

REPUBLICQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE  
LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DE JIJEL  
FACULTE DES SCIENCES  
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE CELLULAIRE ET MOLICULAIRE

MB. M108

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DES  
ETUDES SUPERIEUR EN BIOLOGIE

OPTION  
MICROBIOLOGIE  
THEME

*L'isolement des champignons  
entomopathogènes à partir du sol*

ENCADRE PAR:

M<sup>r</sup> BOUHOUS M.

EXAMINE PAR:

M<sup>m</sup> BENHAMADA W.



REALISE PAR:

DAMOUS MOUNA

LARIBI NOUARA

REZZAK LINDA



PROMOTION  
2007-2008



# REMERCIEMENT

*Au terme de ce modeste travail, nous tenons à présenter*

*Notre profonde gratitude et nos vifs remerciements à notre  
encadreur « ROLAND MESTAFI » d'avoir  
proposé et dirigé ce travail.*

*Nous tenons à adresser nos remerciements aux enseignants du  
département de biologie qui ont assuré notre formation*





## Liste des figures

Figure 1 :L'appareil végétatif des champignons.....	4
Figure 2 : mode d'infection illustrant les composantes majeures des interactions entre les insectes et les pathogènes durant la pénétration cutile (adaptée de St-Leger).....	13
Figure (3): Colonies des champignons sur le milieu Doberski et tribe de dilution $10^{-1}$ après 6 jours.....	17
Figure (4): Colonies des champignons sur le milieu Doberski et tribe de dilution $10^{-2}$ après 6 jours.....	17
Figure (5) : Colonies de <i>Beauveria</i> sur milieu Doberski et Tribe après 12jours.....	18
Figure (6) : Culture de <i>Beauveria</i> sur milieu PDA âgée de 6jours.....	18
Figure (7) : Culture de <i>Beauveria</i> sur milieu PDA âgée de 18jours.....	18
Figure (8) :L'observation microscopique d'un frottis de <i>Beauveria</i> à l'objectif (10×40).....	19
Figure (9) : Hyphes et mycélium de <i>Beauveria</i> .....	19
Figure (10) : Colonies de <i>Beauveria</i> .....	19
Figure (11) : Colonies de l' <i>Aspergillus</i> sur milieu Doberski et Tribe après 24jours.....	21
Figure (12) : Culture de l' <i>Aspergillus</i> sur milieu PDA âgée de 6jours.....	21
Figure (13) : L'observation microscopique d'un frottis de l' <i>Aspergillus</i> à l'objectif (10×40).....	21
Figure (14) : Colonies de l' <i>Aspergillus</i> .....	22
Figure (15) : tête aspergillaire .....	22
Figure (16) : Colonies de <i>Penicillium</i> sur milieu Doberski et Tribe ( $D=10^{-3}$ ) après jours.....	23
Figure (17) : Colonies de <i>Penicillium</i> sur milieu doberski et Tribe ( $D=10^{-3}$ ) après 12jours.....	23

Figure (18) : Colonies de <i>Penicillium</i> sur milieu doberski et Tribe ( $D=10^{-3}$ ) après 18 jours.....	23
Figure (19): Culture de <i>Penicillium</i> sur PDA âgée de 6jours.....	24
Figure (20) : Culture de <i>Penicillium</i> sur PDA âgée de 18 jours.....	24
Figure (21) : L'observation microscopique d'un frottis de <i>Penicillium</i> à l'objectif (10×40).....	24
Figure (22) : colonies de <i>penicillium</i> .....	25
Figure (23) : Hyphes et mycélium de <i>penicillium</i> .....	25
Figure (24) : Colonies de <i>Fusarium</i> sur milieu Beilharz et al après 6jours.....	27
Figure (25) : Culture de <i>Fusarium</i> sur PDA âgée de 18jours.....	27
Figure (26) :L'observation microscopique d'un frottis de <i>Fusarium</i> à l'objectif (10×40).....	27
Figure (27) : Colonie de <i>Fusarium</i> .....	28
Figure (28) : mycélium et spores de <i>Fusarium</i> .....	28

# SOMMAIRE

INTRODUCTION.....1

## *PARTIE TEORIQUE*

### CHAPITRE I

I- L'utilisation des germes entomopathogènes dans la lutte biologique....2

I-1- Les virus.....2

I-2. Les bactéries.....2

I-3-Les protozoaires.....2

I-4-Les nématodes.....3

I-5. Microchampignons.....3

### CHAPITRE II

II- les champignons entomopathogènes .....4

II-1 Les caractères généraux des champignons.....4

II -1-1 L'appareil végétatif.....4

II-1-2-Cytologie et physiologie.....4

II-1-3-Mode de vie des champignons.....4

II-1-3-1-Les saprophytes.....5

II-1-3-2-Les parasites.....5

II-1.3-3 -Symbiose.....5

II-1-4-Facteur de croissance des champignons.....5

II-1-4-1-La nature du substrat.....5

II-1-4-2-La température.....5

II-1- 4-3- La lumière.....	5
II-1-4-4-L'humidité.....	6
II-1-4-5-Le pH.....	6
II-1-4-6-L'aération .....	6
II-1-5-Exigences nutritives des champignons.....	6
II-1-5-1-Source de carbone ou d'énergie.....	6
II-1-5-2- source d'azote.....	6
II-1-5-3-Les éléments minéraux .....	6
II-1-6 la roproduction.....	6
II-2-Classification .....	7
II-2-1 - Deuteromycotina .....	9
II-2- 2- Basidiomycotina.....	10
II-2- 3- Les zygomycotina.....	11
II-2-4-Les ascomycotina .....	11
II-3-Mode d'action et Principe actif .....	12
II-4-Les facteurs modulateurs des phénomènes pathologiques.....	14

*PARTIE PRATIQUE*

I- Matériels et méthodes.....	15
I-1- Prélèvement et préparation des échantillons.....	15
I-2-Préparation des milieux de la culture.....	15
I-2-1-milieu de Doberski et Tribe (1980).....	15
I-2-2- milieu de Beilharz et al (1982).....	15

I-2-3- milieu P.D.A : (potatos dextrose agar) .....	15
I-3-Les techniques.....	16
I-3-1- Milieu de Doberski et Tribe .....	16
I-3-2- Milieu beilharz et al.....	16
I-3-3- Milieu PDA .....	16
I-3-4-Préparation du frottis.....	16
II- Résultats et discussion.....	17
CONCLUSION.....	30
Référence bibliographique	

## Introduction

Depuis l'étude de Pasteur sur l'épidémiologie des maladies infectieuses, le sol peut servir de réservoir à un grand nombre d'agent pathogènes en attente d'un hôte nouveau, c'est seulement à une époque relativement récente que l'on a commencé à considérer que le sol constituait aussi l'habitat permanent d'une multitude d'êtres vivants dont le nombre de représentant connus augmente d'année en année (Pierre 1996).

La méthode de lutte contre les ravageurs au moyen des agents microbiens, utilise des organismes trouvés en milieu naturels comme le sol, les insectes et généralement beaucoup plus sélectifs que les pesticides chimiques.

Ces agents peuvent être combinés à d'autres méthodes de lutte et avoir une action prolongée grâce à leur établissement dans la population hôte. Parmi ces agents : les virus, les bactéries les nématodes, les protozoaires et les champignons qui sont souvent impliqués dans les épizooties qui ravagent les population de beaucoup d'insectes tel que : *Metarhizium anisopliae*, *Verticillium lecanii*, *Entomophaga grylli*, *Paecilomyces farinosus* et *Beauveria bassiana*.

L'objectif de notre travail est l'isolement de ces champignons entomopathogènes à partir du sol sur différents milieux de cultures spécifiques.



# partie théorique

# chapitre I

## **I-L'utilisation des germes entomopathogènes dans la lutte biologique:**

La lutte biologique, précisément par utilisation de microorganismes entomopathogènes est une alternative très prometteuse pour assurer une protection phytosanitaire performante de par l'ubiquité naturelle des agents microbiens dans les écosystèmes, leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action et aussi leur persistance dans l'environnement. (Ignoffo, 1970, 1973).

Les micro-organismes utilisés en lutte microbiologique appartiennent à plusieurs taxons à savoir les virus, les bactéries, les microchampignons, les nématodes et les protozoaires. (Ignoffo, 1970, 1973; Cantwell et Cantelo 1981,1984;Cantwell et al 1983). Ils sont naturellement présents dans l'environnement (sol, air, eau) et infectent généralement leur hôte soit par ingestion, par la cuticule ou par les orifices. (Jourdeuil et al. 1992).

### **1- Les virus:**

Une grande variété de virus entomopathogènes représentant au moins 13 familles de virus ont été déclarés comme affligeant les insectes, en plus d'un grand nombre de virus qui n'ont pas encore été classifiés (Hunter-fujita *et al.* 1998). Ces familles renferment la plupart des 650 espèces de virus entomopathogènes connues (Khachatourians, 1986). Ce sont les *Baculoviridae*, les *Reoviridae* (Miller et al. 1983 ; Cory, 2003) et les virus entomopox (*Poxviridae*) qui sont les plus utilisés en lutte biologique, car ils sont bénins pour les vertébrés, les corps d'inclusion ne pouvant se développer que chez les insectes (Paynes, 1982).

Sont normalement transmis horizontalement par ingestion de la nourriture contaminée y compris par cannibalisme et nécrophagie. La transmission horizontale par contact direct avec un individu malade, ou par l'intermédiaire d'un parasitoïde dont l'ovipositeur est contaminé de même que la transmission vertical est aussi possible (Poinard et Thomas ,1985 a , Fuxa1987).

### **2. Les bactéries:**

Selon Starnes *et al.* 1993, plus d'une centaine de bactéries ont été identifiées comme ayant un potentiel d'utilisation en lutte biologique. Ces bactéries entomopathogènes appartiennent surtout à trois grandes familles qui sont les Bacillaceae, Enterobacteriaceae et Pseudomonaceae (Greathead *et al.* 1994).

Les bactéries se développent dans l'hôte et le quittent quand celui-ci se désintègre (Toumanoff, 1953 Heimpel, 1955; Kushner *et al.* 1957; Heimpel, 1967). À l'heure actuelle, *Bacillus thuringiensis* Berliner et *B. sphaericus* sont les espèces les plus utilisées en lutte contre les ravageurs. Pour *B. sphaericus*, (Burgess, 1981; Singer, 1981). L'utilisation répétée des bactéries peut toutefois, comme les pesticides chimiques, entraîner une résistance chez certaines espèces (Dunphy et Tibelius, 1992).

### **3-Les protozoaires:**

Les protozoaires sont un groupe diverse et hétérogène d'organismes qui vivent en association avec des insectes dans des relations allant de commensales à pathogènes (Tanada et Kaya, 1993). Les familles les plus utilisées en lutte biologique sont les Amoebidae et les Nosematidae (Greathead et al. 1994). Les protozoaires

provoquent des maladies chroniques à évolution lente ou des enzooties, qui affaiblissent et affectent la croissance ou la fécondité de leur hôte plutôt que d'entraîner une mort rapide (Poinar et Thomas 1985 b). Cependant l'hôte infecté devient souvent plus sensible à d'autres infections d'origines virales, bactériennes ou mycoses. (Khachatourians, 1986).

#### 4. Les nématodes:

Il existe plusieurs espèces de nématodes parasites d'insectes. Pour la plupart d'elles, l'infection se fait à partir d'oeufs déposés sur les feuilles des plantes. Les oeufs éclosent et les larves regagnent l'hémocoèle et au quatrième stade quitte l'hôte par perforation des tissus interségementaires. Il s'en suit la mort de l'insecte. (Ignoffo et Hostetter, 1977; Burges, 1981; Roberts et Campbell, 1977; Gardner et al. 1977). Les bio-insecticides à base de plusieurs espèces de nématodes entomophages appartenant aux genres *Steinernema* et *Heterorabditis*, sont très spécifiques et ils concernent essentiellement des insectes vivants dans le sol (Catherine regnaultroger coord; 2005).

#### 5. Microchampignons

Parmi les micro-organismes utilisés en lutte biologique, plus de 700 espèces de microchampignons sont entomopathogènes (Starnes et al. 1993) et jouent un rôle important dans la régulation naturelle des populations d'insectes (Wraight et Roberts, 1987; Ferron, 1978). Les microchampignons entomopathogènes sont des agents de lutte très intéressants du fait de leur aptitude à infecter l'hôte par ingestion ou par simple contact pendant tous les stades, oeuf, larve, adulte sensibles ainsi que les suceurs-piqueurs (Carruthers et Soper, 1987).

L'exploitation moderne des champignons comme insecticides inondants a débuté dans les années 1960, et plusieurs produits basés sur *Beauveria bassiana* ont été employés pour contrôler un grand nombre de 11 ravageurs dans la République populaire de la Chine (Feng et al. 1994) et pour contrôler la doryphore de la pomme de terre dans l'ancienne URSS (Ferron et al. 1991). *Metarhizium anisopliae* détient un potentiel contre plusieurs espèces de ravageurs, et est utilisé commercialement au Brésil pour contrôler les aphrophores chez la canne à sucre (Wraight et Roberts, 1987). *Paecilomyces fumosoroseus* et *Verticillium lecanii* sont produits commercialement et utilisés pour contrôler les mouches blanches et les aphidés dans les serres en Europe et aux États-Unis (Copping, 2001).



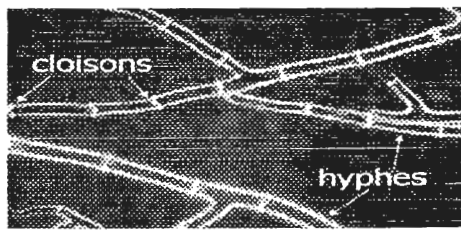
## II- les champignons :

### II-1 Les caractères généraux des champignons :

Les champignons constituent un ensemble très diversifié que l'on estime, bien que les chiffres soient approximatifs à un million d'espèces. Ils présentent des caractères communs aux plantes et aux animaux qui ne permettent pas de les classer dans l'un ou l'autre règne, ils forment donc un règne à part (Bouchet et al, 1999).

#### II -1-1 L'appareil végétatif :

Le thalle est unicellulaire (Levure) ou filamenteux formé de filaments tubulaires cylindrique ramifiés ou non, à croissance linéaire apicale, dont le diamètre varie selon les espèces de 1 à 2  $\mu\text{m}$ , jusqu'à plus de 50  $\mu\text{m}$ , l'ensemble des filaments (appelé hyphes) forme le mycélium. Ce dernier est dit « septé » lorsque des cloisons (septa) transversales s'y forment régulièrement; dans les parties actives du mycélium, ces cloisons sont percées d'un pore central en absence de cloison, le mycélium est dit (coenocytique) (egalement nommé siphon)



**Figure 1 : L'appareil végétatif des champignons.**  
(Nasraoui et Lepoivre, 2003).

#### II-1-2-Cytologie :

Les champignons, comme tout les eucaryotes, c'est-à-dire dont les cellules possèdent un appareil mitochondrial, un noyau pourvu d'une membrane nucléaire, de chromosomes et d'un nucléole. L'absence de chloroplastes en fait des organismes hétérotrophes comme les animaux, c'est-à-dire dont la nutrition carbonée dépend de la présence de matières organiques préformées vivants. Toutefois l'existence simultanée d'une paroi cellulaire périphérique et de vacuoles turgescentes dans le cytoplasme les rapproche aussi des végétaux (Patrick 1996).

#### II-1-3-Mode de vie des champignons :

Les organismes eucaryotes désignés sous le nom « vernaculaire » sont des champignons qui ne constituent pas une entité monophylétique mais forment au contraire un groupe très hétérogène dont la caractéristique essentielle commune est la nutrition hétérotrophe par absorption, celle-ci pouvant prendre la forme du saprophytisme, du parasitisme ou de la symbiose (Narsaoui et Lepoivre 2003).



### II-1-3-1-Les saprophytes :

Les espèces saprophytes se développent aux dépens des substances mortes d'origine animale ou végétale (Bouchet et al 1999).

### II-1-3-2-Les parasites :

Plusieurs champignons mènent une vie vis-à-vis des substances organique (Florent,1999).Le parasitisme est généralement nuisible et souvent nocif (Guiraud, 2003).

### II-1.3-3 –Symbiose :

Il s'agit d'une relation qui est très bénéfique aux deux partenaires : elle peut être facultative ou obligatoire (Florent, 1993).La symbiose des champignons avec d'autres êtres vivants est très ancienne ; c'est le cas des mycorhizes (champignon+plante) (Bouchet et al, 1999).

### II-1-4-Facteur de croissance des champignons :

Les champignons exigent des facteurs de croissances pour leur développement.

#### II-1-4-1-La nature du substrat :

Tous les champignons sont des organismes hétérotrophes, se développant donc exclusivement sur des substrats organiques (Les symbioses:il s'agit d'une relation qui est très bénéfique aux deux partenaires : elle peut être facultative ou obligatoire (Florent,1993), la symbiose des champignons avec d'autres Lyrat et vierling,2001).les substrats généralement utilisés par les microorganismes peuvent être sous forme d'hydratate de carbone, de lipide ou de protéine(Oteng-gyang,1984 ; Mescle et Zucca,1996).

#### II-1-4-2-La température :

La température joue un rôle prépondérant dans la croissance mycélienne ; elle intervient dans la sporulation des spores .la plus part des moisissures se développent entre 20 à 25 C° (Bourgeois, 1996).

#### II-1- 4-3- La lumière :

La lumière n'est pas indispensable au développement végétatif des champignons mais elle influence le rythme de croissance circadien et la sporulation de certains d'entre eux, notamment via les rayonnements UV (Nasraoui et Lepoivre, 2003).

**II-1-4-4-L'humidité :**

L'humidité a une grande influence sur le développement des moisissures : non seulement sur la croissance des mycéliennes et la sporulation, mais plus particulièrement sur la germination des spores (Moreau, 1996).

**II-1-4-5-Le pH :**

La plupart des moisissures n'ont que peu d'exigences à l'égard du pH ; elles savent d'ailleurs l'ajuster rapidement à leur convenance .si la majorité d'entre elles aiment des substrats dont le pH est compris entre 4 et 8, certains tolèrent cependant des pH beaucoup plus acide ou très alcalins (Moreau, 1996).

**II-1-4-6-L'aération :**

La quantité d'oxygène mise à la disposition des moisissures est un facteur important de développement. La plupart sont aérobies (Jompher 2001) les plus exigeantes vivent dans les régions périphériques des substrats ; les moins exigeants peuvent se développer en profondeur. Certaines peuvent même supporter une anaérobiose stricte (Moreau, 1996).

**II-1-5-Exigences nutritives des champignons :****II-1-5-1-Source de carbone ou d'énergie :**

Tous les champignons carbonés semblent pouvoir être utilisés au moins pour quelques espèces de champignons .peu d'espèces sont capables cependant de dégrader les hydrocarbures, la lignine ou la kératine .les champignons peuvent dégrader les hexoses, les pentoses, ainsi que les glucides (Larpen, 1990).

**II-1-5-2- source d'azote :**

L'azote peut être fourni sous forme minérale ou organique .La plupart des champignons peuvent en général assimiler aussi bien l'azote ammoniacal que l'azote nitrique (Davet et Rouxel, 1997).

**II-1-5-3-Les éléments minéraux :**

En dehors du carbone et de l'azote, les éléments minéraux majeurs sont le phosphore, le potassium, le magnésium, et le soufre. Ils sont fournis sous forme de  $PO_4$ ,  $K^+$ ,  $Mg$  et  $SO_4^{2-}$  (Davet et Rouxel, 1997).Quant les champignons se trouvent dans des milieux riches en éléments nutritifs, ils peuvent stocker des éléments de réserves constitués de glycogène (un polymère de d-glucose) ou de gouttelettes d'huile observable en microscope photonique (Nasroui et Lepoivre, 2003).

### II-1-6 la reproduction:

Les champignons se reproduisent essentiellement par des spores uni ou pluri cellulaires. On distingue, selon leurs origines, les spores sexuées et asexuées. La forme sexuée, ou téléomorphe, a pour fonction de maintenir l'espèce et apparaît souvent en fin de saison alors que la forme asexuée, dite aussi forme imparfait ou anamorphe, assure la propagation (Corbaz, 1990 ; Nasraoui et al, 1999).

### II-2-Classification des champignons entomopathogènes :

Les champignons entomopathogènes appartiennent aux sous- divisions *Mastigomycotina*, *Zygomycotina* (*Entomophthorales*), *Ascomycotina*(*clavicipitales*) et *Deuteromycotina*(*Hyphomycètes*) (Ainsworth et al ;1983) .Celles-ci englobent les ordres qui rassemblent les familles. Une famille comprend des genres qui englobent des espèces, celles-ci peuvent se subdiviser en variétés. L'identification des champignons est essentiellement morphologique. Un micromycète peut parfois se présenter sous différentes forme : une forme sexuée ou téléomorphe et une forme asexuée ou anamorphe, les deux formes portant des nom différents. Lorsque plusieurs aspects coexistent pour la forme asexuée, on parle de synanamorphes. Lorsque l'espèce fongique existe dans la même culture sous forme sexuée et asexuée, on parle d'holomorphe. En pratique, lorsqu'un champignon est découvert en culture, il portera le nom de la forme isolé, lorsqu'il existe sous les deux formes (anamorphe et téléomorphe), c'est le nom de la forme sexuée qui sera retenu en priorité.Le tableau suivant montre la classification des champignons.

TABLEAU I : Aperçu taxonomique des champignons (d'après Ainsworth et al, 1983).

Sous-divisions	Ordres	Familles	Genres
<i>Mastigomycotina</i>			
<i>Zygomycotina</i>	<i>Endogonales</i>		
	<i>Entomophthorales</i>	<i>Basidiobolaceae</i>	
		<i>Entomophthoraceae</i>	<i>Entomophaga</i>
		<i>Zoopagaceae</i>	
	<i>Mucorales</i>		
	<i>Zoopagales</i>		
<i>Ascomycotina</i>	<i>Arthoniales</i>		
	<i>Caliciales</i>		
	<i>Clavicipitales</i>	<i>Acrospermataceae</i>	
		<i>Clavicipitaceae</i>	<i>Cordyceps</i>
		<i>Hypomycetaceae</i>	
	<i>Dothideales</i>		
	<i>Graphidales</i>		
	<i>Helotiales</i>		
	<i>Hypocreales</i>		
	<i>Laboulbeniales</i>		
	<i>Lecanorales</i>		
	<i>Opegraphales</i>		
	<i>Peltigerales</i>		
	<i>Pezizales</i>		
	<i>Pyrenulales</i>		
	<i>Sphaeriales</i>		
<i>Basidiomycotina</i>			
<i>Deuteromycotina</i>	<i>Hyphomycètes</i>		<i>Aspergillus</i>
			<i>Beauveria</i>
(pas de classification formelle)			<i>Metarhizium</i>
	<i>Coelomycètes</i>		<i>Sorospora</i>

### II-2-1 - Deuteromycotina :

La sous-division des *Deuteromycotina* regroupe les champignons dont on ne connaît pas la reproduction sexuée (fungi imperfecti ou champignons imparfaits) et les formes asexuées (anamorphes) des *Axomycotina* et des *Basidiomycotina* (les formes sexuée sont appelées téléomorphes (Bouchet et al ;1999, Mendonça ;1992).

Ils regroupent les genres les plus communément étudiés tels *Beauveria*, *Métarrhizium*, *Paecilomyces*, *Spicaria* (=Normuraea), *Hirsutella*... Les deux genres les plus utilisés dans la lutte biologique contre les insectes sont *Beauveria* et *Metarrhizium* (Mendonça, 1992). Macleod (1954) réduisit l'abondante synonymie du genre *Beauveria* (*Sporotrichu*, *Isaria*, *Penicillium*, *Botrytis*... ) et proposa de distinguer les deux seules espèces types *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin et *Beauveria tenella* (Delacroix) Siemaszko ; de Hoog (1972) rétablit le nom *Beauveria brongniartii* (Saccardo) Petch sous lequel on doit désormais désigner *B.tenella*. En ce qui concerne *Metarrhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin, on distingue deux formes : une forme major (dimensions des conidies  $7-16 \times 2,5-3,5\mu$ ) ainsi qu'une forme minor encore dite « anisopliae » ( $3-5 \times 2-3\mu$ ) (Veen, 1968). Gams et Rozsypal (1973) ont décrit une nouvelle espèce, *Metarrhizium flavoviride*, caractérisée par la teinte vert-jaune de sa sporée typiquement vert foncé chez *M.anisopliae* et par la morphologie de ses conidies de forme grossièrement ellipsoïde et de taille intermédiaire entre les "major" et les "minor" ( $7-9 \times 4,5-5,5\mu$ ); les mêmes auteurs pensent, sur la base des descriptions fournies par Borowka et al ; (1970), que l'espèce *Metarrhizium velutium*, x-ci ont été décrites, est très voisine de *M.anisopliae*. D'après nos propres observations, *M.flavoviride* pourrait être un agent entomopathogène intéressant pour la lutte biologique car il provoque une mycose endémique dans les populations de *l'otiorrhynchus* du fraisier en Bretagne.

Le genre *Paecilomyces* : (*Paecilomyces farinosus* « Holm ex s.f.gr déjà revu par Brown et Smith (1957) vient d'être étudié à nouveau par Samson (1974) qui le découpe en deux sections, section *Paecilomyces* et section *Isarioide* dans laquelle sont regroupées les espèces entomopathogènes (les 2 précédemment indiquées ainsi que *P.amoenoroseus* (P.henn) Samson, nouvelle espèce isolée de larves et nymphes de coléoptères et de lépidoptères au Ghana si 3 espèces de *Paecilomyces* ont des stades sexués reconnus parmi les ascomycètes, par contre en ce qui concerne les espèces entomopathogènes toutes les tentatives, de culture visant à démontrer leur parenté avec les formes sexuées des ascomycètes *Cordyceps* et *Torrubiella* ont jusqu'à présent échoué.

Le genre *Akanthomyces* (Mains, 1950) qui développe des synnema semblable à ceux de *Paecilomyces* s'en distingue cependant par la disposition particulière des phialides tout au long des synnema, alors qu'elles ont une disposition verticillée chez *Paecilomyces*. Cependant Samson et Evans (1974) signalent que *Akanthomyces gracilis*, pathogène pour les chenilles de lépidoptères et le Cereopide au Ghana, peut être considéré comme une forme de passage entre les deux genres.

Les mêmes auteurs donnent de nouvelles descriptions des genres *Gibellula* (Mains, 1950) et *Peudogibellula* (Samson et Evans, 1973), pathogène d'Arachnides, d'hyménoptère formicidé et d'homoptères cercopidé, dont la potentialité d'emploi en



lutte microbiologique n'a pas encore été éprouvées. Il en est d'ailleurs de même pour les *Akanthomyce* précédemment cité.

Kish, Samson (1974) ont proposé que l'espèce *Spicaria rileyi* (Farlow) Charles, déjà écartée du genre *Paecilomyces* par Brown et Smith (1957) soit rattachée au genre *Nomuraea* décrit par Maublanc (1903) sous le nom *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson. Cette espèce réputée pour sa croissance lente (alors que l'utilisation d'un milieu de culture à base d'un cocktail commercial de 8 jus de légumes nous donne entièrement satisfaction à la Minière) cause des épizooties dans les populations de *Trichoplusiani* au Texas (Getzin, 1961) et s'avère, d'après nos expérimentations un agent entomopathogène aux potentialités non négligeables (Fargues et Rodriguez, 1974). Une autre espèce, *Nomuraea atypicola* (Yasuda) Samson est décrite par Samson (1974) à partir de cultures isolées essentiellement d'araignées qui, d'après Kobayasi (1941), sont fréquemment atteintes de cette mycose au Japon.

Le genre *Hirsutella* (Mains, 1951) présente des analogies morphologiques avec le genre *Akanthomyces* par la formation de synnema portant des phialides latérales, celles-ci ont cependant la particularité de se terminer par un long strigmate portant à sa pointe une conidie le plus souvent englobée de mucus. Pathogènes d'insectes appartenant à tous les groupes systématiques, le genre compte un assez grand nombre d'espèces parmi lesquelles *Hirsutella*

*Gigantea* Petch (Macleod, 1959) et surtout *Hirsutella thompsonii* Fisher (Fisher, 1950) qui fait l'objet d'un programme de recherches et d'application en Floride pour lutter contre les pullulations de l'acarien *Phyllocoptruta oleivora* en plantations de citrus (McCoy, 1969, 1972).

Protsenko (1967) a établi une clé systématique du genre *Aschersonia* (*Sphaeropsidales*) pathogènes de coccidae et d'Aleurodidae. Ces espèces représentent le stade conidial d'espèces sexuées appartenant au genre *hypocrella* (ascomycètes)

(cf. Petch 1921, Mains 1959 a et b). Cependant chez la plupart des espèces la formation des périthèces est rare. Mains (1959 b) a décrit 7 espèces pathogènes d'aleurodes en Amérique du nord, dont la plus fréquente *Aschersonia aleyrodis* Weber. Elle se présente sous la forme d'un stroma circulaire convexe, de 0.5 à 5 mm de largeur, entouré d'un fin feutrage mycélien sur 1 mm de largeur, d'une couleur blanche à ochracée, généralement plus ou moins recouvert d'une sporée orange à l'état frais et percé de quelques orifices périthéciaux. Au début du siècle (Berger 1907, Fawcett 1908) des expérimentations prometteuses furent réalisées en Floride contre les aleurodes des citrus. Plus des résultats très encourageants ont été signalés contre le même ravageur en République autonome d'Adjarie (URSS) par Gaprindashvili et al. (1964).

## II-2- 2- Basidiomycotina :

La sous-division des *Basidiomycotina* (« *Basidiomycètes* ») est caractérisé par l'existence d'un sporocyste spécialisé, la baside (du grec basis, base et idiots, particulier) donnant naissance à des spores exogènes, les basidiospores.

Alors que chez les *Ascomycotina*, se forment à l'intérieur du sporocyste ou asque, chez le *Basidiomycotina*, les spores se différencient extérieurement à l'extrémité du stérigmate. De plus, la spore est disséminée avec une enveloppe provenant de la paroi de la baside, ce qui lui assure une protection supplémentaire.

Les Basidiomycotina, avec environ 14000 espèces décrites, sont les champignons les plus perfectionnés. Leur mycélium est cloisonné ; ils comprennent de nombreuses espèces à sporophores de grande taille, telle que les bolets, les champignons de couche ou les amanites (Bouchet et al, 1999).

### II-2- 3- Les zygomycotina :

Les champignons de la sous-division *zygomycotina* ont des hyphes sans paroi entre les noyaux (coenocytique).

On regroupe dans l'ordre des *entomophthorales* les espèces qui projettent leur spores avec force. La famille des *entomophthoraceae* contient uniquement des espèces entomopathogènes dont *Entomophthora grylli*, qui attaque les criquets. Ce champignon, très largement réparti dans le monde, est étudié depuis longtemps (Skaife, 1925 ; Uvarov, 1928 ; Lepesme, 1938 ; Chapman & Page, 1979 ; etc.). *Entomophthora muscae* se développe sur les mouches mortes, *Entomophthora virulenta*, pathogène pour les hémiptères, lépidoptères et diptères. (Botton, 1985-1990).

Soper (1974) a commencé l'étude du genre *Massospora* par une revue systématique à partir du matériel récolté sur la cigale *Okanaga ramosa* Say ; parallèlement Macleod et Muller-Kogler (1970, 1973) ont entrepris une monographie du genre *Entomophthora* qui compte 150 espèces décrites et dont l'espèce type est *Entomophthora (=Empusa) muscae* Cohn. A partir des 8 sous-genres proposés au cours des vingt dernières années pour classer les différents types : *Zygaenobia* (Weiser, 1951), *Zoophthora*, *Triplosporium*, *Entomophthora* (Batko, 1964a), *Culicicola* (Batko, 1964b), *Strongwellsea* (Batko et Weiser, 1965), *Tarichium* (Weiser, 1965) et *myiophthon* (Arx, 1970), Macleod et Muller-Kogler ont tout d'abord décrit les espèces dont le stade conidial est inconnu et qui étaient pour la plupart désignées sous le genre *Tarichium* (1970), puis les espèces ayant des conidies pyriformes à sphériques (1973). Ultérieurement ils se proposent de prendre en considération les espèces dont les conidies ont une forme en cloche puis celles possédant des conidies fusiformes, ovales ou elliptiques.

### II-2-4- Les Ascomycotina :

Les ascomycotina (« ascomycètes ») sont caractérisés par la formation, au cours de leur reproduction sexuée, de sporocystes spécialisés ou asques. (du grec askos, outre), à l'intérieur desquels s'individualisent, à la suite d'une méiose, les ascospores. (Bouchet et al., 1999). Evlakhova (1974) donne une clé systématique des *Myriangiiales* (Loculoascomycetidae), pathogènes homoptères coccoides (*Myriangium duriaci*, *M. asterinosporum*, *M. tuberculans* et *M. floridanum*) mais faute de révision du genre il est nécessaire de se reporter aux descriptions de Retch (1924) et de Miller (1940) ou à la monographie générale du genre de Von Arx (1963).

### II-3-Mode d'action et Principe actif :

Le champignon entomopathogène doit être pulvérisé directement sur les insectes ravageurs pour que le traitement soit efficace. Il attaque les organes internes provoquant l'arrêt du processus d'alimentation de l'insecte et causant sa mort 24 à 48 heures après l'infection (Anonyme, 2003).

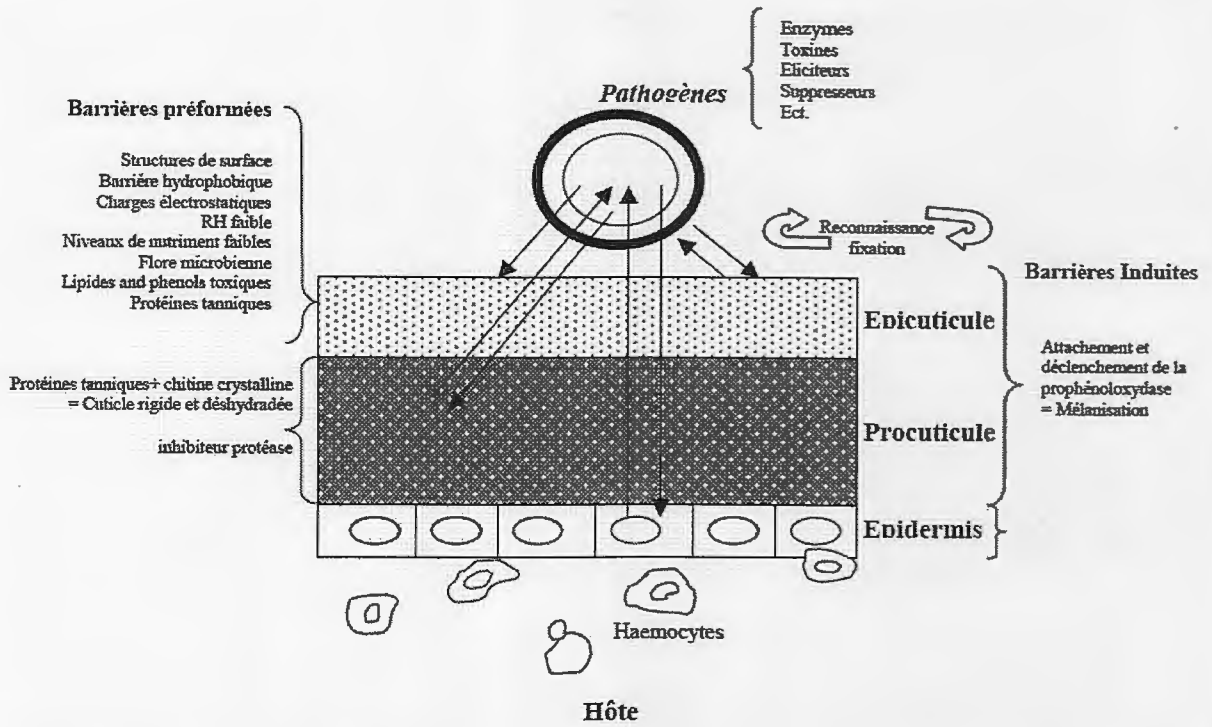
Le mode d'infection se divise en quatre étapes distinctes qui sont l'adhésion, la germination, la différenciation; la pénétration.

L'**adhésion** est caractérisée par un mécanisme de reconnaissance et de compatibilité des conidies avec les cellules tégumentaires de l'insecte (Vey et al. 1982). Cette phase se scinde en deux étapes distinctes, la première passive ou l'attachement à la cuticule est réalisée grâce à des forces hydrophobiques et électrostatiques (Fargues 1984; Butt, 1990, Bôucias et al.1984) et la seconde active caractérisée par la production d'un mucilage qui va engendrer une modification épicuticulaire (Wraight et al. 1987) aboutissant à la germination.

**Après la phase d'adhésion**, la germination va être dépendante des conditions environnantes et aussi de la physiologie de l'hôte; (composition biochimique de la cuticule de l'hôte) qui peut favoriser ou inhiber la germination (St-Leger et al. 1989; Butt et al. 1995, Smith et Grula, 1982, Butt, 1990; Butt et Becket, 1994).

L'**avant dernière phase** est la différenciation caractérisée par la production d'appressorium, structures terminales qui vont servir de point d'encrage, de ramollissement de la cuticule et favoriser la pénétration. La production des appressoria est très dépendante de la valeur nutritive de la cuticule de l'hôte (St-Leger et al. 1989; Magelhaes et al. 1990). Une cuticule nutritive va stimuler la croissance myceliale plutôt que la pénétration (St-Leger et al. 1989).

La **dernière phase** est la pénétration de l'hôte qui se fait par la combinaison de pression mécanique (Pekrul et Grula, 1979) et enzymatique (Butt, 1990; Charnley, 1989; St-Leger 1993) telles que les lipases, les protéases et les chitinases (Kucera et Samsinakova 1968, Léopold et Samsinakova, 1970), la plus importante dans la pénétration étant les protéases. (St-Leger et al. 1988; 1989; Butt et al, 1988).



**Figure 2 : mode d'infection illustrant les composantes majeures des interactions entre les insectes et les pathogènes durant la pénétration cutile (adaptée de St-Leger).**

(Vey et al.,1982).

#### II-4-Les facteurs modulateurs des phénomènes pathologiques :

Plusieurs facteurs biotiques et abiotiques sont susceptibles d'exercer une influence plus ou moins directe sur ces phénomènes directs pathologiques

**La spécificité parasitaire des souches**, déterminée génitiquement est incontestablement la qualité principale de ces germes. Elle est bien évidemment corrélée à la valeur sélective des espèces d'insectes qui correspond à leurs aptitudes à résister électivement aux attaques cryptogamiques (Riba 1985).

**La mue** peut être un moyen de défense contre les mycoses lorsque l'exuviation survient alors que le champignon n'a pas encore attaqué au nouveau tégument.

**L'état sanitaire de l'hôte** amoindri par une infection préalable fongique virale ou bactérienne, ou l'application d'une dose réduite d'insecticide chimique, n'accroît apparemment par la sensibilité de l'insecte aux muscardines, et n'a donc pas connu le succès escompté par ces promoteurs (Telonga 1964). La température mais aussi les variations thermiques ont un rôle déterminant dans nos régions.

Parmi les facteurs abiotiques, régions tempérées compte tenu du fait que la température optimale de croissances des hyphomycètes se situe plus souvent aux environs de 25 C°. Ainsi l'on comprend que les basses températures du sol au printemps, peuvent être, dans les pays tempérés un facteur limitant l'action des champignons entomopathogènes ; de même, les trop fortes températures à la surface du couvert végétatif ensoleillé seront néfastes au déroulement des mycoses.

Une humidité relative proche de la saturation est souvent un facteur déterminant de l'infection et tout particulièrement de celle des oeufs (Marcandier 1982).



# partie pratique

# Matériels et méthodes

**I- Matériels et méthodes :****I-1- Prélèvement et préparation des échantillons :**

Le prélèvement a été fait à partir de la ferme « Adouan ali », à la première semaine du mois de mai 2008, sur une profondeur de 40 à 45 cm du sol par l'utilisation d'une tarière, les échantillons ont été recueillis dans des sacs en plastique et séchés à la température du laboratoire (20 -25°C). Après broyage et tamisage les échantillons sont conservés au frigo (4-6°C) jusqu'à utilisation.

**I-2-Préparation des milieux de la culture :****I-2-1-milieu de Doberski et Tribe (1980) :**

Glucose.....40g  
 Peptone.....10g  
 Violet de cristal .....10mg  
 Chloramphénicol.....500mg  
 Gélose.....15  
 Eau distillé.....100ml

Autoclaver la solution ci-dessus, et autoclaver d'autre part une solution- mère de cycloheximide à 10mg/l .Ajouter la cycloheximide au milieu stérile tiède .de façon à avoir une concentration finale de 250 mg / l.

Le milieu a été modifié par le manque de cycloheximide .

**I-2-2- milieu de Beilharz et al (1982) :**

Flocons d'avoine broyés .....20g  
 dodine.....650mg  
 gélose.....20g  
 Eau distillé.....1000ml

Autoclaver 20min à 121°C.

Le milieu a été modifié par le remplacement de dodine par l'himexazol

**I-2-3- Milieu PDA : (Potatos dextrose agar) :**

Le préparation de l'extrait se fait par l'utilisation de pomme de terre non pelée vieilles de préférence ,après lavage et découpage ,en petit cube ,pesé 200g ,puis additionnée à 500ml d'eau distillée et porter à ébullition pendant 1 heure , sur une plaque(Chauffante) avec agitation à 110°C en dissout 20g d'agar à chaud dans 500ml d'eau distillée en suite en ajoute 20g de glucose, les cubes sont écrasés pour une meilleure extraction, l'extrait de pomme de terre est ajouté à la solution obtenue compléter à 1 litre d'eau distillée, et le tout filtrées sur une gaz.

Le milieu est stérilisé par autoclave à 120°C pendant 30 min (Botton et al 1990).  
 Ce milieu a été utilisé pour le repiquage.

### **I-3-Les techniques :**

#### **I-3-1- Milieu de Doberski et Tribe :**

- **Suspension-dilution (dilution plate) :**

Méthode des suspension- dilution incubation à 25°C

La préparation des dilution consiste tout d'abord à ajouter 10g du sol à 90 ml d'eau stérile, puis agiter pendant 30 min , ce qui consiste la dilution  $10^{-1}$  .des prélèvement successifs de 10 ml dans cette suspension , puis dans les suivantes , ajouter chaque fois à 90 ml d'eau stérile ;vont constituer les dilutions  $10^{-2}$  , $10^{-3}$  .....jusqu'à  $10^{-6}$  en général au moment de l'analyse ,10ml de chaque dilution sont versés dans une fiole d'erlenmeyer contenant 90 ml du milieu Doberski et Tribe maintenu en surfusion au bain- marie entre 37 et 40 °c après homogénéisation , les 100ml sont répartis en 5 boites de pétri que l'on maintient à 25 °c de température pendant 15 jours .

#### **I-3-2- Milieu beilharz et al (1982):**

Déposer quelques mg de sol au fond d'une boite de pétri et verser par-dessus 25 ml de milieu maintenu en surfusion à 45 C°. Agiter pour homogénéiser. Laisser incubé 4 semaines à 22 C°. Pour éviter le dessèchement de la gélose, conserver les boites empilées dans des sacs en plastiques.

#### **I-3-3- Milieu PDA :**

Les observations des boites sont faites chaque matin et dès qu'il y a apparition de colonies sur les milieux de culture, les repiquages sont réalisées sur le milieu PDA. Les boites sont en suite incubées à 25 c° pour permettre le développement des souches purifiés (Rapilly, 1968).

#### **I-3-4-Préparation du frottis :**

Les lames sont dégraissées par l'alcool et séchées par du papier filtre .Une goutte d'eau est déposée sur la lame à l'aide de l'anse de platine stérilisée.

En suite on prélève un fragment de chaque colonie avec l'anse de platine bien stérile et le déposé sur la lame .puis on fait des tours circulaires sur l'échantillon. Les observations sont faites par le microscope optique à l'objectif (40x10) (Rapilly, 1968).

# Résultats et discussion



## II- Résultats et discussion :

Après culture sur milieu **Doberski et Tribe (1980)** et l'incubation dans une étuve à 25°C pendant 6 jours, on observe des colonies non séparées sur toute la surface de la gélose ayant des couleurs et des formes différentes sur les boîtes de dilution ( $D=10^{-1}$ ,  $D=10^{-2}$ ) (figures 3-4).

Après 7 jours d'incubation d'autres colonies bien séparées sont apparues sur les boîtes de dilution ( $D=10^{-3}$ ).

Dans le cas des boîtes de dilution ( $D=10^{-5}$ ,  $D=10^{-6}$ ) et après 18 jours nous avons observé l'apparition des différentes colonies. Sur les boîtes de dilution ( $D=10^{-5}$ ) aucune colonie n'a poussé.

Sur le milieu **Beilharz et al (1982)** et dans les mêmes conditions d'expérimentation, après 8 jours d'incubation différentes colonies sont apparues.

Après le repiquage sur milieu **PDA** et incubation, différentes caractéristiques sont apparues.

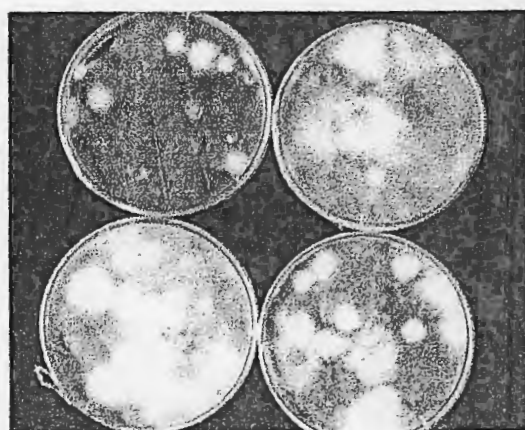


Figure (3): Colonies des champignons sur le milieu Doberski et Tribe de dilution  $10^{-1}$  après 6 jours.

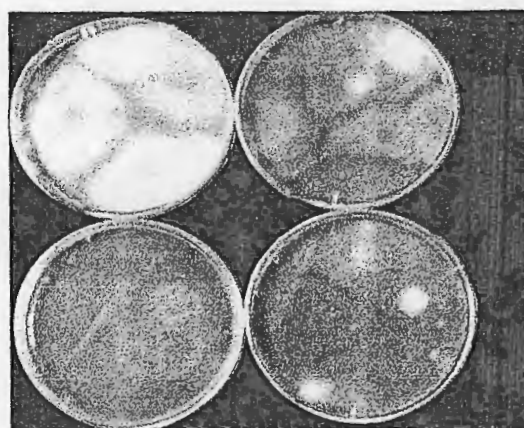
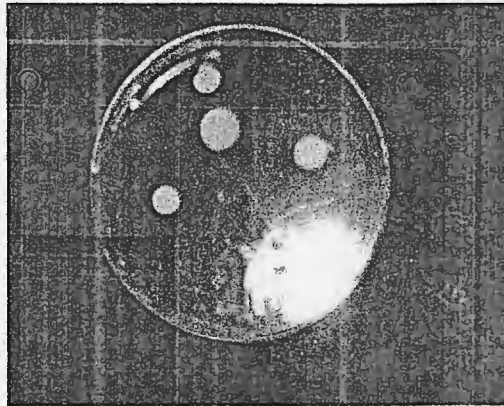
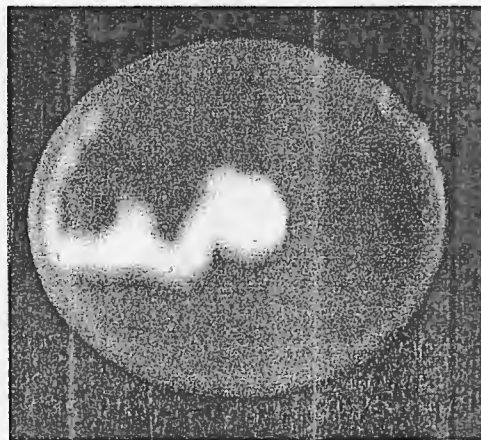


Figure (4): Colonies des champignons sur le milieu Doberski et Tribe de dilution  $10^{-2}$  après 6 jours.

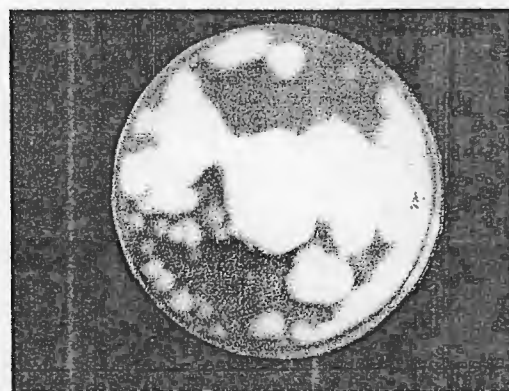
**II-1-*Beauveria* :**



**Figure (5) : Colonies de *Beauveria* sur milieu Doberski et Tribe après 12jours.**



**Figure (6) : Culture de *Beauveria* sur milieu PDA âgée de 6jours.**



**Figure (7) : Culture de *Beauveria* sur milieu PDA âgée de 18jours.**

*Penicillium* :

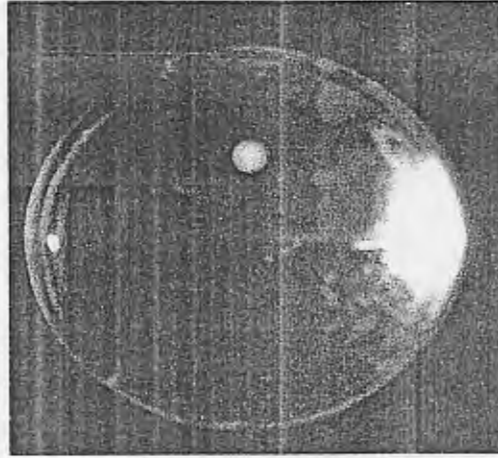


Figure (16) : Colonies de *Penicillium* sur milieu Doberski et Tribe ( $D=10^{-3}$ ) après 6 jours.

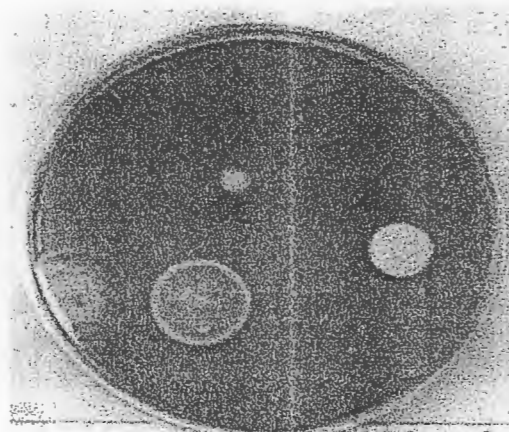


Figure (17) : Colonies de *Penicillium* sur milieu doberski et Tribe ( $D=10^{-3}$ ) après 12 jours.

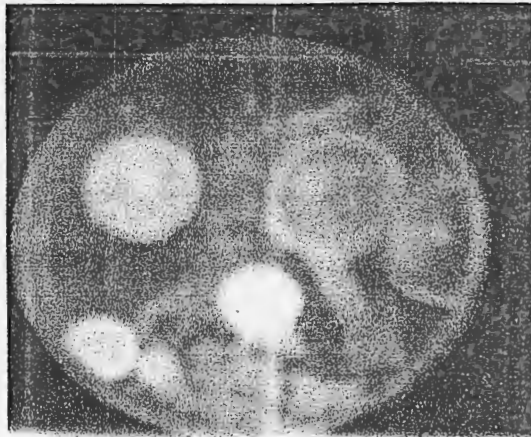


Figure (18) : Colonies de *Penicillium* sur milieu doberski et Tribe ( $D=10^{-3}$ ) après 18 jours.

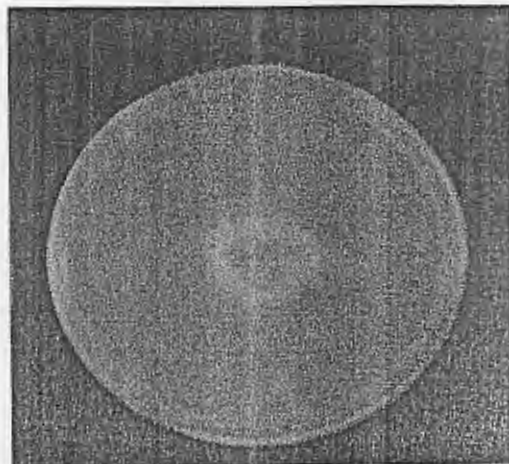


Figure (19): Culture de *Penicillium* sur PDA âgée de 6 jours.

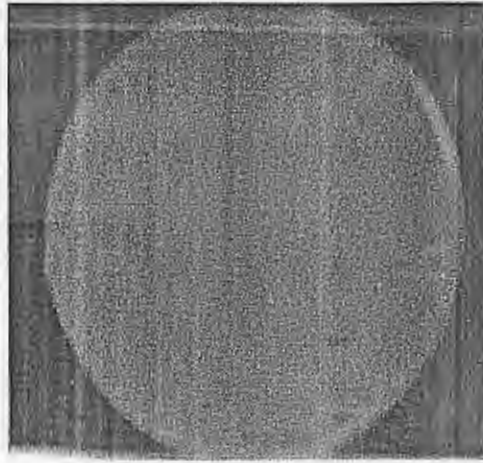


Figure (20) : Culture de *Penicillium* sur PDA âgée de 18 jours.

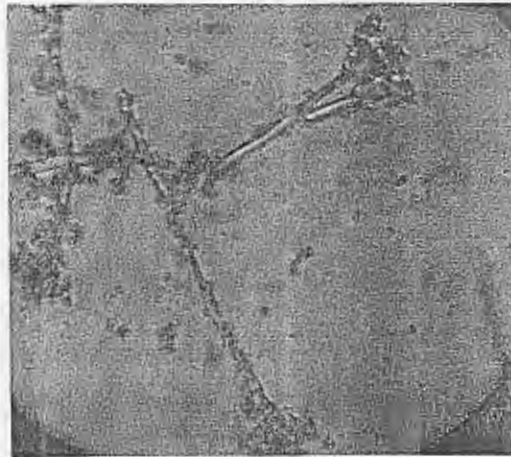
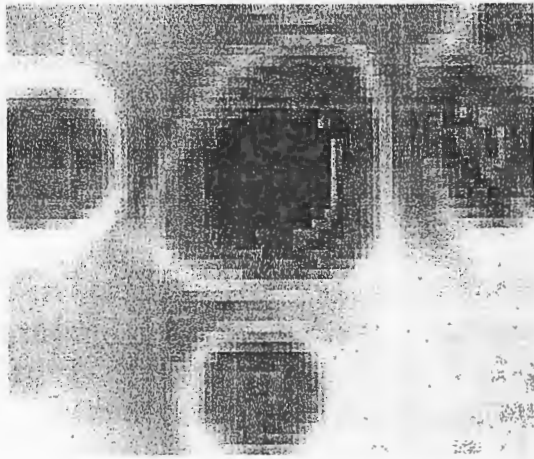
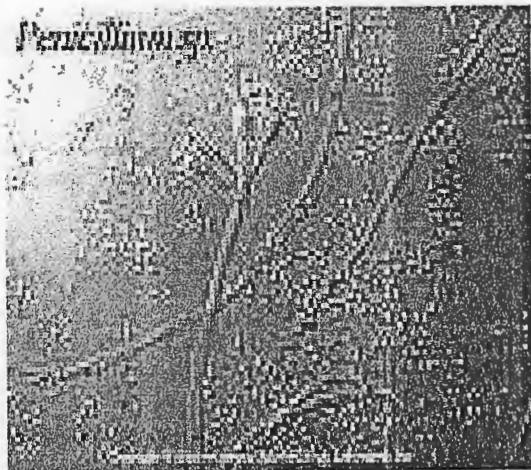


Figure (21) : L'observation microscopique d'un frottis de *Penicillium* à l'objectif (10×40).



**Figure (22) : colonies de *penicillium*.**  
[Www.alpha1.inf](http://www.alpha1.inf)



**Figure (23) : Hyphes et mycélium de *penicillium*.**  
[Www.alpha1.inf](http://www.alpha1.inf)



**L'observation macroscopique :** Ce champignon pousse facilement sur le milieu Doberski et Tribe(1980),Après 6 jours d'incubation ce champignon est apparue sous forme de petites colonies blanches bombés et régulières, **figure (16).**

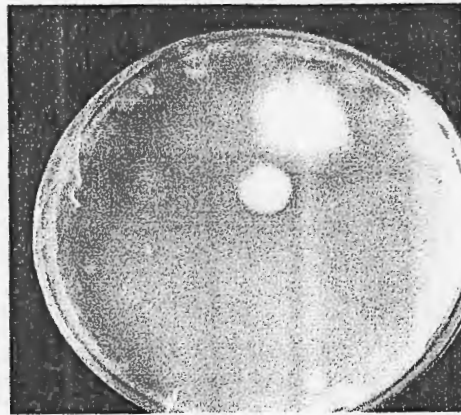
Après 12 jours d'incubation, ces colonies sont devenues vertes **figure (17)**, Et sont restées de même couleur jusqu'à 18 jours, **figure (18).**

Sur milieu PDA la croissance est rapide, après 6 jours la colonie duveteuse, poudreuse, verte, **figure (19).**

**L'observation microscopique :** les conidiophores ramifiés, les phialides sont disposées en verticilles à l'extrémité des conidiophores. Elles sont insérées par l'intermédiaire de deux rangées successives de métules *Penicillium* triverticillés sur les conidiophores, les phialides sont serrées les unes contre les autres, l'ensemble donne une image de pinceau ou (pénicille).Les conidies sont rondes, lisses, pigmentées en vert **figure (1).**

Ces caractères macroscopiques et microscopiques sont comparables aux caractères décrit par Botton et al (1990) .D'autres caractères microscopique non observées tel que : les hyphes septés hyalins, portent des conidiophores simple ou ramifiés (biverticillé, quadriverticillé, etc...) parfois regroupés en buisson ou corémie.

#### ***Fusarium :***



**Figure (24) :** Colonies de *Fusarium* sur milieu Beilharz et al après 6 jours.

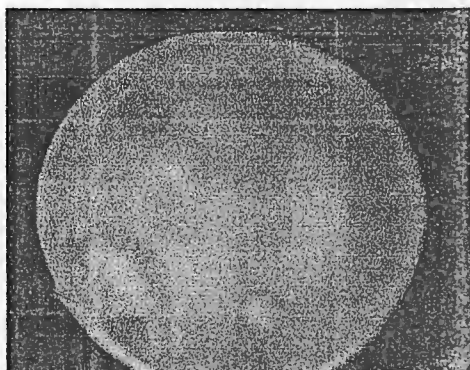


Figure (25) : Culture de *Fusarium* sur PDA âgée de 18 jours.

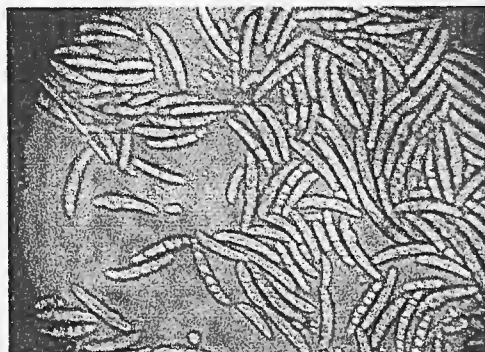


Figure (26) : L'observation microscopique d'un frottis de *Fusarium* l'objectif (10x40).

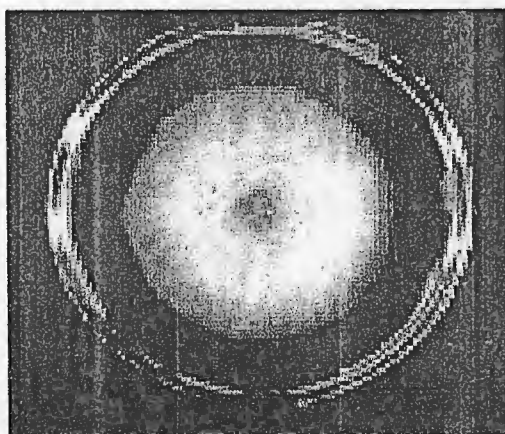
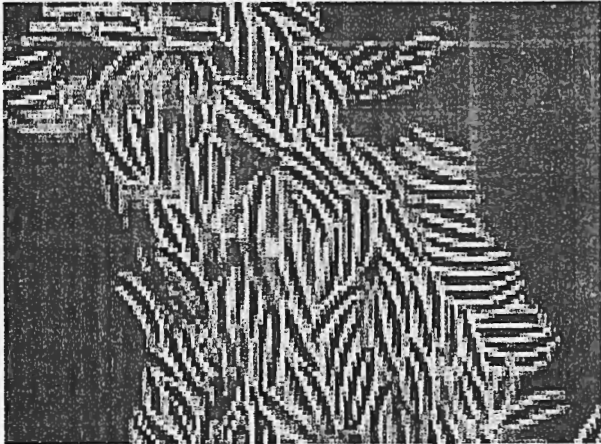


Figure (27) : Colonie de *Fusarium*  
[www.mycology.adelaide.edu.au](http://www.mycology.adelaide.edu.au)



**Figure (28) :** mycélium et spores de *Fusarium*  
[www.quantuslabs.com](http://www.quantuslabs.com)

**L'aspect macroscopique :** sur milieu Beilharz et al (1982) après 6 jours il y a des petites colonies de couleur blanc cassé **Figure (24)** le développement dans ce milieu est lente.

Sur le milieu PDA et après 18 jours on observe des colonies duveteuses de couleur crème, **Figure (25)**.

**L'aspect microscopique :** on observe des conidies pluricellulaires à cloisons seulement transversales, elles sont fusiformes, courbées, assez pointues au extrémités **Figure (26)**.

Ces caractères microscopique et macroscopique sont semblables aux caractères qui apparaît dans la **figure (27)** et **figure (28)**.

### Conclusion

L'objectif principal a été d'isoler les champignons entomopathogènes à partir du sol, dans ce cadre nous avons utilisé des milieux spécifiques pour l'isolment (milieu de Doberki et Tribe, milieu de beilharez) et le milieu de PDA pour le développement des souches isoler.

Les résultats obtenues à partir de l'analyse du sol nous ont permit d'identifier les genres entomopathogènes siuivants : *Beauveria*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*.

## Références bibliographiques

**Ainsworth et al., (1983).** – *Dictionary of the Fungi* (7th edition). – Commonwealth Mycological Institute:Surrey (UK). – 445 p.

**Anonyme. (2003).** Can biological control thrips work in a spring bedding plant crop?  
Page consultée le 19 novembre 2003. Adresse URL  
: <http://www.agnr.umd.edu/ipmnet/thrsprng.htm>

**Batco A., (1964 a).** On the new genera: *zoophora* gen. nov., *Triplosporium* (Thaxter) gen. nov. And *Entomophaga* gen. nov. (*phycomycetes* : *Entomophthoraceae*). Bull. Aca. Polon. Sci. Cl. II, Ser. Sci. Biol., 12, 323-623.

**Batco A., (1964 b).** Some new combinations in the fungus family *Entomophthoraceae* (*phycomycètes*). Bull. Acad. Polon. Sci. Cl. II? Ser. Sci. biol., 12, 403-406.

**Batco A., et Weiser J., (1965).** On the taxonomic position of the fungus discovered by Strong, Wells and Apple: *Strongwellsea castrans* gen. et sp. nov. (*Phycomycètes* ; *Entomophthoraceae*). J. Invert. Pathol., 7, 455-463.

**Bourgeois C. M., (1996).** Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Ed. Lavoisier Tec et Doc. Paris. Tome 1. pp. 42-56.

**Brown A. H. S. et SMITH G., (1957).** The genus *Paecilomyces* Bainier and its perfect stage *Byssochlamys* Westling. Trans. Brit. Mycol. Soc., 40, 17-89.

**Burgess, H. D., (1981).** Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980. Academic Press, London

**Butt, T.M., (1990).** "Fungal infection processes. A mini-review" Vth Int. Colloq. Invertebr. Pathol. Adelaide. Soc. for Invertebr. Pathol. pp 121-124.

**Butt, T.M. et Beckett, A., (1994).** "Structural studies on the infection processes of entomogenous fungi". International Colloquium for Invertebr. Pathol., August 28th-Sept. 2nd, 1994. Montpellier, France. Proceedings, p311-314.

**Butt, T. M., L. Ibrahim, B. V., S. J. Clark. et A. Beckett., (1995).** The germination behavior of *Metarhizium anisopliae* on the surface of aphid and flea beetle cuticles. Mycol. Res. 99: 945-950.

**Beilharz V.C., Parbery G. et Swart H. J., (1986).** DODINE : a selective agent for certain soil fungi. Trans. Br. mycol. soc. 97, 507-511.

**Berger E. W., (1907).** Whitefly conitions in 1906. The use of the fungi. Florida Univ.. Agr. Expt. Sta. (Gainesville), Bull. ,88, 85 pp.

**Borowska A., Golonkova J. et Kotulowa W., (1970).** *Metarrhizium velutinum* n . sp acte mycol . Warszawa,6, 329-336.

Botton B., (1990). Moisissures utiles et nuisibles. Massan editeur : 120.b d saint germain 75280 paris Gedex 06 Dépôt légal ; NP ; 296.

**Bouchet P, guignard J.L.et Villard J., (1999).**Les champignons .In »les champignons : mycologie fondamentale et appliquée Ed». MASSON.paris 11<sup>ème</sup> édition.pp.1-36.

**Boucias, D. G. et J. C. Pendland., (1984).** Nutritional requirements for conidial germination of several host range pathotypes of the entomopathogenicFungus *Nomurea rileyi*. J. Invertr. Pathol. 43: 288-292. Hokkanen & A.E. Hajek, (éds)Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands pp. 73-92

**Cantwell, G.E et WW Cantelo (1981).** Bacillus thuringiensis, a pontential control agent for the colorado potato beetle. Am. Potato J. 58:457-468.

**Cantwell, G.E, E. Dougherty et W.W. Cantelo (1983).** Activity of the exotoxin of *Bacillus thuringiensis* var, thuringiensis against the colorado potato beetle(Coleoptera : chysonoelidae) and bucterial mutagenic response as determined by the Amer test. environ, Entomol, 12 :1424-1427.

**Cantwell, G.E et WW. Cantelo (1984).** Control of the colorado potato beetle with *Bacillus thuringiensis* variety thuringiensis.Am. Potato J. 61 :451-458.

**Carruthers, R. I. et Soper, R. S.,( 1987).** Fungal diseases. In: Fuxa, J. R. andTanada, Y. (eds), Epizootiology of Insect Diseases. Wiley-Interscience,New York, pp. 357-416.

**Charnley, A.K., (1989).** Mechanisms of fungal pathogenesis in insects. In:Biotechnology of fungi for improving plant growth (Whipps, J.M. andLumsden, R.D. Eds) pp 85-123. Cambridge Univ. Press.

**Copping, L.G., (2001).** « The BiopesticideManual » (2e éd.) *British Crop ProtectionCouncil*, Royaume-Uni. p.528.

**Corbaz R., (1990).** Maladies des plants et leurs agents .In «Principes de phytopathologie ».Ed .Presses polytechnique et universitaires romande .Suisse 1<sup>ère</sup> édition .pp .1-19.

**Cory J.S; (2003).** « Ecological impacts of virus insecticides: Host range and nontargetorganisms. » Tiré de: *EnvironmentalImpacts of Microbial Insecticides* (H.M.T.



- Davet P. et Pouxel F., (1997).** détection et isolement des champignons du sol. Ed. INRA. Paris .pp.7-201.
- De Hoog g.s., (1972).** The genera *beauveria*, *isaria*, *tritirachium* and *acrodontium* gen. nov. Stud. Mycology, CBS Baarn, 1, 41 pp.
- Doberski J.W. et Tribe H.T. (1980)-** isolement of entomogenous fungi from elm bark and soil with refence to ec 908, fungous diseases of scale insects and whitefly. florida agric. Expt. Sta. Bull., 94, 1-17.
- Dunphy, G. B. et Tibelius, K. H., (1992).** Les progrès biotechnologiques Augmentant l'efficacté de *Bacillus thuringiensis* et de *Bacillus sphaericus* en Tant qu'insecticide microbien. In la lutte biologique, sous la direction de C. Vincent et D. Coderre, p. 305-322. Chicoutimi, Québec, Canada. Gaetan Morin éditeur ltée.
- Eviakhova A.A., (1974).** Les champignons entomopathogènes : systématique, biologie et importance pratique. Izdatel'stvo « Nauka » leningradskoe Otdelenie, leningrad, 260 pp.
- Fargues J. et Rodriguez D., (1974).** Etude préliminaire sur la pathogenicité pour les Noctuelles des champignons imparfaits (Deutéromycètes ) entomopathogènes. Rev. Zool. Agric. Patho, v, g. 1, 28-34.
- Fargues, J., (1984).** Adhesion of the fungal spore to the insect cuticle in relation to Pathogenicity. In: Infection Processes of Fungi. D. W. Roberts and J. R. Aist(eds.). Rockfeller Foundation, pp. 90-110.
- Feng, M.G., T.J. Poprawski, et G.G.Khachatourians; (1994).** « Production,\*formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status », *Biocont. Sci. Technol.* 4, p. 3-34.
- Ferron, P ;( 1978).** Biological control of insects pests by entomogenous fungi. Ann.Rev. Entomol. 23: 409-442.
- Ferron, P., J. FARGUES et G. RIBA ; (1991).** « Fungi as microbial insecticides against pests », Tiré de: *Handbook of Applied Mycology*. Vol. 2, (D.K. Arora, L. Ajelio & K.G.Mukerji, éd.), Marcel Dekker, New York, pp.665-706.
- Fisher F.E., (1950).** Two new species of *Hirsutella* Patouillerd. Mycologia, 42 ; 290-297.
- Florent J., (1993).** Les moisissures .In « Microbiologie industrielle, Les micro-organismes d'intérêt industriel ».Ed.Lavoisier Tec et Doc .Paris .pp.112-162.
- Fuxa. , (1987).** Host biology : the key to understanding host- pathogen interaction and microbiol pest contral-agricultural and forest entomology 1.195, 202.

**Gams W. et Rozsypal J., (1973).** *Metarrizium flavoviride* n.sp. isolated insects and from soil. Acta Bot. Neerl., 22, 518-521.

**Gaprindashvili N.K., Isarlishvili S.Ja. et Mosulishvili N.M., (1964).** Employer du champignon *Aschersonia aleyrodis* Weber pour la lutte contre l'Aleurode du Citronnier dans la République autonome d'Adjarie. Issled po biolog. Metod bor'by s vreditel. Sel'skogo i Iesnogo khozjaistva. Syposium de Novossibirsk. 34-36.

**Gardner, W. A., M. R. Sutton et R. Noblet., (1977).** Persistence of *Beauveria bassiana*, *Nomuraea necatrix* on soybean foliage. Environ. Entomol. 6: 616- 618.

**Getzin L.W., (1961).** *Spicaria rileyi* (Farlow) Charles, an entomogenous fungus of *Trichoplusia ni* (Hübner). J. Insect Path., 3, 2-10.

**Greathead, D. J., Kooyman, C., Launois-Luong, M. H., et Popov, G. B., (1994).** Les ennemis naturels des criquets du Sahel. Collection acridologie opérationnelle N° 8 CILSS/DFPV, Niamey, Bp 12625. Niger.

**Heimpel, A. M., (1955).** Investigations of the mode of action of strains of *Bacillus Cereus* Frankland and Frankland pathogenic for the larch sawfly, *Pristiphora erichsonii* (Htg.), Can. J. Zool., 33, 311.

**Heimpel, A. M., (1967).** A critical review of *Bacillus thuringiensis* var. *Thuringiensis* Berliner and other crystalliferous bacteria. Ann. Rev. Entomol., 12, 287.

**Hunter-Fujita, Ntwistle, H.F. Evans ET N. Crook; (1998).** « Insect Viruses and Pest Management », Wiley, Chichester, UK, p.350.

**Ignoffo, C. M., (1970).** Proceedings of the Tall Timbers Conference on Ecology of Animal Contributions by Habitat Management, Tallahassee, Florida. TallTimbers Research Station: 47-57.

**Ignoffo, C. M., (1973 a).** Effects of Entomopathogens on Vertebrates. Ann. N. Y. Acad. Sci., 217: 141-165.

**Ignoffo, C. M., (1973 b).** Vertebrates and entomopathogens, Ann. N.Y. Acad. Sci., 217, 165.

**Jean-michel gobat michel-aragno willy matthey., (2003).** le sol vivant, achevé d'imprimer sur les presses de marcel bon impremeur vesoul, France.

**Jomphe M., (2001).** Mycorrhizes à arbuscules. Ed. CRECO. pp.6-10.

**Jourdeuil, P., P. Grison et A. Fraval.,(1992).** La lutte biologique: un aperçu historique. La lutte biologique. Dossier de la Cellule environnement de l'INRA 5, 11-35.

**Khachatourians, G.K., (1986).** Production and use of biological pest control agents. Trends Bio. Tech. 4: 120 - 124. Ignoffo.

**Kish L. P., Samson R. A .et ALLEN G. E., (1974).** The genus *Nomuraea* Naubanc. J. Invert. Pathol. , 24, 154-158.

**Kobayasi Y., (1941).** The genus *Cordyceps* and its allies. Sci Pepts. Tokyo Bunrka Daigaku Sect. B, 5, 53-260.

**Kucera, M. et A. Samsinakova., (1968).** Toxins of the entomophagous fungus *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol. 12: 316-320.

**Kushner, D. J. et Heimpel, A. M., (1957).** Lecithinase production by strains of *Bacillus cereus* Fr. and Fr. pathogenic for the larch sawfly *Pristiphora Erichsonii* (Htg.). Can. J. Microbial. 3. 547.

**Larpent J.P., (1990).** Moisissures utiles .In « Moisissures : utiles et nuisibles, Importance industrielle ». Ed. MASSON. Paris .2<sup>ème</sup>. Édition .pp.292-318.

**Leopold, J. et A. Samsinakova., (1970).** Quantitative estimation of chitinase and several other enzymes in the fungus *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol. 15: 34-42.

**Lipa, J. J., (1975).** White muscardines (*Beauveria sp.*). In: An Outline Of Insect Pathology. Foreign Sci. Publ. Dept NCSTEL, Warsaw, Poland, pp. 139-142.

**Macleod D.M., (1954).** Investigations on the genera *beauveria* vuill. and *tritirachium* limber. canad. J. Botany, 32, 818-890.

**Macleod D.M., (1960).** Nitritional studies on the genus *Hirsutella* .III .acidhydrolysed casein and amino-acid combinations as sources of nitrogen .J . Insect Pathol . , 2 , 139-14

**Macleod D.M. et Muller-Kogler E . , ( 1970 ).** Insect Pathogens: species originally described from their resting spores mostly as *Tarichium* species (*Entomophtherales*: *Entomophthoraceae*). Mycologia, 62, 33-66.

**Macleod D.M. et Muller-Kogler E., (1973).** Entomogenous fungi : *Entomophthora* species with pearshaped to almost spherical conidia (Entomophthorales : *Entomophthoraceae*). Mycologia, 65, 823-893.

- Magalhaes, B. P., J. C. Lord, S. P. Wraight, R. A. Daoust et D. W. Roberts., (1990).** Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Zoophthora radicans* to the coccinellid predators *Coleomegilla maculata* and *Eriopis connexa*. J.Invertebr. Pathol. 52: 471-473.
- Mains E. B., (1950 a)** .Inhomogeneous species of *Akanthomyces*, *hymenostilbe* and *Insecticola* in North America. Mycologia, 42, 566-589.
- Mains E. B., (1950 b)** .The genus *Gibellula* on spiders in North America .Mycologia, 42, 306-321.
- Mains E. B., (1959 a).** North American species of *Aschersonia* parasitic on *Aleyrodidae* .J.Insect Pathol. , 1, 43-47.
- Mains E. B., (1959 b).** Species of *Aschersonia* (Sphaeropsidales). Lloydia ,22,215-221.
- Makambila C., (1989).**Les microorganismes fongiques saprophytes du maïs au cours de la conservation au Congo .Céréales en région chaudes, AUPELF-UREF, Ed .John Libbey Eurotext. Paris .pp. 117-121.
- McCoy C. W. et Kanavel R. F., (1969).** Isolation of *Hirsutella thompsonii* from the citrus rust mite *Phyllocoptruta oleivora* and its cultivation on various synthetic media. J .Invertebr . pathel. , 14, 386-390.
- McCoy C.W., Hill A.J. et Kanavel R.F., (1972).**A liquid medium for the largescale production of *Hirsutella thompsonii* in submerged culture.J.Invertebr.Pathol.,19,370-374.
- Mendonça A.F., (1992).** – Mass production, application and formulation of *Metarhizium anisopliae* for control of sugarcane froghopper, *Mahanarva posticata*, in Brazil. – IN : LOMER C.J. & PRIOR C.(Ed. Sc.). – *Biological control of locusts and grasshoppers. Proceedings of a workshop held at the International Institute of Tropical Agriculture, Cotonou, Benin, April 29-May 1st, 1991.* – CAB International :Oxon (UK): 239-244.
- Mescel J.F. et Zucca J ., (1996).** Les facteurs du développement .In ‘microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments » .Ed .Lavoisier Tec et Doc .Paris .Tome 1 .pp.4-34.
- Moreau C., (1996).** Microbiologie alimentaire : aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments .Ed .Lavoisier Tec et Doc. Paris .Tome 1 .pp.176-248.
- Nasraoui B. Et Lepoivre P., (2003).** Les champignons phytopathogènes. In « phytopathologie ».Ed . De Boeck université .Bruxelles.pp.111-143.

**Oteng-Gyang k .,(1984).** Introduction à la microbiologie alimentaire dans les pays chauds .Ed. Lavoisier Tec et Doc .Paris .pp. 26-235.

**Pekrul, S. et E. A. Grula., (1979).** Mode of infection of the corn earworm (*heliiothiszea*) by *Beauveria bassiana* as revealed by scanning electron microscopy. J.Invertebr. Pathol. 34: 238-247.

**Petch T., (1921).** Studies in entomogenous fungi .II .The genera *hupòcrellà* and *aschersonia* .Ann. Roy .Botan . Garden peradeniya, 7,167-278.

**Pierre D;( 1996).** Vie microbienne du sol et production végétale, l'institut nationale de la recherche acronymique INRA.paris. p : 383.

**Poinar, G. 0. et G. M. Thomas.,( 1985 a).** Laboratory guide to insect pathogens andparasites, Plenum Press, New York, P. 329.Cloutier, C., et Cloutier, C. 1992. Les solutions biologiques de lutte pour la répression des insectes et acariens ravageurs des cultures. In La lutte biologique, sous la direction de C. Vincent et D.Coderre, p.19-88.Chicoutimi, Québec, Canada: Gaétan Morin éditeur ltée.

**Poinar, G. 0. et G. M. Thomas.,( 1985 b)** éléments préliminaires pour la lutte biologique les noctuelles de la tomates. *Heliiothis (chloridea helicoverpa)* armiger hbn par l'emploi de la bactéries *bacillus thuringiensis* .revue horcicole N°= 248-5

**Rapilly F.(1968)**-les techniques de mycologie en pathologie végétale .INRA, Paris.

**Roberts, D. W. et A. S. Campbell., (1977).** Stability of entomopathogenic fungi. Masc. Publ. Entomol Soc. Am. 10: 19-76.

**Rolfs P.H.and fawcett H.s., 1-Fargues J. et Rodriguez D.,(1974).** Etude préliminaire sur la patho genicité pour les Noctuelles des champignons imparfaits (Deutéromycètes ) entomopathogènes. Rev. Zool. Agric. Patho, v, g ., 1, 28-34.

**Samson R. A. et Evans H. C., (1973).** Notes n entomogenous fungi from Ghana .I .The genera *Gibellula* and *Pseuogibellula* . Acta Bot. Neerl. , 22, 522-528.

**Samson R.A. et Evans H. C., (1974).** Notes on entomogenous fungi from Ghana. I I. The genus *Akanthomyces* . Acta Bot. Neerl. , 23, 28-35.

**Samson R.A.,( 1974).***peacilomyces* and some allied hyphomycetes. Stud. Mycol., C.B.S.Baarn, 6 ,119 pp.

**Singer, S. (1981).** Potential of *Bacillus Sphaericus* and related spore-formingbacteria for pest control. In: Burgess, H. D. (ed.) Microbial Control of Pestsand Plant Diseases 1970-1980. Academic Press, New York, pp. 283-98.

**Skou J. P., (1972)** .Ascopherales, Friesia, 10, 1-24.

**Soper r. S. et Bryan T. A., (1974)**. The mammalian safety for the Aphid-attacking fungus *Entomophthora thaxteriana* .Environmental Entomology , 3, 346-37.

**Smith, R. J. et E. A. Grula., (1982)**. Toxic components on the larval surface of the Com earworm (*Heliothis zea*) and their effects on germination and growth of *Beauveria bassiana*. J. Invertebr. Pathol 39: 15-22.

**St. Leger, R. J., P. K. Durrands, A. K. Charnley. et R. M. Cooper., (1988)**. Role of extracellular chymoelastase in the virulence of *Metarhizium anisopliae* for *Manduca sexta*. J. Invertebr. Pathol. 52: 285-293.

**St. Leger, R. J., T. M. Butt, R. Staples. et D. W. Roberts., (1989 a)**. Production of appressoria by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Exp. Mycol. 13: 274-288.

**St. Leger, R.J., Butt, T.M., Staples, R. et Roberts, D.W., (1989 b)**. Production *in vitro* of a cuticle-degrading protease by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. Exp. Mycol. 13: 253-262.

**St. Leger, R., (1993)**. Biology and mechanisms of insect-cuticle invasion by Deuteromycete fungal pathogens. In: Parasites and Pathogens of insects. Vol. 2, Pathogens. N. E. Beckage and B. Federici (eds.). Academic Press, New York, pp. 211-230.

**Starnes, R. L., C. L. Liu et Marone P. G. ;( 1993)**. History, use and future of Microbial insecticides. Amer. Entomol. 39:83-91.

**Tanada, Y. et H.K. Kaya (1993)**. « Insect Pathology », Academic Press, New York, 666 pp.

**Tourmanoff. C., (1953)**. Description de quelques souches entomophytes de *Bacillus cereus* Frank. And Frank. Avec remarques sur leur action et celle d'autres bacilles sur le jaune d'oeuf, Ann. Inst. Pasteur, 85, 90.

**Veen K.H.,( 1968)**. recherches sur la maladie due à *metarrhizuim anisopliae* chez le criquet pèlerin. meded. landbouwhogeschool, wageningen, 68,1-77.

**Vey, A.J., Fargues, J. et Robert, P., (1982)**. Histological and ultrastructural studies of factors determining the specificity of pathotypes of the fungus *Metarhizium anisopliae* for scarabeid larvae. Entomophaga 27: 387-397.

Weiser J., (1951).príspevek K poznani plisni cizopasicich v hmzu .entomol.listy (Folia entomologica), Brno, 1-4.130-1

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

**Wraight, R. J. et D. W. Roberts ;(1987).** Insect control effort with fungi. *Devel. Industr. Microbiol.* 28: 77-87.



Sites d'internet :

[www.biotec.or.th](http://www.biotec.or.th).

[www.alamofireandwater.com](http://www.alamofireandwater.com)

[www.botanic.hr](http://www.botanic.hr)

[www.alpha1.inf](http://www.alpha1.inf)

[www.mycology.adelaide.edu.au](http://www.mycology.adelaide.edu.au)

[www.quantuslabs.com](http://www.quantuslabs.com)

## Thème

L'isolement des champignons entomopathogènes à partir du sol

Présentés par :  
DAMOUS MOUNA  
LARIBI NOUARA  
RSZZAK LINDA

### Les nombres de jury :

- ❖ Examinatrice: M<sup>me</sup> BENHAMADA W.
- ❖ Encadreur : M<sup>r</sup> BOUHOUS M.

### Résumé :

Notre études contribue à rechercher des champignons entomopathogènes a partir du milieu natural (le sol) par l'utilisation de déffirents milieux de culture spécifiques, en vue de sélectionner les espèces les plus pathogènes pour les utiliser dans la lutte Biologique, Nos résultat ont permet de sélectionner les genres : *Beauveria*, *Pénicillium*, *Fusarium* et *Aspergillus*.

Ce qui montre la richesse du sol en champignons entomopathogènes.

Mots clés : lutte biologique, entomopathogènes, champignons du sol, microorganismes.

### Abstract

Our research helps search for mushrooms entomopathogenic from the natural environment (the ground) by using diffirents specific culture media, to select the most pathogenic spices for use in the fight Organics. Our results were used to select genres: *Beauveria*, *Pénicillium*, *Fusarium* and *Aspergillus*.

This shows the richness of the soil fungi entomopathogens.

Key words: biological, entomopathogens, mushroom soil, microorganisms.

### الخلاصة :

تساهم دراستنا في البحث عن الفطريات الممرضة للحشرات، انطلاقا من وسط طبيعي ( التربة ) ، باستعمال اوساط زراعية مختلفة ، من اجل الاستعمال في المكافحة الحيوية .نتيجة هذه الدراسة تسمح لنا باختيار الاجناس

التالية : *Beauveria*, *Pénicillium*, *Fusarium*, *Aspergillus*

هذا يثبت غناء التربة بالفطريات الممرضة للحشرات .

الكلمات الدالة : المكافحة الحيوية ، ممرضات الحشرات ، فطريات التربة ، الكائنات الدقيقة.