REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE Dr. Yahia Farès de Médéa

Faculté des Sciences Nature et Vie

Mémoire de Fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Agronomique

Option : Phytopathologie

Présenté par : BOUREGAA Reguia

HARKAT Zineb

Evaluation de l'activité biocide d'un champignon entomopathogène Aspergillus (Niger) sur les tribolium confusum

Soutenue publiquement le :

Devant le jury :

Président :	M^{me}.Dif S.	**MAA**	Université de Médéa
Promoteur :	M^{me}.Mostefaoui H.	**MCA**	Université de Médéa
Co-promoteur :	M^{lle}.Abdelaziz O	**MCB**	Université de Constantine 1
Examinateur:	M^{r}.Chaouach A	**MAA**	Université de Médéa

Médéa 2022/2023

Résumé :

Évaluation d'activités biocides des champignons entomopathogènes sur quelques bio agresseurs

Les insectes engendrent des dégâts importantssur les plantes cultivées et des denrées alimentaires stockée, pour faire face ont fait appelles à des moyennes de lutte basée sur l'utilisation des produits chimiques qui ont des effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement. De ce fait l'utilisation d'autres alternatives de lutte devient indispensable.Pour cela, notre travail s'inscrit en lutte biologique qui chercher activement des souches de microorganismes dotés de pouvoirs pathogènes susceptibles de contribuer dans la régulation des populations de l'insecte. Notre étude consiste à évaluer l'activité biocide deschampignons entomopathogènes(Aspergillus*Niger*) sur le *Trubollium confusum* de l'orge. Pour tester de ces derniers nous avons procédé àla purificationdes colonies fongiques par le repiquage successif jusqu'à obtention d'une souche pure. A partir des souches des différentes suspensionsont été préparé à base de deux milieux PDA (commercialisé etpréparée) et deux solutions (physiologiques et osmotiques). Les résultats révèlent une mortalité par le biocide à base de solution osmotique de milieu PDA préparé plus élevée que celle de biocide à base de solution physiologique de milieu PDA commercialisé.

Mot clés : entomopathogène, luttebiologique, *Aspergillusniger*, *penicillium* sp, *Tribolliumconfusum*.

Abstract :

Evaluation of biocidal activities of entomopathogenic fungi on some bio-aggressors

Insects cause significant damage to cultivated plants and stored foodstuffs, to deal with it, means of control have been called for based on the use of chemicals which have harmful effects on human health and the environment. As a result, the use of other control alternatives becomes essential. For this, our work is part of biological control which actively seeks strains of microorganisms with pathogenic powers likely to contribute to the regulation of insect populations. Our study consists in evaluating the biocidal activity of entomopathogenic fungi (Aspergillus Niger) on Trubollium confusum of barley. To test these, we proceeded to the purification of the fungal colonies by successive transplanting until a pure strain was obtained. From the strains of the different suspensions were prepared based on two PDA media (marketed and prepared) and two solutions (physiological and osmotic). The results reveal a higher mortality by the biocide based on osmotic solution of PDA medium prepared than that of biocide based on physiological solution of marketed PDA medium.

Key words: entomopathogen, biological control, *Aspergillusniger*. *penicillium* sp, *tribolliumconfusum*.

الملخص

تقييم انشطة المبيدات الحيوية للفطريات الممرضة للحشرات على بعض العوامل البيولوجية الضارة

تتسبب الحشرات في أضرار جسيمة للنباتات المزروعة والمواد الغذائية المخزنة، ولمواجهة ذلك فقد تم الاستعانة بوسائل للمكافحة تعتمد على استخدام المواد الكيميائية التي لها آثار ضارة على صحة الإنسان والبيئة. نتيجة لذلك، يصبح استخدام بدائل التحكم الأخرى أمرًا ضروريًا. لهذا، فإن عملنا هو جزء من المكافحة البيولوجية التي تبحث بنشاط عن سلالات من الكائنات الحية الدقيقة ذات قوى مسببة للأمراض من المحتمل أن تساهم في تنظيم تجمعات الحشرات. تتكون دراستنا من تقييم نشاط المبيدات الحيوية للفطريات الممرضة للحشرات ((اسبرجيلوس نايجر على الشعير تريبوليوم كونفوزوم . لاختبار ذلك، انتقلنا إلى تنقية المستعمرات الفطرية عن طريق الزرع المتتالي حتى يتم الحصول على سلالة نقية. من سلالات المعلقات المختلفة تم تحضيرها على أساس اثنين من وسائط) **PDA**تم تسويقها وتحضيرها) وحلين (فسيولوجي وتناضحي). كشفت النتائج عن معدل وفيات أعلى بواسطة المبيد الحيوي على أساس المحلول التناضحي لوسط **PDA** المحضر من المبيد الحيوي بناءً على المحلول الفسيولوجي لوسط **PDA** المسوق

الكلماتالمفتاحية: ممرضالحشرات،المكافحة البيولوجية، اسبرجيلوس نايجر ،بنيسليوم،تريبوليم كونفزوم،

Remerciements

Nous remercions **DIEU** le Généreux qui a enseigné à l'homme ce qu'il nesavait pas et de m’avoir donné le courage et la patiente pour terminer ce travail.

Nous tenons à exprimerà notre encadreur Madame **Mostefaoui Houda**, M.C.A à l’université Dr Yahia Fares de Médéa ; pour son soutien scientifique et ainsi,nous la remercions denous avoir encadré, orienté, aidé et conseillé, qu'elle trouve ici notre reconnaissance la plus profonde et le respect.

Nous remerciementà**Mlle Boukoffa Kenza Yasmine** qui était d’une aide précieuse et d’une grande disponibilité durant toute cette aventure prodigieuse.

Nous tenons à remercier les membres de jury :
Madame **Dif Sabrine** M.A.A.qui nous a fait l’honneur de présider le jury.
Monsieur **Chaouach Abdelrazek** M.C.A pourd'avoir accepté d'examiner et de juger ce travail.
Nous leur exprimons notre chaleureuse gratitude et notre respect.

Nous remerciements à Madame **Chaouatti Karima** M.A.A pour son aide pratique et ses encouragements.

Nous tenons à remercier tous les enseignants et les professeurs qui nous a formés et aidés durant notre carrière anniversaire.

Par crainte d’oublier de nommer certaines personnes, nous adressons nous remerciements à celles et ceux qui nous ont accompagné de près ou de loin jusqu’à aujourd’hui.

Nous terminerons en adressant un très grand merci à nos familles pour leurs soutiens sans failles et de tous les instants de compréhensions et merci à tous.



Dédicace

Avec l’expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail. à ceux à qui, quels que soient les mots que je prononce, je n’arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.

À mes chères mères Houria et Nafissa aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien-être. Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, puisse DIEU, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie.

Àmon cher père Mohamed monprécieuxoffre du DIEU qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect, tu as toujours été à mes côtés qui n'a pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études, que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.

À mes chers frères Abdelrahmen, Tarek, Mohamed, Aissa, Abdelrezek, Ahmed Cherif et Aissa. À mes chères sœurs Chahra, Amina, Halima, Leila, Zineb et Djamila. Qui m’ont toujours soutenu et encouragé, merci pour leurs amours et leurs encouragements.

À ma grande mère Reguia, je porte ton prénom. C’est ma profonde gratitude pour ton éternel amour, que ce travail soit le meilleur cadeau que je puisse t’offrir. Que Dieu te donne une longue et joyeuse vie.

À Zinebmabinôme merci pour ton soutien moral, ta patience et ta compréhension tout au long de ce projet.

À tous mes amis Asma, Zineb, Maroua, Abir, Rekaia et Ines qui m'ont toujours encouragé.Merci pour leurs aides et m’avoir supports dans les moments difficiles, en souvenir de nos éclats de rire et des bons moments, en souvenir de tout ce qu'on a vécu ensemble, j'espère de tout mon cœur que notre amitié durera éternellement.

À tous ceux que j’aime.

Reguia.

Dédicace

Je dédie ce travail :

À ma merveilleuse mère Laila,ma vie, mon amour et soutien, ainsi qu'à mon cher père Larbi, ma couronne et mon pilier. Grâce à eux, je suis arrivée à ce jour, car chaque fois que je tombe, je les trouve comme le plus grand soutien dans ma vie, ceux qui m'ont offert tant de belles choses et m'ont donné tout dans cette vie.

À mes chers frères, Choaeb, Mohammed, et mon adorable petit frère Ilyas.

À ma chère tante bien-aimée, Shahrazad, qui a été mon professeur depuis mon enfance, et à ma chère Aicha, considérée comme ma sœur, qui me tend la main dans ma vie.

À mon grand-père Saleh, que Dieu prolonge sa vie, et à ma grand-mère Fatma, qui m'a élevé, m'a grandi et m'a aimé de tout son cœur, et que j'aime aussi. Ellea souhaité me voir en ce jour, que Dieu, aie pitié d'elle avec Ta vaste miséricorde, Seigneur.
À mon grand-père, Abdelaziz, qui est un modèle pour moi et une icône dans tous les domaines. Que Dieu ait son âme et le fasse reposer dans les vastes jardins du paradis.

À ma grand-mère, symbole de tendresse, de savoir-vivre, de bonnes manières et de douceur maternelle, mon amour, que Dieu prolonge sa vie, ô Seigneur.

À toutes mes tantes, Naima, Hadjer, Aicha, et à tous mes oncles, des plus grands aux plus petits. Et à mes cousines

À la merveilleuse Kenza, qui a contribué à ce travail et nous a fourni toutes les informations. Merci beaucoup, Kenza.

À mes merveilleuses amies : Raguia, Fatiha, Asmaa, Maroua, Kenza, Souad et Sarah.

À mon binôme Reguia, ma belle qui a eu la patience de me supporter durant période de mémoire, et qui m’a soutenu et encouragé pendant tous les moments difficiles.

A tous mes amis de promo de 2ème année Master phytopathologie et toute personne qui occupe une place dans mon cœur.

Zineb

Liste des abréviations

PDA: Potato-Dextrose- Agar.

FAO: Food and Agriculture Organization of the United Nations (organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture).

Sp : Specie.

TL50 : Temps létal moyen pour 50% de la mortalité des pucerons.

Liste des tableaux

Tableau 1 : biologie de l'insecte..... 31

Tableau 2 : Aspect macroscopique et microscopique des fongiques……..... 42

Tableau3 : **:** Suivi journaliers de la mortalité des individus adultes de *tribollium confusum* de l'orge de solution sporale de souche d'*Aspergillus niger avec pda préparé avec une solution osmotique* 43

Tableau4: Suivi journaliers de la mortalité des individus adultes de *tribollium confusum* de l'orge de solution sporale de souche d'*Aspergillus niger avec pda commercialisé avec une solution osmotique* 44

Tableau5: Suivi journaliers de la mortalité des individus adultes de *tribollium confusum* de l'orge de solution sporale de souche d'*Aspergillus niger avec pda préparé avec une solution physiologique* 44

Tableau5: Suivi journaliers de la mortalité des individus adultes de *tribollium confusum* de l'orge de solution sporale de souche d'*Aspergillus niger avec pda commercialisé avec une solution physiologique* 44

Liste des figures

Figure 01 : Cycle biologique des champignons entomopathogènes **19**

Figure02 : Mode de pénétration des champignons entomopathogènes dans la cuticule des insectes……..... **20**

Figure 03:les phases de croissance de culture cellulaire **22**

Figure 04 : Relation de symbioseprotectrice entre l'insecte de genre *Paederus et bactériePseudomonas*..... **23**

Figure 05 : Relation de symbiose protectrice entrepsylle asiatique des agrumes et *bactérieCandidatusProfftella* . **24**

Figure 06 : : Relation de symbiose protectriceentre guêpe *Philanthustriangulum* - Bactérie *Streptomyces* **25**

Figure 07: Fourmi du genre *Apterostigma dentigerum* et molécules isolés de *Pseudonocardia* **26**

Figure 08: Relation de symbiose mutualisme entre la fourmi champignonniste du genre *Acromyrmex* avec bactérie *Streptomyces*visible sur la cuticule (en blanc) et métabolites produits par la bactérie **26**

Figure 09: vue dorsale d'un adulte *T. confusum*..... **29**

Figure 10 :vue dorsale et ventrale de nymphe de *T. confusum*..... **29**

Figure 11:larve de *T. confusum*..... **30**

Figure 12: Cycle de développement de *T. confusum*..... **31**

Figure 13 :dégâts coursés par*T.confusum*..... **32**

Figure 14 : Techniques d'isolement..... **36**

Figure 15 : :Purification des souches fongiques..... **36**

Figure 16 : observation macroscopique **37**

Figure 17: Technique de préparation des lames..... **37**

Figure 18: Dénombrement par la cellule de Malassez..... **38**

Figure 19: Test de pathogénicité..... **39**

Table des matières

Introduction ……..14

Chapitre 01 :

1. Généralité sur les champignons..... 17

2. Champignons entomopathogènes..... 18
2.1. Mode d'action 18
2.2. L'adhésion..... 19
2.3. La germination 20
2.4. La pénétration, multiplication et la dissémination 20
3. Les métabolites des champignons entomopathogènes..... 21
4. Interaction insectes micro-organismes entomopathogènes 22
4.1. Les relations de mutualisme 23
4. 2.Les symbioses nutritives 26

4.3. Les relations de parasitisme : les micro-organismes entomopathogènes 27

Généralités sur les Tenebrionidae 28

1. Classification et position systématique de *T. confusum* 28

2. Description morphologique des différentes étapes de développement de *Tribolium confusum* 28

2.1. Adulte :..... 28

2.2. La nymphe 29

2.3. La larve 30
2.4. LE cycle de développement de *Tribolium confusum* 30

3. Les dégâts causés par *Tribolium confusum* 31

4. Méthodes de lutte contre *Tribolium confusum* 32

4.1. La lutte traditionnelle 32

4.2. La lutte biologique.....32

4.3. La lutte physique 32

4.4. La lutte chimique.....33

Chapitre 2: partie expérimental

Partie expérimentale

1. Introduction.....35
2 .Echantionnage.....35
3.Matériel et méthode 35
3.1.Isolement.....35
3.2. Purification des souches 36
3.3.Identification.....37
4. Test depathogénicité.....38
4.1.Méthode de préparation de la solution entomopathogène.....38
4.2.Application de traitement 38
4.3.Analyse statistique 39

Chapitre 3: Résultats et Discussions

Résultats 41
III-1. Etude mycologique 41
III-.2. Test de pathogénicité 43
III-3-Calcul des tests d'efficacités des traitements biocides de différents biocides des souches *Aspergillus niger* sur la mortalité des adultes *Tribolliumconfusume* de l'orge.....43
Discution 45
Conclusion générale.....47
Référence bibliographique.....48
Annexe.....52

Introduction:

Les insectes ont conquis la Terre bien avant l'apparition de l'homme et ont survécu à travers d'immenses périodes sans perdre en vitalité. Leur nombre n'a jamais diminué. Lorsque l'homme est arrivé, prétendant bientôt dominer toute la planète, il n'est pas étonnant qu'une lutte ait rapidement éclaté (Berland, 1948). La lutte contre les insectes ravageurs est une pratique qui remonte à l'Antiquité. En effet, pour se nourrir, l'insecte prélève une part très importante des plantes cultivées et des denrées alimentaires entreposées par l'homme. (Paul Cochereau Éditions, 1989) .

Certains insectes, tels que le *Tribolium confusum*, sont des ravageurs courants connus pour attaquer et infester les produits alimentaires stockés, tels que la farine et les céréales, causant ainsi d'importantes pertes économiques en raison de leurs caractéristiques morphologiques et biologiques qui en font des ravageurs majeurs des cultures (Blackman et Eastop, 1984).

Le seuil économique pour ces ravageurs est généralement très bas, et dans certaines cultures, leur présence n'est même pas tolérée (Comeau, 1992). La lutte contre ces ravageurs est donc aujourd'hui un enjeu majeur en raison de leur mode de propagation indirect (Pichard, 2008).

Cependant, jusqu'à présent, la lutte contre ces insectes a principalement reposé sur des méthodes chimiques, ce qui a progressivement entraîné des problèmes d'ordre génétique, environnemental et sanitaire (Roush et McKenzie, 1987). Actuellement, un certain nombre de méthodes alternatives ont été développées afin de réduire l'utilisation de produits chimiques. Par exemple, l'utilisation d'insectes auxiliaires en agriculture fonctionne bien et devient une pratique courante (Ferron et al., 1991 ; Lacey et al., 1996).

De plus, des souches spécifiques de virus et de bactéries sont également exploitées et cultivées dans des produits insecticides largement utilisés en agriculture. Par exemple, la "Bactospeieine" est utilisée pour lutter contre la processionnaire du pin (Ferron et al., 1991 ; Lacey et al., 1996).

Une autre approche prometteuse et efficace en cours de développement est l'utilisation de microorganismes antagonistes, en particulier des champignons pathogènes pour les insectes, également appelés "entomopathogènes » (Ferron et al., 1991 ; Lacey et al., 1996).

Ces organismes jouent un rôle important dans la lutte contre les infestations d'invertébrés nuisibles, que ce soit dans le domaine de la santé végétale, humaine ou animale. Cependant, l'efficacité de ces champignons est souvent fortement influencée par les conditions environnementales, en particulier le climat (Ferron et al., 1991 ; Lacey et al., 1996).

Dans ce contexte, l'étude des champignons entomopathogènes représente un modèle approprié pour aborder le principe de lutte biologique et intégrée contre les insectes. Cependant, en Algérie, la connaissance et la maîtrise des paramètres biologiques et physiologiques liés aux champignons entomopathogènes sont encore négligées, voire absentes.

Dans ce contexte, notre contribution dans cette étude est orientée vers un objectif visant à évaluer l'effet « entomopathogène » des champignons isolés (*Aspergillus niger*) sur les insectes de *Tribolium confusum*ravageur disponible vue leur présence dans les denrées stockées.

Notre mémoires 'articule autour de 03 chapitres :

- Le premier chapitre est consacré aux données bibliographiques relatives aux champignon entomopathogène et leur interaction avec les insectes.
- Le deuxième chapitre concerne la partie expérimentale qui comporte
  - L'isolement et purification des souches de moisissures à partir des vers de farine Tenebrio molitor, carpophilus Carpophilus hemipterus et la larve de pyrale des dattes Ectomyelois ceratoniae.
  - L'identification des souches isolées.
  - La mise en évidence de l'activité biocide deux souches de ***Aspergilusniger*** sur le *Tribolium confusum* de l'orge.

- Le troisième chapitre comporte les résultats obtenus et leurs discussions

Ce travail est clôturé par une conclusion générale .

Synthèse bibliographique

Généralité sur les Champignons entomopathogènes

1. Généralité sur les Champignons

Les champignons, également connus sous le nom de fungi ou mycètes, forment un groupe d'organismes hétérotrophes présents partout, comprenant environ 120 000 espèces différentes. Ils présentent une grande diversité de structures et de caractéristiques biologiques, adaptées à des modes de vie saprophytes, parasitaires ou symbiotiques (Semal et al., 1993 ; Kirk et al., 2001). Les mycètes sont des microorganismes eucaryotes filamenteux, aérobies stricts et occasionnellement anaérobies (Mathew, 1995 ; Tortora et al., 2003). Ils ont un métabolisme hétérotrophe, se nourrissant de la respiration et de la fermentation de matières organiques solubles disponibles dans leur environnement (Leveau et Bouix, 1993 ; Nicklin et al., 1999).

Sur le plan morphologique, le mycète est composé d'un thalle qui forme son appareil végétatif (Hawksworth et al., 1994). L'appareil végétatif est constitué d'un élément de base appelé hyphe, qui forme un réseau de filaments ramifiés appelé mycélium (Mathew, 1995). Chez la plupart des mycètes, les hyphes sont séparés par des cloisons, appelées septa (septum au singulier), formant des unités ressemblant à des cellules distinctes avec un seul noyau. On les appelle alors des hyphes segmentés ou septés. Dans certaines classes de mycètes, les hyphes ne sont pas cloisonnés et ont l'apparence de longues cellules continues avec plusieurs noyaux. On les appelle des cénocytes (Tortora et al., 2003). Les hyphes, qu'ils soient segmentés ou non, sont de petits tubules transparents entourés d'une paroi cellulaire rigide composée de polymères de chitine et de cellulose. Ces éléments chimiques confèrent aux hyphes une grande rigidité, une longévité et une capacité élevée de résistance à la chaleur et aux pressions osmotiques. En conséquence, les mycètes sont capables de survivre dans des environnements difficiles (Tortora et al., 2003). En effet, les mycètes se développent dans un environnement légèrement acide (pH entre 3 et 7) et à une température optimale comprise entre 20°C et 30°C. Cependant, certaines espèces sont psychrophiles, ce qui signifie qu'elles se développent à des températures très basses, inférieures à 15°C, voire parfois en dessous de 0°C (Botton et al., 1990 ; Guiraud, 1998 ; Tortora et al., 2003).

Tout comme chez les bactéries, la digestion des grosses molécules chez les mycètes doit commencer dans le milieu extérieur, car seules les molécules de petite taille peuvent être directement absorbées par les hyphes. Les molécules complexes ou polymères doivent être dégradées en monomères avant de pouvoir franchir la paroi et pénétrer dans le cytoplasme (Davet, 1996). Pour ce faire, des enzymes sont soit sécrétées, soit liées à la paroi, afin de dégrader ces molécules. Ces enzymes extracellulaires sont largement utilisées dans l'industrie biotechnologique (Botton et al., 1990).

La plupart des champignons ont deux modes de reproduction : la reproduction asexuée et la reproduction sexuée (Semal et al., 1993). En effet, la plupart des espèces sont capables

de produire des spores, soit à l'intérieur de sporocystes chez les champignons à thalle non cloisonné, soit sur des ramifications spécialisées du mycélium appelées conidiophores (Davet, 1996).

2. Champignons entomopathogènes

Le terme "**champignons entomopathogènes**" ou "**champignons qui causent des maladies chez les insectes**" se réfère spécifiquement aux genres ou aux espèces de champignons capables d'agir comme agents pathogènes chez les arthropodes tels que les insectes ou les acariens (Samson et al., 1988). Les premières observations concernant les maladies de ces invertébrés ont été réalisées en Chine, et la plus ancienne publication sur ce sujet remonte à 1726 avec la description de l'espèce ***Cordyceps sinensis*** récoltée sur des larves de lépidoptères (Samson et al., 1988).

Certains de ces champignons ont montré des résultats satisfaisants dans la lutte contre plusieurs espèces d'insectes (Yee et Lacey, 2005 ; Ekesi et al., 2003). Les genres *Metarhizium* et *Beauveria* sont les plus largement utilisés dans la lutte biologique. Par exemple, *Methariziumanisopliae* a été étudié en détail concernant son mode d'infestation du champignon (Hajek et St Leger, 1994), les mécanismes de toxicité envers les insectes (Clarkson et Charnley, 1996), et la pénétration des spores à travers la cuticule de l'hôte (Brooks et al., 2004). De nombreux produits phytosanitaires commerciaux destinés à la lutte contre différents ravageurs des cultures ont été développés à partir de ce champignon. Ces produits sont caractérisés par la présence de toxines appelées destruxies, sécrétées principalement par *M. anisopliae* (Vey et al., 2001).

2.1.Mode d'action

En général, les champignons entomopathogènes ont pour effet de tuer ou affaiblir les hôtes qu'ils infectent(Clarkson et Charnley, 1996). Leur efficacité est encore plus grande lorsque l'insecte ciblé est préalablement affaibli par d'autres facteurs, tels qu'un stress nutritionnel. Leur capacité à se transmettre et leurs exigences abiotiques font en sorte qu'ils sont particulièrement efficaces lorsque la densité des populations d'insectes ciblés est élevée (Clarkson et Charnley, 1996). Cependant, il convient de noter que l'effet du système immunitaire des insectes peut considérablement influencer la pathogénicité de ces ennemis naturels Clarkson et Charnley, 1996).

La cuticule de l'insecte constitue une barrière complexe tant sur le plan structurel que chimique pour la pénétration du champignon (Clarkson et Charnley, 1996). Les champignons peuvent infecter les insectes en pénétrant directement à travers la cuticule (Clarkson et Charnley, 1996). Lorsque la spore entre en contact avec la cuticule de l'insecte, elle germe et pénètre en combinant des pressions mécaniques et enzymatiques à travers le tégument (St Leger, 1993).

Lorsque la spore entre en contact avec la cuticule de l'insecte, elle germe et pénètre en combinant des pressions mécaniques et enzymatiques à travers le tégument (St Leger, 1993).

Le champignon se développe rapidement dans l'hémocèle de l'insecte. En règle générale, les insectes sensibles au champignon meurent dans un délai de 3 à 10 jours. Une fois que l'insecte décède, le champignon entre dans une phase de croissance hyphale, colonise les organes internes, puis produit des spores à la surface de l'insecte. Le cycle infectieux est généralement le même pour tous les champignons entomopathogènes, et le processus de pénétration est l'étape la plus importante de la pathogénèse. Le mode d'infection des champignons entomopathogènes peut être divisé en quatre étapes distinctes : adhésion, germination, pénétration, multiplication et dissémination (Figure 1, Ferron et al., 1991).

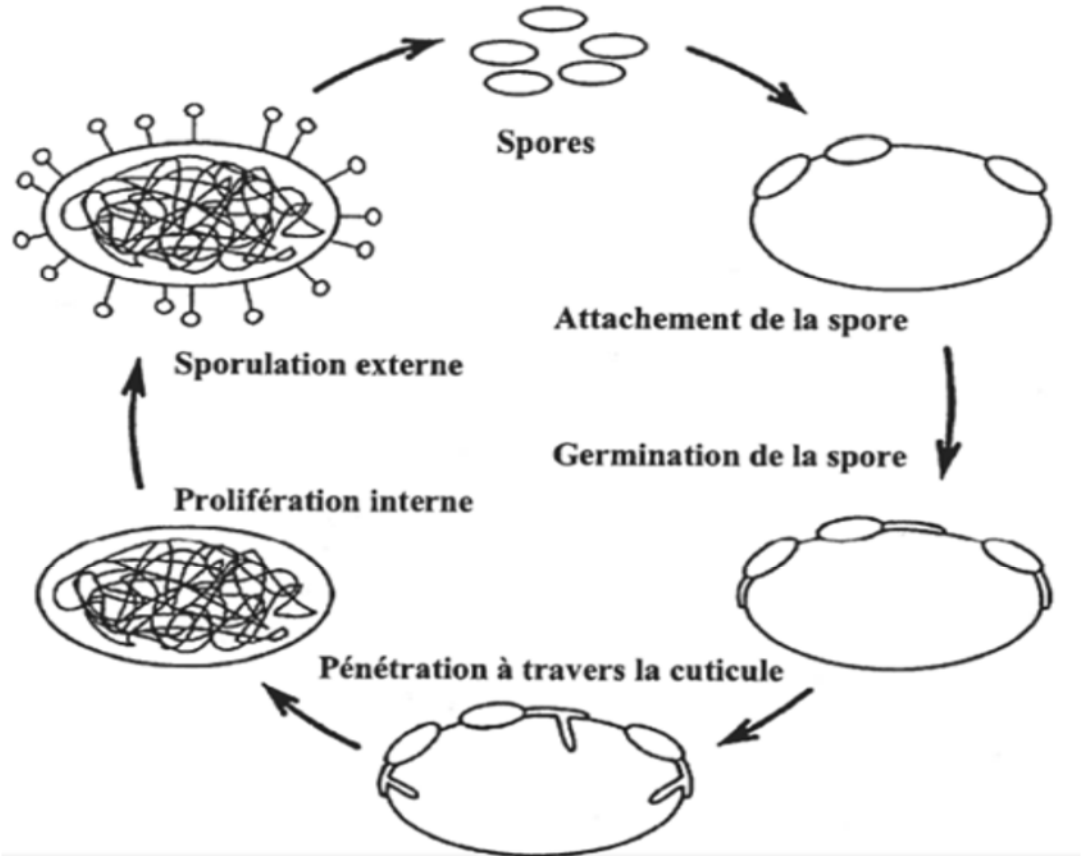


Figure 1: Cycle biologique des champignons entomopathogènes **(Ferron *et al* .,1991).**

2.2. L'adhésion

En général, l'adhésion se produit lorsque les spores entrent en contact avec la cuticule de l'insecte. La réussite de l'infection dépend de plusieurs facteurs, tels que la quantité d'inoculum, les conditions climatiques et la densité de l'hôte (Boucias et Pendland, 1988). Deux types de spores sont capables d'infecter les insectes : les spores sèches et les spores visqueuses (Samson et al., 1988). Le premier type utilise une combinaison de forces électrostatiques et chimiques pour adhérer à la cuticule de l'hôte (St Leger et Frank, 1992). Quant au deuxième type, il se fixe à l'hôte grâce à une substance visqueuse adhésive.

2.3.La germination

La germination des spores dépend à la fois de la température, de l'humidité du milieu et des substances nutritives qu'elles contiennent (Samuels et Pinnock, 1990). Une fois fixées sur l'hôte (Figure 2), les spores émettent un tube germinatif qui traverse les couches supérieures de l'insecte pour pénétrer à l'intérieur de celui-ci (Hong Wan, 2003). Des mécanismes physiques et enzymatiques facilitent cette pénétration. Une fois à l'intérieur, le champignon forme un appressorium qui lui permet d'extraire les substances nutritives nécessaires à son développement et à sa reproduction (Samson et al., 1988). Cependant, certains champignons entomopathogènes se contentent de former leur appressorium sur la cuticule elle-même sans pénétrer à l'intérieur de l'arthropode. Ils se nourrissent en utilisant une combinaison de substances enzymatiques pour dégrader la cuticule de l'insecte (Goettel et St Leger, 1990).

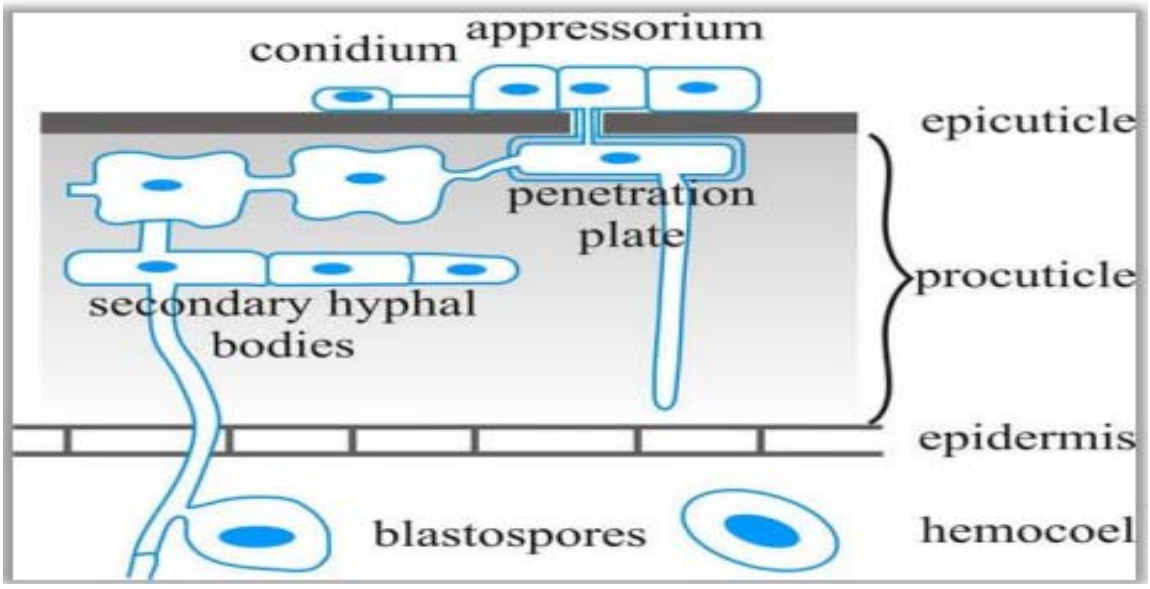


Figure 2 : Mode de pénétration des champignons entomopathogènes dans la cuticule des insectes (**Clarkson et Charmley,1996).**

2.4.La pénétration, multiplication et la dissémination

A l'intérieur de l'hôte, le champignon commence à se développer et à se propager dans les tissus de l'insecte. La réussite de l'attaque dépend entre autres, de la capacité des champignons entomopathogènes à contourner les mécanismes de défense de l'hôte (comme les quinones et les mélanines) face à cette attaque (Latge et Monsign, 1988).

Après une phase de développement dans l'hémocèle, les tissus (comme les corps gras et les tissus.....). Le champignon commence son développement et sa propagation à l'intérieur de l'insecte, pénétrant et se multipliant dans ses tissus. La réussite de l'attaque dépend, entre autres, de la capacité de l'entomopathogène à contourner les mécanismes de défense de l'hôte tels que les quinones et la mélanine qui font face à cette attaque (Latge et Monsign, 1988). La

colonisation de l'hôte dépend de la capacité du champignon à surmonter la réponse immunitaire de l'insecte (mélanisation, réponse cellulaire, etc.) ou de la capacité de l'insecte à se défendre (Latge et Monsigny, 1988). Après une phase de développement dans l'hémocèle, les tissus tels que les corps gras, le tissu intestinal et le tube de Malpighi sont attaqués, ce qui entraîne l'arrêt de l'alimentation de l'insecte, ainsi que son stade, sa taille et la température ambiante.

Il n'est pas étonnant, compte tenu de la complexité de la cuticule, que les champignons entomopathogènes nécessitent une série d'enzymes hydrolytiques pour pénétrer la cuticule et fournir les nutriments nécessaires à leur croissance. La protéase est particulièrement connue, car elle présente une activité élevée sur la cuticule des insectes et est la principale protéine produite lors de la formation de l'appressorium (St Léger et al., 1993). Lorsque l'insecte meurt, le champignon sécrète un antibiotique appelé l'oosporine, qui lui permet de surmonter la concurrence des bactéries intestinales. Cela entraîne une momification du cadavre, qui se transforme en sclérote, une phase appelée saprophyte(Latge et Monsigny, 1988).

3. Les métabolites des champignons entomopathogènes

Les champignons entomopathogènes et de nombreuses bactéries ont la capacité de produire des substances appelées métabolites secondaires (Demain et al., 1983). Ces métabolites se distinguent par le fait que leur production n'est pas essentielle à la croissance du microorganisme lui-même, et ils présentent une grande diversité de structures et d'activités biologiques. Habituellement, ils sont sécrétés sous forme d'un mélange qui représente une structure chimique unique (Howksworth et al., 1995 ; Boiron, 1996).

Les microorganismes n'entament pas la production de leurs métabolites secondaires avant d'avoir terminé leur phase de croissance et d'avoir atteint la phase stationnaire, appeléeidiophase. En fait, le métabolite secondaire peut être le produit d'un métabolite primaire du même microbe (Calvo et al., 2002 ; Tortora et al., 2003) qui se forme pendant la phase de croissance logarithmique, connue sous le nom detrophophase (Tortora et al., 2003).

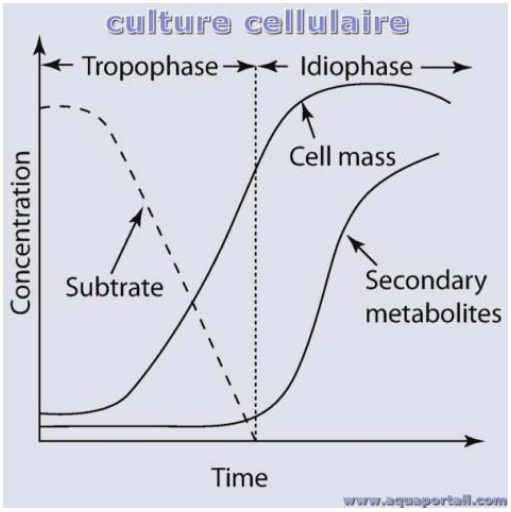


Figure 03:lesphases de croissance de culture cellulaire(www.aquaportai.com,2007)

Les métabolites secondaires englobent divers produits ayant des activités antibiotiques, pharmaceutiques, immunosuppressives et toxiques, tels que les mycotoxines et les phytotoxines (Jae-Hyuk et Keller, 2005 ; Keller et Woobok, 2005).

Chez les champignons, la production de métabolites secondaires est étroitement liée au développement morphologique, en particulier à la phase de sporulation (Hapwood, 1988 ; Mapleston et al., 1992 ; Stone et Williams, 1992 ; Demain et Fang, 2000 ; Calvo et al., 2002). Ainsi, les métabolites secondaires peuvent avoir différentes fonctions : Certains métabolites activent la sporulation, comme l'acide linoléique et ses dérivés produits par *Aspergillus nidulans* (Champ et al., 1987 ; Champ et El-Zayat, 1989 ; Mazur et al., 1991 ; Calvo et al., 2002). Certains pigments, tels que la mélanine, sont nécessaires à la formation des spores sexuelles et asexuelles (Kawamura et al., 1999).

Les colonies sécrètent des métabolites toxiques lors de la période de sporulation, qui correspond à la biosynthèse des mycotoxines (Trail et al., 1995 ; Hapwood, 1988 ; Alspaugh et al., 1997). Ces métabolites secondaires peuvent ensuite avoir les effets suivants : Retarder la germination des spores jusqu'à ce que les conditions environnementales soient favorables. Protéger les spores en dormance contre les amibes. Éliminer les microorganismes concurrents dans l'environnement immédiat pendant la germination (Demain et Fang, 2000). Du point de vue génétique, les gènes responsables de la biosynthèse des métabolites secondaires sont généralement regroupés avec les gènes conférant la résistance à leur action toxique, et parfois avec des gènes précurseurs de la biosynthèse d'antibiotiques (Martin et Liras, 1989 ; Cundliff, 1989 ; Chater et Bibb, 1997 ; Martin, 1998).

4. Interaction insectes microorganismes entomopathogènes

Plus d'un million d'espèces d'insectes décrites, ce qui dépasse le nombre d'espèces des autres groupes d'animaux combinés, les insectes se démarquent comme le clade animal le plus diversifié et le plus répandu sur Terre, tant en termes d'espèces, d'habitats que de

biomasse.Les micro-organismes entomopathogènes sont les ennemis naturels des insectes. Ilsinfectent leurs hôtes en pénétrant dans leurs corps et/ou en excrétant des composésinsecticides. En parallèle, il a été démontré que la plupart des insectes hébergent demultiples micro-organismes symbiotiques qui jouent un rôle dans la nutrition et ladéfense de leurs hôtes (Institut de Chimie des Substances Naturelles, 2018).

Les relations entre les insectes et les micro-organismes jouent un rôle dans les mécanismes de digestion de l'insecte hôte (Brune ,2014). De plus, ces relations sont impliquées dans les mécanismes de défense des insectes contre leurs prédateurs (Nirma, et al ;2013 ; Sorres et al ; 2017). Enfin, il a été démontré que ces interactions contribuent aux communications intra- et interspécifiques. En effet, les micro-organismes exercent une influence sur les systèmes d'accouplement et de reproduction de leur hôte, tout en régulant la pathogénicité des micro-organismes transportés par les insectes vecteurs de maladies (Engel et Moran ; 2013).

Les relations entre les insectes et les micro-organismes sont régies par une gamme d'interactions allant du mutualisme au parasitisme.

4.1.Les relations de mutualisme

Certains coléoptères du genre *Paederus* bénéficient de symbioses protectrices. Ils produisent une toxine appelée pédérine qui les défend contre des prédateurs tels que les araignées (Figure 2) (Kellner et Dettner ; 1996). Cette toxine est connue depuis les années 50, mais ses origines biosynthétiques n'ont été découvertes que récemment (Piel ; 2002). En effet, la toxine n'est présente chez le coléoptère que lorsqu'il est en présence d'une gammaprotéobactérie endosymbiotique du genre *Pseudomonas*. Le séquençage du génome bactérien a révélé un cluster de gènes cohérent avec la biosynthèse de la pédérine(Piel ; 2002). Cette découverte constitue la première preuve convaincante de la capacité d'un endosymbiote à produire une toxine pour protéger son hôte.

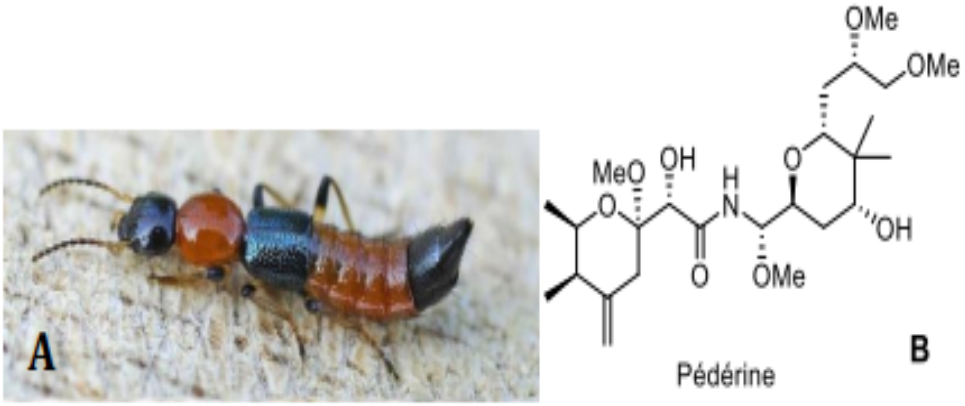


Figure 04 :Relation de symbioseprotectrice entre l'insecte de genre *Paederus et bactériePseudomonas.* (Kaltenpoth et al ; 2005 ; Kroiss etal ;2010)
(A) coléoptère du genre *Paederus* ;(B) toxine synthétise par la bactérie

Un autre exemple concerne le psylle asiatique des agrumes, connu sous le nom de Diaphorina citri, et sa symbiose avec une bactérie de la classe des betaprotéobactéries appelée *Candidatus Profftellaarmatura*. Cette bactérie produit une substance similaire à la pédérine, appelée diaphorine (Figure 3) (Nakabachi et al ; 2013). Bien que la diaphorine soit toxique pour les cellules de mammifères, son rôle écologique reste inconnu à ce jour. Cependant, il est intéressant de souligner que l'insecte hôte possède un système immunitaire simplifié par rapport à d'autres insectes (Arp et al ; 2016). Ainsi, la diaphorine pourrait contribuer à la protection de l'insecte en complétant son système de défense.

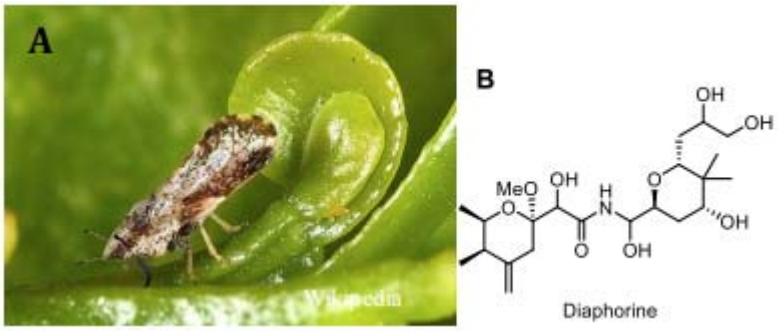


Figure 05 : Relation de symbiose protectrice entrepsylle asiatique des agrumes et *bactérie*Candidatus*Profftella*(Kaltenpoth et al ; 2005 ; Kroiss etal ;2010)
(A) *Diaphorinacitri ;* (B) toxine synthétise par la bactérie Diaphorine

Le cycle de vie des insectes ne favorise généralement pas la transmission des microorganismes entre les différentes générations. En effet, dans de nombreux insectes, les femelles abandonnent leurs œufs et le seul comportement social observé est l'accouplement des adultes (Martinson et al ; 2012). Cependant, certains insectes sociaux tels que les termites, les fourmis, les abeilles, ainsi que certaines espèces de guêpes et de blattes, présentent des comportements favorisant les transmissions directes et/ou indirectes, ce qui facilite l'évolution et l'établissement de symbiotes spécialisés (Martinson et al ; 2012). Un exemple parfait de ce phénomène est la guêpe solitaire *Philanthus triangulum*. Elle recouvre son nid de bactéries du genre Streptomyces, qu'elle cultive dans des glandes présentes sur ses antennes. Les larves assimilent ensuite ces bactéries et les distribuent à l'intérieur de leurs cocons. La présence de ces bactéries a été décrite comme bénéfique pour le développement larvaire, car elles éliminent les champignons parasites. (Kaltenpoth et al ; 2005). En effet, ces bactéries produisent un mélange de composés antimicrobiens à large spectre d'activité, tels que la streptochlorine et plusieurs piéricidines(Kroiss et al ; 2010). L'action combinée de ces composés illustre parfaitement le concept de prophylaxie combinée dans un contexte écologique.

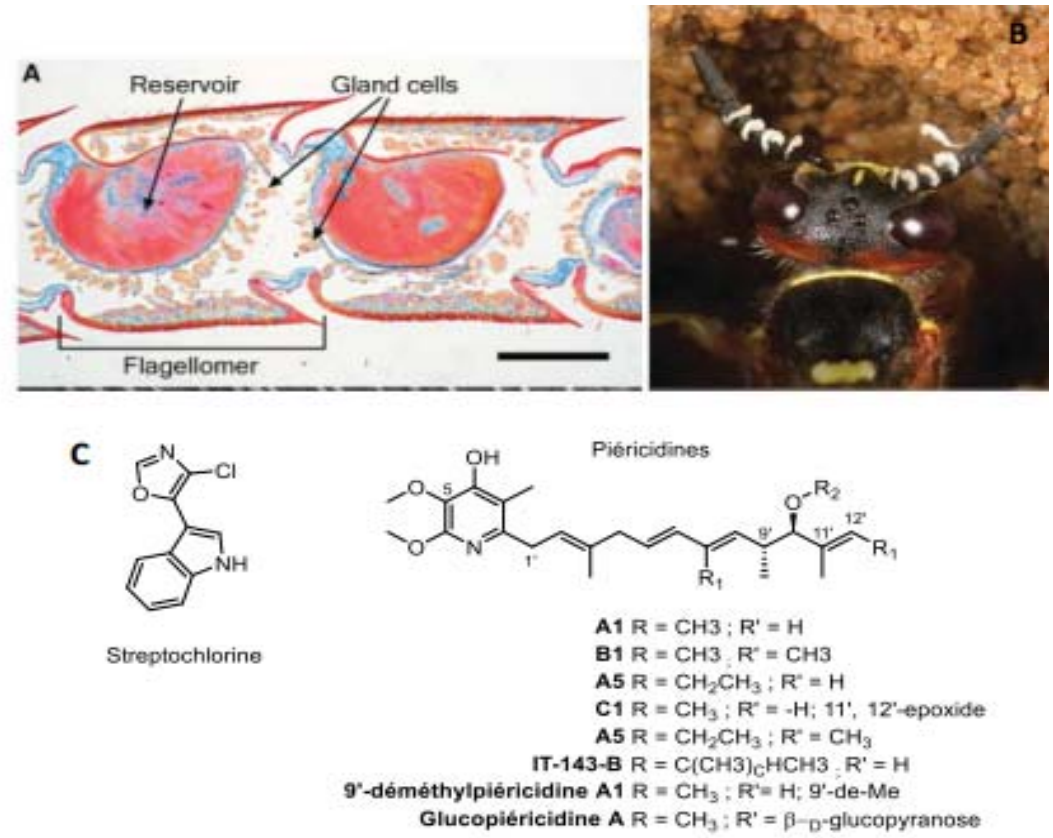


Figure 06 : Relation de symbiose protectriceentre guêpe *Philanthustriangulum* - Bactérie *Streptomyces* (Kaltenpoth et al ; 2005 ; Kroiss etal ;2010)

A: coupe d'antenne femelle au microscope contenant la bactérie symbiotique en rouge dans les réservoirs : B : guêpe femelle avec la bactérie *Streptomyces* au niveau des glandes antennaires ; C : antibiotiques isolés des cocons .

En général, les études sur les interactions mutualistes supposent que ces associations symbiotiques sont des systèmes bipartites, avec deux membres interagissant indépendamment des autres organismes. Cependant, de nombreuses études sur ces associations ont révélé des mutualismes très complexes impliquant plusieurs acteurs. Par exemple, les fourmis champignonnistes du genre Atta, connues sous le nom de "coupeuses de feuilles", vivent en symbiose stricte avec un champignon basidiomycète qu'elles cultivent dans des chambres souterraines. En retour, elles fournissent au champignon les nutriments nécessaires à sa croissance et se nourrissent de lui(Caldera et al ; 2009). Bien que ce mutualisme entre les fourmis et les champignons ait longtemps été considéré comme impliquant seulement deux acteurs, des recherches menées par l'équipe de Currie ont révélé la présence d'une bactérie mutualiste et d'un parasite spécifique (Currie ; 2001). Cette association entre les fourmis et la bactérie remonte à des dizaines de millions d'années (Currie et al ; 2006). Les jardins des fourmis champignonnistes sont souvent infectés par un champignon parasite spécialisé et virulent appelé Escovopsis(Currie et al ; 1999), qui se trouve uniquement dans les jardins et les déchets de ces fourmis et peut décimer une colonie entière. Les fourmis sont protégées de ce parasite par une bactérie du genre *Pseudonocardia* qui se trouve sur leur cuticule (Currie et al ; 1999). Cette bactérie est bénéfique pour les fourmis car elle produit des composés

antimicrobiens spécifiques qui inhibent le développement du champignon parasite Escovopsis, sans affecter le champignon cultivé par les fourmis (Currie et al ;1 999). Ainsi, les fourmis participent à un système complexe de symbiose multipartite impliquant plusieurs espèces microbiennes. Parmi les composés bioactifs isolés de la bactérie Pseudonocardia, on trouve la dentigérumycine et la selvamicine, qui sont deux antifongiques produits par la bactérie associée aux fourmis *Apterostigma dentigerum* (Figure 7) (Oh et al ; 2009). La selvamicine a un mécanisme d'action différent des autres antifongiques polyènes et est actuellement en cours d'évaluation pour une utilisation clinique. (Van Arnam et al ; 2016).

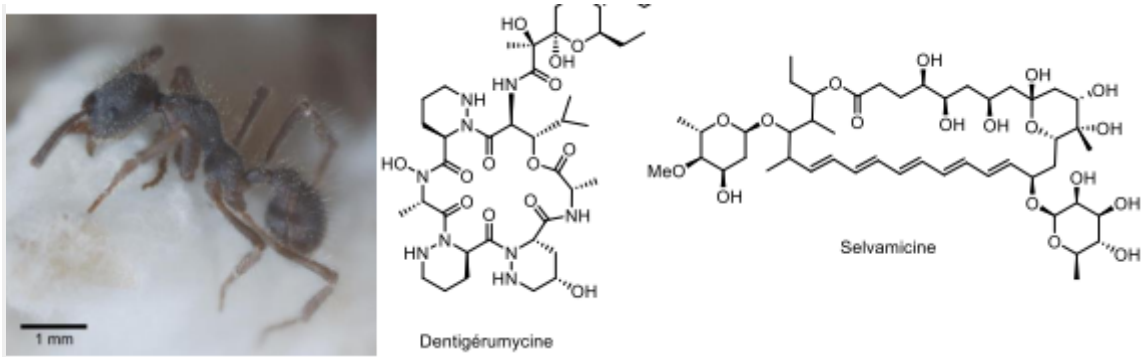


Figure 07: Relation de symbiose mutualisme entre la fourmi du genre*Apterostigmadentigerum* et molécules isolés de *Pseudonocardia* **(Oh et al ; 2009).**

Les Streptomyces associés à des fourmis champignonnistes, tels que ceux trouvés chez des fourmis du genre Acromyrmex, ont été décrits comme produisant des antifongiques tels que la candicine et diverses antimycines (Figure 07) (Barke et al ; 2011).

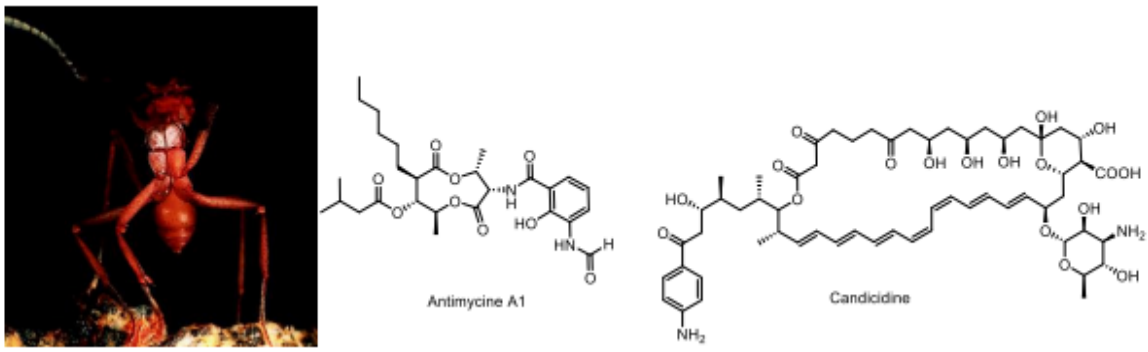


Figure08 : Relation de symbiose mutualisme entre la fourmi champignonniste du genre *Acromyrmex* avec bactérie *Streptomycesvisible* sur la cuticule (en blanc) et métabolites produits par la bactérie **(Currie et al ; 1999).**

4.2.Les symbioses nutritives

Les insectes se sont adaptés à un large éventail d'écosystèmes où ils prospèrent souvent malgré des régimes alimentaires pauvres en nutriments ou difficiles à digérer. En conséquence, les interactions symbiotiques avec des microorganismes qui modifient les

nutriments alimentaires sont courantes. Ces relations durables et persistantes contribuent au mode de vie de l'insecte (Engel et Moran ; 2013).

Les insectes, en particulier ceux qui se nourrissent de matière végétale telle que le bois, abritent souvent des communautés microbiennes intestinales spécialisées dans la dégradation de la cellulose. Ces communautés microbiennes sont diversifiées et s'adaptent au régime alimentaire de l'insecte. Un exemple notable est celui des termites, qui se nourrissent de matière végétale et jouent un rôle important dans le cycle mondial du carbone. Les termites inférieurs, qui se nourrissent principalementde bois, vivent en symbiose avec des protistes et des bactéries intestinales (Wong et al ; 2014). Des études ont démontré que ces associations symbiotiques sont indispensables à la survie des termites. Chaque espèce de termite héberge une communauté microbienne intestinale spécifique, composée de plusieurs centaines d'espèces microbiennes. (Hongoh ; 2010).

Ces micro-organismes jouent un rôle mutuellement bénéfique pour leur hôte en contribuant à la digestion de la cellulose et en fournissant à l'insecte des sources de carbone et d'azote essentielles, (Breznak et al ; 1973 ; Warnecke et al ; 2007).

Les termites supérieurs, appartenant à la famille des *Termitidae*, ont un régime alimentaire plus varié, incluant des plantes, de la litière, de l'herbe, du sol et du lichen, en plus du bois (Inward et al ; 2007).

Ces variations alimentaires entraînent des changements significatifs dans leur microbiote intestinal et suggèrent de nouvelles fonctionnalités dans le processus de digestion Certains termites supérieurs sont également capables de digérer la cellulose du bois par eux-mêmes grâce à des enzymes produites dans leur tube digestif (Wong et al ; 2014). Certains membres de la famille *Termitidae* sont également des espèces champignonnistes, capables de cultiver un "jardin fongique" à l'intérieur de leur termitière. (Mueller et al ; 2005).

Ce jardin est créé à partir de matière végétale partiellement digérée, qui est ensuite dégradée par le champignon. Les ouvrières se nourrissent ensuite de ce champignon, qui leur fournit également les enzymes nécessaires pour finaliser la digestion de la cellulose (Wong et al ; 2014).

4.3.Les relations de parasitisme :

Les micro-organismes entomopathogènes Les relations entre micro-organismes et insectes ne sont pas toujours bénéfiques. Certaines communautés microbiennes peuvent être parasites et se développer aux dépens de leur hôte, pouvant conduire à la mort de ce dernier. Ces microorganismes pathogènes sont appelés entomopathogènes. Les microorganismes entomopathogènes sont une composante importante et répandue dans l'écosystème terrestre. On ne les retrouve pas exclusivement dans les lieux d'habitat de leurs cibles. Certaines espèces se retrouvent pratiquement partout sur Terre, également au sein d'environnements extrêmes. (Vega et al ; 2012).

Nous nous focaliserons dans cette partie sur les entomopathogènes fongiques et bactériens.

Généralités sur les Tenebrionidae :

Les Tenebrionidae sont l'une des familles les plus vastes parmi les Coléoptères, avec plus de 15000 espèces décrites. Les adultes, généralement de couleur sombre, présentent une grande diversité d'aspects. En revanche, les larves ont une forme cylindrique et leur revêtement cutané est généralement sclérotinisé. Certains Tenebrionidae ont été signalés comme étant nuisibles pour les plantes cultivées, tandis que d'autres s'attaquent aux denrées alimentaires stockées ou entreposées. Parmi ces dernières, le genre *Tribolium* comprend deux espèces principales, à la fois cosmopolites et nuisibles : *T. castaneum Herbst* et *T. confusum* (LEMEAILBI Nabila ; 2019 .)

1. Classification et position systématique de *T. confusum* Selon Gretia (2009),

Règne : Animale
Embranchement : Arthropoda
Classe : Insecta
Ordre : Coleoptera
S/Ordre : Polyphaga
Famille : Tenebrionidae
Genre : Tribolium
Espèce : *Tribolium confusum*
Nom français : Tribolium brun de la farine
Nom anglais : Confused Flour Beetle
Nom en arabe :خنفساءالطحينالبني

L'origine et la répartition géographique de ce parasite sont les suivantes : il est présent dans toutes les régions du monde, ce qui en fait une espèce cosmopolite. Sa présence est directement liée à la disponibilité de céréales stockées, qu'elles soient sous forme de grains ou de farine. On le trouve particulièrement abondamment dans les régions tropicales. Dans les climats froids, il se rencontre uniquement dans les installations de stockage maintenues à des températures élevées (Christine, 2001).

2:**Description morphologique des différentes étapes de développement de *Tribolium confusum* :**

1.1.Adulte :

Les adultes de *T. confusum* sont des coléoptères de forme allongée et de couleur brun rougeâtre, mesurant entre 4,0 et 4,5 mm de longueur et entre 1,0 et 1,2 mm de largeur. Au microscope optique, il est impossible de distinguer morphologiquement les mâles des femelles. La tête est visible de dessus et le thorax est légèrement parallèle à ses côtés. Les

pattes sont courbées, les tarses postérieurs sont constitués de quatre segments et les antennes, qui sont cylindriques, sont composées de 11 anneaux (Zohry, 2017).



Figure 09 : Vue dorsale d'un adulte *T. confusum*(original2023)
(GX :)(40×2)

1.2.La nymphe :

La nymphe mature présente une coloration allant du blanc au jaune pâle, avec une tête enfoncée sous le pronotum. La pupe mâle mesure environ 3,25-4,15 mm de longueur (du bord antérieur du pronotum jusqu'avant les urogomphes) et a une largeur de 0,95-1,25 mm, tandis que la pupe femelle mesure environ 3,6-4,0 mm de long et 1,0-0,25 mm de large. L'abdomen de la nymphe est conique, avec le dernier segment comportant deux structures pointues appelées urogomphes. Les chrysalides du coléoptère *T. confusum* possèdent des mâchoires nommées "pièges à gin" sur la marge latérale de leurs segments abdominaux, articulés du segment 1 à 6 (Zohry, 2017).



Figure10 : Vues dorsale et ventrale de nymphes de *Triboliumconfusum* (ARAB RADHIA ; 2018).).

1.3: La larve

La larve a une couleur jaunâtre, elle est de forme vermiforme et mesure environ 8 fois plus longue que large. Elle est recouverte de poils, possède des pattes et se termine par deux paires d'urogomphes (Delobel et Tran, 1993).



Figure 11:larve de *T. confusum*(original) (GX:(40×2))

1.3.Le cycle biologique

Le cycle de développement de *Triboliumconfusum* se déroule de la manière suivante : environ deux jours après l'émergence des imagos, le premier accouplement a lieu et dure de trois à quinze minutes. Pour cette espèce, la ponte des œufs est étalée dans le temps et dépend de plusieurs copulations. Les œufs sont pondus en vrac sur les marchandises et sont difficiles à repérer. Au cours de sa vie, la femelle dépose entre 500 et 1000 œufs. Les jeunes larves passent par cinq à douze stades larvaires, en fonction des conditions de température et d'humidité. Les larves se déplacent librement dans les denrées infestées jusqu'à leur nymphose. L'émergence de l'adulte se produit six jours après la nymphose, à une température de 32,5°C et une humidité relative de 70%. La durée totale du cycle de développement est de 24 à 26 jours(in Moussi Tarek ;2017).

Tribolium confusum, également connu sous le nom de *Tribolium* de la farine (Duval.), est une espèce dont la température optimale se situe entre 32°C et 35°C. Son développement cesse en dessous de 22°C. Elle est également résistante aux faibles niveaux d'humidité. En l'absence de nourriture, *Triboliumconfusum* pratique le cannibalisme en dévorant les œufs et les larves de ses congénères (Moussi; 2017).

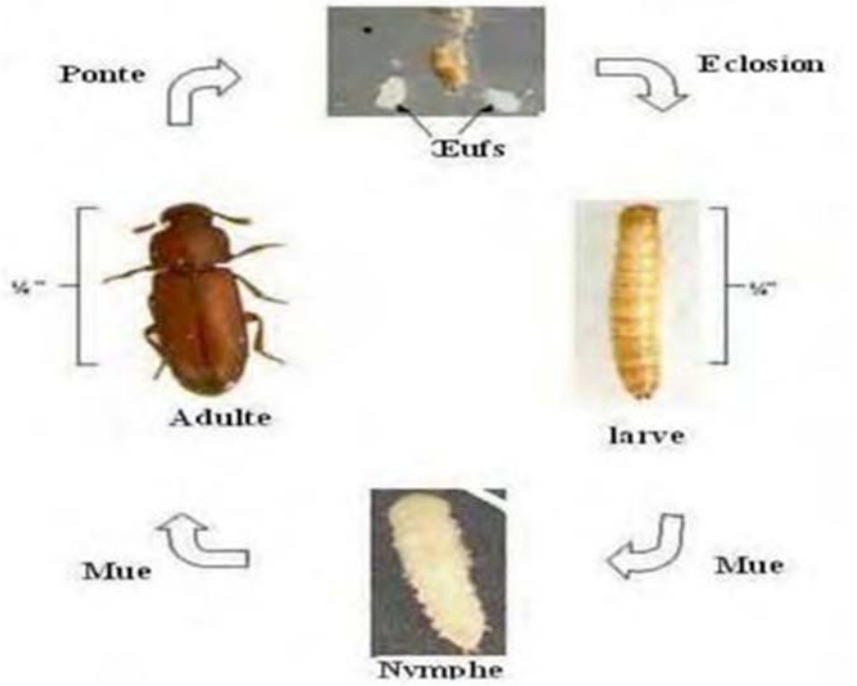


Figure12 : cycle de développement de *Triboliumconfusum*

Tableau 01 : Biologie de l'insecte

Plage de températures : **Température optimale :** **Plage d'humidité relative :**	17 à 34° C 28° C 45 à 100
Humidité relative optimale	70
Ponte : **Durée Du Cycle :**	Jusqu'à 150 œufs, pondus séparément dans les grains Jusqu'a 110 jours optimums de 35 jours.

2. Les dégâts causés par *Triboliumconfusum*:

Selon Delobel et Tran (1993), *Tribolium confusum* constitue une menace importante pour les produits stockés, notamment les graines, les noyaux et autres produits déjà endommagés par des ravageurs ou lors de la récolte et du stockage. Cet insecte, caractérisé par sa grande polyphagie, s'attaque aussi bien au blé, au maïs qu'aux légumineuses. En cas d'infestation sévère, les adultes de *Tribolium confusum* émettent des substances quinoléiques, conférant à la nourriture une odeur répulsive distincte (Seck, 2009).



Figure 13: dégâts causés par *Triboliumconfusum* .(original).

3. Méthodes de lutte contre *Tribolium*confusum :

3.1.La lutte traditionnelle

Au fil des années, les paysans ont développé des techniques souvent très élaborées et maîtrisées pour lutter contre *Tribolium confusum*. En plus de servir de lieux de stockage, les greniers et autres structures traditionnelles (pots, canaries) ont été spécifiquement conçus pour minimiser les pertes causées par les principaux insectes nuisibles aux récoltes. On observe également l'utilisation de cendres, de pigments, de plantes insectifuges ou d'insecticides tels que *Cupressus*, *Hyptis* et spic géra (Nanfack et al., 2015).

3.2.La lutte biologique :

La lutte biologique vise à contrôler les ravageurs en utilisant leurs ennemis naturels, est un phénomène naturellement présent dans la plupart des écosystèmes. Dans le domaine de l'agriculture, elle peut être utilisée de manière volontaire pour remplacer les pesticides conventionnels (Noémie, 2010). Les ennemis naturels utilisés dans cette approche comprennent les parasitoïdes, les bactéries, les virus, les champignons, les protozoaires et les nématodes (Nanfack et al., 2015).

3.3.La lutte physique :

Implique l'élimination des ravageurs ou la modification physique de leur environnement afin de le rendre inhospitalier ou inaccessible.

Cela peut inclure l'exposition des populations d'insectes ou des cultures à des radiations, des températures extrêmes ou des modifications de la teneur en oxygène ou en dioxyde de carbone de leur habitat. L'une des techniques les plus couramment utilisées est l'irradiation à forte dose, qui permet de tuer tous les stades de développement des insectes

(Nanfack et al., 2015). Cependant, ces méthodes sont peu répandues en Afrique en raison du coût de l'énergie et de la complexité des installations nécessaires.

Les populations rurales utilisent différentes méthodes pour stocker leurs cultures et éliminer les insectes qui les attaquent, telles que le stockage hermétique, l'insolation, l'enfumage, l'utilisation de poudres minérales et de terres de diatomées (Gueye et al., 2011).

3.4.La lutte chimique :

Est la méthode la plus couramment utilisée pour la conservation des céréales récoltées. Elle consiste à utiliser des produits chimiques appelés pesticides, tels que les insecticides, pour lutter contre les insectes. Les insecticides utilisés dans la protection des denrées stockées sont des formulations contenant des substances actives (Nanfack et al., 2015). Selon Groot (2004), les principaux produits chimiques utilisés dans cette approche comprennent les organophosphorés, les pyréthrinoïdes et les carbamates.

Partie expérimentale

Partie expérimentale :

1. Introduction

Des champignons pathogènes peuvent servir à combattre de nombreuses espèces différentes d'insectes. Dans leur utilisation comme agent de lutte, Cette étude a pour objectif d'évaluer l'influence des champignons entomopathogènes obtenu par la technique de repiquage successif à partir des souches fongiques utilisées dans ce travail et qui ont été isolées à partir des vers de farine,*Tenebrio molitor*, *Carpophilus hemipterus* et la larve de pyrale des dattes *Ectomyloisceraoniae* comme étant *Aspergillus niger* et *Pénicilliumsp* sur insecte de l'orge *Triboliumconfusum***.**

.2. Echantillonnage

Les échantillons des larves Ectomyelois ceratoniae et Carpophilus hemipterus sont prélevés à partir des dattes stockées. Les dattes récoltées sont ouvertes à l'aide d'un scalpel pour vérifier la présence de larves ou de nymphes de la pyrale. C'est une observation directe à l'œil nu ; de même les vers de farine Tenebrio molitor sont prélevés à partir de la farine stockées, à l'aide d'un tamis,

.3. Matériel et méthodes

La partie expérimentale est réalisée au sein du Laboratoire de microbiologie, faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Yahia Fares, Médéa.

.3.1. Isolement

Les insectes ont été désinfectés selon la méthode de Zimmermann, (1986). Les étapes suivantes (Figure 14):

- Dans d'eaujavel stérile 12° cl pendant 5 minutes,
- Rincés dans l'éthanol,
- Eau distillé stérile pondant 5 minutes,
- Séché sur papier absorbant stérile ;
- Déposées dans des boites de Pétri contenant le milieu PDA (voir annexe) + antibiotique (1g

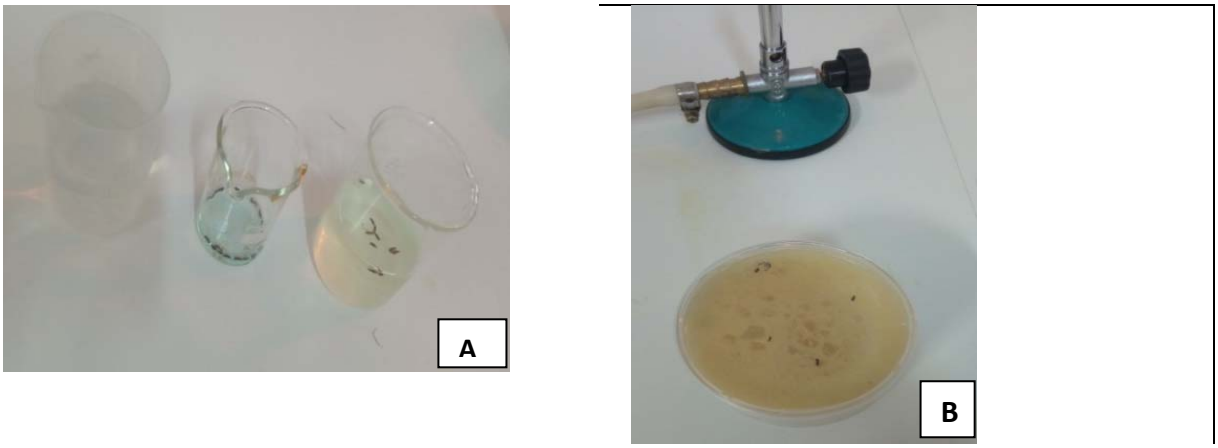


Figure 14: Techniques d'isolement (Original) (A) : Désinfection des insectes, (B): Isolementdes champignons sur milieu PDA.

3.2.purification des souches :

La partie expérimentale est réalisée au sein du Laboratoire de microbiologie, faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Yahia Fares, Médéa.

La purification des champignons est réalisée dans des conditions stériles ; Afin d'éviter toutes contaminations bactériennes, La purification des colonies fongiques isolées obtenue a été établie par le repiquage successif nécessaires jusqu'à obtention d'une souche pure (Figure 15), confirmée par l'observation macroscopique et microscopique.Par la technique des disques à l'aide d'une pipette Pasteur et aussi par anse de platine, déposées dans des boites de Pétri contenant le milieu PDA (commercialisé)et milieu PDA (préparée) + antibiotique (1g)., Ces derniers ont été incubés (BINDER) à 25°C pendant 6 jours.



Figure 15 :Purification des souches fongiques (Original 2023)

.3.3.dentification :

L'identification des isolats doit être faite sur des cultures pures, elle est basée sur les observations du mycélium fongique :

- **Observation macroscopique :** qui permet de déterminer la couleur de la colonie pendant le développement et à mesurer son diamètre. (Figure16)

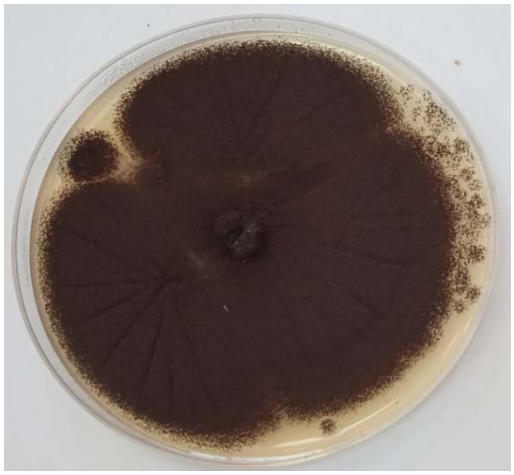


Figure 16 : observation macroscopique*Aspergillusniger*(Original 2023)

- **Observation microscopique** :La détection du thalle, la présence ou l'absence de septum, la nature de la production ainsi que les caractéristiques des fructifications et des spores ont été évaluées selon Samson et Haesks (1988), Hawkswarth (1995), Hoog et Guarro (1995) et Gams et al. (1998). Le mycélium a été fixé en utilisant une solution de lactophénol bleu coton, comme décrit dans l'annexe (Packer et Thomas, 1990). De plus, des photographies du mycélium ont été prises à l'aide d'un microscope optique (Figure 17).

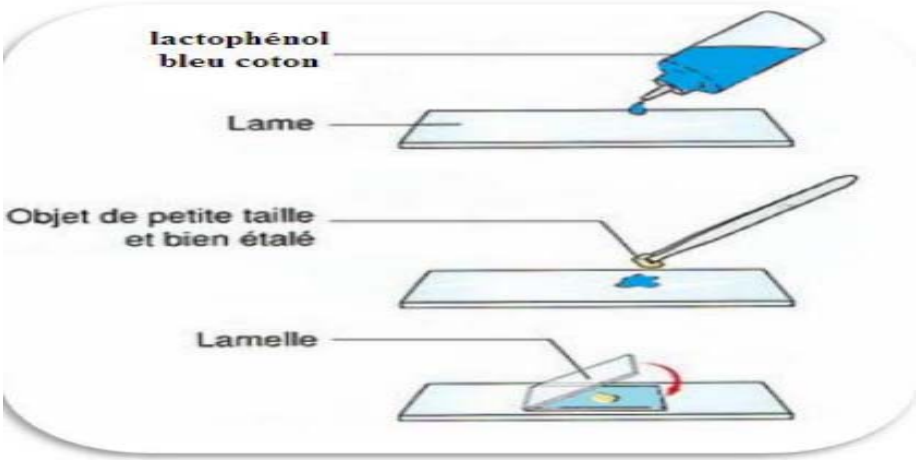


Figure 17 : Technique de préparation des **lames.(boufennara.S ,becila .H,2017)**

2. Test de pathogénicité :

Nous avons utilisé la méthode d'inoculation directe par trempage pour différencier différents isolats, conformément à la recommandation de la FAO. Cette méthode est considérée comme la norme pour détecter et évaluer la résistance des insectes aux insecticides (FAO, 1979 ; Stribley et al., 1983 ; Furk and Roberts, 1985 ; tous cités par Devonshire & Rice, 1988). Elle est particulièrement adaptée pour mesurer la toxicité des champignons par contact (Butt & Goettel, 2000).

2.1.Méthode de préparation de la solution entomopathogènes :

En utilisant une spatule stérile, de petits fragments de la fructification ; *Aspergillus niger* à base de milieu PDA (commercialisé)et milieu PDA (préparée), ont été prélevés en grattant la surface de la boîte. Ces fragments ont ensuite été introduits dans un tube à essai contenant 9 ml eau physiologie et un autre tube à essai contenant 9 ml l'eau osmotique, qui ont des solutions d'agent tensioactif non ionique utilisée comme supplément dans divers milieux de culture en laboratoire. La solution mère a été agitée pendant 10 minutes afin de libérer le maximum de spores. La concentration de la solution entomopathogène 10^8 spore /ml (mère) a été évaluée à aide une cellule hémacytométrique (Celule Malassez) (Figure 18).

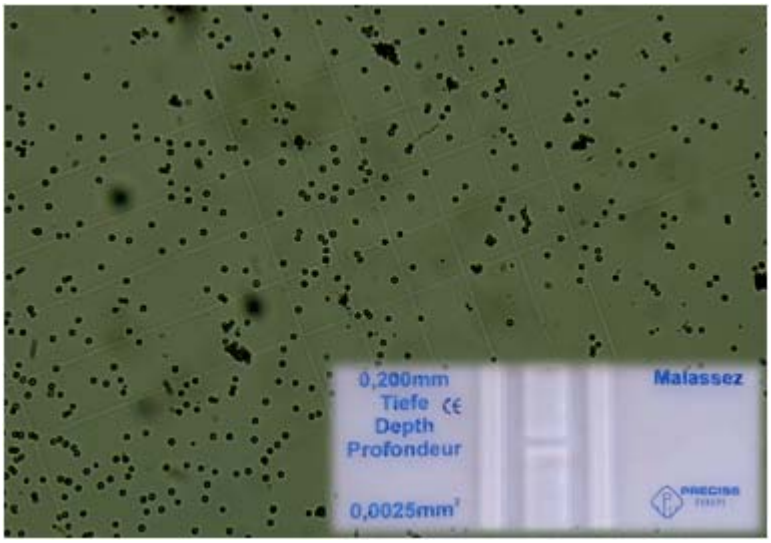


Figure 18: Dénombrement par la cellule de Malassez (Original)

2.2. Application de traitement :

Nous avons utilisé d'insecte Tribolium confusum prélevés sur de l'orge infestée pour le test de pathogénicité (voir Figure). Pour ce faire, les Tribolium ont été immergés dans une suspension de spores du champignon Aspergillus niger, préparée à une concentration d'environ 10^8 spores/ml (Gannasi et al., 2006). Chaque boîte contenait 18 insectes, avec 5 répétitions pour chaque solution sporal (total de 20 boîtes). Les solutions utilisées étaient les

suivantes : PDA commercialisé physiologique, PDA commercialisé osmotique, PDA préparé physiologique et PDA préparé osmotique (voir Figure 19).



Figure 19: Test de pathogénicité (Original)

Chaque jour à partir du début du traitement, la mortalité des individus est surveillée jusqu'à ce que tous les individus soient décédés (au 9ème jour). À chaque contrôle, les insectes morts sont éliminés avant que le pathogène ne puisse se reproduire, afin de prévenir de l'infection dans une même boîte.

Les propriétés biocides des onze isolats ont été estimées par des mortalités obtenues.

$$\text{La mortalité \%} = \frac{(\text{insectes vivants des témoins} - \text{insectes vivants traités})X100\text{insectesvivants des témoins}}{\text{insectesvivants des témoins}}$$

3. **Analyse statistique** :

L'efficacité biocides des isolats ont été estimées par le calcul de pourcentage de mortalité. Les différences graphes et tableaux ont été réalisé par logiciel Excel**.**

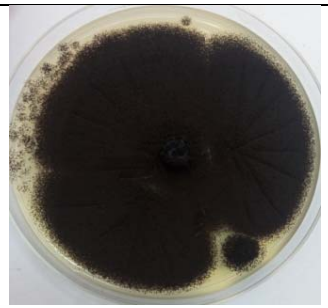
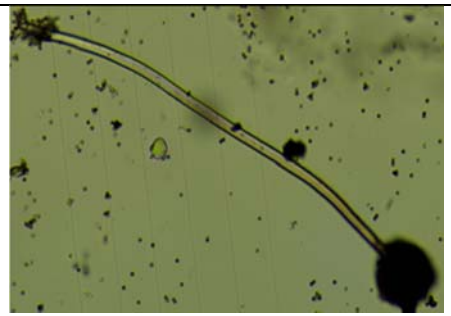
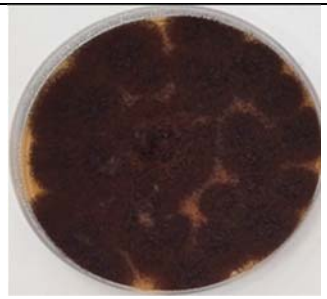
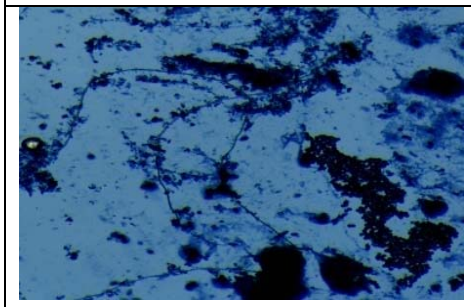
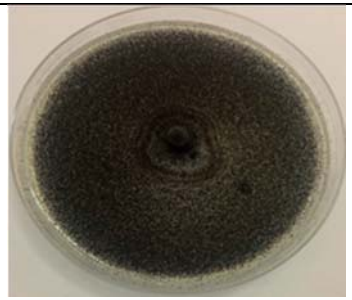
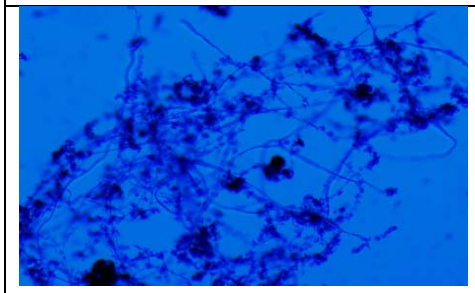
Résultats et Discussions

Résultat :

III-1-Etude mycologique

De l'ensemble des résultats obtenus, le genre *Aspergillus Niger* avec une fréquence de 41% regroupent 27boites obtenus de différents espèces :*Aspergillus* sp1, *Aspergillus* sp2. *Aspergillus* sp3.....

Tableau 2 : Aspect macroscopique et microscopique des fongiques :

Isolat fongique	Identification macroscopique		Identification microscopique		Genres
	Observation macroscopique	Aspect	Observation microscopique (G x 40)	Caractéristique	
Souche 1		Pousse rapidement (2_3) jours Des colonies noires cotonneuse et poudreuse ou granuleuse.		Une tête ronde, formes globuleuses, elliptiques, équinulées, verruqueuses ou longitudinales hémisphériques volumineuses, à parache radie Un appareil végétatif (thalle) formé de filaments mycéliens hyalins. Des hyphes transparents et septaux .	***Aspergillus Niger***
Souche 2					
Souche 3					

III-**2-- Test de pathogénicité :**

La vérification de la pathogénicité des champignons collectés et identifiés, a été réalisée par évaluation de leur aptitude à induire des mortalités au sein des colonies de *Triboliumconfusum* de l'orge. Aussi des tests d'entompathogènicité réalisés à partir d'utilisation des solutions entomopathogènes de *Aspergillus niger*). Les solutions utilisées étaient les suivantes : PDA commercialisé avec une solution physiologique, PDA commercialisé avec une solution osmotique, PDA préparé avec une solution physiologique et PDA préparé avec une solution osmotique ; Comme un biocide issu de la technique de repiquage successif des souches fongiques.

III-**3-Calcul des tests d'efficacités des traitements biocides de différents biocides des souches *Aspergillus niger* sur la mortalité des adultes *Tribollium confusume* de l'orge :**

Selon le tableau 02 ,les résultats obtenus au cours des différents solutions entomopathogènes de la souche Aspergillus Niger ont engendrée une mortalité de 33% par biocide de PDA préparé osmotique depuis le premier jour avec une forte résistance observée dès le 8eme jour de 17% , nous enregistrons une mortalité de 11% par biocide PDA commercialisé osmotique , Cependant, une moindre pathogénicité de 11% par biocide de PDA préparé avec une solution physiologique a été notée le 8eme jour et finalement nous enregistrons une mortalité de 11% par le biocide PDA commercialisé physiologique dès le 2 eme jusqu'a 8emejour (tableau) .

les tableau suivantes : Suivi journaliers de la mortalité des individus adultes de *Tribollium confusum* de l'orge de différentes solutions sporales de souche *Aspergillus niger* :

tableau 3 : Solution sporal (*Aspergillus Niger* avec PDA préparé avec une solution osmotique)*:*

	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8
R1	22%	17%	17%	11%	17%	17%	17%	17%
R2	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
R3	33%	17%	11%	11%	11%	11%	11%	17%
R4	6%	6%	6%	6%	6%	6%	6%	6%
R5	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

tableau 4 :Solution sporal (*Aspergillus Niger* avec PDA commercialisé avec une solution osmotique) :

	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8
R1	6%	6%	11%	6%	6%	6%	11%	11%
R2	0%	0%	0%	0%	6%	6%	11%	11%
R3	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
R4	0%	6%	6%	0%	0%	0%	0%	0%
R5	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

tableau 5 : Solution sporal (Aspergillus Niger avec PDA préparé avec une solution physiologique) :

	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8
R1	6%	11%	11%	11%	11%	11%	11%	11%
R2	6%	6%	6%	6%	6%	6%	6%	6%
R3	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
R4	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
R5	0%	0%	6%	6%	6%	6%	6%	6%

tableau 6 : Solution sporal (Aspergillus Niger avec PDA commercialisé avec une solution physiologique) :

	J1	J2	J3	J4	J5	J6	J7	J8
R1	6%	11%	11%	11%	11%	11%	11%	11%
R2	6%	6%	6%	0%	6%	6%	6%	6%
R3	0%	0%	6%	0%	0%	0%	6%	0%
R4	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
R5	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Le suivi de *Tribollium confusum* traités par les formulations entomopathogènes sur la base de souche fongique *d'Aspergillus Niger* a permis de remarquer que la toxicité provoquée par ces traitements est différente entre elles selon les interactions champignons / Tribollium

Discussion :

Les champignons entomopathogénes étant considérés comme des agents de mortalité des insectes naturels, on s'intéresse dans le monde entier à leur utilisation et leur manipulation pour la lutte biologique contre les insectes et d'autres ravageurs ,en particulier ,les phases asexuées de champignons ascomycoétes sont très étudiées en raison de leurs caractéristiques favorisant leur utilisation comme insecticides biologiques,ces derniers peuvent être élevés sur des milieux artificiels(Amiri et al,1999 ;Eskesi et al,2001).

Les champignons entomopathogénes et leur métabolites affectent plusieurs traits de la biologie de l'insecte tels que :la survie, le développement, la fécondité et la prise de nourriture (Amiri et al,1999 ;Eskesi et al,2001). Dans ce travailnous avons effectué une étude sur l'influence de champignon *Asrergillus Niger* sur les adultes *Tribolium confusum* de l'orge. Notre étude consiste à évaluer l'activité biocide des champignons entomopathogènes (Aspergillus *Niger*)et sur le *Trubollium confusum* de l'orge. Pour tester de ces derniers nous avons procédé à la purification des colonies fongiques par le repiquage successif jusqu'à obtention d'une souche pure. A partir des souches des différentes suspensions ont été préparé à base de deux milieux PDA (commercialisé et préparée) et deux solutions (physiologiques et osmotiques). Les résultats révèlent une mortalité par le biocide à base de solution osmotique de milieu PDA préparé plus élevée que celle de biocide à base de solution physiologique de milieu PDA commercialisé avec de mortalité 33% , suivie par le biocide a base physiologique qui représente de mortalité 11%. Par contre Les résultats obtenus sur le puceron étaient importante avec fort mortalité des adultes de puceron ver de rosier avec 90% , ces différentes résultats peut être explique par la cuticule de deux ordres différents. Le *Tribollium* appartient à l'ordre des coléoptères, caractérisés par la présence d'une cuticules dure, ce qui rend l'absorption de biocide difficile. Cette dernière empêche la pénétration de différentes suspensions sporals qui se multiplient dans l'hémolymphe entraînant une septicémie létale pour la larve d'insecte **(Pagès et Ginibre, 2006).** Le mode d'infection de *A. Niger* se divise en quatre étapes distinctes qui sont l'adhésion, la germination, la différentiation ; 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). La colonisation de l'hôte se fait lorsque le champignon parvient à surmonter les mécanismes immunitaires de

défense de l'insecte (Boman et Steiner, 1981 ; Soderhall, 1981) et envahit l'hemolymphe (Ferron et al., 1993).

La lutte contre *Tribolium confusum*pose une problématique quant à la stratégie et les moyens à utiliser ; il constitue de nouveaux défis à relever. Les méthodes de lutte biologique, peuvent constituer une réponse aux attaques de cet insecte. En plus de l'utilisation des parasitoïdes, (Saiah et al., 2011).

Conclusion

Pour protéger notre produits agricoles et alimentaires contre les attaques des insectes, au niveau des plantations et surtout au niveau des stocks, on se base essentiellement sur le contrôle soigneux et continu dans des conditions de stockage ; Et en utilisant les méthodes de lutte biochimique et biologique.

Nous avons mené une série d'étapes visant évaluation d'activités biocides des champignons entomopathogènesà partir de souche d'*Aspergillus niger* sur l' insecte ravageur des denrées stockées *Tribolium confusum* de l'orge qui constituent une menace importante pour les produits stockés, y compris les semences, les noyaux et autres produits déjà endommagés par les ravageurs ou lors de la récolte et du stockage .Notre travail a été principalement orienté vers le repiquage et purification des souches fongique suivi par l'identification qui nous ont dévoilé la présence de plusieurs souches fongique entomopathogénes ,représentant 2 genres, mais avec une faible efficacité contre *Tribolium confusum* qui est due à la nature physiologique de ces ravageurs ainsi au manque du temps de suivi

Les résultats parvenus' affirmer que la recherche dans le domaine de la lutte biologique mérite une attention très particulière. Et qu'on déployant des moyens plus conséquents et une expérience plus poussée et à grande échelle, afin de trouver une alternative aux insecticides pourrait être envisageable dans un proche avenir.

Références Bibliographique :

- **Abarca L. M., Francesc A., José C. and Cabañes J. F. (2004).** Taxonomy and significance of black aspergilla. Antonie van Leeuwenhoek Kluwer, Academic Publisher, 86: 33-49.
- **Abbot's. (1925).** A method of computing the effectiveness of aninsecticide: journal of the American Mosquito control association Vol.3 N;2.
- **ABDELAZIZ O,2019.** Application des champignon entomopathogènes sur les pucerons du blé. Thèse Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en sciences de la nature. Faculté : Sciences exactes et sciences de la nature et de la vie. Université Larbi Ben M'hidi - Oum El Bouaghi.
- **ARAB RADHIA (2018**) : Valorisation des ressourcesvégétal. Université de Sétif.
- **Arp AP, Hunter WB, 2016**; Innate immune system capabilities of the Asian citrus psyllid, Diaphorina citri. Frot Physiol. 7:417–418.
- **Barke J, Seipke RF, Worgan J T 2010**; A mixed community of actinomycetes produce multipleantibiotics for the fungus farming ant Acromyrmex octospinosus. BMC Biol. 8 :109.
- Beckage NE, Thompson SN, Federici BA (eds.). Academie Press Inc., New York, USA. 211-225.
- **Boiron P. 1996**. Organisation et biologie des champignons. Edition Nathan. P : 13-69.
- **Boufenara.S,becila.H ,2017**. Isolement des champignons entomopathogènes à partir d'ectonyloi ceratonia (zeller), thèse présenté envus de lobtention du diplome de master en science de la nature, faculté : siences de la nature et de vie, université des frères mentouri constantine.

- **Boucias,D. G. et Pendland J. C. 1988**. Nonspecific factors involved in the attachment of entomopathogenic deuteromycetes to host insect cuticle. Appl. Environ. Microbiol. 54(7) : 1795-1805.
- **Brune A 2014;** Symbiotic digestion of lignocellulose in termite guts. Nature. 12 :168–180.
- **Bye, P. (Ed.),** des plantes. In : Phytosanitaires, Protection des plantes, biopesticides. INRA. Pp: 107-110.
- **Caldera EJ, Poulsen M, et al.2009**; Insect symbioses: a case study of past, present, and future fungus-growing ant research. Env Ent. 38:78–92.
- **Calvo A.M., Wilson R.A., BockJ.W and Keller N.P. 2002**. Relationship between secondary metabolism and fungal development. Microbiol.Mol.Bio.Rev. 66: 447-459.
- **Champ S.P and El-Zayat A.A.E. 1989.** Isolation of sexual sporulation hormone from Aspergillus nidulans. J. Bacterial.171: 3982-3988.
- **Champ S.P., Raw P. and Chang A. 1987.** An endogenous inducer of sexual developement in *Aspergillus nidulans*. J. Gen. Microbiol. 133: 1383- 1388.
- **Chater K and Bibb M. 1997**. Regulation of bacterial antibiotic production, Klein Kauf and H. Vandhoven edn. INK.
- **Chu,C. J et Kemper, K. J. (2001)«***Lavender (Lavandula spp.)*». Longwood Herbal Task. Force, 32p.
- **Clarkson J. M and Charnley A. K. 1996**. New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. Trends Microbiol., 4, 197-203.
- **Currie C, Mueller UG, Malloch D. 1999**; The agricultural pathology of ant fungus gardens. ProcNatl Acad Sci USA 96 :7998– 8002.

Références Bibliographique :

- **Currie CR, Poulsen M; Mendenhall, J.; Boomsma, J. J.; Billen, J.2006**; Coevolved crypts and exocrine glands supportmutualistic bacteria in fungus-growing ants. Science. 311: 81–83.
- **Currie CR. A. 2001**; Community of ants, fungi, and bacteria: a multilateral approach tostudying symbiosis. Annu Rev Micro 55 :357–380.
- **Currie CR.2001** ; Prevalence and impact of a virulent parasite on a tripartite mutualism.Oecologia. 128 :99– 106.
- **Davet P. 1996**. Vie microbienne du sol et production végétales, (edn) INRA.Paris.
- **Delobel A et Tran M. (1993).** Les Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. Ed. Orstom. Paris. 275, 424p.
- **Demain A., Aharowitz Y and Martin J.F. (1983**). Metabolic control of secondary biosynthetic pathway. Bitechnolgy serie, 1983.
- (**dictionnaire** Lexique mots en I , publiée le 04/12/2007) ,située dans la page 1 .
- (**dictionnaire** Lexique mots en T , publiée le 08/12/2007),située dans la page 4.
- **Elsevier Masson SAS, 2015).** à propos d'un cas rare de kératite fongique invasive Laboratoire de parasitologie-mycologie, CHU de Nancy, Nancy, France.)
- **Engel P, Moran NA. 2013**; The gut microbiota of insects – diversity in structure andfunction. FEMS Microbiol Rev. 37: 699–735.
- **FAO. (1979). Stribley et al. (1983).**Furk and Roberts. (1985). Tous cité par Devonshire & Rice.(1988).
- **Ferron, P., Fargues, J. et Riba, G.1991**. Les champignons agents de lutte microbiologique contre les ravageurs. In Handbook ofappJied mycology, 2 : 237-270.
- **Ferron, P., Fargues, J. and Riba, G. 1991**. Fungi as microbial insecticides against pests. In Handbook of Applied Mycology. (Arora, D.K., Ajello, L., Mukerji, K.G., Eds.) Vol 2, 665-706, Marcel Dekker, New York.
- **Gams W., Haekstra E.S. and Aptroot A. (1998).** CBS. Course of mycology.
- **Ganassi S., Moretti A., Stornelli C., Fratello B. & Pagliai A.M. (2006).** Effect of Fusarium, Paecilomyces and Trichoderma formulations against aphid Schizaphis graminum. Mycopathologia 151, p. 131-138.
- **Goettel, M. S. et St Leger R. J. 1990**. Pathogenicity and growth of *Metarhizium anisopliae* stably transformed to benomyl resistance. Curr. Genet. 17 : 129-132.
- Gr**etia. (2009).**Etat des lieux des connaissances sur les invertébrés continentaux des Pays de la Loire ; bilan final. Rapport GRETIA pour le Conseil Régional des Pays de la Loire. 396 p.
- Guesmi F, Saidi I,Bouzenna Hafsia, Hfaiedh N,October 2019,Phytocompound variability, antioxidant and antibacterial activities, anatomical features of glandular and aglandular hairs of Thymus hirtus Willd. Ssp. algeriensis Boiss. and Reut. over developmental stagesSouth African Journal of Botany 127:234-243
- **Guignard, JL., Dupont, F. (2004).** Botanique : Systématique moléculaire, 13eme édition.Paris: Masson
- **Guiraud J. (1998).** Microbiologie alimentaire. Edition Dunod, Paris. P: 8-101.
- **Guitton, Y. (2011)** « Diversité Des Composés Terpéniques Volatils Au Sein Du Genre*Lavandula* », thèse Doctorat, Université De Saint Etienne, France, 253p.
- **Hajek A. E and St.leger R. J. 1994**. Interactions between fungal pathogens and insect hosts. Ann. Rev. Entomol., 39, 293-322.
- **Hamoudi Zouleikha Le : 03/10/2021**. Les champignons entomopathogènes et leur utilisation en lutte biologique. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de

Master en Sciences de la Nature et de la Vie Filière : Biotechnologies. Université Université des Frères Mentouri -Constantine.

- **Hapwood D.A. 1988.**Toward's and understanding of gene switching in Streptomyces,the basis of sporulation and antibiotic production. Proc. R. Soc.Land B. 235: 121- 138.
- **Hawksworth D.L., Kirk P.M., Sutton B. and Pegler D.N. 1995**. Dictionnary of the fungi, 8th ed. CAB.International Walling Ford. UnitedKingdom.
- **Hong Wan, Bruce E. Ankenman and Barry L. Nelson. 2003**. Controlled Sequential Bifurcation: a New Factor -Screening Method for Discrete- Event Simulation. Proceedings of the 2003 Winter Simulation Conference, December 7-10, 565Ŕ573.
- **Hongoh Y. 2010;** Diversity and genomes of uncultured microbial symbionts in the termitegut. Biosci Biotechnol Biochem. 74: 1145–1151.
- **Inward DJG, Vogler AP,2007**; A comprehensive phylogenetic analysis of termites(Isoptera) illuminates key aspects of their evolutionary biology. Mol Phylogenet Evol.44:953–967.
- **Jae-Hyuk Y. and Keller N.P. 2005**. Regulation of secondary metabolisme in filamentous fungi. Ann. Rev. Phytopathol. 43: 437- 458.
- **Kaltenpoth M, Gottler W, et al**. Symbiotic Bacteria Protect Wasp Larvae from FungalInfestation. Curr. Biol., 2005; 15:475–479.4007.
- **Kawamura C., Tsujimoto T. and Tsug T. 1999**. Targeted dissuption of melanin biosynthesis gene effects conidial development and UV tolerance in the japeneses pear pathotype of Alternaria alternate. Mol. Plant. Microbe. Interact. 12: 59- 63.
- **Keller N.P. and Woobok.J. 2005**. Aglobal regulatory of secondary metabolite biosynthesis in fungi, (edn) Warfe.
- **Kellner RL, Dettner K. 1996**; Differential efficacy of toxic pederin in deterring potentialarthropod predators of Paederus (Coleoptera: Staphylinidae) offspring. Oecologia. 107:293–300.
- **Kirk P.M., Cannon P.F., David J.C., Egham U.K. and Stophes J.A. (2001**). Ainsworth and Bysby's Dictionnary of fungi, 9 th edn. CABI. Bioscience.UK. Center and central Bureau Voie. Ultrech. The Net.
- **Kroiss J, Kaltenpoth M, et al**. Symbiotic Streptomycetes provide antibioticcombination prophylaxis for wasp offspring. Nat Chem Biol. 2010 ;6 :261–263.
- **Latge J, Monsigny M, Prevost M (1988)** Visualization of exocellular lectins in the entomopathogenic fungus Conidiobolus obscurus. J. Histochem. Cytochem. 36: 1419-1424.
- **Laurence Belgarbi-Dutron** L'École de ENS de Lyon, Etude de la morphologie de Penicillium roqueforti.
- **LEMEAILBI Nabila. (2019).** Evaluation de l'effet répulsif d'Artemisia herba alba Asso. et Teucrium polium L. vis-à vis des insectes des denrées stockées (Tribolium confusum et Rhyzopertha dominica) UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA. 13p.
- **Mapleston R.A., Stone H.G. and Williams P.H. 1992**. The evolutionary role of secondary metabolite.A REVIEW.Gen. 115:151-15.
- **Marcel Dekker, New York. Ferron, P., Fargues, J. et Riba, G.1991**.Les champignons agents de lutte• microbiologique contre les ravageurs. In Handbook ofappJied mycology, 2: 237-270.
- **Martin J.F. 1998**. New aspect of genes and enzymes for B- Lactam. Biosynthesis. App.Microbiol. Biotechnol.50: 1-15.

Références Bibliographique :

- **Martin J.F. and Liras P. 1989**. Organisation and expression of genes involvbed in the biosynthesis of antibiotics and other secondary metabolite. Annu. Rev. Microbiopl. 43:173-206.
- **Martinson VG, Moy J, et al.2012**; Establishment of characteristic gut bacteria duringdevelopment of the honeybee worker. Appl Environ Microbiol. 78 :2830–2840.
- Mathiew R. 1995. Biologie Campbell, (edn) ISBN Canada
- **Mazure P., Nakanishi K., El-Zayat A.A.E. and Champ S.P. 1991**. Structure and synthesis of sporogenic psifactors from Aspergillus nidulans.J. Chem.Soc. Chem. Commun. 20: 1486- 1487.
- **McCoy, C.W., R. A. Samson and D.G. Boucias .1988**. Entomogenous Fungi. In: Handbook of Natural Pesticides: Microorganisms. (Eds. : Ignoffo et.al.). CRC Press, pp. 260.
- **Moussi Tarek ;2017** : Utilisation de la poudre végétal du Romarin,Eucalyptus , Marrube et des micro-onder dans cadre de la lutte contre Triboluim confusum .Université M'Hamed Bouguera ,10p.
- **Mueller UG, Gerardo NM, et al. 2005**; The evolution of Agriculture in Insects. Ann RevEcology, Evol, System. 36:563– 595.
- **Nakabachi A, Ueoka K, et al. 2013**; Defensive bacteriome symbiont with a drasticallyreduced genome. Curr Biol. 23 :1478–1484.
- **Nanfack et al.,2015.** Les insectes implique dans les pertes poste-récolte des céreales au Cameroun : méthode actuelles de lutte et perspectives offertes par la transgénèse .1633-1634p.
- **Nicklin J., Greame-Cook K., Paget T and Killington R. 1999**. Essentiel en microbiologie, (edn) BERTI. Paris.
- **Nirma, C., Eparvier., and Stien, D. (2013).** Antifungal agents from Pseudallescheria boydii SNB-CN73 isolated from a Nasutitermes sp. termite. J. Nat. Prod. 76, 988–991
- **Oh DC, Poulsen M, CR Currie, J Clardy - Nature Chemical Biology, 2009**; Dentigerumycin: a bacterial mediator of an ant-fungussymbiosis. Nat Chem Biol. 5:391–393.
- **Packer · 1990** · Cité 202 fois — Morphological measurements on filamentous microorganisms by fully automatic image analysis. H. L. Packer, H. L. Packer ... First published: 15 April 1990
- **Pasqualotto A. C. (2010).** Aspergillosis: from diagnosis to prevention. Ed Springer Science & Business Media, New York, P. 1027.
- **Piel J. A2002;** Polyketide synthase-peptide synthetase gene cluster from an unculturedbacterial symbiont of Paederus beetles. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99:14002–1.
- **Samson R.A. And Hoeks E.S. (1988).** Indroduction to food –born fungi, 3 rd edn.
- **Samson R.A., Evans H.C. et Latg J.P. (1988).** Atlas of entomopathogenic fungi. Ed. Springer, Berlin Heidelberg New York. 208 p.
- **Samuels K. D. Z., Pinnock D. E. 1990**. Scarabeid larvae control in sugarcane using M. anisopliae. Journal of invertebrate pathology. 55 : 135-137.
- **Sanglier J J., Vayssier Y., Veau P. 1990**. Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. P : 34-428.
- **Sanglier J-J., Vayssier Y and Veau P. 1990**. Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, (edn) Masson, Paris.
- **Seck D. (2009).** Stockage, conservation et transformation des récoltes en zones tropicales. Notes de cours. 31 P.

Références Bibliographique :

- **Seinde Toure,2018**. Interactions insectes - micro-organismes entomopathogènes comme source d'inspiration pour la découverte concomitante de bio-insecticides et d'antimicrobiens. Biochimie [q-bio.BM]. Sorbonne Université, 2018. Français. ffNNT : 2018SORUS065ff. fftel-02163933f .
- **Sorres J, Nirma C, V Eparvier, D Stien - Organic letters, 2017** -Tyroscherin and tyroscherin analogs from Pseudallescheriaboydii SNB-CN85 isolated from termite Termes cf. hispaniolae. Phytochem Lett.22:142–144.
- **St Leger, R. J. et Frank D. C. 1992**. Molecular cloning and regulatory analysis of the cuticle-degrading- protease structural gene from the entomopathogenic fungus Metarhizium anisopliae. Eur J Biochem 204 (3): 991-1001.
- **St Leger, RJ. 1993**. Biology and mechanisms of insect-cuticule invasion by deuteromycete fungal pathogens. In: Parasites and pathogens of insects (Vol. 2).
- **Stone M.J. and Williams D.H. 1992**. On the evolution of functional secondary metabolites (Natural products). Mol.Microbiol. 6: 29-34.
- **Tortora J., Funk B.F. and Case Ch.l. 2003**. Introduction à la microbiologie, (edn) ISBN.Canada.
- **Trail F., Mahinti N. and Linz J. 1995**. Molecular biology of aflatoxine biosynthesis. Microbiology. 141: 755-765.
- **Van Arnam EB, Ruzzini AC, et al. 2016**; Selvamicin, an atypical antifungal polyene fromtwo alternative genomic contexts. Proc Natl Acad Sci USA. 113:12940–12945.
- **Vega FE, Meyling NV, JJ Luangsa-ard, M Blackwell -2012**.Fungal entomopathogens. In: Insect Pathology. Ed.Fernando E. Vega and Harry K. Kaya. p171–220.
- **Warnecke F, Luginbühl P, N Ivanova, M Ghassemian2007**; Metagenomic and functional analysis of hindgutmicrobiota of a wood-feeding higher termite. Nature. 450 560–565.
- **Wong LJ, H'ng PS, SY Wong, SH Lee2014**; Termite digestome as a potential source of symbioticmicrobiota for lignocelluloses degradation: a review. Pak J Bio Sci. 17:956–963.
- **Zohry N. M. H. (2007).** Scanning Electron Morphological Studies of *Tribolium Confusum* Jacquelin Du Val (Coleopteran: Tenebrionidae). The Journal of Basic and Applied Zoology ,78(6): 13.
- **Amiri B., Ibrahim L. & Butt T. (1999**). Antifeedant properties of destruxins and their potential use with the entomogenous fungus Metarhizium anisopliae for improved control of crucifer pest. Biocontrol Science and Technology 9, p. 487-498.
- **Boman, H. G. et M. Steiner. (1981).** Humoral immunity in Cecropia pupae Curr.Top. Microbiol lmmunol 94/95: 75-91.
- **. McCoy C.W., Samson R.A. & Boucias D.G. (1988).** Entomogenous fungi. In Ignoffo C.M. & Mandava N.B. (éd.), Handbook of Natural Pesticides Microbial Pesticides. Entomogenous Protozoa and Fungi. Vol. V, p. 151-236. CRC Press, Inc.Boca Raton, Finland.
- **Weiser, J. (1972).** Microbiologiseskie metodi borbi s vrednimi nasekomimi. Moskva, Kolos, 636.
- **Ferron P.,Fargue j et Riba G.(1993**) .Les champignons agents de lutte microbiologique contre les ravageurs D5,65-92.(Handbook of applied mycology,vol.2,Humans,Animal and insects.(1991).

Annexe

- **destruxine** (Biologie) Mycotoxine utilisée en tant qu'insecticide Il a été possible en utilisant de la destruxine marquée radioactivement, de suivre la fixation et pénétration rapide de la toxine dans les cellules d'insectes(wikipidia)

- l'idiophase est la phase après la phase de croissance principale d'une culture microbienne. La plupart des métabolites secondaires sont produits au cours de cette phase.(dictionnaire Lexique mots en I,04/12/2007)

- **La trophophase** est la phase de la croissance active d'une culture dans laquelle se forment des métabolites primaires. Elle est suivie de l'idiophase qui produit des métabolites secondaires (dictionnaire,Lexique mots en T, le 08/12/2007)

- **Le genre Atta**: Les fourmis champignonnistes ou fourmis coupe-feuille sont représentées principalement par le genre *Atta* et le genre *Acromyrmex*. Elles sont très abondantes en Amazonie mais également dans les forêts humides de l'extrême sud des États-Unis, même dans les régions semi-désertiques comme en Arizona,Texas, Nouveau-Mexique, le Mexique, et l'Amérique centrale jusqu'au nord de l'Argentine et de l'Uruguay, en passant par les Antilles. Elles jouent dans ces régions un rôle écologique et dans certains cas un rôle économique très important en défoliant les arbres fruitiers et les cultures. (wikipidia).

- **Metarhizium anisopliae (M. anisopliae)** est un champignon filamenteuxentomopathogène largement utilisé dans l'agriculture comme pesticide naturel. Son développement est favorisé par les climats tempérés et humides des pays nordiques (latitude>40°N) et les sols acides (pH<7). Sa température optimale de croissance est de 25–27,5°C. À ce jour, seules de rares infections majoritairement superficielleimpliquant ce champignon ont été rapportées (kératites, sinusites, infections cutanées). (Elsevier Masson SAS,2015.