



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 الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : microbiologie .

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 des champignons entomopathogènes (*Beauveria bassiana*).

Préparé par : Beldi Maroua
Ghemari ikram

soutenue Le :16/09/ 2021

Jury d'évaluation :

Présidente du jury : Benkahoul Malika (MCB- UFM Constantine).

Rapporteuse : Abdalaziz Ouided (MCA- UFM Constantine).

Examinatrice : Meziani Meriem (MCB- UFM Constantine).

*Année universitaire
2020- 2021*

***REMERCIEMENTS ET
DÉDICACES***

Remerciements

Avant tout je tiens à remercier ALLAH le tout puissant de m'avoir donné la santé, la volonté, le courage et la patience pour mener à terme ma formation et pourvoir réaliser ce travail de recherche.

Notre remerciements s'adressent particulièrement au Docteur Abdelaziz Ouided, pour son encadrement de qualité, sa motivation professionnelle, ses conseils et critiques constructives, ses corrections, sa gentillesse et sa patience ainsi pour le temps qu'elle a consacré à la réalisation de ce travail. Je tiens à remercier les membres du jury Docteur Benkahoul Malika et Docteur Maziani Meriem pour leur présence, pour leur lecture attentive de ce mémoire, ainsi que pour les remarques qu'ils m'adresseront lors de cette soutenance afin d'améliorer mon travail. Ainsi mes enseignants, espérant que vous allez voir, dans ce manuscrit, les fruits du dévouement avec lequel vous avez fait preuve durant les enseignements que vous nous avez prodigué.

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

Dédicaces

Tout d'abord je dédie ce modeste travail à: Mes chers parents qui sont ma raison de vivre et qui m'ont entouré de tous soins imaginables pour atteindre cet aboutissement

*A ma chère maman **Nabila**, Tous les mots du monde ne sauraient t'exprimer l'immense amour que je te porte,*

*A mon cher père **Abd El djalil** qui a mis toute sa confiance en moi et qui a toujours cru en sa grande fille,*

*À mes chers grands-parents **El Hacène** et **Alaoua** .J'espère que j'ai répondu aux espoirs qu'ils ont fondé en moi, que dieux l'accueille dans son vaste paradis, À ma chère grand-mère youma **Fatima Zohra** qui m'a toujours soutenu par son encouragement et son conseil.*

*À mes chères frères **Amine**, **khalil** et ma chère sœur **Aridj** pour leurs encouragement et l'appui lors de mes études.*

*À tous mes oncles & mes tantes & mes cousins & mes cousines & toutes les familles **Beldi** et **Mechati***

*à mes chères amies, **Chourouk** ,**Fatima** , **Nouha** ,**Ines**, **Meroua** ,**Souha**, **Faten**.*

Beldi Maroua

Dédicace

Louange tout d'abord à dieu, notre créateur qui nous a donné la force pour terminer ce modeste travail et a guidé mes pas vers le savoir,

Je dédie ce modeste travail à mes parents pour leurs conseils et leurs persévérances à m'inculquer les règles les plus élémentaires de la vie. A toi ma chère maman adorée Souad, qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour me rendre heureuse.

A toi mon chère papa Ammar, ma précieuse offre du dieu, à qui je dois ma vie, ma réussite. A toi mon père que je respecte énormément.

A mes sœurs Yasmina, Kaouter et Dalia qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études

Pour les plus beaux enfants de notre petite famille Adem Mouhamed Iyed et Mouhamed Arslen, Eline qui sont mes cœurs et mes yeux

Je n'oublie pas mes grands parents Mahmoud et mon ange Moustafa rabi yarahmou, et mes grand mères Hourria et Merzaka, pour leurs amour, tendresse et cette joie de vivre, qu'ils ont sut me transmettre.

A toutes mes amies que j'ai connue jusqu'à maintenant, surtout Assia et Oumaima qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès. A mon cousin Farouk et Ouassila qui m'ont aidés dans ce modeste travail.

Et sans oublier mon homme Abd El Maoula, qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles et pour ce soutien moral que dieu le protège et lui offre la chance et le bonheur.

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment

IKRAM

Liste des figures

Liste des Tableaux

Liste des Abréviations

Introduction générale

Chapitre 01 : Espèce *Beauveria bassiana*

1- Les champignons entomopathogènes.....	03
2- <i>Beauveria bassiana</i>	04
2-1- Historique.....	04
2-2- Classification.....	05
2-3- Morphologie.....	06
3- les facteurs qui influent le développement de <i>B. bassiana</i>	07
3-1- Facteurs affectant l'efficacité de <i>B. bassiana</i>	07
3-2- Facteurs liés aux pathogènes.....	07
3-3- Facteurs dépendant de l'hôte.....	08
3-4- Facteurs de l'environnement.....	08
3-4-1- Rayonnement solaire.....	08
3-4-2- Température.....	08
3-4-3- Humidité.....	09
3-4-4- Effet du sol.....	09

Chapitre 02: La lutte biologique

1- la lutte biologique.....	10
1-1- généralité sur la lutte biologique.....	10
1-2- les types (catégories) de la lutte biologique.....	11
1-3- les méthodes de la lutte.....	12
1-3-1- la lutte culturale.....	12

1-3-2- la lutte chimique.....	12
1-3-3- la lutte génétique.....	13
1-3-4- la lutte prophylactique.....	13
1-4-la lutte biologique par <i>Beauveria bassiana</i>	13
2- Coté biotechnologique	15

Chapitre 03 : partie expérimentale

Le premier article

1- Matériel et méthode	19
1-1- souches d'insectes,de plantes ,de champignons pour essais en laboratoire..	19
1-2- inoculation de semences de <i>Z.mays</i> avec <i>B.bassiana</i>	19
1-3- Essais biologiques dans des conditions de laboratoire.....	20
1-4- Essais sur le terrain : Expérience 1.....	20
1-5- Essais sur le terrain : Expérience 2.....	21
1-6- Analyse des données.....	22
2- Résultats.....	23
3- Discussion.....	30

Le deuxième article

1- Matériels et méthodes.....	36
1-1- insectes.....	36
1-2- Isolats fongiques.....	36
1-3- Essai biologique adultes.....	37
1-4- Essai biologique larvaire.....	38
1-5- Analyses statistiques.....	38
2- Résultats.....	39

2-1- Essai biologique sur coléoptère adulte.....	39
2-2- Essai biologique larvaire.....	41
3- Discussion générale.....	42
Conclusion.....	46
Références bibliographique.....	47
Résumé	

Liste des figures

Figure 1 : *Beauveria bassiana*

Figure 2 : aspect macroscopique de *Beauveria bassiana*

Figure 3 : aspect microscopique de *B.bassiana* (a-Hyphes et mycelium- b- Spores)

Figure 4 : une mouche atteinte de «muscardine blanche».

Figure 5 : La mouche de la cerise : individu adulte et larve dans un fruit

Figure 6 : la mouche blanche ou aleurodes

Figure 7 : Date de fabrication de Bioceres WP

Figure 8 : Pesticide à base de *Beauveria bassiana*

Figure 9 : Puceron vert du pêcher, *Myzus persicae*

Figure 10 : Pourcentage de germination des plants de *Zea mays* après 10 jrs de semis avec les différents traitements

Figure 11 : Poids des larves de sixième stade de *S. frugiperda* après s'être nourries de plantes provenant des traitements spécifiés

Figure 12 : Poids des pupes de *S. frugiperda* après s'être nourri sur les plantes des traitements spécifiés

Figure 13 : Longueur des pupes de *S. frugiperda* après s'être nourri sur des plantes traitées avec les traitements spécifiés

Figure 14 : Distribution en pourcentage des papillons femelles de *S. frugiperda* après s'être nourris sur des plantes traitées avec les différents traitements

Figure 15 : Papillon femelle vierge représentative ayant pondu des œufs fertiles montrant une parthénogenèse apparente

Figure 16 : Présence de *S. frugiperda* dans l'essai en champ de l'expérience 1

Figure 17 : Mortalité cumulée corrigée d'Abbotts de *Carpophilus* sp. Immersé dans une suspension de conidies de *B. bassiana* (10^7 conidies/ml) et incubées pendant 15 jours.

Différentes lettres dénotent significatif différence ($p < 0,05$) réalisée sur des données non transformées avec analyse GLM avec Tukey HSD post-hoc test au sein des espèces de coléoptères. Les barres d'erreur représentent des intervalles de confiance à 95 %.

Figure 18 : Courbes de survie de Kaplan–Meier de *C. davidsoni* adultes (à **gauche**) et de *C.truncatus* (à **droite**) indiquant réponse temps-mortalité. Les courbes de survie suivies de lettres différentes indiquent une différence significative ($p < 0,05$) avec un test du log-rank à comparaisons multiples

Figure 19 : Taux de mortalité moyen des larves de *Carpophilus sp.* traité avec 10^6 conidies/g de vermiculite. Différentes lettres indiquent une différence significative ($p < 0,05$) grâce à l'analyse GLM avec Tukey post-hoc, Test HSD chez les espèces de coléoptères. Les barres d'erreur représentent des intervalles de confiance à 95 %.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Classification de *Beauveria bassiana*.

Tableau 2 : Effets de l'alimentation sur des plantes traitées par *Beauveria bassiana* sur les stades de développement de *S. frugiperda*

Tableau 3 : Poids et longueur moyens des épis de maïs obtenus au moment de la récolte.

Tableau 4 :Détails des isolats de *Beauveria bassiana* sélectionnés contre *Carpophilus sp.*

Tableau 5 :Quantité moyenne de mycose dans les cadavres adultes stérilisés en surface de *Carpophilus sp.* Incubé pendant cinq jours après l'infection mortelle avec différents isolats de *B. bassiana*.

Liste des abréviations

Sp : espèce

B bassiana: *Beauveria bassiana*

S. frugiperda : *Spodoptera frugiperda*

Z. Mays: *Zea mays*

C. truncatus: *Carpophilus truncatus*

C. davidsoni: *Carpophilus davidsoni*

PDA: Potato Dextrose Agar

GLM : modèle linéaire généralisé

EPF : potentiel de champignons entomopathogènes

IPM : stratégie

EPN : nematodes entomopathogènes

QLD : Queensland department of agriculture and fishiers

BRP : pathogène de Brisbane herbies

PPRI : Plant Protection Research Institute

Jrs : jours

SEM : semaines

cm ø : centimètre de diamètre

cm h : centimètre de hauteur

LD : lumière obscurité

HR: humidité rotative

dH: contrôle

MC : Méthylcellulose

CC : Contrôle négatif

CMC : Contrôle négatif avec seulement de la méthylcellulose

MCPTG4 : Souche PTG4 du champignon *B. bassiana* avec de la méthylcellulose

MCGHA : Souche GHA de *B. bassiana* avec de la méthylcellulose

Et al : et collaborateurs

Introduction

Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes (Mueller et Schmit, 2007). Le nombre estimé des champignons dans le monde entier est d'environ 140000, 10% seulement soit ≈ 14000 espèces sont connues (Wasser, 2002). Sont des eucaryotes, hétérotrophes, unicellulaires ou filamenteux, sans organisation tissulaire, sont aérobies strictes et rarement anaérobies (Mathew, 1995 ; Tortora *et al.*, 2003).

La protection de l'intégrité environnementale, notamment au niveau de la préservation de la biodiversité des écosystèmes, est une préoccupation de plus en plus importante en phytoprotection. Les activités liées aux secteurs agricoles et forestiers et qui visent la lutte contre les espèces nuisibles sollicitent l'utilisation d'une vaste gamme de pesticides chimique où les pertes économiques provoquées par les ravageurs ont conduit à la mise au point de nombreuses méthodes de lutte. La lutte chimique est la méthode le plus souvent utilisée contre les larves des lépidoptères ravageurs des plantes. Elle a été en général très efficace pour détruire les ravageurs sur un grand nombre de cultures (Kpindou *et al.*, 2012).

Mais les produits chimiques sont de haut risque pour tous les composants de l'environnement, d'où la nécessité de trouver d'autres moyens de lutte plus respectueuses de la nature. La lutte biologique microbienne basée sur l'utilisation des microorganismes entomopathogènes est une méthode qui peut être efficace et sans risque sur l'environnement et sur la santé humaine. Parmi ces microorganismes figurent les champignons et les bactéries Entomopathogènes qui sont d'ailleurs les plus utilisées pour lutter contre certains insectes (Mascarin et Jaronski, 2016). Par exemple le champignon cosmopolite *Beauveria bassiana*, grâce à la facilité de sa culture en laboratoire, est déjà commercialisé mondialement et a été déjà utilisé efficacement comme alternative aux pesticides chimiques contre plusieurs Arthropodes (Shrestha *et al.*, 2015 ; Wraight et Ramos, 2005).

L'effet de ce champignon est un peu lent, comme la plupart des mycètes entomopathogènes qui mettent quelques jours avant de tuer leur hôte. En effet, une période minimale d'incubation de six jours après un traitement fongique est nécessaire afin d'évaluer l'efficacité de *B. bassiana* sur l'insecte hôte (Liu *et al.*, 2003). Plusieurs études ont montré que *B. bassiana* peut infecter une grande variété d'insectes (Goettel, 1992). Le potentiel infectieux des champignons entomopathogènes comme agents de lutte biologique dépend des propriétés de l'hôte et des conditions du milieu (Ferron *et al.*, 1991). Néanmoins, ces champignons bien qu'efficaces ont souvent une activité très dépendante des conditions environnementales notamment climatiques (Ferron *et al.*, 1991 ; Lacey *et al.*, 1996).

Introduction

Nous avons réalisé ce travail dans un but de connaître l'espèce *Beauveria bassiana* notre objectif d'avoir l'effet de cette espèce comme agent de la lutte biologique notre mémoire s'articule autour de 03 chapitres :

- Le premier chapitre est consacré aux données bibliographiques relatives aux champignons entomopathogènes et leur mode d'action sur les insectes, ainsi que la bibliographie de l'espèce *Beauveria bassiana*.
- Le deuxième chapitre est déroulé sur la lutte biologique et leurs types
- Le troisième chapitre concerne la partie expérimentale qui comporte deux articles avec les méthodes et matériels, aussi les résultats obtenus et leurs discussions

Enfin, ce travail est clôturé par une conclusion générale et la mise en évidence des perspectives de notre recherche.

CHAPITRE 01

1-Les champignons entomopathogènes

Les premières observations scientifiques des champignons entomopathogènes, il est possible de dater environs des années 1830, avec l'ouvrage de **(Bassi, 1835)**. Sont des eucaryotes avec des noyaux, des organites bien définis et une paroi cellulaire chitineuse. Ils se présentent souvent sous forme d'hyphes constituant le mycélium et rarement sous forme de cellules individuelles **(Humber, 1997 ; Tzean et al., 1997)**.

Leur reproduction se fait par formation de spores sexuées ou asexuées. la sous-division des deutéromycètes regroupe les ascomycètes et les basidiomycètes qui sont des champignons filamenteux à hyphes septés, se reproduisant de façon végétative dont on ne connaît pas leur forme de reproduction sexuée (champignons imparfaits) **(Ksentini, 2009)**.

Les champignons entomopathogènes ne forment pas un groupe monophylétique, ils appartiennent à différents taxons rattachés à plusieurs des principaux groupes fongiques. On en connaît près de 700 espèces appartenant à une centaine d'ordres différents. Il existe deux ordres principaux de champignons entomopathogènes **(Goettel, 1992)**.

- Les Entomophthorales (Zygomycètes) : Les Entomophthorales comprennent notamment les genres : *Entomophaga*, *Entomophthora*, *Pandora* et *Zoophthora* **(Botton et al., 1990)**
- Les Hypocreales (Ascomycètes) : Dans cet ordre on peut classer les genres selon de mode de reproduction :
 - ✓ Mode de reproduction asexuée (anamorphe) : *Beauveria*, *Hirsutella*, *Lecanicillium*, *Metarhizium*, *Nomuraea* **(Bidochka et Small, 2005)**.
 - ✓ Mode de reproduction sexuée (téléomorphes) : *Cordyceps*, *Nomuraea* **(Botton et al., 1990)**.

Ces champignons présentent un intérêt pour la lutte biologique surtout en raison du caractère épidémique de leur attaque **(Starnes et al., 1993)**. Chez les 500 espèces d'Hyphomycètes, les genres *Beauveria*, *Metarhizium*, et *Verticillium* sont les plus utilisés pour la lutte biologique **(Sabbahi, 2008)**.

Une identification correcte de ces genres est impossible sans des détails sur leurs conidiogénèse **(Ferron, 1978 ; Sabbahi, 2008; Samson et al., 1988)**. La forme et la couleur des spores constituent les premiers indices utilisés pour la taxonomie des champignons **(Samson et al., 1988)**. De nombreux facteurs affectent l'efficacité des champignons entomopathogènes. Leur potentiel comme agents de protection biologique résulte des propriétés des populations de l'hôte, du pathogène et des conditions du milieu. Leur sensibilité vis-à-vis les conditions environnementales (rayonnement solaire, température, humidité) reste leur principal inconvénient **(Silvy et Riba, 1999)**.

2- *Beauveria bassiana* (Balsamo)

La souche *Beauveria bassiana* est un champignon filamenteux qui se développe naturellement dans le sol dans le monde entier et agit comme un pathogène sur diverses espèces d'insectes, provoquant la maladie de la muscardine blanche ; il appartient donc aux champignons entomopathogènes et trouvé dans la nature aussi comme étant endophyte. **(Richard et Humber, 2012).**

B. bassiana est souvent décrit comme mitosporique **(Ortiz-Urquiza et al., 2010)** qui se multiplie par reproduction asexuée **(Sabbahi, 2008 ; Ziani, 2008)**. Elle est utilisée pour lutter contre les infestations des cultures par les pucerons, les thrips et les mouches blanches. Le champignon est cultivé en fermentation à l'état solide et des formulations de ses conidies sont pulvérisées sur les plantes sous forme d'émulsion ou de poudre mouillable **(Benjamin et Blumberg et al., 2016).**

Aussi, sont organisées et adaptées en tant qu'agents pathogènes pour leurs hôtes invertébrés, elles entretiennent une relation symbiotique avec leurs hôtes végétaux. Pour remplir ces rôles écologiques susmentionnés **(AyodejiAmobonye et al., 2020).**

En général est considéré comme un pesticide non sélectif car il parasite un très grand nombre d'hôtes arthropodes. Ce champignon entomopathogènes est également appliqué contre la pyrale du maïs, la chenille du pin et les cicadelles vertes **(Kaushal et al., 2016).**

Ce champignon sécrète un ensemble d'enzymes et de métabolites secondaires, qui ont tous des rôles biologiques importants. Les chitinases, les lipases et les protéases sont considérées comme les plus importantes de toutes les enzymes. Cependant, des études ont également montré leur capacité à produire d'autres enzymes vitales, notamment l'amylase, l'asparaginase, la cellulase, la galactosidase..... etc **(AyodejiAmobonye et al., 2020).**

Beauveria est utilisé comme médicament au Japon depuis plus d'un millénaire, Des réactions allergiques ont été signalées chez les humains après l'inhalation de préparations de spores, bien que la manipulation répétée de cultures n'ait pas révélé d'effets indésirables dans une autre étude **(Ignoffo, 1973)**. Une étude réalisée en Chine a noté des réactions pulmonaires de type hyper sensibilité chez des souris et des rats après une seule exposition à *B. bassiana*.

2-1- Historique

Le champignon *Beauveria bassiana* (Hyphomycète) est un microchampignon pathogène pour de nombreux insectes Sa pathogénicité a été démontrée pour la première fois par L'italien **Agostino Bassi de Lodi (1835)**. Qui reconnut le champignon comme la source de « mal de segno » chez les vers à soie, au cours des années, il a porté différents noms, Balsomo

lui donna le nom de *Botrytis bassiana* en l'honneur de Bassi par la suite, il fut désigné comme *Sporotrichum goboform* par Spegazzini (Narinsrei, 2011).

Le précurseur des études des maladies infectieuses, en démontrant pour la première fois qu'un micro-organisme pouvait être responsable de maladie infectieuse chez l'animal. *Beauveria sp.* A été décrit par la suite par Jean Beauverie en 1911 sous le nom de *Botrytis bassiana*. Le genre a été établi par Vuillemin en 1912 et fut classé dans l'ordre des Hyphomycètes (figure 01) (Fargues ,1972).



Figure 01: *Beauveria bassiana* (<https://news.labsatu.com>)

2-2- Classification

D'après Rehner et Buckley en 2005, *Beauveria bassiana* est classée comme la suite (tableau 01)

Tableau 01 : Classification de *Beauveria bassiana*. (Rehner et Buckley 2005).

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

2-3- Morphologie

L'identification des champignons entomopathogènes repose principalement sur l'étude de plusieurs caractères morphologiques macroscopiques et microscopiques correspondant à la présence, l'abondance et la disposition des hyphes du mycélium aérien, la présence de spores et leur forme.

L'analyse macroscopique des colonies obtenues après culture des champignons est basée sur l'observation de celles-ci à l'œil nu et à la loupe binoculaire. Le champignon *B.bassiana* est une espèce ubiquiste, ce champignon produit des colonies cotonneuses de couleur blanchâtre à jaunâtre (**figure 02**) (**Saranraj et Jayaparakash, 2017**).



Figure 02 : aspect macroscopique de *B. bassiana*

(<httpswww.flickr.comphotosscotnelson27057361289inphotostream>)

L'identification microscopique des champignons nécessite l'observation au microscope optique. Elle est basée sur les critères d'identification microscopique réalisés par **Roquebert (1998)** quand c'est possible à identifier. Pour cela, à l'aide d'une anse de platine stérile on prélève superficiellement un fragment de la culture que l'on dépose sur une lame et que l'on colore si possible. Puis la lame est recouverte d'une lamelle et observée au microscope optique à un grossissement (G X 40).

Cette espèce forme des hyphes transparents et septaux de diamètre 1,5 à 3 μm (**figure03-a**). (**Saranraj et Jayaparakash, 2017**). Le genre est caractérisé par un conidiophore à base renflée et à extrémité terminale en zigzag formant de façon sympodiale de petites spores unicellulaires (**figure 03-b**)(**Ziani, 2008**).

Le champignon produit deux types de spores selon la présence ou l'absence d'oxygène :

- **En aérobic** : il produit des conidies sphériques ou ovales de 1 à 4 μm de diamètre (**Sabbahi, 2008 ; Ziani, 2008**). Le conidiophore continue de croître après avoir donné naissance aux

sports et chaque spore laisse une cicatrice en relief (aspect denticulé). Les bouquets de conidiospores donnent un aspect en "fausse tête" (Weiser, 1972 ; Lipa, 1975).

- **En anaérobie** : *B. bassiana* produit des blastospores de forme ovale et de diamètre de 2 à 3µm. Les conidies sont autant infectieuses que les blastospores. (Sabbahi, 2008 ; Ziani, 2008). Les deux types de spores peuvent avoir le même effet pathogène sur les insectes infectés (figure 3-a et 3-b) (Weiser, 1972 ; Lipa, 1975).

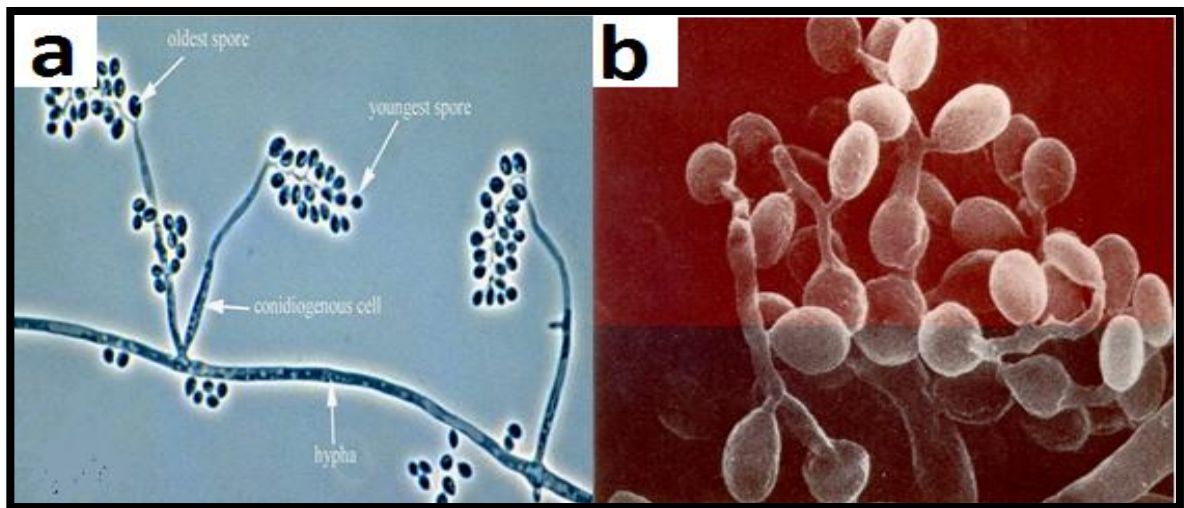


Figure 03: aspect microscopique de *B.bassiana*

a-Hyphes et mycélium de *B. bassiana*. **b-**Spores de *B. bassiana*

(<https://silkpathdb.swu.edu.cn/>) (<https://www.google.com/>)

3- les facteurs qui influent le développement de *Beauveria bassiana*

3-1-Facteurs affectant l'efficacité de *Beauveria bassiana*

Le potentiel infectieux des champignons entomopathogènes comme agents de lutte biologique dépend de leurs propriétés physiologiques de la population de l'hôte et des conditions du milieu (Ferron *et al.*, 1991).

3-2- Facteurs liés aux pathogènes

La virulence et la spécificité de l'hôte sont deux éléments essentiels dans le choix d'un bon candidat à la lutte biologique. Il a été démontré que les insectes d'une même population révèlent une sensibilité qui diffère selon les isolats de *B. bassiana* (Todorova *et al.*, 1994).

À une échelle industrielle, les épreuves biologiques standardisés de laboratoire sont essentielles afin de vérifier le potentiel insecticide des préparations produites et de suivre leur stabilité de conservation (Ferron *et al.*, 1991).

3-3- Facteurs dépendant de l'hôte

Il est reconnu que tous les stades de développement de l'insecte, de l'œuf jusqu'à l'adulte peuvent être sensibles à l'infection fongique en provoquant la mort des insectes en quelque jour selon leur sensibilité (**Braga et al., 2001**).

3-4- Facteurs de l'environnement

L'efficacité du *B. bassiana* contre les insectes est souvent influencée par des conditions environnementales.

3-4-1- Rayonnement solaire

L'effet des radiations solaires est l'un des paramètres environnementaux les plus importants pour la persistance des spores fongiques entomopathogènes (**Braga et al., 2001**).

L'exposition aux rayons ultraviolets peut influencer de manière significative la mortalité des larves d'*Ostriniana bilalis* (ravageur de maïs) par des isolats de *B. bassiana* en interférant avec leurs propriétés physiologiques (**Cagani et Svercel, 2001**). La lumière du soleil d'une longueur d'onde de 290 à 400 nm affecte la persistance des conidies sur le feuillage et peut directement affecter la composition génétique du champignon (**McCoy et al., 1990**). Malgré son effet nocif sur la persistance des conidies, la lumière peut stimuler certaines étapes du cycle évolutif des champignons entomopathogènes cultivés in vitro ou in vivo (**Silvy et Riba, 1999**).

3-4-2- Température

La température est un autre facteur important qui peut affecter le taux de germination, la croissance, la sporulation et la survie des champignons entomopathogènes (**Soza-Gomez et Alves, 2000 ; Mitsuaki, 2004**).

Hastuti et ses collaborateurs (1999) ont démontré que 100 % des larves de *Paropsischarybdis* (Coleoptera: Chrysomelidae) sont tuées par *B. bassiana* après une incubation de 21 jrs à 35C°, alors que 93 % des larves sont mortes à une température d'incubation de 15C°. La température optimale qui assure la survie d'un champignon diffèrent selon les taxa. Ainsi, les spores des Entomophthorales semblent être plus sensibles que les spores de la plupart des deutéromycètes.

Généralement, les températures au-dessus de 35C° empêchent la croissance et le développement des champignons entomopathogènes. Les variations de températures (élevées et basses) affectent la vitesse de l'infection des insectes par l'inhibition de la germination des spores, ce qui affecte à son tour la formation du tube germinatif et la pénétration à travers la cuticule de l'insecte (**Soza-Gomez et Alves, 2000 ; Mitsuaki, 2004**).

3-4-3- Humidité

L'humidité affecte aussi la persistance et la survie des champignons entomopathogènes. La plupart de ces champignons exigent au moins 95 % de l'humidité relative à la surface de l'insecte afin de germer (**Hallsworth et Magan, 1999**). L'humidité relativement élevée dans les endroits abrités fournit un micro-environnement favorable pour le développement des spores (**Liu et al., 2006**). Un certain nombre d'études indiquent que les conditions sèches juste après l'application des champignons entomopathogènes sont moins pathogènes (**Liu et al., 2000**).

Les effets de la température et de l'humidité sont intimement reliés d'où la tolérance de quelques mycètes à des températures extrêmes lorsqu'il y a plus d'humidité ou lorsque la condensation se produit aisément et la perte d'eau est réduite au minimum. Le vent peut aussi modifier de manière significative l'humidité microclimatique et considérablement influencer le comportement fongique (**McCoy et al., 1990**).

3-4-4- Effet du sol

Le sol constitue un réservoir naturel pour les insectes infectés par des mycètes fongiques sur le feuillage qui plus tard tombent sur le sol (**Keller et Zimmermann, 1989**). En effet, les mycètes dans le sol sont protégés contre la dessiccation, le rayonnement ultraviolet et les températures extrêmes (**McCoy et al., 1990**). En général, la simple présence des microflores dans le sol peut influencer l'efficacité des hyphomycètes (**Groden et Lockwood, 1991**).

CHAPITRE 02

1- la lutte biologique

1-1- généralité sur la lutte biologique

En générale, plusieurs définitions de la lutte biologique ont été proposées selon les derniers siècles. Au début du XX^{ème} siècle, l'appellation « lutte biologique » a été proposée pour désigner toute méthode phytosanitaire est définie comme « l'utilisation d'organismes vivants, ou des produits de leurs gènes, pour limiter ou supprimer les activités et les populations de pathogènes » (**Fravel, 2005 ; Paulitz et Bélanger, 2001**).

Plus détaillés, **smithen1919** a décrit la lutte biologique que c'est l'utilisation des ennemis naturels pour les contrôles des maladies phytopathogènes.

L'étude de **Sanford** sur les facteurs influençant la pathogénicité de la bactérie « *S. scabies* » matérialise ce concept on observant que des microorganismes saprophytes pouvaient entraîner une diminution de l'intensité de ce pathogène du sol (**Sanford, 1926**).

Quelques années plus tard, Weindling a démontré que le champignon « *Trichoderma lignorum* » parasitait d'autres champignons du sol.

Batchen1964, a donné une nouvelle définition à la lutte biologique : « c'est l'action des parasites, prédateurs ou pathogènes dans le maintien de la densité de la population des microorganismes à un niveau de celle observée en leur absence ». D'après ces définition de la lutte biologique, on distingue que c'est une combattre d'une maladie causée par un organisme au moyen d'un autre organisme (**Altieri, 1999 ; Nautiyal et al., 2000**). Tels que le cas de l'utilisation des microorganismes entomopathogènes ou pathogènes de mauvaises herbes ou encore antagonistes d'autres organismes phytopathogènes, ces microorganismes jouent un rôle très important dans la protection des différentes plantes (**Benizri et al., 2001**).

Dans le sens écologique strict, l'application de la lutte biologique peut être considérée comme une stratégie pour restaurer la biodiversité dans les agro-écosystèmes par l'addition des antagonistes naturels (**Altieri, 1999 ; Nautiyal et al., 2000**).

A titre d'exemples, utilisations des actinomycètes comme antagonistes naturels de plusieurs champignons phytopathogènes, tels le cas de *fusarium oxysporum* (**Rakotoarimanga et al., 2014**).

Ces dernières années, la lutte biologique est connue par rémission de popularité dû en partie à un certain échec de la lutte chimique. Les traitements chimiques comme les fongicides donnent des bons résultats à court terme, par contre à long terme l'accumulation de ce dernier dans l'environnement représente un danger qu'on ne peut plus négliger (**Corbaz, 1990 ; Toussaint, 1996**).

Chapitre 02 : la lutte biologique

L'application des agents de lutte biologique sur les cultures présente plusieurs avantages les plus importants dans les avantages sont l'absence d'effets secondaires nocifs et de danger pour l'environnement ou sur les cultures, car les biopesticides sont spécifiques à l'espèce-cible (**Meyer, 2002**).

Les bio-pesticides ont la capacité d'être formulés sous forme liquide pour présenter une utilisation facile qu'un insecticide chimique (**Lacey et al., 1986**).

Tenant compte de ces avantages ou bien en dehors, un financement humains est très importants (**MEYER, 2002**). La lutte biologique est parfois insuffisante pour obtenir une bonne protection des plantes ou des légumes Etc, donc il est nécessaire d'utiliser des traitements chimiques pour compléter l'efficacité et une protection satisfaisante des plantes.

En effet, les deux luttes biologique et intégrée sont développées dans différentes situations, exemple : la substitution des produits phytosanitaires à effets toxique par des préparations basées sur des champignons (entomopathogènes) des bactéries et des virus, dans la lutte intégrée contre les infections des insectes. (<http://e-biblio.univ-mosta.dz/>).

On distingue que la lutte biologique présente un rôle principale dans la restauration de la biodiversité dans l'écosystème, plus l'importance de contrôle des maladies phytopathogènes .donc elle peut être efficace dans le contrôle des maladies phytopathogènes que l'utilisation des fongicides (**Emmert et Handelsman, 1999**).

La réussite de la lutte biologique nécessite l'application d'un agent de bio contrôle efficace, L'efficacité est notamment liée à la capacité de l'agent de lutte biologique à coloniser et s'installer dans le milieu rhizosphérique des plantes (**Singh et al., 2003**).

Vue qu'il y'a plusieurs descriptions de la lutte biologique dans plusieurs domaines, on considère cette dernière que c'est une méthode qui consiste à combattre un ravageur, par l'utilisation ou la promotion de ses ennemis naturels, ou une maladie, en favorisant ses antagonistes. La lutte biologique est surtout dirigée contre les ravageurs (insectes, acariens et nématodes), on considère comme étant des ennemis naturels des ravageurs des cultures.

Les organismes prédateurs, parasitoïdes ou infectieux (champignons entomophages, viroses) limitant la fréquence et la sévérité des pullulations. C'est la méthode lutte recommandée en agriculture biologique (**Sites d'internet**).

1-2- les types (catégories) de la lutte biologique

Les Types de lutte biologique peuvent être divisés en trois catégories bien distinctes : classique, par augmentation et par protection.

La méthode classique vise l'implantation d'un antagoniste exotique dans un milieu où sévit un ravageur exotique (**Cloutier et Cloutier, 1992**). Comme l'introduction de la coccinelle

asiatique, *Harmonia axyridis* Pallas, contre les pucerons (hémiptères de la super-famille Aphidoidea), plusieurs espèces étant également exotiques (**Roy et Wajnberg, 2008 ; et voir section 2.1**).

Dans le cas de la lutte biologique par augmentation, le but est de contrôler un ravageur indigène en augmentant l'occurrence de son ou ses ennemis naturels, naturellement présents mais en quantité insuffisante (**Cloutier, 1992**), ou d'introduire à répétition un ennemi qui ne survivrait pas, par exemple : la libération de grandes quantités d'un champignon parasite naturellement présent dans les sols, *Beauveria bassiana*, contre la punaise terne, *Lygus lineolaris* Palisot de Beauvois. (**Jamal, 2008**)

Dernièrement, La lutte par protection vise à augmenter l'occurrence des ennemis naturels en changeant le milieu et les pratiques culturales. C'est sans doute le mode de lutte biologique le plus important et facilement disponible car il demande souvent peu d'efforts et que les ennemis sont adaptés à l'environnement visé (**Weeden et al., 2007; U.S. Congress, Office of Technology Assessment, 1995**). Par exemple, certaines espèces d'insectes prédateurs comme les coccinelles du genre *Hyppodamia*, se nourrissent de pollen quand les proies deviennent plus rares. Malheureusement, elles ne peuvent pas se reproduire sous cette diète, ce qui peut faire chuter les populations. Cette situation peut être évitée en pulvérisant sur les cultures, une solution de sucre et d'hydrolysate de levures, ce qui remplace temporairement les pucerons (**Johnson, 2000**).

1-3- les méthodes de la lutte

Il y'a plusieurs méthodes de lutte contre les maladies sont :

1-3-1- la lutte culturale

Les pratiques culturales sont essentielles pour la diminution des maladies, les rotations avec des cultures nettoyantes aident à éliminer ces maladies (**Sayoud et al., 1999**). Le travail du sol peut aider à accélérer la dégradation des résidus, en détruisant l'inoculum primaire du pathogène. Les débris infectés devraient être retirés du champ si on ne travaille pas le sol. La semence doit être saine et certifiées (**Goodwin, 2008**).

1-3-2- la lutte chimique

La lutte chimique avec l'utilisation des produits systématiques, peut être efficace pour protéger les étages supérieurs de la plante (**Farih et al., 1996**). Comme l'utilisation des fongicides contre le mildou de la pomme de terre (**sedlkaovaa et al., 2011**). tels que les morpholines, les thiazoles, les carbamates, les strobilurines (**Bermond, 2002**).

Remarque : il y'a des fongicides de contact et des fongicides translaminaires, et des fongicides systématiques.

1-3-3- la lutte génétique

La meilleure alternative à l'utilisation des fongicides est la lutte génétique, de nombreux programmes reposant sur l'introduction de gènes de résistance ont été engagés, pour la sélection de variétés de bonne valeur agronomique et une bonne résistance des maladies (Montarry, 2007). Un exemple : la sélection pour la résistance génétique aux maladies fongiques du blé reste la méthode de lutte comme la plus efficaces et la moins couteuse (Rapilly *et al.*, 1971).

1-3-4- la lutte prophylactique

Cette lutte consiste d'abord à limiter au maximum les sources d'inoculum primaire par rotations culturales pour éviter les infections par les oospores, et élimination des tas de déchets, issu de la récolte précédente. Les tas de déchets constituent selon boyd (1974), la source principale d'inoculum primaire (Montarry, 2007). Et pour les détruire, on utilise l'un de ces deux méthodes, la première : le bâchage et la deuxième : l'application de chaux vive. (Legemble, 2008)

1-4- la lutte biologique par *Beauveria bassiana*

Beauveria bassiana est un champignon entomopathogènes, microscopique et cosmopolite. Ce champignon infecte et tue les insectes, tout en étant inoffensif pour les humaines et autres vertèbres. Les insectes sont infectés par contact avec les conidies (spores) du champignon, lesquelles produisent ensuite des hyphes (cellules en forme de filament ramifiés) et pénètre la cuticule des insectes grâce à des enzymes de dégradation. Lorsque les mécanismes immunitaires de l'insecte n'arrivent pas à combattre le champignon, ce dernier envahit l'hémolymphe (sang) de l'insecte et l'infection se produit. S'ensuit une phase dite saprophyte, caractérisée par la momification de l'insecte, alors transformé en sclérote (forme de conservation du champignon). Les hyphes traversent ensuite le tégument de l'insecte, puis le recouvre muscardine (feutrage mycélien cotonneux et blanc) (Figure 17).



Figure 17 : une mouche atteinte de «muscardine blanche».(<https://www.medgadget.com/>)

Chapitre 02 : la lutte biologique

Il est facile et relativement peu coûteux de maintenir et de produire plusieurs souches de *B.bassiana* en laboratoire. Aussi, des solutions contenant des conidies de *B.bassiana* peuvent facilement être appliquées au champ d'une façon similaire à l'application d'insecticides. Pour cette raison, l'utilisation de *B.bassiana* comme insecticide biologique représente une alternative potentielle aux insecticides chimiques.

Exemple 1 : la mouche de la cerise

L'utilisation d'un insecticide nommé par : « Naturalis-L » pour protéger le fruit contre la mouche de la cerise *Rhagoletiscerasi*(Alexendra, 2020) (Figure 18).



Figure 18 : La mouche de la cerise : individu adulte et larve dans un fruit

(<https://www.promessedefleurs.com/>)

Exemple 2 : La mouche blanche sous une feuille de rosier

L'application à l'endroit où se trouvent les ravageurs, on utilise le pesticide en solution de *Beauveria bassiana* doit être utilisée dès que possible. Dans des conditions connues (Roxanne S. Bernard, 2019) (Figure 19).



Figure 19 : la mouche blanche ou aleurodes (<https://anatisbioprotection.com/>)

2- Coté biotechnologique

Production des pesticides à base de *B.bassiana* au niveau des industries biotechnologique scientifique, doivent être dans des conditions strictes pour la protection de la souche, le **BioCeres® WP** (exemple) se conserve pendant 12 mois à 4 C° et pendant 6 mois à 21 C°. Les spores de *B.bassiana* sont des organismes vivants, donc très sensibles à la température, l'humidité et aux mauvaises conditions de conservation. Avec une vérification de la date de fabrication avant l'utilisation (**Figure 20**).



Figure 20 : date de fabrication de Bioceres WP (<https://anatisbioprotection.com/>)

Les spores de *B.bassiana* sont très sensibles aux rayons UV. Pour cette raison, il est donc conseillé de faire l'application en fin de journée ou en soirée. Ou bien foliaire par journée nuageuse ou par temps pluvieux. Au cours de l'application il est recommandé de maintenir à peu près de 60 % et plus de l'humidité, donc avec le bon taux humidité, une fois l'insecte infecté mort, le mycélium du champignon, sortira par les différentes sutures présentes sur le corps de l'insecte. Celui-ci prendra l'apparence d'une boule blanche filamenteuse. Si un insecte sain touche à ce mycélium, il pourra s'infecter et en mourir à son tour. (Alors une mauvaise condition ex : faible humidité, température et exposition aux UV peuvent faire en sorte que le mycélium ne se développe pas à l'extérieur de l'insecte contaminé).

Passant à la température, les hautes températures peuvent réduire la viabilité des spores. Les T optimales pour faire votre application sont entre 18 à 29 C°. En dessous de 15 C° le développement des spores est ralenti et au-delà de 33 C°, ils sont inactifs.

Les spores de *B. bassiana* sont hydrophobes et peuvent être difficiles à mélanger avec de l'eau. Il est crucial d'effectuer un pré-mélange selon la bonne technique dans le bon contenant

Chapitre 02 : la lutte biologique

! Cette étape fait toute la différence. Un mauvais pré-mélange produira une augmentation des résidus sur feuillage et les fruits et une concentration inégale de conidies dans votre solution. En préparant le mélange dans un contenant hermétique, par exemple : pot Masson, un mélangeur ou un agitateur de peinture industrielle.

La solution doit être utilisée dès que possible. Une exposition trop longue à la lumière directe ou à une source de chaleur peut tuer les spores avant même de faire l'application. Ne pas conserver la solution pour faire une application le lendemain.

Les spores doivent entrer en contact avec le ravageur ciblé, d'où l'importance d'avoir une couverture foliaire complète. On retrouve principalement les thrips, aleurodes et pucerons sous les feuilles ou sur les bourgeons terminaux.

Il y'a différents méthodes d'application de **BioCeres WP**, peut être utilisé avec différents types de pulvérisateur à haut volume. Il est cependant recommandé d'ajuster sa pulvérisation pour avoir une bonne couverture et réduire les risques de ruissellement sur le feuillage. Avec un nettoyage important de pulvérisateur après chaque utilisation car on peut tuer les spores de *B. bassiana* avant même de les appliquer.

B.bassiana est compatible avec la majorité des agents de lutte biologique et avec plusieurs pesticides. De plus, plusieurs études ont démontré que l'utilisation de champignon entomopathogènes en combinaison avec des agents de lutte biologique permettait d'avoir un contrôle plus adéquat, et ce plus longtemps (<https://anatisbioprotection.com/>) (**Figure 21**).



Figure 21 : pesticide à base de *Beauveria bassiana* (<https://anatisbioprotection.com/>)

Par exemple, une étude d'**Y. Norouzi (2011)**, a démontré que l'utilisation du champignon et de la guêpe parasitoïde *Aphidius matricariae* contre le puceron vert du pêcher (*Myzus persicae*) avait une efficacité supérieure en combinaison que l'utilisation simple de l'un ou l'autre (**Figure 22**).



Figure 22: Puceron vert du pêcher, *Myzus persicae* (<https://www.bio-en-ligne.com/images/insectes/homopteres/puceron-vert-myzus-persicae.jpg>)

CHAPITRE 03



Article

Effect of *Beauveria bassiana*-Seed Treatment on *Zea mays* L. Response against *Spodoptera frugiperda*

Laiju Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty¹, Fernando H. Ferrara-Rivero², Patricia Tamez-Guerra¹ , Ricardo Gomez-Flores¹, María Cristina Rodríguez-Padilla¹ and María Julissa Ek-Ramos^{1,*}

¹ Departamento de Microbiología e Inmunología-Laboratorio de Inmunología y Virología, Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Autónoma de Nuevo León, UANL, San Nicolás de los Garza, Nuevo León 66455, Mexico; laiju.kuzhuppillymyalpr@uanl.edu.mx (L.K.-P.); patricia.tamezgr@uanl.edu.mx (P.T.-G.); ricardo.gomezfl@uanl.edu.mx (R.G.-F.); cristina.rodriguezpd@uanl.edu.mx (M.C.R.-P.)

² Rancho La Verdad, Hacienda Ramírez, General Terán, Nuevo León 67405, Mexico; fferrara@hexagonosmexicanos.com

* Correspondence: maria.ekramos@uanl.edu.mx; Tel.: +52-(81)-8329-4115 (ext. 6435); Fax: +52-(81)-8352-4212



Citation:

Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, L.; Ferrara-Rivero, F.H.; Tamez-Guerra, P.; Gomez-Flores, R.; Rodríguez-Padilla, M.C.; Ek-Ramos, M.J. Effect of *Beauveria bassiana*-Seed Treatment on *Zea mays* L. Response against *Spodoptera frugiperda*. *Appl. Sci.* **2021**, *11*, 2887. <https://doi.org/10.3390/app11072887>

Academic Editor:
Spiridon Mantzoukas

Received: 17 December 2020
Accepted: 9 February 2021
Published: 24 March 2021

Publisher's Note: MDPI stays neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.



Copyright: © 2021 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Abstract: *Spodoptera frugiperda* is a widely distributed insect pest that causes major economic losses in various crops, particularly maize. On the other hand, *Beauveria bassiana* is an entomopathogenic fungus that establishes symbiotic associations with many plants and contributes to tolerance against biotic and abiotic stresses. In the present work, in laboratory experiments, the effects of the *B. bassiana* strain GHA, in addition to a native strain (PTG4), delivered via seed treatment in maize seedlings, were evaluated on *S. frugiperda* growth, development, and mortality. We inoculated maize seeds with 1×10^6 *B. bassiana* blastospores; then these seeds were germinated and grown to seedlings under growth chamber conditions. Third-instar *S. frugiperda* larvae were allowed to feed on *B. bassiana*-treated and -untreated (negative control) seedlings until reaching the sixth instar and transferred to an artificial diet until reaching adult stage. Results showed that larvae feeding on *B. bassiana* strain PTG4-treated plants prolonged their larval stage. Furthermore, feeding on plants treated with *B. bassiana* strains yielded fewer *S. frugiperda* male moths compared with feeding with the untreated control plants. Under field conditions, 1×10^6 (first trial) and 1×10^8 (second trial) of *B. bassiana* (GHA strain) blastospores were used for corn seed inoculation. In the first field trial, there were a higher number of larvae in the negative control plants compared to those in the plants treated with *B. bassiana*. No larvae were found in negative control and *B. bassiana*-treated plants in the second field trial. In conclusion, seed treatment with *B. bassiana* in maize reduced *S. frugiperda* infestation of maize plants in field trials. *S. frugiperda* development was also affected in laboratory trials.

Keywords: *Beauveria bassiana*; biological control; entomopathogenic fungi; *Spodoptera frugiperda*; *Zea mays*

1. Introduction

Worldwide, about an 18–26% reduction in crop production is due to insect pests, which mostly occurs in the fields before harvest [1]. The Fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (JE Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), from the tropical and subtropical zones of America [2], is a catastrophic insect pest of economic importance [3]. This voracious insect has a polyphagous feeding nature in more than 80 host species, including many commercial crops such as maize, cotton, rice, soybean, bean, and other crops from the Gramineae family [3–5]. Until 2015, damage due to *S. frugiperda* was reported only in America [6], but in the last few years, attacks have been reported in other parts of the world [5]. In late 2016 they were reported in Southern, Eastern, and Northern parts of Africa [6], which briskly expanded across the continent and, by late 2018 they were confirmed in almost 44 African countries [3]. By 2018, the presence of this insect pest was confirmed in Yemen and India,

1- Matériel et méthode

1-1- Souches d'insectes, de plantes et de champignons pour les essais en laboratoire

Colonie d'insectes : Les œufs de *Spodoptera frugiperda* ont été aimablement offerts par José Refugio Lomelí-Flores (Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, Estado de México, México). Ils ont été soigneusement placés dans des bouteilles en plastique de 700 ml et conservés dans la salle d'élevage dans des conditions contrôlées (température $27\text{ C}^\circ \pm 3\text{ C}^\circ$, humidité $60\% \pm 5\%$, et photopériode 14 h lumière : 10 h d'obscurité) jusqu'à l'éclosion. Les nouveau-nés ont ensuite été transférés dans des coupes alimentaires individuelles contenant 5 mL de régime artificiel modifié à base de germes de blé (Mc Guire, 1997). Comme source de nourriture. Ce régime était remplacé lorsque nécessaire pour éviter la dessiccation. Pour réaliser les tests biologiques, nous avons utilisé larves de *Spodoptera frugiperda* appartenant à la deuxième génération de laboratoire.

Plantes : Des plantes *Zea mays* ont été utilisées dans cette étude. Les semences de *Zea mays* Chalqueño ont été obtenues au près du Centro Internacional de Mejoramiento de Maíz y Trigo (CIMMYT) et de Verónica Garrocho-Villegas, Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), México.

Souches fongiques: Souche GHA de *B. bassiana*, obtenue commercialement sous le nom de Botanigard®22WP et souche PTG4, (numéro d'accession GenBank KC759730.1, isolée de *Periplaneta americana*) aimablement fournie par Patricia Tamez, de l'Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), México ont été stockés à -80 C° dans un congélateur So-Low Ultra (Environmental Equipment, Cincinnati, OH, USA).

1-2- Inoculation de semences de *Z. mays* avec *B. bassiana*

Les souches de *B. bassiana* ont été activées en étalant les cultures mères sur de l'agar dextrose de pomme de terre (PDA, BDDifco, México) et incubé dans l'obscurité à $25\text{ C}^\circ \pm 2\text{ C}^\circ$ pendant 1 semaine. Pour obtenir une culture monosporique, une seule colonie sélectionnée a été inoculée dans une fiole Erlenmeyer de 500 mL, contenant 200 mL de bouillon dextrose de pomme de terre (PDB, BD Difco) et maintenue à $25\text{ C}^\circ \pm 2\text{ C}^\circ$ sur un agitateur rotatif automatique (Orbit1900, Labnet, México), à 120 rpm, pendant cinq jours ou jusqu'à la production de blastospores. Le nombre de blastospores a été déterminé dans une chambre d'hématocytomètre et ajustée une concentration de 1×10^6 spores/mL. Méthylcellulose (MC) (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO) a été mélangée aux blastospores pour une fixation adéquate aux graines. La MC a été préparée en dissolvant le réactif dans de l'eau distillée chaude à 35 C° à 40 C° jusqu'à un état pré-gélatinisé (Kuzhuppillymyal et al., 2020). Des graines (20 graines /traitement/ souche) ont ensuite été ajoutées, mélangées uniformément et placées

Chapitre 03 : articles scientifiques

sur une surface plane pour sécher à $25\text{C}^{\circ} \pm 2\text{C}^{\circ}$ pendant 24 h. (CC) comprenaient des graines sans aucun traitement (ni champignons, ni adhérents), et des graines sans champignons mais avec MC (CMC). Les graines MCGHA, MCPTG4, CMC et CC ont été semées individuellement dans un sol commercial (Happy Flower Mexicain). Individuellement dans un sol commercial (Happy Flower Mexicana, S.A. de C.V, Ciudad de México, México) préalablement autoclavé, qui a été contenu dans des gobelets en plastique de 250 mL et conservé à $25\text{C}^{\circ} \pm 2\text{C}^{\circ}$ pendant 10 jrs après la germination.

1-3- Essais biologiques dans des conditions de laboratoire

Chaque larve de troisième stade de *Spodoptera frugiperda* a été soigneusement transférée sur une plante *Z. mays* (âgée de 10 jrs) pour chaque traitement (une larve/plante, pour éviter le cannibalisme) puis recouverte d'un sac à mailles pour éviter les fuites. Les plantes ont été remplacées toutes les 24h. Lorsque les larves ont atteint le sixième stade, elles ont été replacées dans le régime artificiel pour suivre le développement du stade nymphal. Chaque pupa a été examinée sous un stéréoscope (Labomed Stéréomicroscope, Luxeo2S, CA, USA) pour déterminer son sexe, pesée sur une microbalance (**A&D Company Limited, N-92, Tokyo, Japon**), et sa longueur a été mesurée avec une règle scolastique standard. Ensuite, les pupes ont été transférées dans des récipients individuels en plastique (de diamètre 7 cm×16 cm de hauteur, recouverts de sacs à mailles), en séparant les pupes mâles des pupes femelles. Dans la partie inférieure du récipient, un morceau de coton enrobé de sirop de sucre a été fourni comme source de nourriture pour les papillons adultes. Les conteneurs ont été analysés chaque jour pour vérifier l'émergence des adultes. Les pupes ont été maintenues dans les conditions de laboratoire les plus adaptées (température de $25\text{C}^{\circ} \pm 2\text{C}^{\circ}$, humidité relative de $60\% \pm 5\%$, et photopériode lumière et obscurité de 14:12 h). Les paramètres suivants ont été enregistrés :

(a) le nombre de larves initiales, (b) le nombre de larves mortes pendant l'expérience (c) le nombre de larves qui sont restées en tant que larves, même après avoir atteint le sixième stade de développement, (d) le nombre de larves qui sont restées à l'état de pré-pupes, (e) le nombre de larves qui ont atteint le stade de nymphe au moment le plus fréquemment rapporté, (f) le poids des larves avant le retour au régime artificiel, (g) le poids des pupes, (h) la longueur des pupes, (i) sex-ratio pupal.

1-4- Essai sur le terrain : Expérience 1

Des essais sur le terrain ont été effectués dans un champ agricole situé à General Teran, Nuevo Leon, Mexique. Dont la situation géographique est la suivante: 2516000.0 " N 9941000.0" W. Le premier essai a été lancé à la mi-février 2019, en tant que maïs de

début de saison. Les principaux produits agricoles de cette région comprennent les agrumes, le maïs, le sorgho, le blé, le bétail. Dans cette zone les cultures de maïs sont généralement affectées par *Spodoptera frugiperda*, et un programme d'alerte phytosanitaire est mis en place pour les trois cycles de culture du maïs (précoce, intermédiaire et tardif) de la région (pics de *Spodoptera frugiperda* attendus en mars, mai et septembre) (Nuevo León, et al., 2020). Étant donné que les agriculteurs utilisaient normalement *Bacillus thuringiensis* pour les contrôler, aucune inoculation artificielle de *S. frugiperda* n'a été faite dans aucune des expériences de terrain. Un champ d'un hectare a été préparé à l'aide d'un tracteur ; 38 sillons de 100 m de long et 25 sillons de 80 m de long ont été tracés, avec une distance entre les rangs de 80 cm. En utilisant la procédure d'inoculation des graines mentionnée dans la section 2.2, 3300 graines de *Zea mays* de la race "criollomaize" (gracieusement offertes par le propriétaire du champ, sans aucun insecticide ni fongicide) ont été inoculées avec la souche GHA de *B. bassiana*, à une concentration de 1×10^6 blastospores/mL et de méthyle cellulose comme adhésif; 2500 graines ont été utilisées comme témoin négatif sans aucun traitement fongique ou adhésif. Les graines ont été plantées à la mi-février 2019 sur les sillons, avec une séparation de 25 cm entre chaque graine, la distance entre chaque rangée était de 80 cm et dans chaque rangée 100 graines ont été plantées qui ont été surveillées chaque semaine. Les 33 premiers sillons ont été utilisés pour planter les graines traitées par *B. bassiana*, puis 5 sillons ont été laissés sans graines et les 25 sillons restants ont été utilisés pour planter des traitements témoins négatifs.

Dans cette expérience, le pourcentage de germination à la troisième semaine après la plantation a été enregistré. Et la présence de larves de *Spodoptera frugiperda* entre la cinquième et la dixième vraie période foliaire a été surveillée par un dépistage visuel. A part l'arrosage quotidien, ni engrais ni pesticides n'ont été appliqués sur le terrain pendant toute la durée de l'expérimentation.

1-5- Essai sur le terrain Expérience 2

Le deuxième essai sur le terrain a débuté 2019 en tant que maïs de saison intermédiaire. En raison du manque d'espace agricole, les plantes témoins négatives de l'expérience de février ont été nettoyées, et les plantes de *B. bassiana* maïs du premier essai ont été mises de côté jusqu'au moment de la récolte. Nous avons inoculé 500 graines de la race "criollomaize" avec la souche GHA de *B. bassiana* à une concentration de 1×10^8 blastospores/mL (la concentration a été augmentée dans le but d'observer des effets majeurs sur la population de *S. frugiperda* que celle observés dans le premier essai, car une augmentation sur les pics d'insectes était attendue pour le mois de mai) et de la méthylcellulose comme adhésif, et on a

conservé 500 graines comme témoin négatif sans aucun traitement fongique ou adhérent. Les graines ont été plantées comme lors de la première expérience de terrain.

Le pourcentage de germination et la présence de *S. frugiperda* ont été analysés dans l'ensemble du champ, tandis que d'autres paramètres tels que la hauteur des plantes et le nombre de feuilles ont été évalués dans les deuxième et quatrième sillons dans les deux traitements. La germination a été enregistrée au cours de la troisième semaine après la plantation. La hauteur des plantes et le nombre de feuilles ont été enregistrés au cours de la quatrième semaine après la plantation. La présence de *S. frugiperda* a été surveillée entre la cinquième et la dixième période foliaire vraie. Pour évaluer les effets sur le rendement pendant la récolte, cinq épis de maïs de chaque traitement ont été prélevés au hasard, pesés (A&D Company Limited, N-92, Tokyo, Japon), et leurs longueurs ont été mesurées avec une règle scolaire normale.

1-6- Analyse des données

Avant l'analyse statistique, les valeurs de l'effet de *B. bassiana* sur le pourcentage de germination de la plante *Z. mays*. Et l'effet des plantes traitées par *B. bassiana* sur le pourcentage de chaque stade de développement des larves ont été transformées en arcsine pour normalisation. Les données provenant de trois répétitions biologiques ont été soumises à une ANOVA à sens unique en utilisant le logiciel IBM SPSS Statistiques, version 21. Avant l'ANOVA, toutes les données ont été testées pour de la variance en utilisant le test de Levene. Lorsqu'une valeur F significative était obtenue après l'ANOVA, des tests post-hoc de Duncan à plages multiples ont été effectués. Considérant qu'il n'y avait que deux groupes pour analyser les données de germination de l'essai sur le terrain de l'expérience 1 et les données sur les épis de maïs de l'essai sur le terrain de l'expérience 2.

L'analyse par un test T à échantillon indépendant a été utilisée. Les niveaux de signification ont été calculés par le test de Levene pour l'égalité de la variance. Pour interpréter les changements putatifs de la fréquence des larves de *S. frugiperda* trouvées dans le premier essai sur le terrain, une analyse avec un modèle linéaire généralisé (GLM), ajusté avec une distribution binomiale négative, a été utilisée. La valeur du chi-carré de Pearson > 0,05 a indiqué la bonne adéquation des données. Le test Omnibus avec $p < 0,05$ indiquait des différences significatives. Les résultats du test des effets de modèle de type III ont été rapportés.

2- Résultats

2-1- Effet de *B. bassiana* sur la germination des plantes *Z. mays*

Après 10 jours, les pourcentages de germination des plantes ont été déterminés. Par rapport aux valeurs absolues du contrôle négatif (CC), le contrôle négatif avec seulement la méthylcellulose adhérente (CMC) et les deux traitements avec les souches de *B. bassiana* (MCPTG4 et MCGHA), n'ont montré aucune différence significative ($F_{(3, 11)} = 0,189$, $p = 0,901$) entre eux dans la germination des graines de *Z. mays* (Figure 10).

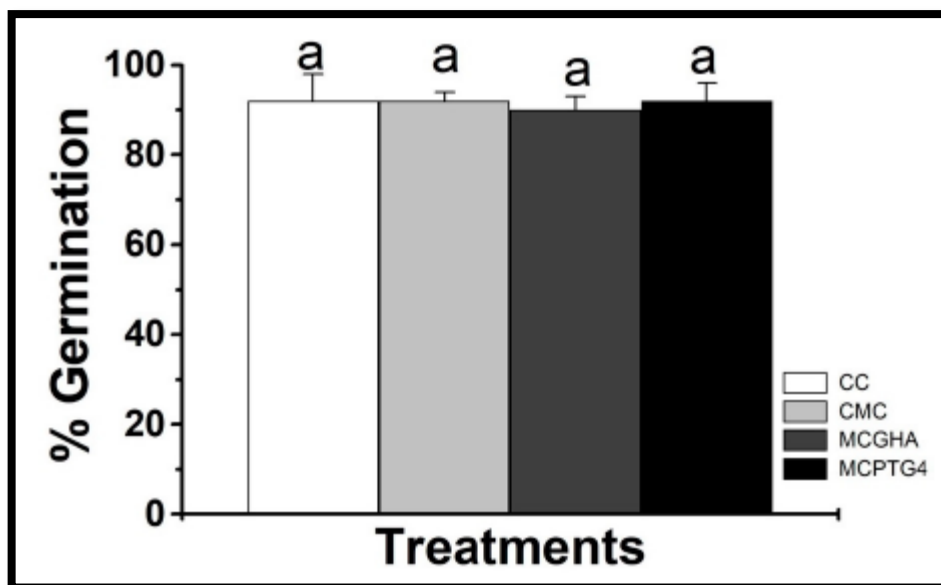


Figure 10. Pourcentage de germination des plants de *Zea mays* après 10 jrs de semis avec les différents traitements.

CC : Contrôle négatif, CMC : Contrôle négatif avec seulement de la méthylcellulose, MCPTG4 : Souche PTG4 du champignon *B. bassiana* avec de la méthylcellulose, MCGHA : Souche GHA de *B. bassiana* avec de la méthylcellulose.

Analyse effectuée avec le test post hoc de Duncan à plages multiples ($\alpha = 0,05$) après ANOVA à sens unique. Les barres graphiques avec les mêmes lettres indiquent qu'il n'y avait pas de différences significatives entre elles.

2-2- Effet des plantes traitées par *B. bassiana* sur les stades de développement de *S. frugiperda*

Le développement de la survie et la mortalité des larves de *S. frugiperda* nourries sur des plantes non traitées de *Z. mays* et de plantes *Z. mays* traitées par *B. bassiana* sont présentés dans le **tableau 2**. Chaque expérience a commencé avec 10 larves par traitement, sauf dans le cas de CMC qui avait 11 larves. Le pourcentage final a été calculé sur la base du nombre de larves restantes après que certaines se soient échappées pendant les expériences. Les larves de

Chapitre 03 : articles scientifiques

S. frugiperda nourries sur les plantes traitées avec la souche PTG4 de *B. bassiana* ont connu des changements marqués dans leur cycle de vie. L'analyse statistique avec ANOVA à sens unique a montré des différences significatives dans les valeurs moyennes de pourcentage ($F_{(3, 11)} = 20,657$, $p < 0,001$) des larves qui sont restées à l'état de larve pendant l'expérience et des pupes ($F_{(3, 11)} = 5,170$, $p = 0,028$). Cependant, il y avait aucune différence significative entre le nombre de larves mortes ($F_{(3, 11)} = 0,88$, $p = 0,491$) et le nombre de pré-pupes observées ($F_{(3, 11)} = 1,381$, $p = 0,317$).

Tableau 2. Effets de l'alimentation sur des plantes traitées par *Beauveria bassiana* sur les stades de développement de *S. frugiperda*.

Stages	CC (30 Larvae)	CMC (33 Larvae)	MCPTG4 (30 Larvae)	MCGHA (30 Larvae)
Initial larva	100% ^a * (30/30)	100% ^a (33/33)	100% ^a (30/30)	100% ^a (30/30)
Dead larva	6.67% ^a (2/30)	3% ^a (1/33)	7.410% ^a (2/27)	0 ^a
Still larva	3.33% ^a (1/30)	3% ^a (1/33)	22% ^b (6/27)	0 ^a
Prepupa	6.67% ^a (2/30)	3% ^a (1/33)	7.41% ^a (2/27)	0 ^a
Pupa	83.33% ^{a,b} (25/30)	91% ^{a,b} (30/33)	62.96% ^a (17/27)	100% ^b (22/22)

Les valeurs suivies des mêmes lettres ne sont pas significativement différentes et celles avec des lettres différentes sont significativement différentes après avoir exécuté le test de gamme multiple post-hoc de Duncan ($p = 0,05$). CC = Contrôle négatif sans aucun traitement ni adhérent ni champignons, CMC = Contrôle négatif avec uniquement de la méthylcellulose, MCPTG4 = Méthylcellulose avec la souche PTG4 de *B. bassiana*, MCGHA = Méthylcellulose avec la souche GHA de *B. bassiana*. Plusieurs larves se sont échappées: trois larves dans le traitement MCPTG4 et huit larves dans le traitement MCGHA.

Les larves de sixième stade de *S. frugiperda* se nourrissent sur les plantes traitées et non traitées par *B. bassiana* ont été pesées avant de les remettre dans l'alimentation artificielle. Les données ont montré que les larves nourries sur des plantes traitées avec la souche PTG4 de *B. bassiana* pesaient significativement ($F_{(3, 48)} = 4,813$, $p = 0,005$) différent de celui des autres traitements (**Figure 11**). Le poids des pupes de *S. frugiperda* a présenté une différence significative ($F_{(3, 97)} = 3,753$, $p = 0,014$) entre les larves nourries sur des plantes traitées par la souche GHA de *B. bassiana*, les témoins négatifs et les larves nourries avec la souche PTG4 de *B. bassiana* (**Figure 3**). La longueur de la nymphe de *S. frugiperda* a montré une différence

significative ($F_{(3, 98)} = 4,491$ $p = 0,005$) entre les larves nourries sur des plantes traitées par GHA *B.bassiana* et tous les autres traitements (**Figure 13**). Pupes Le sex-ratio a été déterminée en calculant le pourcentage de pupes mâles et femelles observées. Les résultats ont montré une différence significative entre les traitements pour les pupes mâles ($F_{(3, 11)} = 7, 033$, $p = 0,012$) et femelles ($F_{(3, 11)} = 6,088$, $p = 0,018$) développées à partir de larves nourries sur des plantes traitées avec les deux souches de *B. bassiana*. De plus, on a observé un nombre moins élevé de pupes mâles que de pupes femelles (**Figure 14**). En outre, nous avons observé une parthénogenèse apparente, avec des œufs fertiles qui ont donné naissance à des nouveau-nés viables à partir de papillons femelles vierges qui s'étaient nourris de plantes traitées par *B.bassiana*(**Figure 15**), ce qui indique d'importants changements dans la physiologie de *S. frugiperda*, causés par cet entomopathogènes, qui n'ont pas été observés chez les femelles vierges nourries sur des plantes témoins négatives.

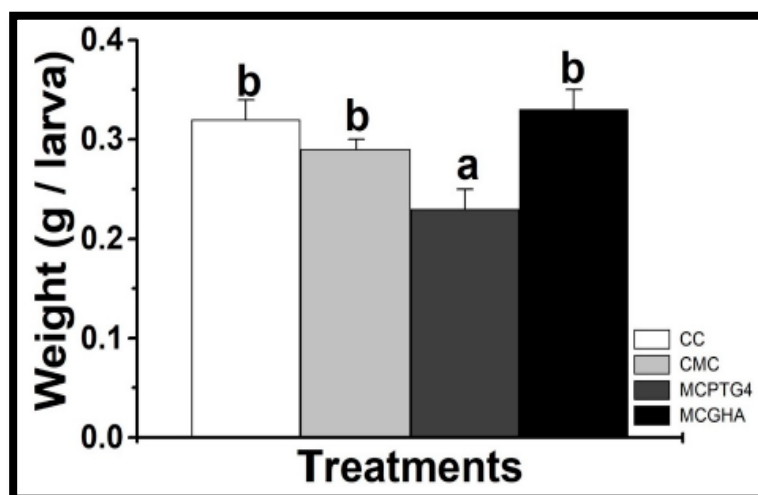


Figure 11 : Poids des larves de sixième stade de *S. frugiperda* après s'être nourries de plantes provenant des traitements spécifiés.

CC : Contrôle négatif, CMC : Contrôle négatif avec seulement de la méthylcellulose, MCPTG4 : Souche PTG4 du champignon *B. bassiana* avec de la méthylcellulose, MCGHA : Souche GHA de *B. bassiana* avec de la méthylcellulose.

Analyse effectuée avec le test post hoc de Duncan à plages multiples ($\alpha = 0,05$) après ANOVA à sens unique. Les barres graphiques avec les mêmes lettres indiquent qu'il n'y avait pas de différences significatives entre elles (**Figure 12**).

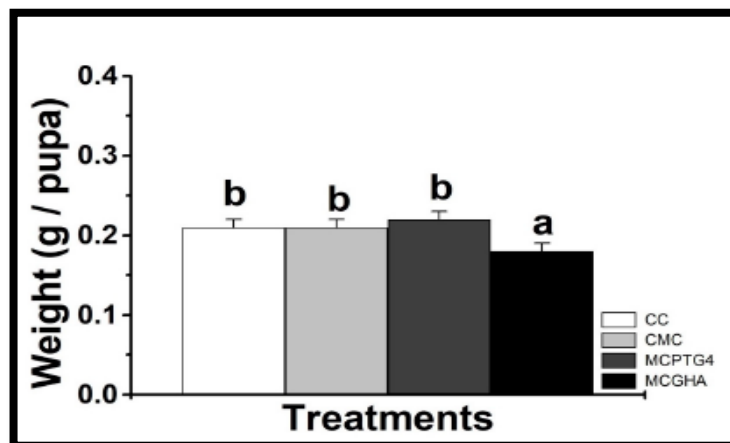


Figure 12 : Poids des pupes de *S. frugiperda* après s'être nourri sur les plantes des traitements spécifiés

CC : Contrôle négatif. CMC : Contrôle négatif avec seulement de la méthylcellulose.
MCPTG4 : Souche PTG4 du champignon *B. bassiana* avec de la méthylcellulose.
MCGHA : Souche GHA de *B. bassiana* avec de la méthylcellulose.

Analyse effectuée avec le test post hoc de Duncan à plages multiples ($\alpha = 0,05$) après ANOVA à sens unique. Les barres graphiques avec les mêmes lettres indiquent qu'il n'y avait pas de différences significatives entre elles (**Figure 13**).

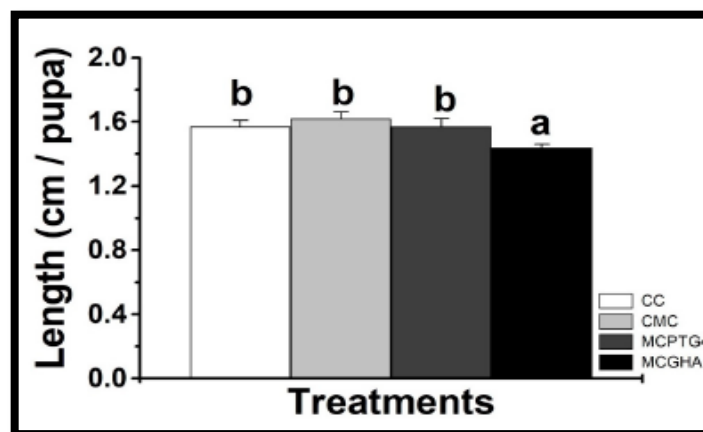


Figure 13 : Longueur des pupes de *S. frugiperda* après s'être nourri sur des plantes traitées avec les traitements spécifiés.

CC : Contrôle négatif, CMC : Contrôle négatif avec seulement de la méthylcellulose.
MCPTG4 : Souche PTG4 du champignon *B. bassiana* avec de la méthylcellulose.
MCGHA : Souche GHA de *B. bassiana* avec de la méthylcellulose.

Chapitre 03 : articles scientifiques

Analyse effectuée avec le test post hoc de Duncan à plages multiples ($\alpha = 0,05$) après ANOVA à sens unique. Les barres graphiques avec les mêmes lettres indiquent qu'il n'y avait pas de différences significatives entre elles (**Figure 14**).

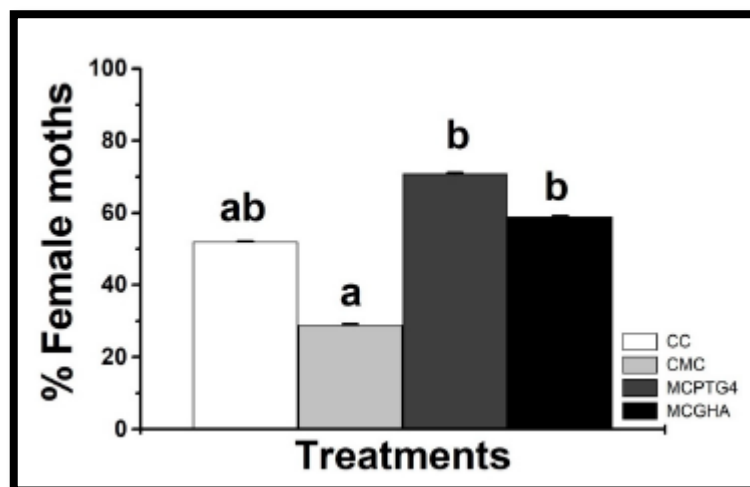


Figure 14 : Distribution en pourcentage des papillons femelles de *S. frugiperda* après s'être nourris sur des plantes traitées avec les différents traitements.

CC : Contrôle négatif, CMC : Contrôle négatif avec seulement de la méthylcellulose.
MCPTG4 : Souche PTG4 du champignon *B. bassiana* avec de la méthylcellulose.
MCGHA : Souche GHA de *B. bassiana* avec de la méthylcellulose.

Analyse effectuée avec le test post hoc de Duncan à plages multiples ($\alpha = 0,05$) après ANOVA à sens unique. Les barres graphiques avec les mêmes lettres indiquent qu'il n'y avait pas de différences significatives entre elles



Figure 15 : Papillon femelle vierge représentative ayant pondu des œufs fertiles montrant une parthénogenèse apparente.

2-3- Essais sur le terrain Expérience 1

Le pourcentage de germination des plants de maïs dans le champ était faible, néanmoins il n'y avait pas des différences significatif ($F_{(5, 57)} = 1,002$ et $p = 0,426$) entre les témoins négatifs et les plantes traitées par *B. bassiana*. Le pourcentage moyen de germination à la troisième semaine après la plantation les graines pour le contrôle négatif et les plantes traitées par *B. bassiana* étaient de $71,5\% \pm 5,4\%$ et de $80,33\% \pm 3,49\%$, respectivement. Le nombre de feuilles par plante à la quatrième semaine après la plantation n'a pas non plus montré de différence significative entre le témoin négatif et les plantes traitées par *B. bassiana* avec $F(5, 57) = 0,928$ et $p = 0,471$. Le nombre moyen de feuilles parla quatrième semaine après la plantation des graines, pour les plantes du témoin négatif et les plantes traitées par *B. bassiana* était de $3,12 \pm 0,22$ et $3,49 \pm 0,09$, respectivement Pour analyser la présence de *S. frugiperda*. Dans les expériences, nous avons inspecté chacune des plantes. Nous avons observé que des larves de *S. frugiperda* de deuxième et troisième stade ont été trouvées dans presque tous les sillons des plantes du contrôle négatif, alors que dans les plantes traitées par *B. bassiana*, elles étaient présentes dans les sillons proches des plantes témoins négatives, et leur nombre était encore plus réduit que dans les plantes témoins négatives et aucune n'était présente dans les 12 derniers sillons des plantes traitées par *B. bassiana*(**Figure 16**).

L'analyse GLM ajustée avec une distribution binomiale négative a montré une valeur de chi carré de Pearson de 0,311, indiquant la bonne adéquation des données. La valeur du test Omnibus de 0,539 indiquait un modèle non statistiquement significatif. Le test de type III des effets du modèle a montré que $p = 0,342$ pour les traitements (CC/GHA). Plusieurs images des stades larvaires trouvés au moment de la collecte des données Fait intéressant, nous avons également observé la présence de divers insectes pathogènes et bénins au cours des expériences qui nécessitent une identification plus approfondie.

2-4- Essais sur le terrain Expérience 2

L'analyse du test T des échantillons indépendants n'a montré aucune différence significative ($F = 0,225$ et $p = 0,648$) dans le pourcentage de germination dans les cinq sillons des plantes témoins négatives (moyenne $91,20\% \pm 2,8$) et les cinq sillons des plantes traitées par *B. bassiana* (moyenne $87,20\% \pm 3,5$). L'analyse du test T sur échantillon indépendant n'a montré aucune différence significative dans le nombre de feuilles et la hauteur des plantes. Le nombre moyen de feuilles des témoins négatifs et des plantes traitées par *B. bassiana* la troisième semaine après la plantation des graines était de $5,20 \pm 0,055$ et $5,23 \pm 0,054$, respectivement. La hauteur moyenne des plantes pour les témoins négatifs et les plantes traitées par *B. bassiana* était de $12,04 \pm 0,16$ cm et $12,36 \pm 0,15$ cm, respectivement. Dans cet

Chapitre 03 : articles scientifiques

essai, les larves de *S. frugiperda* n'ont pas été détectées, ni dans les plantes du contrôle négatif ni dans les plantes traitées par *B. bassiana*, au moment de la collecte des données. L'analyse du test T des échantillons indépendants n'a pas montré de différence significative. Entre les témoins négatifs et les plantes traitées par *B. bassiana* en ce qui concerne la longueur des épis de maïs avec $F= 0,006$ et $p= 0,937$. Alors aucune différence significative dans le poids des épis de maïs n'a été observée. ($F = 0,048$ et $p = 0,831$) (**Tableau3**). Bien que les nombres n'aient pas été enregistrés au moment de la récolte, on a observé la présence de plus de deux épis de maïs par plante dans les plantes traitées par *B. bassiana*, par rapport aux plantes du témoin négatif (**Figure:16**).

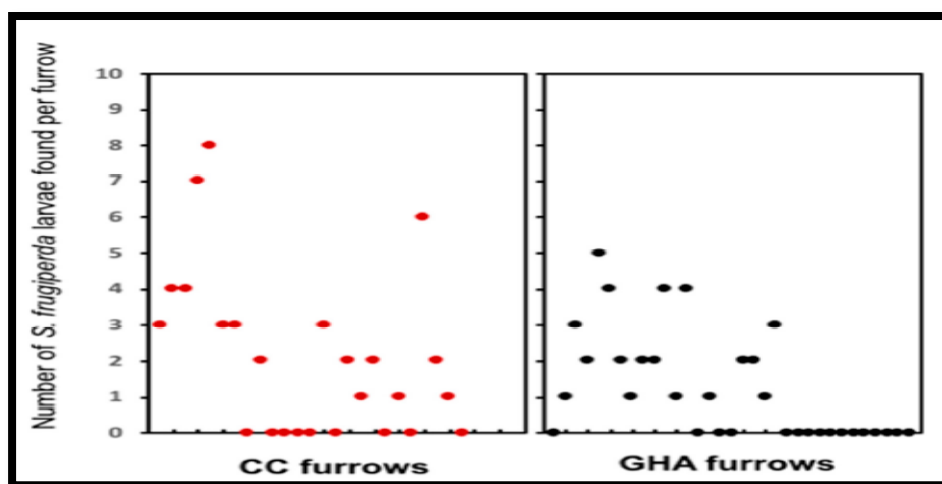


Figure16 : Présence de *S. frugiperda* dans l'essai en champ de l'expérience 1.

On a trouvé 52 larves au total dans les sillons CC et 40 larves totales dans les sillons GHA. Comme la distribution des insectes semble être liée à l'emplacement des plantes, la fréquence des larves trouvées par sillon est présentée, 25 sillons CC= Plantes témoins négatives. 33 sillons GHA = Souche GHA de *B. bassiana* avec des plantes traitées à la méthylcellulose. L'analyse GLM ajustée avec une distribution binomiale négative a montré une valeur du chi carré de Pearson de 0,311, indiquant la bonne adéquation des données. La valeur du test Omnibus de 0,539 indiquait un modèle non statistiquement significatif. Le test de type III des effets du modèle a montré que $p= 0,342$ pour les traitements (CC/GHA).

Tableau 3. Poids et longueur moyens des épis de maïs obtenus au moment de la récolte.

Parameters	CC	MCGHA
Average weight of fresh corn cob in g	209.15 ± 26.11	183.43 ± 24.65
Average length of fresh corn cob in cm	18.20 ± 0.74	16.71 ± 0.75

3- Discussions

D'après Laiju et ses collaborateurs, toutes les expériences ont été réalisées en utilisant des cultures fraîches de souches de *B. bassiana* provenant de Stocks congelés, compte tenu des rapports antérieurs indiquant d'importantes corrélations entre le nombre de repiquages et la stabilité des paramètres génétiques et physiologiques de *B. bassiana* (Kary et Alizadeh, 2017). Dans la germination, la conidiation et la virulence (Jirakkakul *et al.*, 2018).

La fabrication et la formulation sont les éléments décisifs du succès d'un champignon entomopathogène, comme agent de bio-contrôle commercial. La fermentation sur substrat solide pour les conidies aériennes et la fermentation en culture liquide pour les blastospores sont des méthodes typiques pour leur production massive. Bien que les conidies aériennes contiennent les principaux ingrédients actifs en tant que agents de lutte biologique, elles nécessitent des semaines de sporulation et de fermentation, ce qui est réduit par l'utilisation de blastospores. Ils ont utilisés des blastospores dans leurs études car elles tolèrent le séchage et restent viables après un stockage à long terme (Mascarin *et al.*, 2015). Pour assurer la viabilité des blastospores et stabilité lors de l'exposition à la lumière directe du soleil ou aux rayons ultraviolets, ils ont découvert que la méthylcellulose peut être utilisée pour fabriquer des formulations de blastospores (Rondot *et al.*, 2018 ; Kaiser *et al.*, 2019).

Actuellement, les méthodes de pulvérisation foliaire, de trempage des plantes, d'injection dans la tige, d'enrobage des semences, et de l'arrosage des racines ou du sol ont été utilisées pour inoculer les cultures artificielles des champignons entomopathogènes dans différentes plantes (McKinnon *et al.*, 2017). Ont signalés que l'enrobage des graines et les traitements foliaires ont été utilisés dans la plupart des essais biologiques publiés pour l'inoculation artificielle. Certaines études sont démontrés que les feuilles sont des passages libres pour l'entrée des champignons entomopathogènes et la colonisation des plantes (Qayyum *et al.*, 2015 ; Posada *et al.*, 2007). Cependant, la colonisation endophytique efficace de ces champignons dépend des facteurs tels que l'âge de la plante, les espèces fongiques, les méthodes d'inoculation et l'exposition à la lumière directe du soleil et à la pluie, entre autres. Diverses études montrent que *B. bassiana* ne maintient pas sa survie et sa viabilité après une exposition à la lumière directe du soleil ou aux rayons ultraviolets (Kaiser *et al.*, 2019 ; Inglis *et al.*, 1995). Néanmoins, diverses études ont montré que la formulation avec des substances naturelles permet de surmonter cet obstacle (Kaiser *et al.*, 2019 ; Fernandes *et al.*, 2015 ; Kim *et al.*, 2019). Dans la présente étude, ils ont utilisé une méthode d'enrobage de graines de méthylcellulose pour viser colonisation efficace des graines de *Z. mays* et maintenir la viabilité et peut-être la virulence de blastospores de *B. bassiana*.

Le pourcentage de germination de *Z. Mays* dans tous les traitements, y compris les contrôles négatifs, n'a pas montré de différences dans les conditions de terrain et de laboratoire, par conséquent ni le champignon ni l'adhérent n'ont affecté la germination, ce qui concorde avec les résultats rapportés par Jaber et Enkerli (**Jaber et Enkerli, 2016**) qui ont montré que ni *B. bassiana* ni *M. brunneum* n'ont altéré la germination des graines de *V. faba*. En revanche, Russo *et al.* (**Russo *et al.*, 2019**) ont signalé une augmentation de la germination des graines de *Z. Mays* traitées par *B. Bassiana*. Des résultats antérieurs dans leur laboratoire ont démontré que *B. bassiana* et la méthylcellulose n'ont pas d'effets inhibiteurs sur la germination de *Z. Mays* (**Kuzhuppillymyal *et al.*, 2020**).

Ils ont analysé l'effet des traitements des semences de maïs par *B. Bassiana* GHA et une souche native (PTG4) dans des conditions de laboratoire sur la physiologie de *S. frugiperda*. Ils ont observé qu'un petit pourcentage de larves est mort, sans aucune différence significative entre les larves alimentées avec des plants de maïs non traités et traités par *B. bassiana*. Ils n'ont pas observé d'excroissance fongique à partir des cadavres de *S. frugiperda*. Par conséquent, les larves n'ont probablement pas été en contact direct avec les blastospores de *B. bassiana*.

Il n'a pas été possible de déterminer la présence de *B. bassiana* dans les tissus végétaux utilisés pour nourrir, puisqu'il ne restait pas de matériel végétal après que les larves aient été nourries. Cependant, dans leurs études précédentes, ils ont trouvé *B. bassiana* comme endophyte dans des plantes *Zea mays* qui ont poussé après des traitements de graines de *B. Bassiana* méthylcellulose (**Kuzhuppillymyal *et al.*, 2020**). Une perspective de cette étude est d'analyser le microbiote des excréments de *S. frugiperda* pour déterminer si *B. bassiana* était présent. D'autre part, ils ont observé que les larves de *S. frugiperda* se nourries sur des plantes traitées avec la souche PTG4 de *B. bassiana* ont vu leur développement considérablement affecté, avec un stade larvaire prolongé, une baisse du poids des larves et un nombre plus faible de pupes. Sur de plus, ils ont observé un nombre élevé de larves échappées qui ont été nourries sur des plantes traitées avec la souche GHA de *B. bassiana* (26,7 %) (**Tableau 3**), et les autres ont montré un déclin de la longueur et du poids des pupes. Vega (**Vega, 2018**) a signalé qu'en ajoutant des cultures de *B. bassiana* au régime alimentaire des insectes, après avoir enlevé les mycéliums, il était possible de réduire le pourcentage et le temps de nymphose était prolongé.

D'autre part, Hassan *et al* (**Hassan *et al.*, 2019**), ont rapporté que des males formations d'adultes se produisaient chez *B. bassiana* les coléoptères de la courge traités. Lopez et Sword (**Lopez et Sword, 2015**) n'ont trouvé aucune différence dans le cas du ver de la

capsule du coton. Et le poids des pupes lorsque les insectes ont été nourris avec *B. bassiana* et *Purpureocillium lilacinum* plantes de coton inoculés dans leur essais biologiques, étant donné qu'il s'agissait d'expériences sans choix, il n'y avait pas suffisamment de matériel végétal restant pour analyser et déterminer s'il y avait des préférences alimentaires des larves entre les plantes témoins négatives et les plantes inoculées par *B. bassiana*. Une autre observation importante de cette étude était le rapport adulte mâle/femelle obtenu après le développement des larves nourries sur des plantes *Z. mays* traitées par *B. bassiana*. Ils ont aussi, observé un nombre plus faible de papillons mâles adultes. Il est intéressant de noter que russo *et al* ,ont récemment signalé des différences dans la fertilité, la fécondité et la longévité des femelles de *S. frugiperda* en utilisant des plantes de maïs endophytés avec *B. bassiana* par des traitements de pulvérisation foliaire (Russo *et al.*, 2020). En revanche, ils n'ont pas trouvé de différences significatives dans le sex-ratio de *Helicoverpa gelato* *poen* lors qu'ils ont été nourris sur des plants de soja traités avec *B. bassiana* (Russo *et al.*, 2019). Akutse *et al.* ont observé un nombre plus élevé de mâles émergés dans leur étude avec différentes souches fongiques pour protéger *Vicia faba* et *Phaseolus vulgaris* contre *Liriomyza hui dobrensis* (Akutse *et al.*, 2013).

En outre, ils ont observé une parthénogenèse apparente chez les adultes femelles, mais des études supplémentaires sont nécessaires pour en déterminer la cause, en plus des analyses de la longévité, la capacité de survie, les habitudes alimentaires, ou tout autre changement dans le cycle de vie des larves nées de ces œufs. De plus, Mahmood *et al* (Mahmood *et al.*, 2019) ont rapporté une réduction de la survie et de la fécondité de *Sitobion avenae* après s'être nourri sur des plantes de maïs inoculés avec *B. bassiana*. L'immunité des insectes est influencée par des expositions successives au même agent pathogène et a un effet à long terme sur leur survie (Jensen *et al.*, 2019). D'autres études sont nécessaires pour déterminer si *B. bassiana* affecte les générations successives de *S. frugiperda*. À cet égard, Bamisile *et al* (Bamisile *et al.*, 2019) ,ont signalé que *B. Bassiana* endophyte établi après traitement foliaire des plantes *Citrus limon* ont agi comme un suppresseur de croissance pour trois générations successives de *S. frugiperda*. Et trois générations successives de *Diaphorinacitri*.

Sur la base de leurs résultats de laboratoire, deux essais préliminaires sur le terrain en 2019 ont été réalisés. L'objectif principal était d'analyser l'effet du traitement des graines de la GHA *B. bassiana* sur les populations naturelles de *S. frugiperda*, car ils n'ont pas observé aucune mortalité mais des effets sur la physiologie des insectes et un certain évitement des plantes traitées (tableau 2).

Leur hypothèse était qu'ils observaient un plus petit nombre de larves dans les plantes traitées. Dans l'essai en champ expérience 1, il n'y avait pas de différence significative entre la

germination du contrôle négatif et celle des plantes traitées avec *B. bassiana*, alors qu'il y avait une petite baisse par rapport aux résultats de laboratoire. Cette diminution pourrait être due aux conditions environnementales non contrôlées et au type de semences (race Criollo) qui a été utilisé. Cependant, le pourcentage de germination des plantes *Z.mays* n'a pas été affecté par la présence de *B. bassiana*.

Cette conclusion est contrastée avec l'étude de Russo et al (**Russo et al., 2019**), qui ont rapporté une germination de 77% du contrôle négatif, contre 89 % pour les plants de *Z. Mays* traités par *B. bassiana*. De plus, le nombre moyen de feuilles par plante n'a pas montré de différence significative entre le contrôle négatif et les plantes traitées par *B. bassiana*. Bien qu'il y ait eu une différence non significative dans la fréquence des larves de *S. frugiperda* entre les plantes traitées par *B. bassiana* et les plantes témoins négatives (**Figure 16**), ils ont constaté une légère augmentation du nombre de larves dans les sillons des plantes traitées par *B. bassiana* qui étaient immédiatement proches des plantes témoins négatives. Ce nombre a finalement diminué jusqu'à zéro dans les 12 dernières rangées de plantes traitées par *B. bassiana* qui se trouvaient à seulement 30 mètres des champs de maïs voisins où *S. frugiperda* était présent. Par conséquent, Les insectes ont donc évité de se nourrir sur les plantes traitées. Ces résultats préliminaires qui sont similaires à ceux qu'ils ont observés dans leur bio-essais en laboratoire. (**Figure 16, Tableau 3**). De plus, ils ont voulu tester si une augmentation de la concentration de la souche GHA de *B.bassiana* pouvait avoir un effet sur la croissance des plantes ou la présence d'insectes dans le champ, car un deuxième pic d'insectes *S. frugiperda* était attendu dans la zone d'étude.

Dans le deuxième essai sur le terrain, aucune différence significative n'a été observée en termes de pourcentage de germination et de nombre moyen d'insectes et de feuilles des plantes *Z. Mays* dans les deux traitements, alors qu'une petite augmentation de la hauteur des plantes a été observée avec les plantes traitées par *B. bassiana*. De plus, une augmentation de la germination a été observée, passant de 71,5% (premier essai) chez les plantes témoins négatives à 91,20% (deuxième essai). Et de 80,33% (premier essai) à 87,20% (deuxième essai) chez les plantes traitées par *B.bassiana*. En ce qui concerne le nombre moyen de feuilles par plante, ils ont observé une augmentation de 3,12 (premier essai) à 5,20 (deuxième essai) feuilles par plante dans le contrôle négatif et de 3,49 (premier essai) à 5,23 (deuxième essai) feuilles par plante dans les plantes traitées par *B. bassiana*. Cette différence pourrait être due à l'utilisation d'une concentration plus élevée de blastospores (de 1×10^6 blastospores/mL dans le premier essai à 1×10^8 blastospores/mL dans le deuxième essai) ou au changement des conditions du cycle de culture (intermédiaire). Ces résultats sont similaires à

ceux de Castillo-Lopez et Sword, qui ont indiqué que la hauteur de *Gossypium hirsutum* augmentait en établissant *B. bassiana* comme endophyte dans les plantes (Lopez, Sword, 2015). Dash *et al.*, ont signalé un nombre croissant de feuilles de *P. vulgaris* près un traitement par *B. bassiana* (Dash *et al.*, 2018). Ils ont constaté que la longueur de l'épi de maïs était légèrement supérieure dans les plantes du contrôle négative que dans les plantes traitées par *B. bassiana*. Cependant, la plupart des plantes traitées par *B. bassiana* ont donné plus de deux épis de maïs par plante. Ils n'ont pas trouvé de différence significative dans le poids des épis de maïs entre les traitements, ce qui est en accord avec Hernandez-Trejo *et al.* (Hernandez-Trejo *et al.*, 2019) qui a trouvé que l'application de *Metarhizium robertsii* sur les plantes de maïs n'a pas montré de différence significative dans le rendement en grains par hectare parmi les traitements testés, alors que Russo *et al.* (Russo *et al.*, 2019), ont constaté une augmentation du rendement du maïs après l'application de *B. bassiana* dans des conditions de terrain. Qayyum (Qayyum *et al.*, 2015) a signalé une diminution de la taille des tomates après la colonisation des plantes avec *B. bassiana*. Tous ces résultats contradictoires pourraient être dus à la différence entre les souches de champignons, les espèces de plantes hôtes et les espèces d'insectes, ou même des régions géographiques dans lesquelles les études ont été menées. Ils ont également détecté une forte présence d'insectes bénéfiques (abeilles) par rapport aux insectes pathogènes, bien qu'une identification taxonomique plus poussée soit nécessaire. Par conséquent, cela indique que les traitements utilisés n'ont pas affecté l'écosystème présent dans ce champ expérimental. En outre, le fait le plus pertinent dans le deuxième essai en champ, été qu'ils n'ont pas observé aucune larve de *S. frugiperda*, ni dans les plantes témoins négatives ni dans les plantes traitées par *B. bassiana*, pendant la période d'étude. Ces résultats dans les deux essais semblent confirmer leur hypothèse d'un évitement putatif des insectes. Hernandez-Trejo *et al.*, ont signalé que *Metarhizium robertsii* a réduit l'incidence de *S. frugiperda* de 41,3% à 2,8% lors de la première application et de 17,4% à 8,3% lors de la seconde application sur des plantes de maïs (Hernandez-Trejo *et al.*, 2019). Cependant, leurs résultats nécessitent plus d'expériences sur le terrain pour comprendre les mécanismes liés à ces résultats. Ces deux essais préliminaires sur le terrain doivent être répétés au moins dans deux ans. Dans les études futures, ils devraient prendre en compte les rapports récents indiquant que *B. bassiana* et *Muscodorviti* genus peuvent produire de la naphthaline comme répulsif potentiel pour les insectes (Daisy *et al.*, 2002 ; Crespo *et al.*, 2002). Ils devraient également considérer l'effet des entomopathogènes endophytes sur la production de kairomones par le colon et par les plantes colonisées, car ces composés sont des signaux chimiques utilisés par les insectes pour se localiser (Vega, 2018).

Le deuxième article



Article

Virulence Screen of *Beauveria Bassiana* Isolates for Australian *Carpophilus* (Coleoptera: Nitidulidae) Beetle Biocontrol

William Boston ^{1,*}, Diana Leemon ² and John Paul Cunningham ^{1,3}

¹ Agriculture Victoria Research, AgriBio Centre for AgriBiosciences, 5 Ring Road, Bundoora 3083, Australia; paul.cunningham@agriculture.vic.gov.au

² Queensland Department of Agriculture and Fisheries Ecosciences Precinct, 41 Boggo Road, Dutton Park 4102, Australia; Diana.Leemon@daf.qld.gov.au

³ School of Applied Systems Biology, La Trobe University, Melbourne 3086, Australia

* Correspondence: will.boston@agriculture.vic.gov.au

Received: 27 July 2020; Accepted: 14 August 2020; Published: 17 August 2020



Abstract: *Carpophilus* beetles are serious pests of Australian fruit and nut crops, causing significant damage through adult and larval feeding and vectoring plant diseases. Six strains of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* ((Balsamo) Vuillemin; Hypocreales: Cordycipitaceae), isolated from a range of hosts in Australia, together with one commercial strain, were screened for virulence to adult and larval stages of *Carpophilus* attacking stone fruits (*C. davidsoni* (Dobson)) and almonds (*C. truncatus* (Murray)) under laboratory conditions. The two species differed significantly in their susceptibility to the *B. bassiana* isolates. In the adult beetle assay, *C. truncatus* had a maximum Abbott's control corrected mortality of 19% when treated with the most effective isolate, B54, compared to 52% for *C. davidsoni*. In larval bioassays, mortality rates for the two species were generally higher than adults: four isolates caused greater than 80% mortality in *C. davidsoni*; while only one isolate was considered effective against *C. truncatus* (causing 73% mortality), all other isolates caused less than 40% mortality. The results indicate promising potential for *B. bassiana* to be applied as a biopesticide as part of an integrated pest management strategy, which might take the form of a soil application against larvae or an autodissemination program using adult beetles.

Keywords: *Carpophilus* beetle; entomopathogenic fungi; *Beauveria Bassiana*; biological control

1. Introduction

Almonds and stone fruits are high value crops in Australian domestic and international markets. In the 2019/20 season, Australia produced 104,437 tonnes of almond kernels, with an export value of A\$772.6 million [1], in the 2018/19 season 23,013 tonnes of stone fruit worth over A\$88 million [2]. *Carpophilus* beetles can cause significant levels of economic damage to fruit and nut produce, both through direct adult and larval feeding and through vectoring bacterial and fungal rot [3]. *Carpophilus truncatus* has recently emerged as the primary insect pest of Australian almonds, with reports of up to 10% loss of kernels and loss to revenue that can exceed A\$20 million annually [4]. *Carpophilus davidsoni* is an Australian pest of stone fruit crops that can cause considerable loss of revenue through pre-harvest damage to ripening fruits and increased post-harvest spoilage [5,6].

The control of *Carpophilus* beetles in orchards utilises integrated pest management (IPM), employing a toolkit of complimentary management practices that work in combination to lower population levels to below target thresholds for economic damage [7,8]. Population suppression of *C. truncatus* follows an IPM strategy that relies on orchard hygiene, with labour intensive destruction of residual "mummy" nuts (nuts that remain on the tree after harvest) as one of the most important factors [4].

1-Matériels et méthode

1-1- Insectes

Des coléoptères *Carpophilus truncatus* adultes ont été collectés dans des vergers d'amandiers à Robinvale, Victoria entre novembre 2015 et mars 2016, et maintenu en culture sur un régime de tourteau de soja, tourteau d'amande et du sucre. Des coléoptères *Carpophilus davidsoni* ont été récoltés dans des vergers de pêchers à Invergordon, Victoria en Février et mars 2016.

La culture de *C. davidsoni* a été maintenue sur un régime composé de germe de blé, levure de bière, gélose et eau additionnée de mélange de vitamines Vanderzant pour insectes. Toutes les cultures ont été maintenues dans des armoires à environnement contrôlé (25 C°, 16: 8 lumière: foncé, 40% HR). Pré-nymphose les larves ont été séparées et conservées dans des conteneurs de vermiculite humide ou utilisées dans des essais. Adultes jusqu'à une semaine après l'éclosion ont été prélevés dans des conteneurs de vermiculite pour être utilisés dans des essais biologiques. Le sex-ratio des cultures de coléoptères a été déterminée par identification visuelle de la morphologie externe mâle dans dix échantillons de dix coléoptères chacun : un sex-ratio mâle-femelle de 50 % a été observé dans toutes les cultures.

1-2- Isolats fongiques

Sept isolats de *B. bassiana* ont été criblés dans cette étude. La souche commerciale Velifer® (Plant Protection Research Institute (PPRI) 5339) est le seul produit disponible en Australie et a été fourni par BASF (VIC, Australie). Les isolats non commerciaux ont été fournis par le Queensland Department of Agriculture and Fisheries (QLD, Australie) et ont accédé au pathogène de Brisbane herbiers (BRIP).

Les détails de ces isolats sont donnés dans le **tableau 4**.

Tableau 4. Détails des isolats de *Beauveria bassiana* sélectionnés contre *Carpophilus* sp.

	Identification	BRIP Accession/ PPRI Registration	Isolate Host	Date Isolated	% Germination ± SE ¹
B37	<i>B. bassiana</i>	61,370	<i>Musca domestica</i>	September 2006	97.8 ± 0.26cd
B47	<i>B. bassiana</i>	61,378	<i>Aethina tumida</i>	October 2009	99.3 ± 0.15e
B48	<i>B. bassiana</i>	69,570	<i>Kushlerorhynchus macadamiae</i>	January 2016	97.1 ± 0.31bc
B49	<i>B. bassiana</i>	69,571	<i>Paropsisterna tigrinia</i>	2015	94.2 ± 0.54a
B50	<i>B. bassiana</i>	69,572	<i>Kushlerorhynchus macadamiae</i>	July 2017	94.5 ± 0.39a
B54	<i>B. bassiana</i>	70,673	<i>Alphitobius diaperinus</i>	May 2018	96.1 ± 0.28b
Vel	<i>B. bassiana</i> Trade name "Velifer®"	PPRI 5339	<i>Conchyloctenia punctata</i>	n/a	98.4 ± 0.19d

¹ Germination rates are means of replicates ± SEM. Treatment means followed by different letters indicate significant difference ($p < 0.05$) through generalised linear model (GLM) binomial regression analysis.

Tous les isolats fongiques ont été cultivés sur de la farine d'avoine plaques de gélose pendant 2-3 semaines à 25C° 14:10 (L:D). Les plaques de sporulation ont été séchées sur gel de silice dans un dessiccateur pendant 3 jours, après quoi les spores sèches ont été grattées dans des flacons stériles séparés et stockées à 4 C°. Suspensions de spores ont été préparées pour chaque répétition de chaque jour de l'expérimentation un nouveau flacon de spores sèches. Les spores de chaque isolat fongique ont été mises en suspension dans du Tween 80 stérile à 0,05%, numéroté avec un hémocytomètre amélioré Neubauer et ajusté à 10^7 conidies/mL.

La viabilité des spores dans chaque suspension a été évaluée pour chaque isolats en étalant 100 µl de 10^7 conidies/mL suspension de spores à la fin de chaque essai, sur des plaques de PDA et en incubant à 25C° pendant 18 h. Conidies étaient considérés comme ayant germé lorsque la longueur du tube germinatif était supérieure à la largeur des spores. Les 100 premières spores observées ont été comptées, elles ont été répliquées quatre fois dans différents champs de vision. Seuls les essais avec un taux de germination supérieur à 90% ont été considérés comme valides.

Les taux de germination sont des moyennes de répétitions \pm SEM. Les moyens de traitement suivis de lettres différentes indiquent différence ($p < 0,05$) grâce à une analyse de régression binomiale du modèle linéaire généralisé (GLM).

1-3- Essai biologique adulte

Des suspensions de spores (10^7 conidies/ml) dans du Tween 80 stérile à 0,05 % ont été préparées pour chaque champignons isolats, et une aliquote de 0,5 mL a été ajoutée à un tube Eppendorf de 1,5 mL avant qu'un seul coléoptère adulte ne soit immergé pendant 10 s. Les coléoptères ont été doucement retirés de la suspension avec une anse stérile et séchés sur papier filtre pendant 1 min avant transfert dans une coupelle d'incubation de 30 mL (3 cm \varnothing , 4 cm h) avec un plastique perforé couvercle recouvert d'un disque de papier filtre humidifié stérile et fourni avec une petite quantité de produits spécifiques à l'espèce diète. Chaque coupe contenait 20 insectes de sexes mélangés. Les coléoptères témoins ont été immergés dans Tween 80 stérile à 0,05%.

Les traitements ont été disposés aléatoirement dans des plateaux (28 \times 24 cm) et incubés en continu dans l'obscurité à 24 C° \pm 1 et 50-60% HR. 100 µl de dH 20 ont été ajoutés tous les deux jours pour maintenir l'humidité et le régime ont été donnés ad libitum. La mortalité a été évaluée quotidiennement pendant 15 jrs. Les scarabées morts étaient identifiés par le positionnement rigide de leurs jambes et l'incapacité de répondre au soufflage d'air. Des cadavres de tous traitements dont le témoin ont été stérilisés en surface dans de l'éthanol à

80% pendant 5s, rincés à l'eau distillée deux fois et incubé dans des boîtes de Pétri scellées de 90 mm contenant de la gélose à l'eau à 1,5% modifiée avec 0,01% du chloramphénicol ou du papier filtre stérile humidifié. La vérification de la mycose a été effectuée après 5 jrs par observation des hyphes au stéréo microscope. La mycose n'était comptée que si la croissance des hyphes était caractéristique de *B. bassiana* (croissance filamenteuse blanche et touffes de spores sphériques). Chaque réplikat contenant 20 coléoptères a été répété 3 fois pour tous les isolats fongiques. Toute l'expérience a été répliquée sur trois jrs distincts (180 insectes par isolat). L'ordre de chaque souche chaque jour et les espèces de coléoptères ont été sélectionnées au hasard.

1-4- Essai biologique larvaire

Des suspensions de chaque isolat fongique ont été préparées comme décrit ci-dessus à la concentration la plus faible de 10^6 conidies/mL dans du Tween 80 stérile à 0,05% et 2 mL de chaque suspension d'isolat ont été mélangés avec 2g de vermiculite dans un gobelet en plastique de 30 mL (3 cm, 4 cm h) avec un couvercle en plastique perforé. Dix derniers stades des larves « stade errant » ont été ajoutées à chaque coupe, comprenant un réplikat. Cinq répétitions ont été complétées chaque jrs et répété sur trois jrs différents. Les traitements témoins contenaient 2 mL de Tween 80 stérile à 0,05%. Les traitements ont été disposés au hasard dans des plateaux (28 × 24 cm) et incubés à 25 C°, 50-60% d'humidité relative, dans l'obscurité dans une enceinte à atmosphère contrôlée. Tous les réplikats ont été évalués pour la mortalité après 10 jrs.

La mortalité larvaire a été indiquée par un manque de mouvement lors de la saisie au forceps, changement de couleur (taches de mélanisation brunes étendues et/ou crème à rose) ou mycélien croissance. Pendant la période d'incubation, certaines larves ont subi nymphose, la mort des pupes était indiquée par les mêmes caractéristiques que les larves.

1-5- Analyses statistiques

Les taux de germination ont été analysés avec une régression du modèle linéaire généralisé (GLM) avec des moyennes séparées par un test post hoc Tukey HSD. Les décomptes de mortalité pour les réplikats d'essais adultes et larvaires ont été testés pour l'homogénéité de la variance avec le test de Bartlett au cours des trois jours d'essai, et par la suite combiné pour l'analyse, avec une analyse de régression de modèle linéaire généralisé (GLM) à l'aide d'une binomiale distribution avec un lien « logit » ou « cloglog » selon l'égalité mortalité/survie (**Barlett, 1937**). Les traitements ont été séparés par un test post hoc de Tukey HSD. Les données de présentation ont été ajustées pour contrôler la mortalité avec la correction d'Abbott (**Abbott, 1925**). L'analyse de survie de Kaplan-Meier a été utilisée pour

illustrer relation temps-réponse pour les tests chez l'adulte. Les courbes de survie ont été séparées par significativité avec un test du log-rank à comparaisons multiples avec une méthode d'ajustement de la valeur p par famille de Benjamini et Hochberg (Benjamini *et al.*,1995). Les analyses statistiques ont été réalisées avec les statistiques R Base, Emmeans et Survival paquets (RC Team , 2019 ; Lenth , 2020 ; Therneau , 2015).

2- Résultats

2-1- Essai biologique sur coléoptère adulte

Dans des expériences utilisant des insectes adultes, *C. truncatus* s'est avéré avoir la mortalité la plus faible de traitement avec *B. bassiana*, avec une mortalité moyenne corrigée d'Abbott allant de 4,4% à 19%, comparativement à la mortalité de *C. davidsoni*, qui variait de 20% à 52%. Les taux de mortalité des deux espèces de coléoptères étaient significativement différents ($p < 0,0001$) (Figure 17).

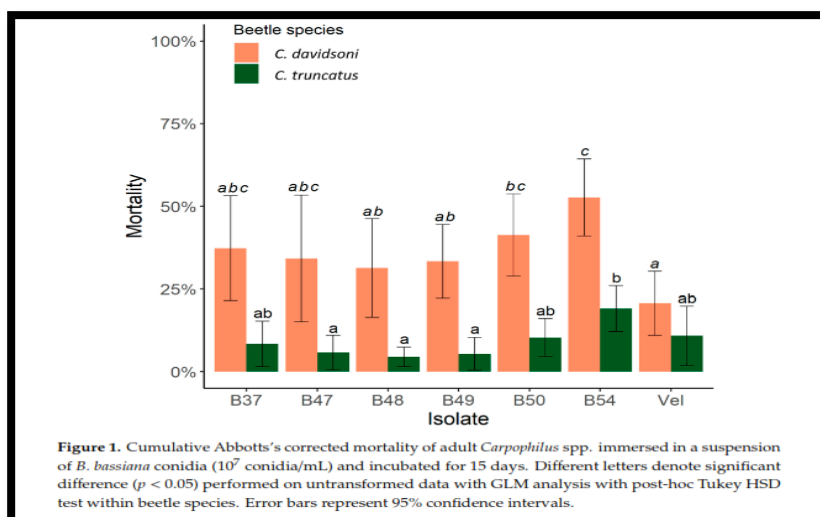


Figure 17 : Mortalité cumulée corrigée d'Abbotts de *Carpophilus* spp. Immérgé dans une suspension de conidies de *B. bassiana* (10^7 conidies/mL) et incubées pendant 15 jours.

Différentes lettres dénotent significatif différence ($p < 0,05$) réalisée sur des données non transformées avec analyse GLM avec Tukey HSD post-hoc test au sein des espèces de coléoptères. Les barres d'erreur représentent des intervalles de confiance à 95%.

Le test de *C. truncatus* a montré que le plus virulent était B54, avec une mortalité totale significativement plus élevée que B47, B48 et B49, en utilisant la régression GLM analyse ($p < 0,05$). Analyse de survie Kaplan-Meier comprenant la mortalité et la survie cumulées indiquait que l'isolat B54 était significativement plus virulent que toutes les autres souches testées, à l'exception Vélifer (Figure 18).

Chapitre 03 : articles scientifiques

La mortalité de contrôle pour cette espèce était de 3,9%. Les coléoptères adultes *C. davidsoni* ont été également plus sensibles à l'isolat B54, qui a été jugé significativement différent de tous les autres isolats sauf B50, en utilisant l'analyse de survie de Kaplan-Meier ($p < 0,05$) (**Figure 18**).

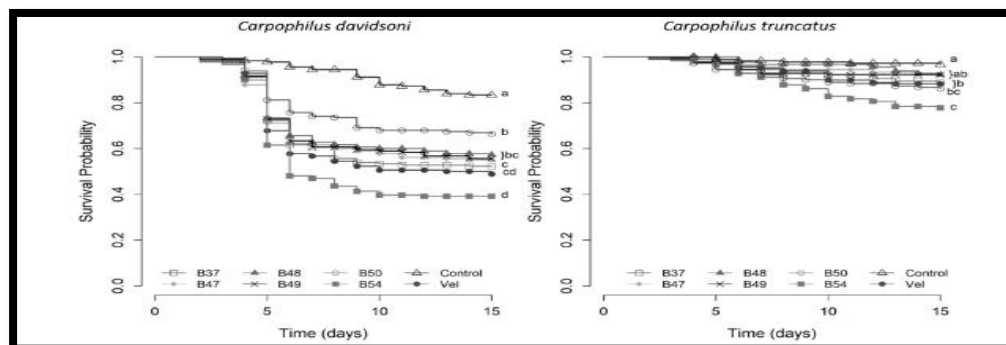


Figure 18 : Courbes de survie de Kaplan–Meier de *C. davidsoni* adultes (à gauche) et de *C. truncatus*(à droite) indiquant réponse temps-mortalité. Les courbes de survie suivies de lettres différentes indiquent une différence significative ($p < 0,05$) avec un test du log-rank à comparaisons multiples.

Analyse de régression GLM sur les décomptes de mortalité totale ont indiqué une différence significative seulement entre B54 et les souches moins virulentes B48, B49 et Velifer®.

La mortalité de contrôle pour cette espèce était de 16,9%. Le taux de mortalité à travers le test isolats suit une tendance similaire à celle de *C. truncatus*, mais avec une plus grande ampleur de la mortalité. Comparaison de LT50 n'est pas possible à partir de ce dosage étant donné la mortalité totale $< 50\%$ pour la plupart des traitements. La mycose chez les deux espèces de coléoptères n'a pas suivi une tendance constante dans tous les isolats (**Tableau 5**).

Tableau 5 : Quantité moyenne de mycose dans les cadavres adultes stérilisés en surface de *Carpophilus* spp. Incubé pendant cinq jours après l'infection mortelle avec différents isolats de *B. bassiana*.

Table 2. Mean amount of mycosis in surface sterilised adult cadavers of *Carpophilus* spp. incubated for five days after lethal infection with different isolates of *B. bassiana*.

<i>Carpophilus</i> Spp.	B37	B47	B48	B49	B50	B54	Vel	Control
<i>C. davidsoni</i>	40% ± 8.7a	56% ± 8.5ab	73% ± 7.8bc	80% ± 8.5c	69% ± 6bc	81% ± 6c	68% ± 10.1abc	0 ± 0
<i>C. truncatus</i>	75% ± 12.5ab	90% ± 8ab	100% ± 0ab	82% ± 8ab	80% ± 9.2ab	98% ± 2.1b	39% ± 15.5a	0 ± 0

Mycosis rates are means of replicates ± SEM. Treatment means followed by different letters indicate significant difference ($p < 0.05$) through GLM binomial regression analysis.

B54 était, cependant, parmi les isolats induisant le plus de mycose parmi les deux espèces de coléoptères. Pour *C. truncatus*, le taux de mycose était le plus faible pour Velifer® (à 39 %) avec tous les autres isolats produisant hyphes externes dans au moins 77% des cas avec un pic à 98% et 100% pour B54 et B48, respectivement.

La seule différence statistiquement significative dans ce cas était entre B54 et Velifer en raison du faible nombre de réplicats obtenus dans cet essai ($p < 0,05$). *Carpophilus davidsoni* avait globalement un taux plus faible de mycose par rapport à *C. truncatus* ($p < 0,05$), avec un pic avec les isolats B49 et B54 à 80% et 81%, respectivement. Les taux de mycose les plus faibles étaient liés aux isolats B37 et B47 avec 40% et 56%, respectivement, B37 était significativement différent ($p < 0,05$) de B48, B50, B54 et B49. Mortalité pour la plupart des traitements.

Les taux de mycose sont des moyennes de répétitions \pm SEM. Les moyens de traitement suivis de lettres différentes indiquent différence ($p < 0,05$) grâce à l'analyse de régression binomiale GLM.

2-2- Essai biologique larvaire

Pour *C. truncatus*, le taux de mortalité, à 73%, était le plus élevé chez les larves traitées avec l'isolat B54 (Figure 19).

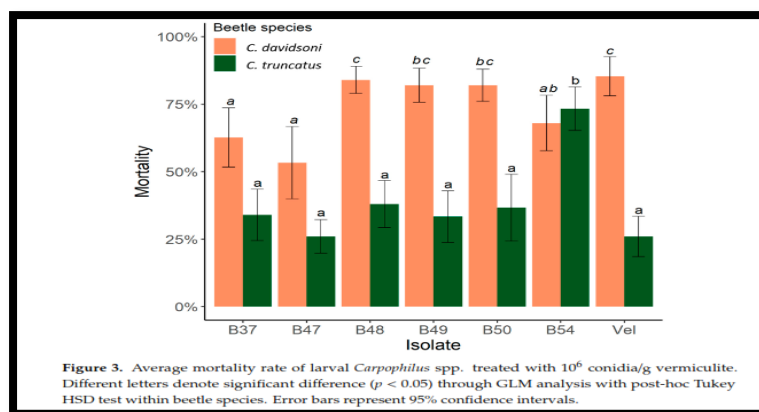


Figure 19. Taux de mortalité moyen des larves de *Carpophilus* spp. Traité avec 10^6 conidies/g de vermiculite.

Différentes lettres indiquent une différence significative ($p < 0,05$) grâce à l'analyse GLM avec Tukey post-hoc. Test HSD chez les espèces de coléoptères. Les barres d'erreur représentent des intervalles de confiance à 95%.

Cet isolat était significativement différent ($p < 0,0001$) de tous les autres isolats testés sur ces espèces de coléoptères, qui avaient des taux de mortalité compris entre 26% et 38%. Le

taux de mortalité de *C. davidsoni* variait de 82% à 85% pour B48, B49, B50 et Velifer® à 68 %, 62% et 53% pour B54, B37 et B47, respectivement. Les quatre souches de mortalité les plus élevées étaient toutes significativement différentes ($p < 0,05$) des souches les plus faibles. La mortalité des témoins pour les deux espèces de coléoptères était nulle. À travers les deux espèces de coléoptères d'essai, il n'y avait pas de tendance substantielle de mortalité induite par les isolats.

3- Discussion générale

Les études de **William Boston, Diana Leemon et John Paul Cunningham (2020)**, fournit des données encourageantes pour le développement potentiel de champignons entomopathogènes (EPF) « biopesticides » pour lutter contre les insectes nuisibles *Carpophilus* en Australie. Alors que tous les isolats ont conduit à des infections pour le stade larvaire des deux espèces d'insectes, trois isolats n'avaient pas de taux d'infection significatif sur coléoptères *C. truncatus* adultes. L'isolat, B54, était systématiquement l'un des isolats les plus performants contre les espèces et les stades de la vie. Les stades adultes des deux espèces de *Carpophilus* ont montré des différences considérables dans l'ampleur de mortalité suite à l'exposition aux isolats de *B. bassiana*. Le plus sensible des deux coléoptères, l'espèce *C. davidsoni*, avait une mortalité maximale de 52% lorsqu'elle était inoculée avec B54 : par comparaison, les adultes *C. truncatus* avait un maximum de 19% de mortalité avec le même isolat. La mortalité larvaire était considérablement plus élevée que la mortalité adulte chez les deux espèces de *Carpophilus*, dans cette étude. Pour la plupart des isolats, *C. davidsoni* était la plus sensible des deux espèces : la plus la mortalité des larves de *C. davidsoni* était supérieure à 80 % lorsqu'elles étaient infectées par les isolats B48, B49, B50 et Velifer®.

Pour *C. truncatus*, le taux de mortalité a culminé à 73% avec l'isolat B54, qui était significativement plus élevé que tous les autres isolats (dont la mortalité variait entre 26% et 38%). Procédures d'inoculation standard ont été utilisées pour les essais d'adultes et de larves pour s'assurer que des charges de spores cohérentes ont été livrées à chaque insecte et les résultats étaient donc comparables à d'autres essais biologiques EPF.

Le soin par immersion protocole utilisé sur les *Carpophilus* adultes dans cette étude a donné lieu à un taux de mortalité moyen qui était considérablement inférieur par rapport à des tests EPF similaires menés sur d'autres coléoptères adultes, par exemple : neuf isolats de *Metarhizium anisopliae* sur charançon de la patate douce selon la même méthode d'inoculation, le porteur, le temps et le débit de dose, avaient une mortalité de 100% après 10 jrs dans six des neuf isolats (**Dotaona et al., 2015**).

De même, taux de mortalité entre 97,5% et 100% pour les adultes de l'agrile du frêne traités avec trois *B. bassiana* et deux Isolats de *M. anisopliae* sous le même régime d'application, incubés pendant six jrs (**Liu et al., 2006**). En comparant résultats du test larvaire d'une autre étude publiée, mortalité larvaire similaire (jusqu'à 85% après 14 jrs de l'exposition) a été observée avec des isolats de *M. anisopliae* et *B. bassiana* testés sur *Deliara dicum* de deuxième stade larves avec une procédure d'inoculation analogue: un résultat qui a suscité des appels à d'autres essais sur le terrain (**Bruck et al., 2005**).

Les faibles taux de mortalité observés chez les adultes de *Carpophilus* dans ces essais par rapport avec des tests similaires suggère que le ciblage direct du stade de la vie adulte peut avoir une efficacité limitée sur le terrain. Une étude plus approfondie clarifiant les débits de dose avec des charges de spores précises pourrait déterminer si des doses accrues ont une plus grande efficacité, et si oui, si ceux-ci sont réalisables en termes de champ application. En revanche, les taux élevés de mortalité observés dans les essais larvaires démontrent un potentiel de utilisant *B. bassiana* comme biopesticide contre les larves de *Carpophilus*. Les larves du dernier stade (qui étaient utilisé dans cette étude) pourrait être le stade de la vie le plus approprié à cibler avec EPF, car au cours de cette étape, ils laisser le fruit ou la noix et creuser dans le sol pour se nymphoser. Taux d'application au sol inondable de 10^5 à 10^6 les conidies par gramme de sol sont efficaces et économiquement viables avec des applications généralisées (**Jaronski, 2010**). De la présente étude a appliqué 10^6 conidies par gramme de vermiculite, ce qui a entraîné des taux de mortalité élevés, indiquant que *B. bassiana* peut être un biopesticide efficace avec cette méthode d'application. L'utilisation d'un substrat stérile augmente l'efficacité des entomopathogènes par rapport au sol, mais les granules nutritifs peut aider à réduire l'effet fongistatique des microbiomes du sol (**Jaronski, 2010**). De plus, les facteurs abiotiques du sol, tels que l'humidité et la température du sol, présents dans le champ devront être évalués pour leur adéquation à croissance fongique (**Jaronski, 2010**) Qualités structurales du sol qui permettent l'homogénéisation des conidies en des applications liquides ou granulaires larges/non ciblées seront nécessaires pour soutenir le succès de cette stratégie d'application (**Jaronski, 2010 ; Garrido- Jurado et al., 2010**)

La faible mortalité des coléoptères adultes aux souches EPF qui sont très efficaces contre les larves pourrait être avantageux dans une stratégie d'auto-inoculation qui utilise des coléoptères adultes pour transmettre l'agent pathogène à un stade précoce larves de stade à l'intérieur des noix, où elles sont protégées des pesticides chimiques (**Hussain, 2018 ; Baverstock et al., 2010**). Premier stade les larves sont généralement plus sensibles à l'EPF que les derniers stades (**Navon et al., 2000 ; Erlen et al., 2015**). Transfert de l'agent

pathogène entre les adultes inoculés et les larves peut se produire par contact direct entre les insectes et par contamination des niches et des habitats résiduels de noix par sporulation sur cadavres mycotiques (Baverstock *et al.*, 2010 ; Conceshi *et al.*, 2016).

Les taux élevés de mycose observés avec l'isolat B54 appuient l'utilisation d'une stratégie d'auto-inoculation car elle présente une plus grande opportunité pour l'agent pathogène de se propager parmi les groupes de parasites. De plus, horizontale la transmission de l'agent pathogène peut être plus fréquente en raison du comportement d'agrégation des *C. davidsoni* et *C. truncatus* (Hossain, 1937).

Pour ces deux espèces, il existe des attractifs chimiques très efficaces leurres (qui combinent des phéromones d'agrégation et des mélanges volatils hôtes) qui pourraient soutenir un tel programme (Hossain, 1937). Le comportement d'agrégation de ces espèces, l'habitat cryptique et les produits chimiques facilement disponibles leurs en fait une cible idéale pour l'auto dissémination d'un pathogène fongique.

Fait intéressant, la parenté de l'espèce hôte pour l'isolat n'était pas prédictive de la virulence chez les cette expérience. La souche B47 (*Aethinatumida*) de la même famille que *Carpophilus* (*Nitidulidae*) était une des traitements les moins efficaces pour les deux espèces et les deux stades de vie alors que l'isolat B37, isolé de *Muscadomestica* (mouche commune) présentait une mortalité plus élevée pour les deux espèces. L'isolat le plus efficace dans tous ces groupes, B54 a été isolé d'un petit ver de farine, *Alphitobius diaperinus* (*Coleopter* ; *Ténébrionidae*). Dans une autre étude sur la spécificité d'hôte des isolats de *B. bassiana*, l'ordre des hôtes n'était pas corrélé avec une plus grande pathogénicité pour tester les insectes dans des essais biologiques en laboratoire (UmaDevi *et al.*, 2008).

Variation génotypique de l'individu les populations d'insectes peuvent entraîner des différences dans la sensibilité des insectes à l'EPF dans une plus grande mesure que isoler la spécificité ou la parenté de l'hôte (UmaDevi *et al.*, 2008). Le résultat de la présente étude suggère qu'il y a peu de spécificité de l'hôte au niveau de la famille, car l'isolat collecté après de l'hôte le plus apparenté (c'est-à-dire le nitidulide) était le moins efficace dans ce dosage. Le test de souches isolées d'une gamme plus large de plus ou moins hôtes apparentés est cependant nécessaire pour explorer davantage cette relation. Infection réussie de l'EPF à un l'insecte hôte spécifique est déterminé par l'assemblage génétique particulier de facteurs de virulence comprenant un pathotype qui peut être adapté à des gammes d'hôtes singulières ou larges, et leur capacité à rivaliser

les mécanismes de défense de l'hôte dans une course aux armements évolutive (Pedrini *et al.*, 2015 ; Valero-Jimenez *et al.*, 2016). Résultats de la présente étude soutiennent que les

facteurs de virulence du pathotype général sont plus importants pour déterminer la sensibilité de l'hôte plutôt que la parenté taxonomique de l'hôte isolé et de l'insecte cible (**Valero-Jimenez et al., 2016 ; Hajek et al., 2000 ; Boyle et al., 2012**). Le modèle de la virulence parmi les coléoptères adultes dans la présente étude suggère que les isolats ont une certaine spécificité au sein de du genre *Carpophilus*, et que la diminution de l'ampleur de la pathogénicité chez *C. truncatus* pourrait être attribué à un facteur de résistance spécifique à l'espèce ou à une sensibilité génotypique spécifique à la population ou tolérance dans l'une ou l'autre population provoquée par la pression pathogène de leurs environnements (**Chouvenc et al., 2011 ; Tinsley et al., 2006**). La présente étude n'a eu accès qu'à des populations de laboratoire uniques de chaque espèce de coléoptère et, par conséquent, n'a pas été en mesure de tester l'effet de la variation du génotype de la population pour résoudre ce problème.

Alors que l'isolat, B54, s'est montré le plus prometteur en tant qu'agent de lutte biologique avec une mortalité efficace contre les coléoptères *Carpophilus* adultes et larvaires dans des conditions de laboratoire, des études supplémentaires sont nécessaires pour vérifier la pertinence de cet isolat dans des conditions de terrain, où de nombreux facteurs abiotiques et biotiques peuvent ont des impacts significatifs sur la progression de la maladie et la croissance fongique (**Lacey et al., 2015**)

Optimisation des formulations soit avec une émulsion d'huile, des granulés nutritifs, ou une poudre amendée, selon la stratégie d'application, peut augmenter les taux de contrôle et permettre des applications plus ciblées telles qu'une auto-inoculation et système de dispersion (**Mascarin et al., 2016**). La sélection d'un isolat virulent est une première étape cruciale pour développer un biopesticide stratégies de contrôle : les aspects pratiques de la lutte antiparasitaire à grande échelle dans ces systèmes agricoles le font, cependant, doivent être étudiés pour déterminer si cet agent est rentable en tant qu'outil supplémentaire à intégrer dans une stratégie IPM.

Conclusion

Conclusion

Les microorganismes entomopathogènes occupent une place privilégiée parmi les agents microbiens de lutte biologique. En effet, leur mode d'action assez particulier, par ingestion ou par contact, permet de contrôler efficacement tous les stades du ravageur précisément le stade adulte et le stade larve, c'est les plus étudiés au cours de l'application des traitements de pesticide basé sur le champignon *Beauveria bassiana*, qui joue un rôle très important dans la lutte, un pesticide naturelle qui tue plusieurs ennemis naturels, au titre d'exemple dans notre étude, les coléoptères : *Carpophilus truncatus*, *Carpophilus davidsoni*, qui provoquent les vergers d'amandiers et les fruits à noix en Australie. Et le deuxième cas c'est *Spodoptera frugiperda* qui cause une maladie au maïs. Avec des techniques précises et des étapes bien détaillées, et des logiciels connus, on déduit que cette élaboration a démontré que ce champignon n'a aucun danger pour l'environnement, la santé humaine, les mammifères, les oiseaux et les plantes. De plus, plusieurs expériences sont visualisées que malgré sa large gamme d'hôtes, ce mycète possède un impact minimal sur les organismes non ciblés. Donc, il est utilisé beaucoup plus dans la lutte contre les ravageurs des plantes, légumes, fruits, feuilles

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

Abbott, W.S (1925) .A Method of Computing the effectiveness of an Insecticide. J. Econ. Entomol. 18, 265–267.[CrossRef].

Akutse, K.; Maniania, N.; Fiaboe, K.; Berg, J.V.D.; Ekesi, S (2013) . Endophytic colonization of *Vicia faba* and *Phaseolus vulgaris* (Fabaceae) by fungal pathogens and their effects on the life-history parameters of *Liriomyza huidobrensis* (Diptera: Agromyzidae). Fungal Ecol.6, 293–301.

Al-Marzra’awi, M.S.; Kevan, P.G. et Shipp, L. (2007). Development of *Beauveria bassiana* dry formulation for vectoring by honey bees *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to the flowers of crops for pest control. *Biocontrol science and technology*, vol. 17, no. 7, p. 733-741.

Altieri M.A (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agri Ecosystems Environ.*, 74 :19-31.

Ayodeji Amobonye, Prashant Bhagwat, Ashok Pandey, Suren Singh, Santhosh Pillai , (10 aout 2020) , Potentiel biotechnologique de *Beauveria bassiana* en tant que source de nouveaux biocatalyseurs et métabolites PMID : 32772728DOI: 10. 1080/07388551. 2020.1805403.

Barron, G. (2001). *Beauveria bassiana*. In University of Guelph. *Georges Barron’s website on fungi*, [En ligne]. <http://www.uoguelph.ca/~gbarron/MISCELLANEOUS/nov01.htm> (Page consultée le 24 février 2010).

Bassi A., (1835). Del mal del segno, calcinaccio o moscardino, mallatiache afflige i bachi da seta, e su 1 modo di leberarne le bigattiage anche le piu infestante. Lodi, tipogtafia Orceri. Réédition.

Bamisile, B.S.; Dash, C.K.; Akutse, K.S.; Qasim, M.; Aguila, L.C.R.; Wang, F.; Keppanan, R.; Wang, L (2019) .Endophytic *Beauveria bassiana* in foliar-treated citrus limon plants acting as a growth suppressor to three successive generations of *Diaphorina citri kuwayama* (Hemiptera: Liviidae). *Insects* .10, 176.

Baverstock, J.; Roy, H.E.; Pell, J.K (2010). Entomopathogenic Fungi and Insect Behaviour: From Unsuspecting Hosts to Targeted Vectors; Roy, H.E., Ed.; Springer: Dordrecht, The Netherlands ; pp. 89–102.

Références bibliographiques

Bermond, A.(2002). La rousse agricole, livre sous la direction de Marcel Mazoyer, 618p.

Benizri E., Baudoin E., Di Battista-Leboeuf C., et Guckert A (2001). Des bactéries pour la santé des plantes. *Biofutur* 210:52-56.

Benjamini, Y.; Hochberg, Y (1925).Controlling the False Discovery Rate: A Practical and Powerful Approach to Multiple Testing. *J. R. Stat. Soc. Ser. B Methodol.* 57, 289–300. [CrossRef].

Bartlett, M.S (1937) .Properties of Suciency and Statistical Tests.*Proc. R. Soc. Lond. Ser. A Math. Phys. Sci,* 160, 268–282.

Benjamin J. Blumberg Sarah M, (2016).Court métrage Georges Dimopoulos , Lutte génétique contre le paludisme et la dengue , Pages 335-362.

Bidochka, M. J., & Small, C. L. (2005) - Phylogeography of *Metarhizium*, an insect pathogenic fungus. *Insect–fungal associations: ecology and evolution.* Oxford University Press, Oxford, 28-50.

Botton B., Breton A., Fèvre M., Gauthier S., Guy P., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P., (1990). Moisissures utiles et nuisibles, Importance industrielle, Ed. Masson, Paris.

Boyle, D.; Cutler, G.C (2012) .Effect of insect activity, soil, and cuticular factors on virulence of *Beauveria bassiana* toward *Blissus leucopterus hirtus*. *J. PEST Sci,* 85, 505–512. [CrossRef].

Bruck, D.J.; Snelling, J.E.; Dreves, A.J.; Jaronski, S.T (2005). Laboratory bioassays of entomopathogenic fungi for control of *Delia radicum* (L.) larvae. *J. Invertebr. Pathol.* 89, 179–183. [CrossRef].

Cagani L. et Sversel M.,(2001). The influence of ultraviolet light on pathogenicity of entomopatogogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin to the european corn Borer, *Ostrinianubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). *J Central eurAgric,* 2: 3-4.

Cermak, P. et Walker, G.M. (1992).La punaise terne : un ravageur important de la fraise. *In* Ministère de l’Agriculture, de l’Alimentation et des affaires rurales. Fiche technique, [En ligne]. <http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/92-109.htm> (Page consultée le 28 février 2010).

Références bibliographiques

Chouvenc, T.; Su, N.-Y.; Robert, A (2011) .Differences in Cellular Encapsulation of Six Termite (Isoptera) Species against Infection by the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium Anisopliae*. Fla. Entomol, 94, 389–397. [CrossRef].

Conceschi, M.; D’Alessandro, C.P.; Moral, R.A.; Demetrio, C.G.B.; Junior, I.D (2016).Transmission potential of the entomopathogenic fungi *Isaria fumosorosea* and *Beauveria bassiana* from sporulated cadavers of *Diaphorina citri* and to uninfected *D. citri* adults. J. Int. Organ. Biol. Control. 61, 567–577. [CrossRef].

Daisy, B.H.; Strobel, G.A.; Castillo, U.; Ezra, D.; Sears, J.; Weaver, D.K.; Runyon, J.B (2002). Naphthalene, an insect repellent, is produced by *Muscodor vitigenus*, a novel endophytic fungus. Microbiology 148, 3737–3741.

Dash, C.K.; Bamisile, B.S.; Keppanan, R.; Qasim, M.; Lin, Y.; Islam, S.U.; Hussain, M.; Wang, L (2018) . Endophytic entomopathogenic fungi enhance the growth of *Phaseolus vulgaris* L. (*Fabaceae*) and negatively affect the development and reproduction of *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae). Microb.Pathog. 125, 385–392.

De Silva, N.I.; Brooks, S.; Lumyong, S.; Hyde, K.D (2019).Use of endophytes as biocontrol agents. Fungal Biol. Rev. 33, 133–148.

Dotaona, R.; Wilson, B.A.L.; Stevens, M.M.; Holloway, J.; Ash, G (2015) . Screening of tropical isolates of *Metarhizium anisopliae* (*Hypocreales: Clavicipitaceae*) for virulence to the sweet potato weevil, *Cylas formicarius* (*Coleoptera: Brentidae*). Int. J. Trop. Insect Sci.,35, 153–163. [CrossRef].

Emmert, E.A.B. et Handelsman, J.(1999). Biocontrol of plant disease : a (gram-) positive perspective. FEMS.Microbiol.lett, 171 :1-9.

Erler, F.; Ates, A.O (2015). Potential of two entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* (*Coleoptera: Scarabaeidae*), as biological control agents against the June beetle. J. Insect Sci. (Online), 15, 44. [CrossRef] [PubMed].

Fargues J. (1972). Étude des conditions d’infection des larves de doryphore *Leptinotarsa decemlineata* Say par *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. (Fungi imperfecti). Entomophaga. 17: 319- 337.

Farih, A., Ben Ali, A., et Jrfi, A.(1996). Détermination de l’efficacité de plusieurs fongicides dans la lutte contre la séptoriose de blé en irrigué. Procceding du symposium

Références bibliographiques

régional sur les maladies des céréales et légumineuses alimentaire. 11-14 Novembre (MAROC). Pp :327-330.

Fernandes, É.K.K.; Rangel, D.E.N.; Braga, G.U.L.; Roberts, D.W (2015) .Tolerance of entomopathogenic fungi to ultraviolet radiation: A review on screening of strains and their formulation. *Curr.Genet.* 61, 427–440.

Ferron P., (1978). Biological control of insects pests by entomogenous fungi.*Ann. Rev. entomol.* 23:409-442.

Ferron P., Fargues J. EtRiba G., (1991). Fungi as microbial insecticides against pests.In *Handbook of Applied Mycology.Humans, animals and insects (Arora, D.K., Ajello, L., Mukerji, K.G., Eds.)*, Marcel Dekker, New York, Vol 2, 665-706.

Ferron P., Fargues J.,tRiba, G. (1991) : Les champignons agents de lutte microbiologique contre les ravageurs. In *Handbook of applied mycology*, 2: 237-270.

Fravel D. R., (2005).Commercialization and implementation of biocontrol.*Annu. Rev. Fusariose des céréalesen Algérie. INPV Institut National de la protection des végétaux.*

Jaber, L.R.; Enkerli, J (2016) .Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*.*Biol. Control* .103, 187–195.

Jamal, Z. (2008). Application de *Beauveria bassiana* contre la punaise terne *Lygus lineolaris* (palisot de beauvois) (hémiptères: miridés) dans les vignobles. Université du Québec à Montréal, Montréal, Québec, 101 p.

Jaronski, S (2010). Ecological factors in the inundative use of fungal entomopathogens. *J. Int. Organ. Biol. Control*, 55, 159–185. [CrossRef].

Jensen, R.E.; Enkegaard, A.; Steenberg, T (2019). Increased fecundity of *Aphis fabae* on *Vicia faba* plants following seed or leaf inoculation with the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. *PLoS ONE*. 14, e0223616..44, 117–124.

Johnson, M.W. (2000).Conservation of natural enemies.In *College of Natural Resources – University of California, Berkeley - Center for Biological Control. Biological Control of Pests*, [Enligne]. <http://www.cnr.berkeley.edu/biocon/BC%20Class%20Notes/129-132%20Conservation.pdf> (Page consultée le 2 juin 2010).

Références bibliographiques

Hajek, A.E.; Butler, L (2000) . Predicting the Host Range of Entomopathogenic Fungi, in Nontarget Effect of Biological Control; Follett, P.A., Duan, J.J., Eds.; Springer: Boston, MA, USA; pp. 263–276.

Hallsworth H. et Magan, K.e., (1999). Hallsworth and N. Magan, Water and temperature relations of growth of three entomogenous fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*, J. Invertebr. Pathol, 261-266.

Hassan, F.R.; Abdullah, S.K.; Assaf, L.H (2019). Pathogenicity of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.)Vuill.endophytic and a soil isolate against the squash beetle, *Epilachna chrysomelina* (F.) (*Coleoptera: Coccinellidae*). Egypt. J. Biol. Pest Control .29, 74.

Hernandez-Trejo, A.; Estrada-Drouaillet, B.; López-Santillán, J.A.; Rios-Velasco, C.; Rodríguez-Herrera, R.; Osorio-Hernández, E (2019). Effects of Native Entomopathogenic Fungal Strains and Neem Extract on *Spodoptera frugiperda* on Maize.Southwest.Entomol.

Hossain, M.S.; Williams, D.G.; Mansfield, C.; Bartelt, R.G.; Callinan, C.; Il'ichev, A.L. (2006) An attract-and-kill system to control *Carpophilus sp.* in Australian stone fruit orchards. Entomol. Exp. Appl, 118, 11–19. [CrossRef].

Humber, R. A. (1997). Fungi: identification. In Manual of techniques in insect pathology (pp. 153-185).

Hussain, M (2018). Management of *Carpophilus* Beetle in Almonds (Project Code AL15004); Horticulture Innovation Australia Limited and the Department of Economic Development, Jobs, Transport and Resources Victoria. Hort Innovation: Sydney, Australia.

Inglis, G.; Goettel, M.; Johnson, D (1995) . Influence of Ultraviolet Light Protectants on Persistence of the Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana*. Biol.Control , 581–590.

Ignoffo C.M,(1973), effect of entomopathogens on vertebrates in « regulation of insect population by microorganisms » , Ann .New York Acad . Sci , 217, 141 -172 .

Garrido-Jurado, I.; Torrent, V.; Barron, V.; Corpas, A.; Quesada-Moraga, E (2011). Soil properties affect the availability, movement, and virulence of entomopathogenic fungi conidia against puparia of *Ceratitis capitata* (*Diptera: Tephritidae*). Biol. Control, 58, 277–285. [CrossRef]

Goettel M.S. (1992) : Biological control of locusts and grasshoppers. Walling ford, UK: CAB.

Références bibliographiques

- Goettel M.S. (1992).** Des champignons comme agent de lutte biologique. In: Ibadam, CAB International, IITA, La lutte biologique contre les acridiens, Nigeria, p. 122-131.
- Goodwin, M.(2008).** Commercialization and implementation of biocontrol. *Ann. Rev Phytopathol*, 43 : 337-359.
- Groden, E. (1999).** Using *Beauveria bassiana* for insect management. In University of Connecticut. *Integrated Pest Management*, [En ligne]. <http://www.hort.uconn.edu/IPM/general/htms/bassiana.htm> (Page consultée le 26 février 2010).
- Guertin, C.; Sabbahi, R.; Trudel, R. et Jobin, E. (2002).** Utilisation du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* contre les ravageurs des fraises. In Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des affaires rurales. *Faits saillants*, [En ligne]. <http://www.mapaq.gouv.qc.ca/NR/rdonlyres/8FDBC28A-996A-4417-9A73-9500EE834367/0/Fiche102075.pdf> (Page consultée le 27 février 2010)., International, 122-130.
- Kaiser, D.; Bacher, S.; Mène-Saffrané, L.; Grabenweger, G (2019).** Efficiency of natural substances to protect *Beauveria bassiana* conidia from UV radiation. *Pest Manag.Sci.* 75, 556–563.
- Kamp, A. M., et Bidochka, M. J. (2002).** Conidium production by insect pathogenic fungi
- Kaushal K. Sinha ,Ajoy Kr. Choudhary ,PriyankaKumari, (2016),**Lutte antiparasitaire respectueuse de l'environnement pour la sécurité alimentaire ,Chapitre 15 - Champignons entomopathogènes , Pages 475-505.
- Keller S. et Zimmermann G. J.,(1989).** Mycopathogens of soil insects. [n Wilding, N., N. Collins, N. M.Hammond, P. M. Webber, and 1. F. Webber (Éds.), *Insect-Fungus Interactions*. Academic Press, London, p. 240-269.
- Kim, J.C.; Lee, M.R.; Kim, S.; Lee, S.J.; Park, S.E.; Baek, S.; Gasmi, L.; Shin, T.Y.; Kim, J.S (2019)** .Long-term storage stability of *Beauveria bassiana* ERL836 granules as fungal biopesticide. *J. Asia Pac. Entomol* .22, 537–542.
- Kuzhuppillymyal-Prabhakarankutty, L.; Tamez-Guerra, P.; Gomez-Flores, R.; Rodriguez-Padilla, M.C.; Ek-Ramos, M.J (2020).** Endophytic *Beauveria bassiana* promotes drought tolerance and early flowering in corn. *World J. Microbiol.Biotechnol.* 36, 1–10.
- Kovach, J. et English-Loeb, G. (1997).** Testing the efficacy of Mycotrol ES on Tarnished plant bugs. In CornellUniversity. *Publications*, [En ligne].

Références bibliographiques

<http://www.nysipm.cornell.edu/publications/beauveria/> (Page consultée le 28 février 2010).

Kpindou, O. K. D., Djegui, D. A., Glitho, I. A. et Tamo, M. (2012). Réponse des stades larvaires de *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera : Noctuidae) à l'application de champignons entomopathogènes *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement. ISSN: 1370-6233. 16 (3) .P: 283-293.

Ksentini I.(2009). Lutte biologique contre la pyrale des caroubes *Ectomyeloisceratoniae* (Lepidoptera : *Pyralidae*), à l'aide de parasitoïdes oophages du genre *Trichogramma* (Hymenoptera : *Trichogrammatidae*). Mise en valeur et régulation d'un écosystème à l'échelle locale : Les salins de Sfax. Colloque organisé par la Maison de France, Sfax (Tunisie), les 8 et 9 mai 2009. 02p.

Lacey L. A., Heitzeman C. M., Meisch M. et Billodeaux J.(1986). Beecomist (R) applied *Bacillus sphaericus* for the control of the lind mosquitoes. *Ibid.*, 2 : 548-551.

Lacey, L. A., Fransen, J. J., and Carruthers, R. I. (1996). Global distribution of naturally occurring fungi of *Bemisia*, their biologies and use as biological control agents. In: *Bemisia 1995: Taxonomy, Biology, Damage, and Management'* (Gerling, D. and Mayer, R., Eds.), pp. 401-433. Intercept, Andover.

Lacey, L.A.; Grzywacz, D.; Shapiro-Ilan, D.I.; Frutos, R.; Brownbridge, M.; Goettel, M.S (2015) . Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. *J. Invertebr. Pathol.* 132, 1–41. [CrossRef].

Legemble ,J.(2008).les syrphes. Fiche Tech. Service Régional de la Protection des végétaux de Haute-Normandie, France.

Lenth, R (2020) . Emmeans: Estimated Marginal Means, aka Least-Squares Means, R Package, version 1.4.3.01; 2019.Available online:<http://cran.r-project.org> (accessed on 17 August 2020).

Liu H., Skinner M., Parker B.L. (2003) : Bioassay method for assessing the virulence of *Beauveria Bassiana* against tarnished plant bug, *Lyguslineo laris* (Hem, Miridae). 1. *App!.Entomol.* 127:299-304.

Liu, H.; Bauer, L.S. (2006)Susceptibility of *Agrilus planipennis* (Coleoptera: *Buprestidae*) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *J. Econ. Entomol.*, 99, 1096. [CrossRef].

Références bibliographiques

- Lopez, D.C.; Sword, G.A (2015).** The endophytic fungal entomopathogens *Beauveria bassiana* and *Purpureocillium lilacinum* enhance the growth of cultivated cotton (*Gossypium hirsutum*) and negatively affect survival of the cotton bollworm (*Helicoverpa zea*). *Biol.Control* .89, 53–60.
- Mahmood, Z.; Steenberg, T.; Mahmood, K.; Labouriau, R.; Kristensen, M (2019).** Endophytic *Beauveria bassiana* in maize affects survival and fecundity of the aphid *Sitobion avenae*. *Biol. Control*. 137, 104017.
- Mascarin, G. M., & Jaronski, S. T. (2016).** The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 32 (177), 1-26. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3>.
- Mascarin, G.; Jaronski, S (2016)** .The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 32, 1–26. [CrossRef] [PubMed].
- Mascarin, G.M.; Jackson, M.A.; Kabori, N.N.; Behle, R.W.; Delalibera Junior, I (2015).** Liquid culture fermentation for rapid production of desiccation tolerant blastospores of *Beauveria bassiana* and *Isaria fumosorosea* strains. *J. Invertebr. Pathol.* 127, 11–20.
- Matthew B., Thomas & Andrew F. Read,(2007).** *Nature Reviews Microbiology* 5, 377-383 (1) doi : 10.1038/nrmicro1638.
- Maund, C. (1999).** La punaise terne. In Ministère de l’Agriculture et de l’Aquaculture du Nouveau-Brunswick. *Agriculture pêche et Aquaculture*, [En ligne]. <http://www.gnb.ca/0171/20/0171200010-f.asp> (Page consultée le 2 mars 2010).
- McAuslane, H.J. (2009).** *Bemisia tabaci* (Gennadius) or *Bemisia argentifolii* Bellows & Perring. In University of Florida Institute of Food and Agricultural Sciences. Featured creatures, [En ligne]. http://entomology.ifas.ufl.edu/creatures/veg/leaf/silverleaf_whitefly.htm (Page consultée le 25 février 2010).
- McCoy A., Quintela E.D. & Faria M,(1990).** Environmental Persistence of entomopathogenic Fungi. In, *New dire*.
- McGuire, M.R.; Galan-Wong, L.J.; Tamez-Guerra, P (1997).** Chapter III—Bacteria: Bioassay of *Bacillus thuringiensis* against *Lepidoptera larvae*. In *Manual of Techniques in Insect Pathology*; Lacey, L., Ed.; Academic Press: New York, NY, USA; pp. 91–99.

Références bibliographiques

- McKinnon, A.C.; Saari, S.; Moran-Diez, M.E.; Meyling, N.V.; Raad, M.; Glare, T.R (2017).** *Beauveria bassiana* as an endophyte: A critical review on associated methodology and biocontrol potential. *BioControl*. 62, 1–17
- Meyer, J.Y.(2002).** La lutte biologique contre les espèces introduites envahissantes : solution miracle ou méthode risquée ? fiche technique .16.
- Montarry, J. (2007).** Réponse adaptative des populations de *Phytophthora infestans*, agent du mildiou de la pomme de terre, au déploiement en culture de son hôte *Solanum tuberosum* (these de doctorat). Ecole nationale supérieure Agronomique de Rennes.
- Mueller G.M., Schmit J. P. (2007).** Fungal biodiversity :what do we know ?what can we predict? *Biodiversity and Conservation*.16:1-5.
- Narinsrei, Février (2011),** identification des facteurs permettant d'optimiser la production de *Beauveria bassiana* et les impacts sur la virulences, 8, université du Qubec.
- Nautiyal C.S (2000).** Biocontrol of plant diseases in sustainable agriculture, Upadhyay R.K., Mukherji K.G., Chamola B.P. (Eds).Kluwer Academic/Plenum Publishers, USA.pp :9-23.
- Navon, A.; Ascher, K.R.S (2000).** International, Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes; CABI: Oxfordshire, UK.
- Paulitz T. C., et Bélanger R. R., (2001).** Biological control in greenhouse systems. *Annu.*
- Pedrini, N.; Ortiz-Urquiza, A.; Huarte-Bonnet, C.; Fan, Y.; Juarez, M.P.; Keyhani, N.O (2015).** Tenebrionid secretions and a fungal *benzoquinone oxidoreductase* form competing components of an arms race between a host and pathogen. (*Agricultural Sciences*). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 112, E3651. [CrossRef].
- Posada, F.; Aime, M.C.; Peterson, S.W.; Rehner, S.A.; Vega, F.E (2007).** Inoculation of coffee plants with the fungal entomopathogen *Beauveria bassiana* (*Ascomycota: Hypocreales*). *Mycol. Res.* 111, 748–757.
- Qayyum, M.A.; Wakil, W.; Arif, M.J.; Sahi, S.T.; Dunlap, C.A (2015).** Infection of *Helicoverpa armigera* by endophytic *Beauveria bassiana* colonizing tomato plants. *Biol. Control*. 90, 200–207.
- Rakotoarimanga N., Zananirina J., Ramamonjisoa D., Ramanankierana H(2014).** Lutte biologique antifongique :actinomycètes du sol rhizosphérique antagonistes de *Fusarium* isolé

Références bibliographiques

du fruit de tomate (*Solanum lycopersicum* L.,(1753) pourri. Laboratoire de biotechnologie et de microbiologie, Faculté des science, Université d'Antananarivo, Madagascar

RCTeam (2019).R: A Language and Environment for Statistical Computing, in R Foundation for Statistical Computing; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria.

Rehner R.A. Et Buckley E., (2005). A *Beauveria* phylogeny inferred from nuclear ITS and EF1-alpha sequences: Evidence for cryptic diversification and links to Cordyceps teleomorphs. Mycologia 2005 b ; 97(1) :84-98.

Richard A. Humber (2012), dans Manuel des techniques en pathologie de l'invertébrée (deuxième édition).

Rondot, Y.; Reineke, A (2018) . Endophytic *Beauveria bassiana* in grapevine *Vitis vinifera* (L.) reduces infestation with piercing-sucking insects. Biol. Control .116, 82–89.

Roquebert M.F, (1998), Taxonomie des moisissures ; Méthodes de culture et techniques d'observation ; Identification «, in « Moisissures des aliments peu hydratés », Ed. Tec et Doc, 39-95.

Roy, H. et Wajnberg, E. (2008). From biological control to invasion: the ladybird *Harmonia axyridis* as a model species. BioControl, vol. 53, no. 1, p. 1-4.

Russo, M.; Scorsetti, A.; Vianna, M.; Allegrucci, N.; Ferreri, N.; Cabello, M.; Pelizza, S (2019). Effects of endophytic *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) on biological, reproductive parameters and food preference of the soybean pest *Helicoverpa* lotopoeon.

J. King Saud Univ. Sci. 31, 1077–1082.

Russo, M.L.; Scorsetti, A.C.; Vianna, M.F.; Cabello, M.; Ferreri, N.; Pelizza, S (2019). Endophytic Effects of *Beauveria bassiana* on Corn (*Zea mays*) and Its Herbivore *Rachiplusia* nu (*Lepidoptera: Noctuidae*). Insects, 10, 110.

Samson R.A., evans H.C et Latge., 1988. Atlas of entomopathogenic fungi. Springer-verlag. Berlin ,heidelberg. New York 1-187. Shin, C.G.; An, D.G.; Song, H.H.; Lee, C., 2009. *Beauvericin* and *enniatins* H, I and MK1688 are new potent inhibitors of human immunodeficiency virus type-1 integrase. J. Antibiot. 2009, 62, 687–690.

Sanford G. B., (1926). Some factors affecting the pathogenicity of *Actinomyces scabies*, *phytopathom*. 16p.

Références bibliographiques

- Saranraj, P., et Jayaparakash, A. (2017).** Agro beneficial entomopathogenic fungi–*Beauveria bassiana*: a review. Asian Journal of Multidisciplinary Research (IAJMR), 3(2), 1051– 1087.<https://doi.org/10.22192/iajmr.2017.3.2.4>.
- Sayoud R., Ezzahiri B, et Bouznad Z. (1999).** Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaire au Maghreb. EDS. I.T.G.C., Alger.64p.
- Secretaría de Desarrollo Agropecuario (2020)** .Nuevo León. Gobierno del Estado. Informe del Comité Estatal de Sanidad Vegetal .Programa de Trabajo Integral de los Incentivos de Vigilancia Epidemiológica de Riesgos Fitosanitarios y Servicio Fitosanitario en Apoyo a la Producción para el Bienestar y Prevención, control o Erradicación de Plagas Fitosanitarias, en el Estado de Nuevo León, de I Programa de Sanidad e Inocuidad Agroalimentaria Ejercicio Fiscal 2020 con Recursos de Origen Federal. Available online: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/555841/Nuevo_Le_n_2020_compressed.pdf f. (accessed on 12 February 2021).
- Sedlakova V., Dejmalova J., Hausvater E., Sedlak P., Dolezal P., et Mazakova J.(2011).** Effet of *phytophthora* infestants on potato yield in dependence on variety characteristics and fungicide control. Plant, soil and Environnement, 57(10), 486-567.
- Shrestha, G., Enkegaard, A., et Steenberg, T. (2015).** Laboratory and semi-field evaluation of *Beauveria bassiana* (Ascomycota: Hypocreales) against the lettuce aphid, *Nasonovia ribisnigri* (Hemiptera:Aphididae). Biological Control, 85,37–45. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.03.005>.
- 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 A., Mehta S., Singh H.B. and Nautiyal C.S. (2003).** Biocontrol of collar rot disease of betelvine (piper betle L.) caused by sclertium rolfsii by using rhizosphere competent *pseudomonas fluorescens* NBRI-N6 and P. fluorescens NBRI-N. cur Microbiol., 47 :153-1558.
- Smith K. B., (1919).** Advances in disease-resitance breeding in chickpea. Advances in agronomy., 45 :190-222.
- Starnes R.L; Liu C .L et Marone P.G., (1993).** History, use and future of microbial insecticides. Amer. Entomol .39:83-91.

Références bibliographiques

- Therneau, T (2015).** A Package for Survival Analysis in S, version 2.38.; R Foundation for Statistical Computing: Vienna, Austria.
- Tinsley, M.C.; Blanford, S.; Jiggins, F.M (2006)** .Genetic variation in *Drosophila melanogaster* pathogen susceptibility.Parasitology, 132, 767–773. [CrossRef].
- Todorova S.J., Côté I.C., Martel P. et Coderre D., (1994).** Heterogeneity of two *Beauveria bassiana* strains revealed by biochemical tests, protein profiles and bioassays on *Leptinotarsa decemlineata* (Col: Coccinelidae) larvae. entomophaga. 39: 159-169.
- Tortora J., Funk B.F et Case Ch.I. (2003).** Introduction à la microbiologie, (edn) ISBN.Canada
- Toussaint ,V.(1996).** Caractérisation d'un antibiotique produit par la souche d'actinomycète EF-76 antagoniste à *phytophthora Fragariae* var. rubi causant le pourridié des racines du framboisier. Mémoire de Maîtrise science. Université de Sherbrooke, Québec, Canada.
- Tzean, S. S., Hsieh, L. S., & Wu, W. J. (1997).**Atlas of entomopathogenic fungi from Taiwan Council of Agriculture.*Taiwan, ROC.p, 214.*
- U.S. Congress, Office of Technology Assessment (1995).**Biologically based technologies for pest control. In Princeton University .Biologically based technologies for pest control, [En ligne]. <http://www.princeton.edu/~ota/disk1/1995/9506/9506.PDF> (Page consultée le 20 janvier 2010).
- Uma Devi, K.; Padmabathi, J.; Uma Maheswara Rao, C.; Khan, A.A.P.; Mohan, M.C (2008).** A study of host specificity in the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (*Hypocreales, Clavicipitaceae*). Biocontrol Sci. Technol. 18, 975–989. [CrossRef]
- Valero-Jiménez, C.A.; Wieggers, H.; Zwaan, B.J.; Koenraadt, C.J.M.; van Kan, J.A.L (2016)** . Genes involved in virulence of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol, 133, 41–49. [CrossRef].
- Vega, F.E(2018)** . The use of fungal entomopathogens as endophytes in biological control: A review. Mycologia, 110, 4–30.
- Wasser S. P. , (2002).**Medicinal mushrooms,as a source of antitumor and immunomodulating polysaccharides.Appl.Microbiol.Biotechnol. , 60: 256-274.

Références bibliographiques

Weeden, C.R., Shelton, A.M. et Hoffman, M.P. (2007). Biological Control: A Guide to Natural Enemies in North America, [En ligne]. <http://www.nysaes.cornell.edu/ent/biocontrol/info/needstatus.html> (Page consultée le 3 décembre 2009).

Weiser J., (1972). *Beauveria* Vuill. In: Nemocihmyzu. Naklad.Ceskoslov.Akademie, Praha, pp. 361-377.

Wraight, S. P., et Ramos, M. E. (2005). Synergistic interaction between *Beauveria bassiana* and *Bacillus thuringiensis tenebrionis*-based biopesticides applied against field populations of Colorado potato beetle larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*, 90(3),139–150 <https://doi.org/10.1016/j.jip.2005.09.005>.

Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, vol. 17, no. 6, p. 553-596.

Résumé

L'utilisation des champignons entomopathogènes est une alternative très prometteuse, dans la lutte biologique, qui jouent un rôle important dans la régulation naturelle des populations des insectes. Dans notre étude, nous avons étudié l'espèce *Beauveria bassiana* comme souche très importante dans la lutte biologique. Cette espèce est utilisée pour produire des bio-pesticides pour tuer les ennemis naturels tels que les coléoptères *Carpophilus* qui sont des sérieux ravageurs des cultures fruitières et de noix australiennes, et *Spodoptera frugiperda* qui empêche la croissance de maïs.

Mots-clés : champignons entomopathogènes; *Beauveria bassiana*; *Spodoptera frugiperda* ; *Zea Mays* ; lutte biologique; coléoptère *Carpophilus* ; contrôle biologique.

Summary

The use of entomopathogenic fungi is a very promising alternative in biological control, which play an important role in the natural regulation of insect populations. In our study, we studied the species *Beauveria bassiana* as a very important strain in biological control. This species used to produce biopesticides to kill natural enemies such as the *Carpophilus* beetles which are serious pests of Australian fruit and nut crops, and *Spodoptera frugiperda* that prevents the growth of corn.

Keywords: entomopathogenic fungi; *Beauveria Bassiana* ; *Spodoptera frugiperda* ; *Zea Mays* ; *Carpophilus beetle*; biological control .

الملخص

استخدام الفطريات المسببة للأمراض الحشرية بديل واعد جدا في المكافحة البيولوجية التي تلعب دورا مهما في التنظيم الطبيعي للحشرات. وقد استخدمت في دراستنا نوع بوفيريا باسيانا الذي يتسم بقدر كبير من الفعالية في مكافحة الآفات تتسبب في نبات وفواكه وخضراوات. هذا الاستخدام لإنتاج مبيدات الآفات الطبيعية لقتل الأعداء الطبيعيون مثل خنجر كربوفيلوس الذي هو آفات خطيرة من محاصيل الفركتونات والجوز الأسترالي و سبوتيرا فروغيبيردا التي تثر على نمو الذرة بشكل سلبي .

الكلمات الرئيسية:

ترنجان الفطريات ; بوفيريا باسيانا ; سبوتيرا هارغوبا ; التنوع البيولوجي ; التحكم البيولوجي ; زي مايز ; سيطرة بيولوجية.

Domaine : science de la nature et de la vie
Filière : Biotechnologie
Spécialité : Mycologie et biotechnologie fongique

**Titre : La lutte biologique par des champignons entomopathogènes
(*Beauveria bassiana*).**

Résumé

L'utilisation des champignons entomopathogènes est une alternative très prometteuse, dans la lutte biologique, qui jouent un rôle important dans la régulation naturelle des populations des insectes. Dans notre étude, nous avons étudié l'espèce *Beauveria bassiana* comme souche très importante dans la lutte biologique. Cette espèce est utilisée pour produire des bio-pesticides pour tuer les ennemis naturels tels que les coléoptères *Carpophilus* qui sont des sérieux ravageurs des cultures fruitières et de noix australiennes, et *Spodoptera frugiperda* qui empêche la croissance de maïs.

Mot clés :

Mots-clés : champignons entomopathogènes; *Beauveria Bassiana*; *Spodoptera frugiperda* ; *Zea mays* ; coléoptère *Carpophilus* ; lutte biologique ; contrôle biologique.

Membre du jury :

Présidente du jury : Benkahoul Malika (MCB- UFM Constantine).

Rapporteuse : Abdalaziz Ouided (MCA- UFM Constantine).

Examinatrice : Meziani Meriem (MCB- UFM Constantine).

**Présentée par : Beldi maroua
Ghemari ikram**

Année universitaire : 2020-2021