux pour ancrer les conidies. De plus, les alvéoles des pattes peuvent fournir un milieu favorable on parle de l'humidité qui permet la germination et la croissance sur la surface de l'hôte. Les tubes germinatifs sont également capables de pénétrer la peau moins sclérifiée et moins résistante au niveau de l'alvéole. le champignon peut trouver une riche source de nutriments à partir de l'hémolymphe. Le champignon a souvent colonisé le 1er et le 2eme segment (coxa et trochanter), peut-être parce qu'un énorme écart entre le trochanter et le fémur (le 3eme segment) fournit un substrat pour la fixation et la croissance des conidies.

### **2. Microscopie confocale a balayage laser**

Des micrographies confocales des cochenilles infectées par *B. bassiana* ont également montré que le champignon se développait bien dans la coxa, le trochanter et le fémur. CLSM a indiqué que le champignon s'est développé dans la membrane intersegmentaire de la jambe, qui était moins ou non solide. Ces observations suggèrent que la croissance de *B. bassiana* a progressé le long de la patte et probablement entraîné une colonisation ultérieure de l'abdomen de l'insecte. Le champignon a également envahi les deux insectes par des ouvertures naturelles - chez les pucerons, à travers la queue, les cornicules, les pièces buccales ou les stigmates, et chez les cochenilles, la cavité buccale du labium à deux segments était un site de croissance fongique important (peng et al ,2002).

Nous avons également observé des hyphes qui avaient été libérés de l'abdomen de pucerons vivants qui présentaient des symptômes de maladie, et les pucerons ont alors commencé à

mourir rapidement. les hyphes produits in vivo ont un mécanisme d'adaptation à l'hôte qui nécessite 48 h pour se développer. les amibes tuent les champignons mais *B. bassiana* est capable de croître et de survivre au sein de cet organisme amiboïde et qui ne nécessite pas d'insecte pour survivre (bidochka.,2010) .

### 3. la paroi des hyphes et blastospores

Notre preuve de microscopie électronique à transmission (MET) a suggéré que la paroi cellulaire des hyphes produits in vivo près du tissu périphérique solide était distincte de la paroi des blastospores produites in vivo dans l'hémocèle et de celles produites in vitro. La paroi fongique est composée de deux couches : une couche externe dense aux électrons et une couche interne transparente aux électrons. La rigidité et la résistance de la paroi, qui protège la cellule dans son environnement sont conférées par la chitine, le (1,3)-glucane et le galactomannane (Griffin 1994). Alors que les blastospores qui circulaient dans l'hémolymphe avaient une structure de paroi bien définie, les hyphes qui se développaient dans un tissu solide n'avaient apparemment pas cette paroi définie. Ainsi, une l'hypothèse montre que chez un insecte hôte, la synthèse de la paroi des hyphes dépend en partie du potentiel osmotique environnant.

### 4. La virulence de *B bassiana*

De plus, tous les isolats hautement virulents ont montré une croissance des hyphes plus rapide que les faibles virulents. La croissance plus rapide des hyphes se traduit généralement par colonisation des insectes infectés entraînant une augmentation virulente. des résultats obtenus que la virulence des isolats de *B bassiana* en laboratoire est plus efficace que dans les conditions de serre grâce aux facteurs tel que l'humidité a 90% (Shipp et al., 2003), la température qui est importante dans la croissance et la propagation des champignons (Orozco-Avitia et al., 2013).

---

# Conclusion

---

L'utilisation de la lutte biologique est intéressante et importante dans le domaine de la santé humaine et animal et respecte l'écosystème, par ce qu'elle vise pas l'éradication mais plutôt le maintien des organismes nuisibles par rapport aux pesticides chimiques. *B. bassiana* est parmi les agents majeurs de la lutte biologique cosmopolite, elle infecte les pucerons verts du pêcher et les cochenille du manioc a travers la cuticules et les ouvertures naturelles .

Le point le plus intéressant du fait qu'il peut infecter l'hôte par ingestion ou par simple contact contrairement aux autres auxiliaires de lutte micro-biologiques. Ce mode d'action particulier rend tous les stades (oeuf, larve, adulte) sensibles. *B. bassiana* peut se produire en masse à moindre coût et peut être appliqué avec les méthodes conventionnelles. De plus, Il n'est pas dangereux pour les vertébrés et certains isolats .

Grâce à la biodiversité de *B. bassiana* , il serait intéressant de faire des modifications génétiques in vitro sure cette souche pour cibler d'autre espèces et pour une lutte biologique efficace , et mieux étudier les propriétés antifongique.

---

# Références bibliographiques

---

- Actu-Environnement. (2010).** Définition de pesticide. In Actu-Environnement. Dictionnaire environnement, [En ligne].
- Akello J, Dubois T, Coyne D, Hillnhutter C.(2009).** *Beauveria bassiana* as an endophyte in tissue-cultured banana plants: a novel way to combat the banana weevil *Cosmopolites sordidus*. *Acta Horti* .vol.828.p129–138
- Akutse KS, Fiaboe KKM, Van Den Berg J, Ekesi S, Maniania NK .(2014)** .Effects of endophyte colonization of *Vicia faba* (fabaceae) plants on the life-history of leafminer parasitoids *Phaedrotoma scabriventris* (Hymenoptera: Braconidae) and *Diglyphus isaea* (Hymenoptera: Eulophidae). *PLoS ONE* .vol.9.n(10).
- Alhmedi, A., Francis, F., Bodson, B., & Haubruge, E. (2007).** Evaluation de la diversité des pucerons et de leurs ennemis naturels en grandes cultures à proximité de parcelles d'orties. *Notes Fauniques de Gembloux*, vol.60.n(4),p. 63–71.
- Amin G. A., Youssef N. A., Bazaid S. & Saleh W. D. (2010).**Assessment of insecticidal activity of red pigment produced by the fungus *Beauveria bassiana*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*.vol.26.n(12),p. 2263-2268.
- Amnuaykanjanasin,A Jirakkakul,J Panyasiri,C Panyarakkit,P Nounurai, P chantasingh, D Eurwilaichitr, L Cheevadhanarak,S Tanticharoen ,M.(2012).**Infection and colonization of tissues of the aphid *Myzus persicae* and cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* by the fungus *Beauveria bassiana*.vol.58, p379–391.
- Amnuaykanjanasin,A Jirakkakul,J Panyasiri,C Panyarakkit,P Nounurai, P chantasingh, D Eurwilaichitr, L Cheevadhanarak,S Tanticharoen ,M.(2012).**[photo].micrographie lumineuse de l'infection de *Beauveria bassiana* sur le puceron après coloration de bleu de coton-lactophénol. Infection and colonization of tissues of the aphid *Myzus persicae* and cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* by the fungus *Beauveria bassiana*. [en ligne].
- Amnuaykanjanasin,A Jirakkakul,J Panyasiri,C Panyarakkit,P Nounurai, P chantasingh, D Eurwilaichitr, L Cheevadhanarak,S Tanticharoen ,M.(2012).**[photo].la microscopie électronique des sciences SEM de la surface des pucerons 24 à 96 h après l'inoculation avec *Beauveria bassiana*. Infection and colonization of tissues of the aphid *Myzus persicae* and cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* by the fungus *Beauveria bassiana*. [en ligne].
- Amnuaykanjanasin,A Jirakkakul,J Panyasiri,C Panyarakkit,P Nounurai, P chantasingh, D Eurwilaichitr, L Cheevadhanarak,S Tanticharoen ,M.(2012).**[photo].Formation des hyphes par *Beauveria bassiana* dans l'hémocèle de la patte du

puceron à 60 h PI. Infection and colonization of tissues of the aphid *Myzus persicae* and cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* by the fungus *Beauveria bassiana*. [en ligne].

**Amnuaykanjanasin,A Jirakkakul,J Panyasiri,C Panyarakkit,P Nounurai, P chantasingh, D Eurwilaichitr, L Cheevadhanarak,S Tanticharoen ,M.(2012).[photo].**MET de cellules de *Beauveria bassiana* dans *Myzus persicae* gravement malade à 72 h PI. Infection and colonization of tissues of the aphid *Myzus persicae* and cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* by the fungus *Beauveria bassiana*. [en ligne].

**Amnuaykanjanasin,A Jirakkakul,J Panyasiri,C Panyarakkit,P Nounurai, P chantasingh, D Eurwilaichitr, L Cheevadhanarak,S Tanticharoen ,M.(2012).[photo].**Micrographies optiques du trochanter (T) et de la coxa (Cx) d'une patte de deux pucerons morts remplis d'hyphes (hy) de *Beauveria bassiana* à 96 h PI. Infection and colonization of tissues of the aphid *Myzus persicae* and cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* by the fungus *Beauveria bassiana*. [en ligne].

**Amnuaykanjanasin,A Jirakkakul,J Panyasiri,C Panyarakkit,P Nounurai, P chantasingh, D Eurwilaichitr, L Cheevadhanarak,S Tanticharoen ,M.(2012).[photo].**CLSM pour localiser *Beauveria bassiana* exprimant sgfp (souche GFP3-1) dans l'hémocèle des pattes de cochenilles mortes .Infection and colonization of tissues of the aphid *Myzus persicae* and cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* by the fungus *Beauveria bassiana*. [en ligne]

**Amnuaykanjanasin,A Jirakkakul,J Panyasiri,C Panyarakkit,P Nounurai, P chantasingh, D Eurwilaichitr, L Cheevadhanarak,S Tanticharoen ,M.(2012).[photo].**CLSM de la souche GFP3-1 exprimant sgfp de *Beauveria bassiana* dans des cochenilles mortes du manioc à sept jours PI. Infection and colonization of tissues of the aphid *Myzus persicae* and cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* by the fungus *Beauveria bassiana*. [en ligne]

**Ayodeji,A.,Prashant,B.,Ashok,P.,Suren,S et Santhosh,P(2020).**Biotechnological potential of *Beauveria bassiana* as a source of novel biocatalysts and metabolites[en ligne].p.1019-1034.

**Barrès,B.Mottet,C.(2018).** La résistance aux néonicotinoïdes chez le puceron vert du pêcher.Niveau de dominance de la résistance aux néonicotinoïdes chez le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*). Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail, ANSES, 2017, Résistances et méthodes alternatives, pp.29-31[en ligne].

- Bass, C., Puinean, A. M., Zimmer, C. T., Denholm, I., Field, L. M., Foster, S. P., Williamson, M. S. (2014).** The evolution of insecticide resistance in the peach potato aphid, *Myzus persicae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, **vol.51**.n(1),p. 41–51.
- Bidochka, M. J., Kasperski, J. E., & Wild, G. A. (1998).** Occurrence of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* in soils from temperate and nearnorthern habitats. *Canadian Journal of Botany*, **vol.76**.n(7),p.1198–1204.
- Bissett J., Widden P. (1986).** A new species of *Beauveria* from Scottish moorland soil. *Can J Bot [en ligne]*.**vol.66**,p.361–362
- Blackman, R. L. (1974).** Life-cycle variation of *Myzus persicae* ( Sulz .) ( Hom ., Aphididae ) in different parts of the world , in relation to genotype and environment. *Bull. Ent. Res.***vol. 84 63**.p. 595–607
- Borges D., Díaz A. O., San Juan A. N. & Gómez E. (2010).** Metabolitos secundarios producidos por hongos entomopatógenos. *ICIDCA. Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*. **Vol.44**.n(3),p. 49-55.
- Boucias DG, Pendland JC & Latge JP. (1988).** Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic deuteromycetes to host insect cuticle. *Applied and Environmental Microbiology* .**vol.54**.p. 1795-1805.
- Boucias,D.G.,Pendland,J.C.,Latge,J.P.,1998.**Nonspecific factors involved in attachment of entomopathogenic deuteromycetes to host insect cuticle. *Applied Environmental microbiology*.**vol.54**,pp.1795-1805.
- Bourchier, R. (2004).** Biocontrôles des plantes nuisibles et des espèces invasives. *Dossiers Biocontrôle*, décembre, p. 2.
- Brown, J.K. (2004).** Tracing the Origin of Cryptic Insect Pests and Vectors, and their Natural Enemies. In Ehler, L.E., Sforza, R. et Mateille, T. (réd.), *Genetics, evolution and biological control* (chap. 6, 113-135).
- Butt T.M. & Bäckfält A.,(1994).** Structural studies on the infection processes of entomogenous fungi “. *International colloquium for Invertebr. Pathol. August 28th-Sept 2nd, 1994.*, montpellier, France. *Proceedings*, p 311-314
- CABI, 2020.** *Invasive Species Compendium*. Wallingford, UK: CAB International.
- Calatayud PA, Le Rü B, (1997).** La lutte contre la cochenille du manioc en Afrique. *cahiers de la Recherche Développement* .n( 43), p.59-66
- Calderon,A.,Fraga,M.,Carrera ,B.(1995).**Production of *Beauveria bassiana* by solid-state fermentation. *Reviews on protection of vegetables*,**vol.10**,p.269-273.

- Capinera, J.L (2008).** Encyclopedia of Entomology..second edition.4346p.
- Chávez-Ibañez E., Rodríguez-Navarro S., Sánchez-Pérez L. de C., Hamdan-Chen WH, Man L, Huang ZX, Yang GM, Han YF, Liang JD, Liang ZQ. (2018).** *Beauveria majiangensis*, a new entomopathogenic fungus from Guizhou, China. *Phytotaxa* [en ligne].vol.333,p.243–250.
- Chintapenta L. K., Rath C. C., Maringinti B. & Ozbay G.(2014).** Culture conditios for growth and pigment production of a Mangrove Penicillium species. Journal of Multidisciplinary Scientific Research. **Vol.2.n(3).**p. 1–5
- Choi YW, Hyde KD, Ho WH (1999).** Single spore isolation of fungi. Fungal Divers vol.3.p.29–38
- Clinique des plantes.2016.**Les pucerons de la pomme de terre .[photo].[en ligne].
- Cloutier, C. et Cloutier C. (1992).** Les solutions biologiques de lutte pour la répression des insectes et acariens ravageurs des cultures. In Vincent, C. et Coderre, D. (réd.), La lutte biologique Boucherville (Québec), Gaëtan Morin Éditeur. (chap. 2, p. 19-88).
- Consoglobe.La lutte biologique : les insectes au service de la planète. (2020).**[photo].[en ligne]
- Cortés-Sánchez A. D. J. & Mosqueda-Olivares T. (2013).** Una mirada a los organismos fúngicos: Fábricas versátiles de diversos metabolitos secundarios de interés biotecnológico.crudo de *Beauveria bassiana* (Bálsamo)Vuillemin sobre larvas de Phyllophaga .*Química Viva*. **Vol.12.n(2),**p. 64–90.
- da Costa Souza P. N., Grigoletto T. L. B., de Moraes L. A. B., Abreu L. M., Guimarães L. H. S., Santos C., Galvao L. R. & Cardoso P. G. (2016).** Production and chemical characterization of pigments in filamentous fungi. *Microbiology*. vol.162.n(1).p. 12-22
- Daza F. F. F., Roman G. R., Rodriguez, M. V., Vargas, I. A. G., Heano, H. G., Cereda, M. P. & Mulet, R. A. C. (2019).** Spores of *Beauveria bassiana* and *Trichoderma lignorum* as a bioinsecticide for the control of *Atta cephalotes*. *Biological Research*. **Vol.52 .n(51).**
- de Groot MJ, Bundock P, Hooykaas PJ, Beijersbergen AG (1998)** *Agrobacterium tumefaciens*-mediated transformation of filamentous fungi. *Nat Biotechnol* .vol.16.p.839–842
- De Hoog, GS .(1972)** .The genera *Beauveria*, *Isaria*, *Tritirachium*, and *Acrodontium*, gen. Nov. *Stud Mycol*. vol.1.p.1–41.[en ligne].

- De kouassi,M.(octobre 2001).** Unité infectieuse :Spore de *Beauveria bassiana*. [photo électroscopique]. Les possibilités de la lutte microbiologique., **vol.2.n(2)**. [en ligne]
- deHoog GS., Rao, V. (1975).** Some new hyphomycetes. *Persoonia* [en ligne]. **vol.8.p.207–212**.
- Devonshire , A.L.,Field, L.M., Foster,S.P., Moores,G.D., Williamson,S.M., Blackman,R.T. (1998).** The evolution of insecticide resistance in the peach –potato aphid, *myzus persicae*. *Philos .Trans .R.Soc.Lond.B.Biol.Sci.* **vol.353.p.1677-1684**.
- Ekesi S., Dimbi S., Maniania NK. (2007)** .The role of entomopathogenic fungi in the integrated management of tephritid fruit flies (Diptera: Tephritidae) with emphasis on species occurring in Africa. In: Ekesi S, Maniania NK (eds) Use of entomopathogenic fungi in biological pest management. Research SignPost, Kerala, pp 239–274
- Environmental Protection Agency (EPA) .(2009b).** Integrated pest management (IPM) principle. In Environmental Protection Agency. Health and Safety, [En ligne].
- Epstein L, Lusnak K, Kaur S (1998)** Transformation-mediated developmental mutants of *Glomerella graminicola* (*Colletotrichum graminicola*). *Fungal Genet Biol* . **vol.23.p.189–203**
- Ferron P., (1978).** Biological control of insects pests by entomogenous fungi. *Ann. R.Év. Entomol.* **vol. 23.p. 409-442**.
- Faria M,Wraight SP.(2001).** Biological control of Bemisia with fungi. *Corp Protect.* **vol.20,p.767-778**.
- Faria MR, Wraight SP. (2007)** .Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types. *Biol Control.* **vol. 43.p.237–256**
- Faria, M. et Wraight, S.P.(2001).** Biological control of Bemisia tabaci with fungi. *Crop Protection.* **Vol.20,p. 767-778**.
- Feyereisen R. (1995).** Molecular biology of insecticide resistance. *Toxicol Lett* **vol.82.n(3).**p. 83–90[en ligne ]
- Fragues,J.Goettel,MS.Smits,N.Ouedrago,A.Rougier,M(1997a).**Effect of temperature on vegetative growth of *Beauveria bassiana* isolates from different origins. *Mycologia.* **vol.89,p.383-392**.
- Fragues,J.Oudraogo,A.,Goettel,MS.Lomer,CJ.(1997b).**Effects of temperature, humidity and inoculation method on susceptibility of schistocerca gregaria to metarhizium flavoviride. *Biocontr.sci.Technol.* **vol.7,p.345-356**.

- Galani,G.,(1988).**Cultivation of some entomopathogenic fungi in liquid media with various initial pH values. *Analele-Institutului-de-cercetari-pentru-plantelor*,vol.21,p.54.
- Gaugler, R. L. et Lashomb, J. J 1989.** Stability and efficacy of *Beauveria bassiana* soil inoculations. *Environ. Entomol.* pp.vol.18,p. 412-418
- Goettl M.S., 1992.** D s champignons comm  ag nt d  lutte biologique. In: PIbadam, CAB International, IITA, La lutte biologique contre les acridiens, Nig ria, p. 122-131
- Goettel,M.S.,Robert,D.W.1992.**Mass production, formulation and field application of Entomopathogenic fungi.In *Biological Control of Locusts and Grasshoppers*. EDS.Lower, C.J.and prior,C. Wallingford, Oxon, UK,CAB, International,pp.230-238.
- G mez-Vidal S, Salinas J, Tena M, Lopez-Llorca LV.(2009).** Proteomic analysis of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) responses to endophytic colonization by entomopathogenic fungi. *Electrophoresis* .vol.30.n(17),p.2996–3005
- Gracia,J.A.,Glasa,M.,Cambra,M.,Candressa,TH.(2013).**[photo]. Sympt mes typiques induits par le Plum pox virus sur une feuille de prunier domestique.Plum pox virus and sharka : a model potyvirus and a major disease.
- Gurulingappa P, Sword GA, Murdoch G, McGee PA.(2010)** Colonization of crop plants by fungal entomopathogens and their effects on two insect pests when in planta. *Biol Control*.vol. 55.n(1),p.34–41
- Hahn SK, Williams RJ, 1973.** Investigations on cassava in the Republic of Zaire. Report to the Minister of Agriculture of the Ibadan, Republic of Zaire: IITA Mimeograph
- Harmel, N., Francis, F., Haubruge, E., & Giordanengo, P. (2008).** Physiologie des interactions. *Cahiers Agricultures*,vol. 17.p, 395–400.
- Hegedus, D. D., Bidochka MJ, Miranpuri GS & Khachatourians GG .(1992).** A comparison of the virulence, stability and cell-wall-surface characteristics of three spore types produced by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*.*Applied Microbiology and Biotechnology* .vol.36,p. 785-789.
- Hern andez,A.,Carrilo,M.L.,De la cruz,R.,Wong-Paz,J.E.(octobre2020).** Pr sentation g n rale du processus d'infection chez les insectes par *Beauveria bassiana*[sch ma].*Mexican journal of biotechnology*2020.*Beauveria bassiana* secondary systems,biosynthesis,and bioactivities.,vol.5.n(4) .p.1-33..
- Herren HR, Lema KM, 1982.** CMB - first successful releases. *Commonwealth Agricultural Bureaux, Biocontrol News and Information*, vol.3,p.185
- Herren HR, Neuenschwander P, Hennessey RD, Hammond WNO, 1987.** Introductions and dispersal of *Epidinocarsis lopezi* (Hym., Encyrtidae), an exotic

- parasitoid of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* (Hom., Pseudococcidae), in Africa. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, **vol.19**.n(2),p.131-144
- Herren, H.R., 1982.** Cassava mealybug: An example of international collaboration. *Commonw. Agric. Bur., Biocontrol News and Information*, **vol.3**.p. 1.
- Hoppert M, Holzenburg A (1998)** Electron microscopy in microbiology. Bios Scientific Publishers Ltd., Oxford, UK
- Hullé,M (2019).**Les pucerons ,des insectes passionnants et problématiques[en ligne]
- Hullé,M.Colonies de myzus persicae-individus parthénogénétiques vivipares.(2019).** [photo].les pucerons, des insectes passionnants et problématiques.(18novembre2019).[en ligne]. .
- Hullé,M.description du mode de reproduction des pucerons.(2019).**[photo]. les pucerons, des insectes passionnants et problématiques.(18novembre2019).[en ligne].
- Hullé,M.Morphe ailé de Myzus persicae(2019).**[photo]. Les pucerons ,des insectes passionnants et problématiques.[en ligne].
- Iheagwam EU, 1981.** The influence of temperature on increase rates of the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* Mat.-Ferr. (Homoptera, Pseudococcidae). *Revue de Zoologie Africaine*, **vol.95**.n(4).p.959-967
- Inglis,GD., Goettel,MS, Butt TM., Strasser H (2001).** Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In: Butt TM, Jackson C, Magan N (eds) *Fungi as biocontrol agents. Progress, problems and potential.* CABI Publishing, Wallingford, pp 23–69.
- Ishii, M., Takeshita, J., Ishiyama, M., Tani, M., Koike, M., & Aiuchi, D. (2015).** Evaluation of the pathogenicity and infectivity of entomopathogenic hypocrealean fungi, isolated from wild mosquitoes in Japan and Burkina Faso, against female adult *Anopheles stephensi* mosquitoes. *Fungal Ecology*, **vol.15**,p. 39–50.
- Jaber LR. (2015).** Grapevine leaf tissue colonization by the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* s.l. and its effect against downy mildew. *Biocontrol* **vol.60**.p.103–112.[rn ligne].
- Jenkins,N.E.,Heviefio,G.,Langewald,J.,Cherry,A.J.,Lomer,C.J.,1998.**Development of mass production technology for aerial conidia for use as mycopesticides .*Biocontrol News and information* .**vol.19**,pp.21-31.
- Jourdheuil, P., Grison, P. et Fraval, A. (1991).** La lutte biologique, un aperçu historique. In Institut national de la recherche agronomique (INRA). *Le courrier de l'environnement de l'INRA*, [En ligne].

- Jourdeuil, P., P. Grison et A. Fraval. 1992.** La lutte biologique: un aperçu historique. la lutte biologique. Dossier de la Cellule environnement de l'INRA .vol.5,p.11-35.
- Kamphuis, L. G., Lichtenzveig, J., Peng, K., Guo, S.-M., Klingler, J. P., Siddique, K. H. M., Singh, K. B. (2013).** Characterization and genetic dissection of resistance to spotted alfalfa aphid (*Therioaphis trifolii*) in *Medicago truncatula*. *Journal of Experimental Botany*, vol.64.n(16), p.5157–72.
- Kang, W.S., Lee, H.S., Yoon, C.S., Kim, S.W., (2005).** Conidia production by *Beauveria bassiana* (for the biocontrol of diamondback moth) during Solid-State fermentation in a packed-bed bioreactor. *Biotechnological Letters* , vol.27, pp.135-139.
- Kepler RM., Luangsa-ard JJ., Hywel-Jones NL., Quandt CA., Sung GH, Rehner SA., Aime MC., Henkel TW., Sanjuan T., Zare R, Chen M. Li. Z., Rossman AY., Spatafora JW., Shrestha B. (2017).** A phylogenetically-based nomenclature for *Cordycipitaceae* (*Hypocreales*). *IMA Fungus*[en ligne].vol.8,p. 335–353.
- Lambert, N. (2010).** Application de la lutte biologique aux ravageurs au Québec. Essai effectué en vue de l'obtention du grade de maître en environnement : Université de Sherbrooke .66p
- Latgé J.-P., Sampédro L., Bréy P., et Diaquin M., (1987).** Aggressivité de *Conidiobolus obscurus* against the pea aphid: influence of cuticular extracts on ballistospore germination of aggressive and nonaggressive strains. *J. Gen. Microbiol.*, vol.133, p. 1987-1997.
- Latgé J.-P., Sampédro L., Bréy P., et Diaquin M., (1987).** Aggressivité de *Conidiobolus obscurus* against the pea aphid: influence of cuticular extracts on ballistospore germination of aggressive and nonaggressive strains. *J. Gen. Microbiol.*, vol.133,p. 1987-1997
- Lema KM, Herren HR, 1985.** Release and establishment in Nigeria of *Epidinocarsis lopezi*, a parasitoid of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, vol.38.n(2),p.171-175
- Lipa, J. (1975).** White muscardine (*Beauveria* sp). In : An outline Of Insect Pathology. Foreign Sci. Publ. Dept NCSTEL, Warsaw, Poland, pp. 139-142
- Litwin A., Nowak M. & Różalska S. (2020).** Entomopathogenic fungi: unconventional applications. *Reviews in Environmental Science and BioTechnology*.vol.19.p. 23-42.
- Loehr, B. and Varela, A.M., 1982.** The cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* Mat.-Ferr., in Paraguay: Further information on occurrence and population dynamics of the pest and its natural enemies. In: R.D. Hennessey, H.R. Herren and R. Bitterli (Editors), Proc.

Workshop on Biological Control of the Cassava Mealybug and Green Spider Mites in Africa. IITA, Ibadan, Nigeria, 6-10 December 1982, (in press).

**Lohse R, Jakobs-Schönwandt D, Vidal S, Patel AV.(2015).** Evaluation of new fermentation and formulation strategies for a high endophytic establishment of *Beauveria bassiana* in oilseed rape plants. *Biol Control* .vol.88.p.26–36

**Lomer,C.J.,Bateman,P.P.,Johson,D.L.,Langewald,J.,Thomas,M.,2001.**Biological control of locusts and grasshoppers. *Annual Review of Entomology*,vol.46,pp.667-702.

**Lopes F. C., Tichota D. M., Pereira J. Q., Segalin J., De Oliveira Rios A. & Brandelli A.(2013).** Pigment production by filamentous fungi on agro-industrial byproducts: An eco-friendly alternative. *Applied Biochemistry and Biotechnology*.vol.171.n(3): 616-625.

**Lorang JM, Tuori RP, Martinez JP, Sawyer TL, Redman RS, Rollins JA, Wolpert JT, Johnson KB, Rodriguez RJ, Dickman MB, Ciuffetti LM (2001)** Green fluorescent protein is lighting up fungal biology. *Appl Environ Microbiol*.vol.67.p.1987–1994

**Mfying N.V., Lübck M., Buckley P., Ilberg J. et Rhenr S.A., (2009).** Community composition, host range and genetic structure of the fungal entomopathogen *Beauveria* in adjoining agricultural and seminatural habitats. *Mol Ecol*.vol.18,p.1282–1293.

**Magalhaes S.T.V., Jham G.N., Picanco M.C et Magalhaes G., (1989).** Mortality of second-instar larvae of *Tuta absoluta* produced by the hexane extract of *lycopersicon hirsutum* f. *Glabratum* (pi 134417) leaves, *agricultural and forest entomology* n(3) p. 297-303.

**Maison, P., & Massonié, G. (1982).** Premières observations sur la spécificité de la résistance du pêcher à la transmission aphidienne du virus de la Sharka. *Agronomie*, vol.2.n(7), p.681–683

**Maqueda,A.D.La lutte biologique.(2020).** [photo].[en ligne].

**Mascarin, G. M. & Jaronski ,S. T.( 2016).**The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide.*World Journal of Microbiology and Biotechnology*.vol.32.n(11)p. 177.

**Mascrin,G.M.,Jaronski,S.T.(2016).**the production and uses of *Beauveria bassiana* as microbial insecticides. *world journal of microbiology and Biotechnology* [en ligne]32-117.

- Matile-Ferrero D, (1977).** A new scale-insect injurious to cassava in Equatorial Africa, *Phenacoccus manihoti* sp.n. (Homoptera, Coccoidea, Pseudococcidae). *Annales de la Societe Entomologique de France*,vol.13.n(1),p.145-152
- Matile-Ferrero D,(1978).** Cassava mealybug in the People's Republic of Congo. In: Nwanze KF, Leuschner K, ed. Proceedings of the International Workshop on the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* Mat.-Ferr. (Pseudococcidae) held at INERA-M'vuazi, Bas-Zaire, Zaire, June 26-29, 1977. International Institute of Tropical Agriculture. Ibadania Niger,p. 29-46
- McCoy CW,(1990).**Entomogenous fungi as microbial pesticides.In :New direction in biological control.Baker RR,Dunn PE,Liss AR (eds),New York,USA,pp.139-159.
- Michael,M.beaveria bassiana.(2013).**[photo].
- Mowry, T. M. (2005).** Insecticidal reduction of Potato leafroll virus transmission by *Myzus persicae*, p.81–88.
- Ng, J. C. K., & Perry, K. L. (2004).** Transmission of plant viruses by aphid vectors. *Molecular Plant Pathology*, vol.5.n(5), 505–511.
- Nwanze KF, Leuschner K, Ezumah HC,(1979).** The cassava mealybug, *Phenacoccus* sp. in the Republic of Zaire. *PANS*, vol.25.n(2),p.125-130
- Nwanze KF,( 1978).** Biology of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* Mat.-Ferr. in the Republic of Zaire. In: Nwanze KF, Leuschner K, ed. Proceedings of the International Workshop on the cassava mealybug *Phenacoccus manihoti* Mat.-Ferr. (Pseudococcidae) held at INERA-M'vuazi, Bas-Zaire, Zaire, June 26-29, 1977. International Institute of Tropical Agriculture. Ibadania Niger, p.20-28
- Ochieng, S. O., & Nderitu, P. W. (2011).** Biocontrol approach to management of green peach aphid *Myzus persicae* in garden peas for a sustainable ecosystem. *Journal of Horticulture and Forestry*,vol.3.n(8), 231–237
- Orozco-Avitia,A.,M.Esqueda, A.,Meza,M.Tiznado.A.Gutierrez et al., (2013).**temperatur effect on *Rhizoctonia solani* analyzed by microcalorimetry. *Am. J. Agric. Biol. Sci.*,vol. 8,p. 162-166.
- Ortiz-Urquiza, A., Riveiro-Miranda, L., Santiago-Alvarez, C., & Quesada-Moraga, E. (2010).** Insect-toxic secreted proteins and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*,vol.105.n(3), 270–278.
- Ortiz-Urquiza, A., Riveiro-Miranda, L., Santiago-Alvarez, C., & Quesada-Moraga, E. (2010).** Insect-toxic secreted proteins and virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*, vol.105.n(3), 270–278.

- Ouedraogo A., Fragues J., Goettel MS., Lomer CJ. (1997).** effect of temperature on vegetative growth among isolates of *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviride*. *Mycopathol.* **vol.137**, p.37-43.
- Ownley BH, Griffin MR, Klingeman WE, Gwinn KD, Moulton JK, Pereira RM (2008)** *Beauveria bassiana*: endophytic colonization and plant disease control. *J Invertebr Pathol* .**vol.98**, pp.267–270 .[en ligne].
- Parsa ,S., Kondo, T., Winotai, A. (15 Octobre 2012).** infestation par *Phenacoccus manihoti* et les symptômes associés sur manioc en Asie. [photo]. The cassava Mealbug (*phenacoccus manihoti*) in Asia : First records potential distribution , and an identification key.[en ligne].
- Partida A. & Barranco-Florido, J. E. (2014).** Actividad insecticida in vitro de extracto
- Patocka J. (2016).** Bioactive metabolites of entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana*. *Military Medical Science Letters*. **Vol.85**.n(2), p.80-88.
- Peng, S. (1983).** Biological control - One of the fine traditions of ancient Chinese agricultural techniques. *Scientia Agricultura Sinica*, n(1), p. 92-98
- Petitt, F.L., Amilowitz, Z. (1982).** Green peach aphid feeding damage to potato in various plant growth stages. *J. Econ. Entomol.*, **vol 75**, p. 431–435.
- Posada F, Aime MC, Peterson SW, Rehner SA, Vega FE. (2007)** .Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Mycol Res* .**vol.111**.n(6).p.748–757
- Posada F, Vega FE. (2006).** Establishment of the fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) as an endophyte in cocoa seedlings (*Theobroma cacao*). *Mycologia*.**vol. 97**, p.208–213
- Puzari, K.C., Sarmah, D.K., Hazarika, L.M., 1997.** Medium for mass production of *Beauveria bassiana* (Balasmo) Veuillemin. *Journal of Biological Control*, **vol.11**, pp.97-100.
- Quesada-Moraga E, López-Díaz C, Landa BB .(2014).** The hidden habit of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*: first demonstration of vertical plant transmission. *PLoS ONE* .**vol.9**.n(2).
- Quesada-Moraga E, Muñoz-Ledesma FJ, Santiago-Alvarez C .(2009).** Systemic protection of *Papaver somniferum* L. against *Iraella luteipes* (Hymenoptera: Cynipidae) by an endophytic strain of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales). *Environ Entomol.* **vol. 38**, p.723–730

- Raman, K. V. (1988).** Insecticide toxicity to three strains of green peach aphid ( *Myzus persicae* Sulzer ) reared on resistant and susceptible potato cultivars. *Crop Protection*, **vol.7**, p.62–65.
- Ramsey, J. S., Wilson, A. C. C., Vos, M. De, Sun, Q., Tamborindéguy, C., Winfield, A., Jander, G. (2007).** Genomic resources for *Myzus persicae*: EST sequencing, SNP identification, and microarray design. *BMC Genomics*, p. 1–17.
- Reay,SD., Brownbridge,M., Gicquel,B., Cummings ,NJ., Nelson,TL .(2010).** Isolation and characterization of endophytic *Beauveria* spp. (Ascomycota: Hypocreales) from *Pinus radiata* in New Zealand forests. *Biol Control* .**vol.54**.n(1),p.52–60
- Redaelli, P., Visocchi ,V. (1940).** Agostino Bassi precursor of comparative mycopathology *Mycopathologia*[en ligne] .**vol.2**,p. 37–42.
- Rehner ,SA., Buckley ,EP .(2005)** A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1- $\alpha$  sequences: evidence for cryptic diversification and links to *Cordyceps* teleomorphs. *Mycologia* .**vol.97**,p.84–98.
- Rehner SA., Posada F., Buckley EP., Infante F., Castillo A., Vega FE. (2006).** Phylogenetic origins of African and Neotropical *Beauveria bassiana* s.l. pathogens of the coffee berry borer, *Hypothenemus hampei*. *J Invertebr Pathol* [en ligne].**vol.93**,p.11–23
- Rehner, SA., Minnis ,AM., Sung, GH., Luangsa-ard JJ., Devotto L., Humber RA. (2011).** Phylogeny and systematics of the anamorphic, entomopathogenic genus *Beauveria*. *Mycologia* .**vol.103**.n(5),p.1055–1073.
- Resh, V. H., & Cardé, R. T. (2009).** Encyclopedia of Insects. *Journal of Chemical Information and Modeling*.
- Roy,L.,Fontaine,S.,Hullé,M.,Caddoux,L.,Brazier, C.,Morignat,E., Micoud.A., Calavas.D., Simon,J.C.(2018).** La résistance aux insecticides chez le puceron vert du pêcher : Étude des allèles de résistance aux insecticides chez le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*) et de leur dispersion spatio-temporelle dans diverses cultures. *Les cahiers de la Recherche. Santé, Environnement, Travail, ANSES, 2013, Les multi-résistances*, pp.24-26 [en ligne].
- Ru B le, Fabres G, 1987.** Influence of temperature and relative humidity on the capacity for increase and population dynamics of the cassava mealybug, *Phenacoccus manihoti* (Hom., Pseudococcidae), in the Congo. *Acta Oecologica, Oecologia Applicata*,**vol.8**.n(2),p.165-174
- Sabbahi, R. (2008).** Utilisation du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* dans une stratégie de gestion phytosanitaire des principaux insectes ravageurs en

fraiseraies. Thèse de doctorat (Ph. D.). Institut nationale de la recherche scientifique, Université du Québec. 181p.

**Sabbahi, R. (2008).** Vue microscopique des spores et des hyphes du champignon *Beauveria bassiana*. (2008). [photo]. utilisation du champignon entomopathogène de gestion phytosanitaire des principaux insectes ravageurs en fraiseraies .

**Saljoqi, A. (2009).** Population dynamics of *Myzus persicae* ( Sulzer ) and its associated natural enemies in spring potato crop , Meshawar-Makistan. *Sarhad J. Agric.*, **vol.25**.n(3), p.451–456.

**Samson ,R.A., Evans ,H.C. (1982)** .Two new *Beauveria* spp. from South America. *J Invertebr Pathol*[en ligne ] **vol.39**,p.93–97

**Saranraj, P., & Jayaparakash, A. (2017).** Agrobenevolent entomopathogenic fungi–*Beauveria bassiana*: a review. *Asian Journal of Multidisciplinary Research (IAJMR)*,**vol.3**.n(2), p.1051– 1087.

**Sauge, M. H., Kervella, J., & Pascal, T. (1998).** Settling behaviour and reproductive potential of the green peach aphid *Myzus persicae* on peach varieties and a related wild *Prunus*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*,**vol.89**.n(3),p. 233–242.

**Shipp, J.L., Y. Zhang, D.W.A. Hunt and G. Ferguson, 2003.** Influence of humidity and greenhouse microclimate on the efficacy of *Beauveria bassiana* (balsamo) for control of greenhouse arthropod pests. *Environ. Entomol.*, **vol.32**,p. 1154-1163.

**Silvy C. et Riba G. (1999).** Biopesticides contre maladies, insectes, mauvaises herbes. In :fraval, a., Silvy, C. éd. La lutte biologique (II). Dossier de l'environnement de l'INRA n°19. Paris, 274p

**Silvy C. et Riba G., 1999.** Biopesticides contre maladies, insectes, mauvaises herbes. In :fraval, a., Silvy, C. éd. La lutte biologique (II). Dossier de l'environnement de l'INRA n°19. Paris, 274p

**Singh, R., Singh, G., Tiwari, A. K., Sharma, A., Patel, S., & Pratibha. (2015).** *Myzus* (Nectarosiphon) *persicae* ( Sulzer , 1776 ) ( Homoptera : Aphididae ): Updated Check List of Host Plants in India. *International Journal of Zoological Investigations*, **vol.1**.n(1), 9–27.

**Smirnoff, W.A. (1991).** Réflexion à propos de la lutte biologique contre les insectes nuisibles. In Essaid, A. (éd.), *La lutte anti-acridienne*. Paris, Agence universitaire de la francophonie(chap.21,p.279-287).

**Soccol,C.R.,Ayala,L.A.,Soccol ,V.T.,Krueger,N.,Santos,H.R. (1997).**Spore production

- by entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* from declassified potato by solid-state fermentation. *Annual reviews of Microbiology*. **vol. 28**, pp.34-42.
- spp. (Harris). *Revista de Protección Vegetal*. **vol. 29**.n(3),pp. 226–230.
- St Leger RJ & Wang C .(2010)**. Genetic engineering of fungal biocontrol agents to achieve greater efficacy against insect pests. *Applied Microbiology and Biotechnology* .**vol.85**.p. 901- 907
- Steinhaus, E. A.(1956)**. Microbial control-The emergence of an idea: A brief history of insect pathology through the nineteenth century. *Hilgardia* .**vol.26**,p. 107–160.
- Suresh ,P.V.,Chandrasekaran,M.,(1998)**.Utilization of prawn waste for chitinase production by the marine fungus *Beauveria bassiana* by solid state fermentation .*World Journal of microbiology and biotechnology* ,**vol(14)**,pp.655-660.
- Suty.L(2010)**.la lutte biologique. Vers de nouveaux equilibres ecologiques.Educagri édition,328p. (science en partage).
- Sylvestre P, 1973**. Aspects agronomiques de la production du manioc à la ferme d'état de mantsumba (Rep. Pop. Congo). I. R. A. T., Paris, mission report
- Sylvestre, P. and Arraudeau, M., 1983**. Le manioc. In: R. Coste (Editor), *Techniques Agricoles et Production Tropicales*. Maisonneuve and Larose, Paris, **vol.32**,262 pp.
- Tarocco,F.,Lecuona,R.,Couto,S.A.,Arcas,A.J.(2005)**.Optimization of erythritol and glycerol accuùilation in conidia of *Beauveria bassiana* by solid-sate fermentation,using response surface methodology. *Applied Microbiology Biotechnology*, **Vol.68**,pp.481-488.
- Tefera T., Vidal S .(2009)**. Effect of inoculation method and plant growth medium on endophytic colonization of sorghum by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Biocontrol* **vol.54**.n(5):663–669
- Thomas KC, Khachatourians GG & Ingledeu WM .(1987)** .Production and properties of *Beauveria bassiana* conidia cultivated in submerged culture. *Canadian Journal of Microbiology* 33: 12-20.
- Tong-kw& L., Muhamad R., F& Gait C. & Lan Chi&w C., (1989)**. Studi&s on *B&auv&ria bassiana* isolat&d from th& cocoa mirid, *H&flop&ltis th&fobroma&*. *Crop Prot&ction* **vol.8**.p. 358-362
- V&y A., Fargu&s J. & Rob&rt P. (1982)**. Histological and ultrastructural studi&s of factors d&ft&rmining th& sp&fcificity of pathotyp&s of th& fungus. *Bioch&m. Physiol. C*,**vol.136**, p.134-147

- Valero-Jiménez C. A., Wieggers H., Zwaan B. J., Koenraadt C. J., & van Kan J. A. (2016).** Genes involved in virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Journal of Invertebrate Pathology*.vol. **133**.p. 41–49.
- van Emden, H. F., & Harrington, R. (2007).** Aphids as Crop Pests.
- Vega F. E., Posada F., Catherine Aime M., Pava-Ripoll M., Infante F. & Rehner S.(2008).** Entomopathogenic fungal endophytes. *Biological Control*. **Vol.46**.n(1).p.72–82.
- Vey A, Hoagland RE & Butt TM. (2001).** Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. *Fungi as biocontrol agents: progress, problems and potential*, Butt TM, Jackson C & Magan N (Édit.) CABI, Cambridge, MA, USA. p 311-346
- Viaud M., Coutaudier Y., Lévis V. & Riba G., (1996).** Génome organization in *Beauveria bassiana* : Entomopathogenic Karyotype, Génome Mapping, and Tzlomic Fingerprint. *Fungal Genetics and Biology*.vol.**20**.p.175-183
- Vidal C ,Fragues J,Lacey LA, (1997).**Intraspecific variability of *paecilomyces fumosoroseus* : Effect of temperature on vegetative growth.*J.invertebr.Pathol*.vol.**70**,p.18-26.
- Völkl, W., Mackauer, M., Pell, J. K., & Brodeur, J. (2007).** Predators, Parasitoids and Pathogens. In H. van Emden & R. Harrington (Eds.), *Aphids as crop pest* (pp. 187–215). CAB International.
- Wěisř J., (1972).** *Beauveria* Vuill. In : Nřmoci hmyzu. Naklad. Cřskoslov. Akadřmiř, Praha, pp. 361-377.
- Wěisř J.,( 1972).** *Beauveria* Vuill. In : Nřmoci hmyzu. Naklad. Cřskoslov. Akadřmiř, Praha, pp. 361-377
- Waage, J. (2004).** La lutte biologique – Réaliser la promesse. *Dossiers Biocontrôle*, décembre, p. 1.
- Wadhams, L. J., Birkett, M. A., Powell, W., & Woodcock, C. M. (1999).** Aphids, predators and parasitoids. In D. J. Chadwick & J. A. Goode (Eds.), *Insect-plant interactions and induced plant defence* (pp. 60–73). John Wiley & Sons.
- Wagner BL., Lewis LC.(2000).** Colonization of corn, *Zea mays*, by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Appl Environ Microbiol* .vol.**66**.p.3468–3473
- Walstad LD,AndersonRF,Stambaugh,WJ,(1970).**Effets of environmental conditionson tow species of muscardine fungi(*Beauveria bassiana* and *metarhizium anisopliae*) *J.Invertebr . Pathol*.vol .**16**,p.221-226.

- Wang C & St Leger RJ. (2007)** .The MAD1 adhesin of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and the MAD2 adhesin enables attachment to plants. *Eukaryotic Cell* .vol.6.p. 808-816
- Wang Y, DiGuistini S, Wang TC, Bohlmann J, Breuil C (2010)** *Agrobacterium*-mediated gene disruption using split-marker in *Grosmanina clavigera*, a mountain pine beetle associated pathogen. *Curr Genet*.vol. 56.p.297–307
- Weber, G. (1985)**. Genetic variability in host plant adaptation of the green peach aphid, *Myzus persicae*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, vol.38.n(1), p.49–56
- Weeden, C.R., Shelton, A.M. et Hoffman, M.P. (2007)**. *Biological Control: A Guide to Natural Enemies in North America*, [En ligne].
- Williams DJ, Granara de Willink MC, 1992**. *Mealybugs of Central and South America*. wallingford, UK: CAB International
- Wraight R.J & Roberts D.W., 1987**. Effort de lutte contre les insectes avec des champignons. *Dev. Indus. Microbiol*.vol. 28.p.77-87.
- Wraight, R. 1. et Roberts, D. W. 1987**. Insect control effort with fungi. *Devel. Industr. Microbiol*. Vol.28.p. 77-87
- Xu Y, Orozco R, Kithsiri Wijeratne EM, EspinosaArtilés P, Leslie Gunatilaka AA, Patricia Stock S, Molnár I.(2009)**. Biosynthesis of the cyclooligomer depsipeptide bassianolide, an insecticidal virulence factor of *Beauveria bassiana*. *Fungal Genet Biol.*, vol.46.n(5), 353-364.
- Xu Y, Orozco R, Wijeratne EMK, Gunatilaka AAL, Stock SP & Molnár I .(2008)** .Biosynthesis of the cyclooligomer depsipeptide beauvericin, a virulence factor of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *Chemistry & Biology* .vol.15.p. 898-907.
- Yaseen, M., 1982**. Exploration for *Phenacoccus manihoti* and *Mononychellus tanajoa* natural enemies: The challenge, the achievements. In: R.D. Hennessey, H.R. Herren and R. Bitterli (Editors), *Proc. Workshop on Biological Control of the Cassava Mealybug and Green Spider Mites in Africa*. IITA, Ibadan, Nigeria, 6-10 December 1982, (in press).
- Ziani, J. (2008)**. Application De *Beauveria bassiana* Contre La Punaise Terne *Lygus Lineolaris* (Palisot De Beauvois) (Hémiptères: Miridés) Dans Les Vignobles. mémoire de maîtrise (M. Sc.), Université du Québec à Montréal. 101 p
- Zimmermann ,G. (2007)**. Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Sci Technol* .vol.17.p.553–596

Les sites

- <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-012-9499-2/figures/1>
- <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-012-9499-2/figures/6>
- <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-012-9499-2/figures/5>
- <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-012-9499-2/figures/4>
- <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-012-9499-2/figures/7>
- <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-012-9499-2/figures/2>
- <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-012-9499-2/figures/3>
- <https://link.springer.com/article/10.1007%20FBF00450241>
- [https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=YoZDTvenmvUC&oi=fnd&pg=PR7&ots=QjTYrOxo5M&sig=rRVOI0gIJnOaT4ewkFXg9CNXM\\_o&redir\\_esc=y#v=onepage&q&f=false](https://books.google.dz/books?hl=fr&lr=&id=YoZDTvenmvUC&oi=fnd&pg=PR7&ots=QjTYrOxo5M&sig=rRVOI0gIJnOaT4ewkFXg9CNXM_o&redir_esc=y#v=onepage&q&f=false)
- [https://scholar.google.com/scholar\\_lookup?title=Review%20on%20safety%20of%20the%20entomopathogenic%20fungi%20Beauveria%20bassiana%20and%20Beauveria%20bongniartii&journal=Biocontrol%20Sci%20Technol&volume=17&pages=553-596&publication\\_year=2007&author=Zimmermann%20CG#d=gs\\_qabs&u=%23p%3Dgk1VLGRPEE8J](https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Review%20on%20safety%20of%20the%20entomopathogenic%20fungi%20Beauveria%20bassiana%20and%20Beauveria%20bongniartii&journal=Biocontrol%20Sci%20Technol&volume=17&pages=553-596&publication_year=2007&author=Zimmermann%20CG#d=gs_qabs&u=%23p%3Dgk1VLGRPEE8J)
- [http://scholar.google.com/scholar\\_lookup?&title=Some%20new%20hyphomycetes&journal=Persoonia&volume=8&pages=207-212&publication\\_year=1975&author=deHoog%20CGS&author=Rao%20CV](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Some%20new%20hyphomycetes&journal=Persoonia&volume=8&pages=207-212&publication_year=1975&author=deHoog%20CGS&author=Rao%20CV)
- [http://scholar.google.com/scholar\\_lookup?&title=Two%20new%20Beauveria%20spp.%20from%20South%20America&journal=J%20Invertebr%20Pathol&volume=39&pages=93-97&publication\\_year=1982&author=Samson%20CRA&author=Evans%20CHC](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=Two%20new%20Beauveria%20spp.%20from%20South%20America&journal=J%20Invertebr%20Pathol&volume=39&pages=93-97&publication_year=1982&author=Samson%20CRA&author=Evans%20CHC)
- [http://scholar.google.com/scholar\\_lookup?&title=A%20new%20species%20of%20Beauveria%20from%20Scottish%20moorland%20soil&journal=Can%20J%20Bot&volume=66&pages=361-362&publication\\_year=1986&author=Bissett%20CJ&author=Widden%20CP](http://scholar.google.com/scholar_lookup?&title=A%20new%20species%20of%20Beauveria%20from%20Scottish%20moorland%20soil&journal=Can%20J%20Bot&volume=66&pages=361-362&publication_year=1986&author=Bissett%20CJ&author=Widden%20CP)
- <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3852/10-302>
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5729716/>
- <https://www.mapress.com/pt/article/view/phytotaxa.333.2.8>
- <http://www.sidalc.net/cgi-bin/wxis.exe/?IsisScript=CAFE.xis&method=post&formato=2&cantidad=1&expresion=mfn=012256>
- <http://hilgardia.ucanr.edu/Abstract/?a=hilg.v26n02p107>
- <https://doi.org/10.3852/10-302>
- <https://doi.org/10.3852/mycologia.97.1.84>

- <http://e-biblio.univ-mosta.dz/bitstream/handle/123456789/576/BADAOU%20M.I%20%20th%C3%A8se%20doctorat.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- <https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.07.003>
- <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0392-y>
- <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1016/j.jip.2015.11.011>
- <https://doi.org/10.1016/j.jip.2010.07.003>
- <https://doi.org/10.1007/s11274-010-0416-5>
- <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2008.01.008>
- <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1805403>
- <https://doi.org/10.1139/b98-115>
- <https://doi.org/10.1016/j.funeco.2015.02.002>
- <https://doi.org/10.22192/iajmr.2017.3.2.4>
- <https://doi.org/10.1186/s40659-019-0259-y>
- <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0109965>
- [https://www.actahort.org/books/828/828\\_12.htm](https://www.actahort.org/books/828/828_12.htm)
- <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964410001337>
- <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1002/elps.200900192>
- <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-014-9618-3>
- <https://doi.org/10.1007/s11157-020-09525-1>
- <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S104996441500095X>
- <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022201108000700>
- <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964410000587>
- <https://journals.plos.org/plosone/article?id=10.1371/journal.pone.0089278>
- <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S095375620700072X>
- <https://link.springer.com/article/10.1007/s10526-009-9216-y>
- <https://academic.oup.com/ee/article/38/3/723/547001?login=true>
- <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/15572536.2006.11832729>
- <https://journals.asm.org/doi/full/10.1128/AEM.66.8.3468-3473.2000>
- <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1049964407001843>
- <http://www.epa.gov/opp00001/factsheets/ipm.htm>
- <http://www.inra.fr/dpenv/jourdc15.htm>
- <http://www.princeton.edu/~ota/disk1/1995/9506/9506.PDF>
- <https://www.cairn.info/la-lutte-biologique--9782844447722.htm>
- <https://passion-entomologie.fr/les-pucerons-insecte-passionnants-et-problematiques/>

- <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0378427495034706>
- <https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/anses-01801764/document>
- <https://hal-anses.archives-ouvertes.fr/anses-01707351/document>
- <https://journals.openedition.org/vertigo/4091>
- [https://www.researchgate.net/profile/Pedro-Aguilar-arate/publication/344586403\\_Beauveria\\_bassiana\\_secondary\\_metabolites\\_A\\_review\\_inside\\_their\\_production\\_systems\\_biosynthesis\\_and\\_bioactivities/links/5f81f278a6fdccfd7b57c699/Beauveria-bassiana-secondary-metabolites-A-review-inside-their-production-systems-biosynthesis-and-bioactivities.pdf](https://www.researchgate.net/profile/Pedro-Aguilar-arate/publication/344586403_Beauveria_bassiana_secondary_metabolites_A_review_inside_their_production_systems_biosynthesis_and_bioactivities/links/5f81f278a6fdccfd7b57c699/Beauveria-bassiana-secondary-metabolites-A-review-inside-their-production-systems-biosynthesis-and-bioactivities.pdf)
- [http://www.actuenvironnement.com/ae/dictionnaire\\_environnement/definition/pesticide.php4](http://www.actuenvironnement.com/ae/dictionnaire_environnement/definition/pesticide.php4)
- <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20083253220>
- <https://link.springer.com/article/10.1007/s11274-016-2131-3#Tab1>
- [www.cabi.org/isc](http://www.cabi.org/isc).
- <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/mpp.12083>
- <https://passion-entomologie.fr/les-pucerons-insecte-passionnants-et-problematiques/>.
- <https://passion-entomologie.fr/les-pucerons-insecte-passionnants-et-problematiques/>.
- <https://passion-entomologie.fr/les-pucerons-insecte-passionnants-et-problematiques/>
- <https://www.consoglobe.com/lutte-biologique-insectes-service-planete-3291-cg>
- <https://www.planeteanimal.com/lutte-biologique-definition-exemples-et-techniques-3364.html>.
- <http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/info/needstatus.html>
- [10.1371/journal.pone.0047675](https://doi.org/10.1371/journal.pone.0047675)
- <http://aesgsf.free.fr/MON%20JARDIN/champignons/page1.html>.
- [10.3844/ajabssp.2013.162.166](https://doi.org/10.3844/ajabssp.2013.162.166)
- Copyright©2016 UPJ
- [10.11646/phytotaxa.333.2.8](https://doi.org/10.11646/phytotaxa.333.2.8)
- [10.31482/mmsl.2016.015](https://doi.org/10.31482/mmsl.2016.015)

## Résumé

La lutte biologique est l'utilisation d'un organisme vivants contre des ravageurs nuisibles comme *Myzus persicae* et *phenacoccus manihoti* , le processus d'infection initial par *Beauveria bassiana* (champignon entomopathogène) est similaire chez les deux insectes . L'utilisation de microscope électronique montre que les pattes et les ouvertures naturelles sont les sites les plus fréquents, la mort des insectes était plus lent chez les cochenille du manioc que chez les pucerons vert du pêcher, MET explique que la paroi des hyphes fongique est distincte que la paroi des hyphes de l'hémolymphe, plus la croissance des hyphes est rapide plus ils sont hautement virulents.

## ملخص

المكافحة البيولوجية هي استخدام كائن حي ضد الآفات الضارة مثل *Myzus persicae* و *phenacoccus manihoti* ، عملية العدوى الأولية بواسطة (الفطريات الممرضة للحشرات) *Beauveria bassiana* متشابهة عند كل من الحشرتين يوضح استخدام المجهر الإلكتروني أن الأرجل والفتحات الطبيعية هي المواقع الأكثر استهداف ، وموت حشرات *Myzus persicae, cochenille* كان أبطأ من موت *phenacoccus manihoti* وتوضح MET أن جدار الوصلة الفطرية يختلف عن جدار الوصلة في الـ *Myzus persicae* ، وكلما كانت تنمو الخيوط أسرع كلما كانت سامة أكثر.

## Abstract

Biological control is the use of a living organism against harmful pests like *Myzus persicae* and *phenacoccus manihoti*, the initial infection process with *Beauveria bassiana* (entomopathogenic fungus) is similar in both insects.

The Uses of electron microscopy shows that legs and natural openings are the most frequent sites, insect death was slower in cassava mealybugs than in green peach aphids, MET explains that the wall of fungal hyphae is distinct from the hyphal wall of the hemolymph, the faster the hyphae grow the more highly virulent they are.

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Biotechnologie  
Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

La lutte biologique par *Beauveria bassiana* contre *Myzus persicae* et *Phenacoccus manihoti*

 **Résumé**

La lutte biologique est l'utilisation d'un organisme vivants contre des ravageurs nuisibles comme *Myzus persicae* et *phenacoccus manihoti* , le processus d'infection initial par *Beauveria bassiana* (champignon entomopathogène) est similaire chez les deux insectes . L'utilisation de microscope électronique montre que les pattes et les ouvertures naturelles sont les sites les plus fréquents, la mort des insectes était plus lent chez les cochenilles du manioc que chez les pucerons vert du pêcher, MET explique que la paroi des hyphes fongique est distincte que la paroi des hyphes de l'hémolymph, plus la croissance des hyphes est rapide plus ils sont hautement virulents.

**Mot clés :** Lutte biologique ;*Myzus persicae* ; *phenacoccus manihoti* ; *beauveria bassiana* ;

**Membre du jury :**

**Président :** Mme BENKAHOUL Malika MCA

**Encadreur :** Mlle ABDELAZIZ Ouided MCB

**Examineur :** Mme MEZIANI Meriem MAB

**Présentée par :** BENKOBİ LINA IKRAM

**Année universitaire :** 2020-2021