

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

و البحث العلمي وزارة التعليم العالي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université MUSTAPHA Stambouli

Mascara



جامعة مصطفى اسطمبولي

معسكر

Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département des sciences agronomiques

Laboratoire de recherche sur les systèmes biologiques et de la géomatique

THESE DE DOCTORAT

Spécialité Phytopharmacie et protection des végétaux

Intitulée

Etude des antagonistes associés à la faune coléoptérique des champs cultivés

Présentée par : Mr. BOUTAIBA BENKLAOUZ Mohammed

Le...../...../2022

Devant le jury :

Présidente	BOUNGAB Karima	Professeur	Université de Mascara
Examinatrice	BOUALEM Malika	M C A	Université de Mostaganem
Examineur	RIGHI Kada	M C A	Université de Mascara
Examineur	BICHE Mohammed	Professeur	ENSA d'El-Harrach
Directrice de thèse	RIGHI-ASSIA Fatiha	Professeur	Université de Mascara
Co-directeur de thèse	ELOUISSI Mouffok	M C A	Université de Mascara

Année Universitaire : 2021-2022

Remerciements

Dieu nous suffit, quel excellent protecteur

Je commence par remercier Dieu le tout puissant de m'avoir donné la volonté, le courage, la force, l'amour du savoir et surtout la patience pour pouvoir réaliser ce modeste travail.

Je tiens, tout particulièrement, à exprimer ma profonde gratitude à ma directrice de thèse Pr. RIGHI-ASSIA Fatiha, pour ces précieux conseils, ses directives enrichissantes, sa patience et sa disponibilité, ainsi que pour la confiance et l'aide qu'elle m'a accordé pour mener ce travail à terme.

Mes sincères remerciements s'adressent également au Dr. ELOUISSI Mouffok mon co-directeur de thèse, pour toute la confiance qu'il m'a accordée, en acceptant de me diriger dans ce travail, pour m'avoir soutenu tout le long de cette période, en m'indiquant les bonnes directions de recherche.

Je remercie aussi Pr. BOUNGAB Karima, tout d'abord pour avoir accepté de présider le jury, mais également pour ses fructueuses remarques et précieux conseils

Toutes mes reconnaissances vont également aux Dr BOUALEM Malika et Pr. BICHE Mohammed pour l'honneur qu'ils m'ont accordé en acceptant d'examiner ce travail, malgré leurs nombreuses occupations.

Mes vifs remerciements s'adressent à Dr. RIGHI Kada pour avoir fait partie d'évaluer ce travail.

Je tiens à remercier, aussi, Dr. GHELAMELLAH Amine pour son aide et ses encouragements au cours de mon travail.

Je remercie aussi Dr. SAIAH Farida pour toute l'aide qu'il m'a apporté en ce qui concerne l'identification préliminaire des souches fongiques.

Je n'oublie pas tout le personnel de la station régionale de la protection des végétaux de Mostaganem (Ahmed Inal, Mohamed, Maarouf et Ghania) et le personnel de la ferme pilot Si Mourad - Sidi Ali de Mostaganem qui ont très gentiment collaboré de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Enfin à tous ceux qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à mes études et à la réalisation de ce travail, tous trouveront ici l'expression de ma très profonde gratitude.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail qui n'aura pas été réalisé sans l'aide de Dieu le tout puissant.

A mes guides et le grand trésor que je possède, qui m'a appris à affronter les problèmes de la vie, avec courage et confiance et soutien : mon cher père que Dieu recueille son âme dans son vaste paradis et ma très chère mère que Dieu me la garde.

A mes chers frères

A mes chères sœurs

A tous mes cousins et cousines.

A toute la famille Boutaiba

A tout(e)s mes collègues

A mes professeurs dans tous les cycles qui m'ont éclairé la vie du savoir.

A toute la promotion aimable et adorable, A tous ceux que j'aime.

MOHAMED.B

Résumé

Les insectes coléoptères ont pu coloniser l'intégralité des écosystèmes agricoles. Dans de tels milieux non stables, ou les pratiques culturales ont favorisé surtout les espèces de coléoptères phytophages, un cortège des micro-organismes antagonistes s'est installé participant ainsi à la régulation de ces populations des nuisibles. Néanmoins, peu de travaux sont intéressés à ce cortège, surtout au niveau de la région Nord-Ouest Algérien.

C'est dans ce contexte, que nous nous sommes proposé de mettre en évidence les espèces coléoptériques nuisibles et leurs microchampignons antagonistes au sein des champs cultivées, ainsi que de réaliser des tests pathologiques des souches fongiques isolées à partir d'une espèce scarabeique.

L'inventaire de la biodiversité des coléoptères au sein des différentes cultures à savoir la céréaliculture, cultures maraîchères et des vergers, de mars 2018 à février 2020, dans les wilayas de Mostaganem et Relizane a dévoilé la présence de 4633 individus classés en 29 familles différentes, 69 sous-familles, 146 genres et 205 espèces. La culture annuelle (céréales) et l'agroécosystème pérenne (verger d'agrume) apparaissent clairement comme des agroécosystèmes favorables au développement de la diversité faunistique des coléoptères. Néanmoins, les cultures maraîchères (pomme de terre) constituent un milieu dans lequel se développent un petit nombre d'espèces.

L'isolement des entomopathogènes est effectué à partir de larves parasitées et d'adultes morts de l'espèce *Phyllognatus excavatus*, présentant des symptômes d'infection fongique, a révélé la présence de deux souches entomopathogènes. L'identification des souches fongiques isolées était basée sur les caractéristiques morphologiques et l'analyse des régions ITS et les facteurs d'élongation EF-1alpha. Les deux souches ont été identifiées comme appartenant aux espèces *Metarhizium acridum* et *Aspergillus terreus*.

Les résultats du test de pathogénéité des deux champignons isolés à l'égard des larves de l'espèce scarabeique *Geotrogus deserticola* ont mis en exergue l'efficacité de *Metarhizium acridum* qui a causé une forte mortalité au sein des populations des larves avec un DL_{50} de 0.89×10^6 spores/ml, alors que l'espèce *Aspergillus terreus* vient en deuxième position de point de vue de son efficacité avec un DL_{50} de 1.8×10^7 . D'autre part, cette étude a montré que l'optimum pour se croître et sporuler, pour les deux champignons isolés, était sous les conditions suivantes : un intervalle thermique allant de 25°C et 35°C ; une humidité relative entre 80% à 95%, aucune n'influence par les différents pH, avec une légère préférence de la lumière pour mieux se croître et sporuler.

A la lumière de ces résultats, nous pouvons affirmer que cette recherche préliminaire sur le recensement des coléoptères peut aider à former, par accumulation progressive, une image de la faune coléoptérique dans les écosystèmes agricole en Algérie. Cependant, de nouvelles études sont encore nécessaires sur sa biologie afin d'évaluer son rôle écologique. D'autre part, les deux souches isolées et testées pourraient être utilisées comme agents potentiels pour une lutte microbiologique contre les ravageurs et respectueux de l'environnement.

Mots clés : Coléoptères, antagonistes, entomopathogènes, champs cultivés, Nord-Ouest Algérien.

Abstract

Beetles have been able to colonize the entirety of agro-ecosystems. In such non-stable environments, where cultural practices have especially favored phytophagous beetles, there are many antagonistic microorganisms which participate in the regulation of these pests. Nevertheless, few studies are interested by these microorganisms, especially in Northwestern Algeria region.

In this context that we have proposed to highlight the harmful beetle species, their antagonistic micro-fungi in cultivated fields, as well as carrying out pathological tests of the isolated fungal strains from species of Scarabaeoidea.

The biodiversity inventory of beetles within the different cultures (cereal field, vegetable crops and orchards), from March 2018 to February 2020 in Mostaganem and Relizane areas, revealed the presence of 4633 individuals classified into 29 different families, 69 subfamilies, 146 genera and 205 species. The annual crop and the perennial ecosystem clearly appear as the agroecosystems favorable to the development of beetles fauna diversity. Nevertheless, vegetable crops environments constitute landscape in which a small number of species develop.

The isolation from larvae and dead adults of *Phyllognatus excavatus*, showing symptoms of natural fungal infection, revealed the presence of two entomopathogenic strains. The identification of the isolated strains was based on the morphological characteristics and the analysis of the ITS regions and the elongation factors EF-1alpha. The two strains have been identified as belonging to the species *Metarhizium acridum* and *Aspergillus terreus*.

Pathogenicity test of the both isolated strains against larvae of the beetle species *Geotrogus deserticola* highlighted the efficacy of *Metarhizium acridum* which caused high mortality in larvae populations with LD₅₀ of 0.89 x 10⁶ spores / ml, followed by *Aspergillus terreus* with a LD₅₀ of 1.8 x 10⁷ spores/ml. On the other hand, this study showed that the optimum for growth and sporulation was under the following conditions: a temperature range (25°C - 35°C); relative humidity (80% à 95%); no influence by the different pH, with a slight preference for light.

In light of these results, we can say that this preliminary research on beetles census can help to form, by gradual accumulation, a picture of the fauna in agro-ecosystems in Algeria. However, further studies are still required on its biology in order to evaluate its ecological role. On the other hand, the both isolated and tested strains could be used as potential agents for microbiological pest control and eco-friendly.

Key-words: Beetles, antagonists, entomopathogens, cultivated fields, Northwest Algeria.

ملخص

استطاعت الحشرات غمديات الاجنحة ان تجتاح الحقول الزراعية بأكملها، حيث ساعدت العمليات الزراعية على انتشارها في مثل هذه البيئات غير المستقرة خاصة تلك الأنواع التي تتغذى على النباتات الا انه توجد العديد من الكائنات الحية الدقيقة المعادية و المنافسة لها ، والتي تشارك طبيعيا في تنظيم هذه الآفات بشكل كبير. في حين نجد القليل من البحوث و الدراسات التي تطرقت و اهتمت بهذه الكائنات الدقيقة خاصة في منطقة الشمال الغربي للجزائر. في هذا السياق ، اقترحنا تسليط الضوء على أنواع غمديات الاجنحة الضارة ، ايضا الفطريات الدقيقة المعادية لها في الحقول المزروعة ، وكذلك إجراء الاختبارات المرضية للسلاسل الفطرية المعزولة من أنواع الخنافس.

كشفت عملية احصاء التنوع البيولوجي داخل الزراعات المختلفة زراعة الحبوب ومحاصيل الخضروات وحقول الأشجار المثمرة خلال الفترة الممتدة من مارس 2018 الى فيفري 2020 في ولايتي مستغانم و غيليزان عن وجود 4633 فردا من غمديات الاجنحة. تنتمي إلى 29 عائلة مختلفة، 69 تحت عائلة ، 164 صنفا و 205 نوعًا. كان الوسط الزراعي الأكثر تنوعًا هو حقل الحبوب ، يليه بساتين الحمضيات ، في حين جاء زراعة الخضروات (البطاطس) في المرتبة الأخيرة.

اسفرت نتائج عزل الفطريات من اليرقات و الحشرات البالغة لنوع *Phyllognatus excavates* تحمل اعراض اصابات فطرية طبيعيا عن وجود نوعين من الفطريات الممرضة للحشرات. للتعريف على العينات المعزولة اعتمدنا على الخصائص المورفولوجية للفطريات وكذلك التحاليل الجينية عن طريق مناطق ITS و *Ef-1alpha* كلا العينتين المعزولتين تم تاكيدهما على انهما تنتميان الى نوعي *Aspergillus terreus* و *Metarhizium acridum*. أبرزت نتائج اختبار الأمراض للفطرين المعزولين ضد يرقات الخنافس *Geotrogus deserticola* فعالية

Metarhizium acridum و الذي سبب اعلى معدل وفيات لدى اليرقات مع DL_{50} يساوي $10^6 \times 0.89$ بوغ / مل بينما يأتي نوع *Aspergillus terreus* في المرتبة الثانية من حيث الفعالية مع DL_{50} من 1.8×10^7 بوغ / مل. من ناحية اخرى وضحت هذه الدراسة ان النمو الامثل و التبويغ للفطرين المعزولين كان تحت الظروف التالية : درجة الحرارة ما بين 25 الى 35 درجة مئوية ، رطوبة ما بين 80% الى 95% ، عدم التأثير بدرجة الحموضة مع تفضيل الاضاءة. على ضوء هذه النتائج المتحصل عليها، يمكننا أن نقول أن هذا الدراسة الأولية حول احصاء غمديات الاجنحة يمكن أن تساعد ، بصفة تدريجية ، على اعطاء صورة لانواع غمديات الاجنحة الموجودة في النظم البيئية الزراعية في الجزائر. ومع ذلك، لا تزال بحاجة إلى مزيد من الدراسات حول دورة حياتها من أجل تقييم دورها البيئي. من جهة أخرى ، يمكن استخدام السلالتين المعزولتين والمختبرتين كعوامل مساعدة للمكافحة الميكروبيولوجية للآفات و اقل ضررا للبيئة.

الكلمات المفتاحية: غمديات الاجنحة ، منافسات ، مسببات الأمراض ، الحقول المزروعة ، شمال غرب الجزائر.

Table des matières

Introduction	1
---------------------------	---

Revue bibliographique

Chapitre 1. Etat des connaissances sur les coléoptères des champs cultivés

1. 1. Aperçu général sur les Coléoptères	3
1.2. La systématique des coléoptères	4
1.3. Etude du cas des coléoptères Scarabaeoidea	5
1.3.1. Généralité	5
1.3.2. Morphologie externe des coléoptères Scarabaeoidea	6
1.3.2.1. La tête	6
1.3.2.2. Le thorax	7
1.3.2.3. L'abdomen	7
1.3.2.4. Les élytres et les ailes	7
1.3.2.5. Les pattes	8
1.3.3. Description des stades biologiques des Scarabaeoidea	8
1.3.3.1. L'œuf	8
1.3.3.2. La larve	8
1.3.3.3. La nymphe	9
1.3.3.4. L'adulte	9
1.4. Exemple de ver blanc des céréales (<i>Geotrogus deserticola</i>)	10
1.4.1. Description	10
1.4.2. Position systématique	10
1.4.3. Cycle de développement	11
1.4.4. Dégâts Occasionnés par les vers blancs des céréales	12
1.4.5. Méthodes de lutte	13
1.4.5.1. La lutte mécanique	13
1.4.5.2. La lutte chimique	13
1.4.5.3. La lutte biologique	13

Chapitre 2. Généralités sur les micro-organismes antagonistes

Introduction	15
2.1. Les bactéries entomopathogènes	16
2.2. Les nématodes entomopathogènes	16

2.3. Les champignons entomopathogènes	17
2.3.1. Définition	17
2.3.2. La systématique des champignons entomopathogènes	17
2.3.2.1. Basidiomycota	18
2.3.2.2. Zygomycota.....	18
2.3.2.3. Ascomycota	19
2.3.2.4. Les Chytridiomycota	19
2.3.3. Mode de reproduction	21
2.3.4. Mode d'action	21
2.3.4.1. La phase d'adhésion	22
2.3.4.2 La phase de germination	22
2.3.4.3 La phase de pénétration de l'hôte.....	23
2.3.4.4. La phase de réponse de l'insecte à l'infection	24
2.3.5. Facteurs influençant l'efficacité des champignons entomopathogènes	24
2.3.5.1. Facteurs liés à l'agent pathogène	24
2.3.5.2. Facteurs liés à l'hôte.....	24
2.3.5.3. Facteurs environnementaux.....	25
2.3.5.3.1. Rayonnement solaire (lumière ultraviolette).....	25
2.3.5.3.2 Température	25
2.3.5.3.3 Humidité.....	26
2.3.5.3.4. Le sol.....	26
2.3.6. Avantages de l'utilisation des champignons entomopathogènes	27

Partie expérimentale

Chapitre 3 : Inventaire des coléoptères des champs cultivés

Introduction	28
3.1. Matériel et méthodes	28
3.1.1 Région d'étude	28
3.1.2. Caractéristiques climatiques.....	30
3.1.3. Méthodes de collection.....	31
3.1.3.1. La chasse à vue.....	31
3.1.3.2. Les pièges Barber	31
3.1.3.3. Les pièges jaunes.....	31
3.1.4. Traitement des spécimens	32

3.1.5. Classification et analyse de la diversité.....	32
3.1.5.1. Fréquence centésimale (Cf %)	32
3.1.5.2. Indice de Shannon Weaver ou indice de diversité (H').....	32
3.1.5.3. L'équitabilité (E)	33
3.1.5.4. Indice de Sorenson (similarité qualitative).....	33
3.1.5.5. Indice de Jaccard (similarité quantitative).....	33
3.1.5.6. Exploitation des résultats par des méthodes statistiques	33
3.2. Résultats et discussions	34
3.2.1. Inventaire des espèces collectées	34
3.2.2. Composition et abondance de la communauté des coléoptères collectées.....	38
3.2.3. Diversité des coléoptères.....	40
3.2.4. Similitude des agroécosystèmes étudiés	42
3.3. Discussion	43
Chapitre 4 : Isolement des champignons entomopathogènes	
4.1. Isolement à partir de <i>Phyllognathus excavatus</i>	47
Introduction	47
4.1.1. Matériel et méthodes	47
4.1.1.1. Matériel biologique	47
4.1.2. Méthode d'isolement des champignons	48
4.1.3. Milieux d'isolement	48
4.1.4. Purification des isolats	48
4.1.5. Identification	49
4.1.5.1. Identification morphologique	49
4.1.5.1.1. Aspect macroscopique.....	49
4.1.5.1.2. Aspect microscopique	49
4.1.5.1.3. Conservation des isolats	50
4.1.5.2. Caractérisation moléculaire des isolats	50
4.1.5.2.1. Extraction de l'AND génomique.....	50
4.1.5.2.2. Amplification de l'AND (PCR des ITS et Ef)	50
4.1.5.2.3. Révélation des produits PCR.....	52
4.1.5.2.4. Purification des produits PCR.....	52
4.1.5.2.5. Séquençage des produits PCR.....	52
4.1.5.2.6. Comparaison des séquences avec la banque informatique.....	52
4.2. Résultats et interprétation.....	53

4.2.1. Isolement des champignons entomopathogènes à partir de <i>Ph excavatus</i>	53
4.2.2. Identification des souches isolées	53
4.2.2.1. Caractères morphologiques et culturaux	53
4.2.2.1.1 Aspect macroscopique.....	53
4.2.2.1.2 Aspect microscopique	55
4.2.3. Caractéristiques moléculaires des isolats	56
4.2.3.1 Amplification PCR des ITS et Ef	56
4.2.3.2. Séquençage des produits PCR et leurs comparaison avec la banque de données GeneBank.....	56
4.3. Discussion	58

Chapitre 5 : Etude de pathogénicité des champignons isolés sur les larves de

Geotrogus deserticola

Introduction	60
5.1. Matériel et méthodes	61
5.1.1. Matériel biologique	61
5.1.2. Substrats	61
5.1.3. Conduite de biotests par les champignons isolés	62
5.1.4. Analyses statistiques	62
5.1.4.1. Analyse de la variance.....	62
5.1.4.2. Le test de Newman Keuls au seuil de 5%	62
5.1.4.3. L'analyse Probit	63
5.2. Résultats et interprétation.....	64
5.2.1. Essai de pathogénicité des champignons isolés à partir de <i>Ph excavatus</i> sur les larves de <i>Geotrogus deserticola</i>	64
5.2.1.1. Effet de <i>Metarhizium acridum</i> sur les larves de <i>G. deserticola</i> dans le sol	64
5.2.1.1.1. Taux de mortalité	64
5.2.1.1.2. Analyse de la variance.....	65
5.2.1.1.3. Test de Newman keuls	65
5.2.1.1.4. Calcul de DL ₅₀	66
5.2.1.1.5. Calcul des TL ₅₀	67
5.2.1.2. Effet d' <i>Aspergillus terreus</i> sur les larves de <i>G. deserticola</i> dans le sol.....	69
5.2.1.2.1. Taux de mortalité	69
5.2.1.2.2. Analyse de la variance.....	70
5.2.1.2.3. Test de Newman keuls	70

5.2.1.2.4. Calcul de DL ₅₀	71
5.2.1.2.5. Calcul de TL ₅₀	72
5.2.1.3. Effet de <i>Metarhizium acridum</i> sur les larves de <i>G. deserticola</i> hors sol	74
5.2.1.3.1. Taux de mortalité	74
5.2.1.3.2. Analyse de la variance.....	75
5.2.1.3.3. Test de Newman keuls à 5%	75
5.2.1.3.4. Calcul de DL ₅₀	76
5.2.1.3.5. Calcul de TL ₅₀	77
5.2.1.4. Effet d' <i>Aspergillus terreus</i> sur les larves de <i>G. deserticola</i> hors sol	79
5.2.1.4.1. Taux de mortalité	79
5.2.1.4.2. Analyse de la variance.....	80
5.2.1.4.3. Test de Newman keuls	80
5.2.1.4.4. Calcul de DL ₅₀	81
5.2.1.4.4. Calcul de TL ₅₀	82
5.3. Discussion	84

Chapitre 6. Etude de l'influence de quelques paramètres abiotiques sur le

Comportement «*in vitro*» des champignons isolés

Introduction	86
6.1. Matériel et méthodes	86
6.1.1. Matériel	86
6.1.1.1. Matériel fongique	86
6.1.1.2. Choix de milieux de culture	86
6.1.2. Méthodes	87
6.1.2.1. Evaluation de la croissance mycélienne.....	87
6.1.2.2. Mesure de la sporulation	87
6.1.2.3. Conduites des différents tests de l'influence des facteurs abiotiques sur la croissance et la sporulation des deux isolats	88
6.1.2.3.1. Influence de la température	88
6.1.2.3.2. Influence de l'humidité	88
6.1.2.3.3. Influence du pH.....	88
6.1.2.3.4. Influence de la lumière et de l'obscurité	89
6.2. Résultats et interprétations	89
6.2.1. Influence de la température	89
6.2.1.1. Influence de la température sur la croissance mycélienne	89

6.2.1.2. Influence de la température sur la sporulation	91
6.2.2. Influence de l'humidité	92
6.2.2.1. Influence de l'humidité sur la croissance mycélienne.....	92
6.2.2.2. Influence de l'humidité sur la sporulation.....	93
6.2.3. Influence du pH.....	94
6.2.3.1. Influence du pH sur la croissance mycélienne	94
6.2.3.2. Influence du pH sur la sporulation	95
6.2.4. Influence de la lumière et de l'obscurité	95
6.2.4.1. Influence de la lumière et de l'obscurité sur la croissance mycélienne	96
6.2.4.2. Influence de la lumière et de l'obscurité sur la sporulation	97
6.3. Discussion	98
Conclusion.....	100

Références bibliographiques

Annexes

Liste des figures

Figure 1: Morphologie externe d'un Coléoptère scarabée (<i>Xylotrupes gideon</i> ssp).....	6
Figure 2: Elytre et aile membraneuse d'un Coléoptère.....	8
Figure 3: Stades de développement de ver blanc	9
Figure 4: Cycle biologique du ver blanc des céréales (<i>G. deserticola</i>).....	11
Figure 5: les dégâts de <i>G. deserticola</i> dans un champ de blé	12
Figure 6: Larve du troisième stade d' <i>H. plebejus</i> , recouvert de muscardine verte.....	14
Figure 7: Schéma du cycle biologique des champignons entomopathogènes	21
Figure 8: Mode de pénétration des champignons entomopathogènes.....	23
Figure 9: localisation de la région d'étude	28
Figure 10: Les sites expérimentaux.....	29
Figure 11: Diagramme ombrothermique des régions d'étude en (2018-2019).....	30
Figure 12: Les différentes techniques de piégeage utilisées	31
Figure 13: Nombre total des familles, sous-familles, genres et espèces de coléoptères pour les quatre agroécosystèmes prospectés	34
Figure 14: Abondance relative des différentes familles enregistrées dans les quatre agroécosystèmes.	39
Figure 15: Larves et Adultes de <i>Ph. excavatus</i> présentant des symptômes d'infection fongique	47
Figure 16: Isolement des champignons à partir des spécimens de <i>Ph. excavatus</i>	48
Figure 17: Profil d'amplification de l'ADNr avec les amorces ITS1 / ITS4 et les amorces EF-728F / EF-2 dans les deux isolats fongiques	56
Figure 18: les dégâts de dans un champ de blé	60
Figure 19: Dispositif expérimental pour le test de pathogénicité.....	61
Figure 20: Effet de différentes concentrations de <i>M. acridum</i> sur la mortalité des larves de <i>G. deserticola</i> dans le sol.....	64
Figure 21: Taux de mortalité des larves de <i>G. deserticola</i> sous l'effet de <i>M. acridum</i> noté au 7 ^{ème} jour du traitement dans le sol	66
Figure 22: les valeurs du TL50 relatifs aux différentes doses de <i>M. acridum</i> D1, D2, D3, D4 et D5 appliquées dans le sol	67
Figure 23: Efficacité de <i>M. acridum</i> dans le temps vis-à-vis des larves de <i>G. deserticola</i> traitées par les différentes doses D1, D2, D3, D4 dans le sol.....	68
Figure 24: Effet de différentes concentrations d' <i>A. terreus</i> sur la mortalité des larves	

de <i>G. deserticola</i> dans le sol.....	69
Figure 25: Taux de mortalité des larves de <i>G. deserticola</i> sous l'effet d' <i>A. terreus</i> noté au 7 ^{ème} jour du traitement	71
Figure 26: Les valeurs du TL ₅₀ relatifs aux différentes doses d' <i>A. terreus</i> D1, D2, D3, D4 et D5 appliquées dans le sol	72
Figure 27: Efficacité d' <i>A. terreus</i> dans le temps vis-à-vis des larves de <i>G. deserticola</i> traitées par les différentes doses D1, D2, D3, D4 dans le sol	73
Figure 28: Effet de différentes concentrations de <i>M. acridum</i> sur la mortalité des larves de <i>G. deserticola</i> hors sol.....	74
Figure 29: Taux de mortalité des larves de <i>G. deserticola</i> sous l'effet de <i>M. acridum</i> noté au 5 ^{ème} jour du traitement hors sol.....	76
Figure 30: les valeurs du TL ₅₀ relatifs aux différentes doses de <i>M. acridum</i> D1, D2, D3, D4 et D5 appliquées hors sol.....	77
Figure 31: Efficacité de <i>M. acridum</i> dans le temps vis-à-vis des larves de <i>G. deserticola</i> traitées par les différentes doses D1, D2, D3, D4 hors sol	78
Figure 32: Effet de différentes concentrations d' <i>A. terreus</i> sur la mortalité des larves de <i>G. deserticola</i> hors sol.....	79
Figure 33: Taux de mortalité des larves de <i>G. deserticola</i> sous l'effet d' <i>A. terreus</i> noté au 6 ^{ème} jour du traitement	81
Figure 34: Les valeurs du TL ₅₀ relatifs aux différentes doses d' <i>A. terreus</i> D1, D2, D3, D4 et D5 appliquées hors sol.....	82
Figure 35: Efficacité d' <i>Aspergillus terreus</i> dans le temps vis-à-vis des larves de <i>G. deserticola</i> traitées par les différentes doses D1, D2, D3, D4 hors sol	83
Figure 36: Effet de température sur la croissance mycélienne de <i>M. acridum</i>	90
Figure 37: Effet de température sur la croissance mycélienne d' <i>A. terreus</i>	90
Figure 38: Effet de température sur la sporulation de <i>M. acridum</i>	91
Figure 39: Effet de température sur la sporulation d' <i>A. terreus</i>	91
Figure 40: Effet de différents niveaux d'humidité sur la croissance mycélienne de <i>M. acridum</i>	92
Figure 41: Effet de différents niveaux d'humidité sur la croissance mycélienne d' <i>A. terreus</i>	92
Figure 42: Effet de différents niveaux d'humidité sur la sporulation de <i>M. acridum</i>	93
Figure 43: Effet de différents niveaux d'humidité sur la sporulation d' <i>A. terreus</i>	93
Figure 44: Effet de pH sur la croissance mycélienne de <i>M. acridum</i>	94

Figure 45: Effet de pH sur la croissance mycélienne d' <i>A. terreus</i>	94
Figure 46: Effet de pH sur la sporulation de <i>M. acridium</i>	95
Figure 47: Effet de pH sur la sporulation d' <i>A. terreus</i>	95
Figure 48: Effet de la lumière et de l'obscurité sur la croissance mycélienne de <i>M.</i> <i>Acridum</i>	96
Figure 49: Effet de la lumière et de l'obscurité sur la croissance mycélienne d' <i>A.</i> <i>Terreus</i>	96
Figure 50: Effet de la lumière et de l'obscurité sur la sporulation de <i>M. acridum</i>	97
Figure 51: Effet de la lumière et de l'obscurité sur la sporulation d' <i>A. terreus</i>	97

Liste des tableaux

Tableau 01: les genres et les espèces de champignons entomopathogènes	20
Tableau 2: Les caractéristiques générales de la région d'étude	29
Tableau 3: Composition de la faune coléoptérique dans les quatre stations étudiées	35
Tableau 4: Richesse spécifique et fréquence centésimale des différentes familles de coléoptères dans les quatre agroécosystèmes prospectés	35
Tableau 5: Paramètres structuraux des populations de coléoptères évalués pour chaque agroécosystème	41
Tableau 6: Paramètres structuraux saisonniers des populations de coléoptères évalués pour chaque agroécosystème.....	41
Tableau 7: Les Valeurs de l'indice de similarité de Sorenson (au-dessus de la diagonale) et de l'indice de similarité de Jaccard (au-dessous de la diagonale) entre la faune coléoptérique des quatre agroécosystèmes étudiées.....	42
Tableau 8: Les amorces utilisées pour la caractérisation moléculaire	50
Tableau 9: Mixture PCR	51
Tableau 10: Les conditions d'amplification (PCR)	51
Tableau 11: Les champignons isolés et leurs origines.....	53
Tableau 12: Caractéristiques macroscopiques de différents isolats.....	54
Tableau 13: Aspect macroscopique des souches isolées	54
Tableau 14: Aspect microscopique des souches isolées	55
Tableau 15: l'affiliation phylogénétique des isolats	57
Tableau 16: Analyse de la variance (Met dans le sol)	65
Tableau 17: Analyse de la variance (Asp dans le sol)	70
Tableau 18: Analyse de la variance (Met hors sol).....	75
Tableau 19: Analyse de la variance (As hors sol).....	80
Tableau 20 : les différents pH préparés	89

Liste des abréviations

L1 : premier stade larvaire

L2 : deuxième stade larvaire

L3 : troisième stade larvaire

INPV: Institut National de Protection des Végétaux

PDA : Potato Dextrose Agar

SDA : Sabouraud Dextrose Agar

DL₅₀ : dose létale pour 50% de population

TL₅₀ : temps létale pour 50% de population

R² : coefficient de corrélation au carré

Var : variété

Ln : logarithme népérien

mm/j : millimètre par jour

ml : millilitre

°C : degré Celsius

HR : humidité relative

pH : potentiel d'hydrogène

PCR : Polymérase Chain Réaction

ITS : Internal transcribed Spacer

EF : Elongation Factor

Met : *Metarhizium*

Asp : *Aspergillus*

Pb : Paire de base

Introduction

Introduction

Dans les agroécosystèmes, la biodiversité des insectes peut jouer un rôle crucial notamment dans la régulation des ravageurs des cultures (Aviron et *al.*, 2003). Elle peut agir directement sur la dynamique et le fonctionnement des écosystèmes en intervenant à tous les niveaux de la chaîne trophique (Daas et *al.*, 2016 ; De Carvalho 2018). Néanmoins, Chaque année, de nombreuses espèces d'insectes attaquent des cultures partout dans le monde, et représentent une des préoccupations majeures des chercheurs du domaine agricole ainsi que des agriculteurs. Les dommages peuvent être importants, avec une répartition à la fois dans le temps et dans l'espace. En plus, la protection phytosanitaire des cultures est parfois difficile à assurer, surtout à cause du climat, qui permet généralement le maintien en activité des ravageurs pendant toute l'année.

Parmi les ravageurs des cultures, les coléoptères, qui ont pu coloniser l'intégralité des agroécosystèmes, ils sont effectivement redoutables du fait de la diversité des espèces rencontrées, de leur grande polyphagie et de l'importance de leur potentiel biotique, qui est particulièrement élevé dans les conditions méditerranéennes.

En effet, les coléoptères représentent l'un tiers des insectes connus dans le monde. Ils comprennent environ 251.707 espèces distribuées dans le monde. (Schoolmeesters et *al.*, 2018). Bien que la polyphagie soit la principale caractéristique du comportement alimentaire des coléoptères, leurs caractéristiques biologiques leur permettent de fournir des précieux services pour l'écosystème. C'est le cas des Scarabaeinae comme des agents de fertilisation des sols et de lutte biologique contre les ravageurs (Nichols et *al.* 2008 ; Carvalho, 2018), les Carabidae et leurs effets sur les invertébrés nuisibles (Sint et *al.*, 2018), certains Hybosoridae comme des prédateurs (Huchet, 2014) et les Cetoniinae comme pollinisateurs et bons bioindicateurs des changements environnementaux (Steenhuisen et Johnson, 2012 ; Touroult et Le Gall, 2013).

En revanche, il s'agit également d'un certain nombre d'espèces de coléoptères dites phytophages responsables de dommages aux cultures (ex. certains Melolonthinae, Rutelinae et Dynastinae) ; notamment les larves des espèces rhizophages qui s'attaquent aux racines des plantes cultivées (Hanski et Cambefort, 1991). De ce fait, le mode vie terrestre de la plupart des espèces coléoptériques a compliqué la lutte contre ces ravageurs. Il pose une problématique quant à la stratégie et aux moyens à utiliser et constitue de nouveaux défis à relever. Les méthodes de lutte biologique, par des micro-organismes antagonistes associés naturellement aux ces ennemis des cultures, peuvent constituer une réponse aux attaques de ces ravageurs. Ce procédé de lutte non polluant permet de réguler les attaques des insectes

ravageurs, de façon efficace sans engendrer des effets néfastes à la santé humaine ni à l'environnement (Saiah, 2014).

Afin de mettre en évidence les espèces coléoptériques nuisibles et leurs micro-organismes antagonistes au sein des champs cultivés. La lutte microbiologique pourrait être envisageable par l'utilisation des champignons entomopathogènes inféodés à ces parasites.

De plus, compte tenu des dégâts importants et des pertes sévères que les coléoptères peuvent occasionner sur les cultures, ils ont fait l'objet de nombreuses études concernant leur lutte biologique avec des champignons entomopathogènes (Kölliker et al. 2011; Eckard et al. 2014; Rogge et al 2017 ; Tanyeli et al 2010 ; Pope et al 2018) afin de découvrir un agent de contrôle microbiologique capable de gérer l'invasion de ces ravageurs.

En effet, les champignons directement isolés du ravageur cible pourraient être plus efficaces pour la lutte biologique contre les insectes nuisibles car ils peuvent avoir une compatibilité écologique aux espèces du ravageur (Takatsuka 2007, Tanyeli et al., 2010).

Dans ce contexte, notre contribution par cette étude est orientée vers un objectif visant à mettre en évidence les espèces coléoptériques nuisibles et leurs microchampignons antagonistes au sein des champs cultivés dans le Nord-Ouest Algérien.

L'étude se résume dans les points suivants :

- inventaire de la biodiversité des coléoptères au sein des différentes cultures à savoir la céréaliculture, les cultures maraichères et les vergers.
- Isolement et identification des différentes souches de champignons entomopathogènes à partir de larves parasitées et d'adultes morts de l'espèce *Phyllognatus excavatus* (Dynastinae : Scarabaeidae), présentant des symptômes d'infection fongique.
- Étude de l'effet pathologique des souches isolées sur les larves de de *Geotrogus deserticola* (Melolonthinae : Scarabaeidae) dans différents substrats.
- Étude de l'influence de quelques facteurs abiotiques sur le comportement "in vitro" des champignons entomopathogènes testés.

Revue bibliographique

Chapitre I
Etat des connaissances sur les
coléoptères des champs
cultivés

1. Etat des connaissances sur les coléoptères des champs cultivés

1. 1. Aperçu général sur les Coléoptères

Les insectes coléoptères (Coleoptera) rassemblent le plus grand nombre d'espèces qui peuvent coloniser les milieux agricoles. Ils comptent plus de 350 000 espèces dans le globe. Dans ce groupe d'insectes beaucoup d'espèces ou des groupes d'espèces portent des noms vernaculaires bien connus de tous, scarabées, coccinelles, lucanes, chrysomèles, hannetons, charançons, carabes (Boukli, 2012).

Les Coléoptères révèlent une grande capacité de colonisation et d'exploitation de leur environnement. Ils occupent ainsi une très grande diversité de niches écologiques (Ferrand et al, 2014). Pour cela, Ils peuvent vivre pratiquement dans tous les biotopes, à l'exception des milieux polaires et océaniques (Meziane 2017).

La biologie des coléoptères est très diverse, avec des exigences écologiques parfois très strictes qui en font d'excellents bio-indicateurs (cas des espèces saproxyliques ou des Scarabéidés coprophages) (ROTH, 1980). Les coléoptères sont des insectes holométaboles à métamorphose complète. (Balachowsky 1962).

Les espèces de coléoptères sont caractérisées par deux paires d'ailes dont les ailes antérieures sont transformés en étuis cornés, coriaces, appelés élytres, qui recouvrent au repos les ailes postérieures membraneuses servant au vol. C'est d'ailleurs de là que leur vient le nom de Coléoptère, « coleos » signifiant étui. Ils ont un appareil buccal de type broyeur. L'intervalle des variations en tailles et en poids est considérable, tandis que le Goliath, un scarabée géant (*Goliathus goliathus* Linnaeus, 1758), pèse jusqu'à 100 g, tandis que certains Ptiliidae européens n'atteignent même pas le millimètre (Boukli, 2012).

1.2. La systématique des coléoptères

La position systématique des coléoptères est la suivante :

Règne : Animalia

Embranchement : Arthropoda

Sous-embranchement : Hexapoda

Classe : Insecta

Sous-classe : Pterygota

Infra-classe : Neoptera

Super-ordre : Endopterygota

Ordre : Coleoptera

Selon la classification récente de Bouchard et al (2011), Les coléoptères sont répartis en cinq sous-ordres : Polyphaga, Adephaga, Myxophaga, Archostemata et Proto-coleoptera.

Polyphaga Emery, 1886 : Les cinq superfamilles avec le plus grand nombre d'espèces dans le sous ordre Polyphaga sont les Curculionoidea, Chrysomeloidea, Staphylinoidea, Tenebrionoidea et Scarabaeoidea.

Adephaga Schellenberg, 1806: La famille des Caraboidae contient le plus grand nombre d'espèces suivis de Dytiscidae.

Myxophaga Crowson, 1955: Il est représenté par cinq super-familles Asiocoleoidea, Rhombocoleoidea, Schizophoroidea, Lepiceroidea et Sphaeriusoidea.

Archostemata Kolbe, 1908: Ce sous ordre est représenté par les familles: Crowsoniellidae, Cupedidae, Micromalthidae, Ommatidae, Jurodidae, Triadocupedidae, Magnocoleidae et Obrieniidae.

Proto-coleoptera: Il englobe les trois superfamilles Tshekardocoleoidea, Permocupedoidea et Permosynoidea.

De plus, les coléoptères nuisibles des champs cultivés ont été classés selon l'organe attaqué, ainsi que leur régime alimentaire, on distingue généralement des espèces phytophages, rhizophages, xylophages et saproxylophages,

Les phytophages : les deux larves et adultes de ces espèces se nourrissent du feuillage des végétaux, en réduisant leur croissance et causant parfois leur mort.

Les rhizophages : ce sont les espèces qui se nourrissent des racines des végétaux, pouvant entraîner leur mort (*Melolonthiinae*). Il s'agit d'un groupe de ravageurs dont les larves sont communément appelées vers blancs.

Les xylophages : ce groupe représente les espèces qui dépendent de la partie lignifiée des arbres, causant leur dépérissement (*Platypus cylindrus*).

Les saproxylophages : les espèces de ce groupe consomment le bois mort des arbres par opposition aux xylophages et participent à sa décomposition (Les Lucanes).

1.3. Etude du cas des coléoptères Scarabaeoidea

1.3.1. Généralité

Les coléoptères de la superfamille Scarabaeoidea sont considérés comme l'un des groupes les plus importants pouvant s'abriter dans les champs cultivés. En effet, ils comprennent environ 39220 espèces réparties dans le monde (Schoolmeesters et *al.*, 2018). Depuis environ 20 ans, tous les scarabées étaient largement considérés comme une seule famille de Scarabaeidae. Cependant, cet énorme groupe est maintenant traité comme plusieurs familles différentes (Marshall et *al.*, 2018). Les Scarabaeoidea comprennent un grand nombre distinct de coléoptères très spécialisés, facilement reconnaissable à leurs antennes lamellées.

La polyphagie est la principale caractéristique du comportement alimentaire des coléoptères Scarabaeoidea (Hanski et Cambefort 1991). Il existe plusieurs espèces phytophages de ce groupe (ex. Melolonthinae, Rutelinae et Dynastinae) dont les larves se nourrissent de racines qui peuvent agir comme des ravageurs importants (Hayes, 1930). En revanche, les coléoptères Scarabaeoidea estiment également un nombre d'espèces bénéfiques qui peuvent fournir de précieux services pour les écosystèmes (ex. les espèces scarabaeinae comme des agents de lutte biologique contre les ravageurs et la fertilisation des sols (Nichols et *al.*, 2008) ; les Cetoniinae comme pollinisateurs et bons bioindicateurs des changements environnementaux (Steenhuisen et Johnson, 2012 ; Touroult et Le Gall, 2013) et certains Hybosoridae comme prédateurs (Huchet, 2014).

Les informations publiées sur la biologie des espèces de Scarabaeoidea sont extrêmement volumineuses en raison de leur distribution mondiale et de leurs habitats très diversifiés et ainsi que l'importance de nombreux genres de ce groupe comme ravageurs des cultures.

1.3.2. Morphologie externe des coléoptères Scarabaeoidea

Le corps des coléoptères Scarabaeoidea comme celui de la plupart des insectes, est constitué de trois tagmes bien distincts : la tête, le thorax et l'abdomen. (fig. 1). La transformation de la première paire d'ailes en élytres chez l'adulte, constitue la principale originalité de l'ordre (Bennas, 2002).

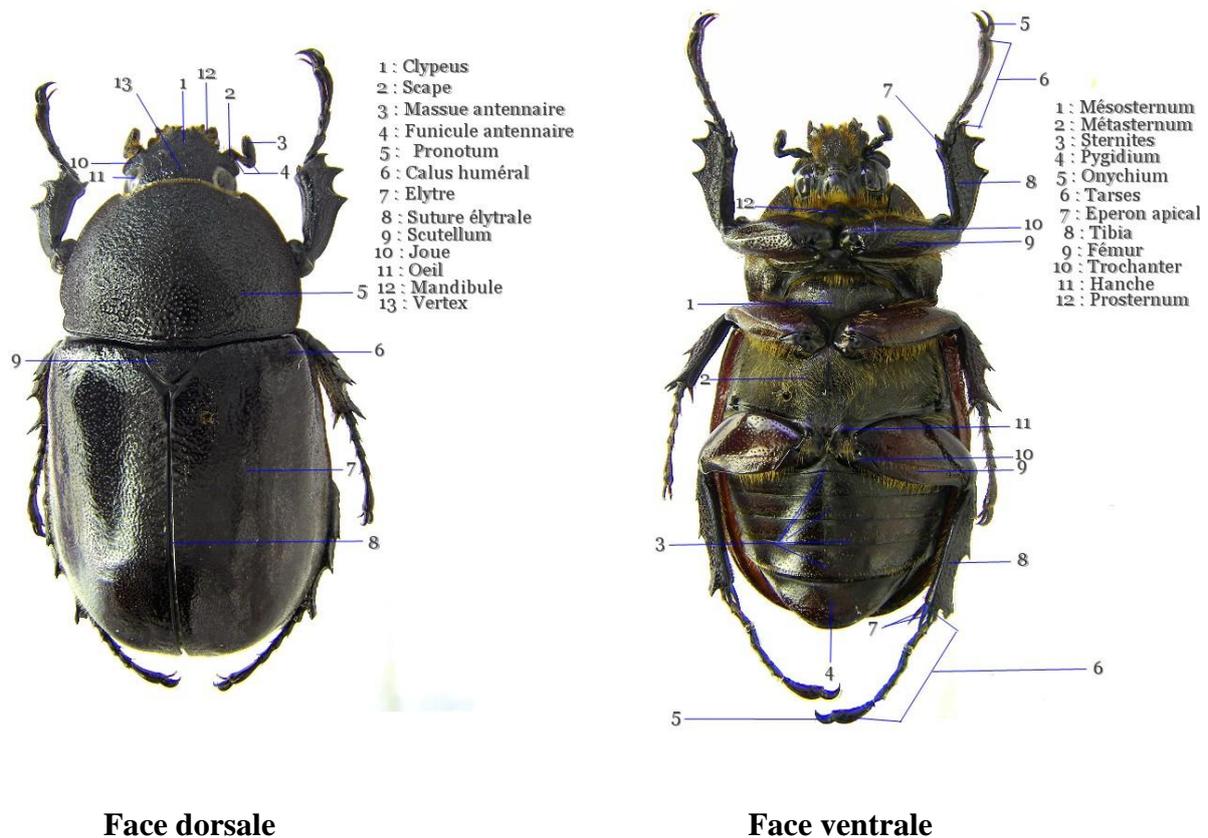


Figure 1 : Morphologie externe d'un coléoptère scarabée (*Xylotrupes gideon ssp*)

© insectmania.com

1.3.2.1. La tête

La tête d'un coléoptère est de forme très diverse, allongée, transverse, globuleuse. Elle est de type prognathe. La tête est toujours plus ou moins engagée dans le prothorax où elle est encastrée parfois presque entièrement. Sur le dessus, on distingue les pièces buccales avec mandibules et palpes maxillaires et labiaux. Le labre ou lèvre supérieure et le clypeus ou épistome sont séparés du front par une suture visible. Sur le côté, les joues sont situées en avant des yeux et les tempes en arrière (Du Chatenet, 2005).

Les palpes maxillaires sont généralement constitués de quatre articles, le premier étant très court, le deuxième très allongé, les derniers de longueur et de formes très variables. Le développement des pièces buccales est lié au régime alimentaire. Les mandibules et les maxilles sont grandes. Elles sont réduites chez les floricoles et les coprophages.

Les antennes, insérées sur le côté du front entre les yeux, sont formées par neuf d'articles. Ils sont de type lamellé (antennes à extrémité en forme de lamelle).

1.3.2.2. Le thorax

Le thorax situé entre la tête et l'abdomen, comprend trois parties, le prothorax, le mésothorax et le métathorax.

Le prothorax porte la paire de pattes antérieures. Sur la face dorsale du prothorax, le pronotum est séparé de la partie inférieure par les bords latéraux qui sont généralement plus ou moins fortement carénés.

Le mésothorax porte la paire de pattes intermédiaires et les élytres. Comme le prothorax, le dessus du mésothorax est constitué d'une seule pièce le scutellum, une petite pièce triangulaire insérée entre la base des élytres (fig. 1).

Le métathorax porte les pattes postérieures et les ailes membraneuses.

1.3.2.3. L'abdomen

L'abdomen est constitué de 9 segments, dont un ou deux peuvent être atrophiés à la base et un rétracté à l'intérieur de l'extrémité postérieure de l'abdomen. Chaque segment se compose d'un arceau dorsal, le tergite, et d'un arceau ventral, le sternite (fig. 1). Le nombre de sternites de la face ventrale de l'abdomen est toujours inférieur à celui des tergites.

Le neuvième et dernier segment de l'abdomen, chez le mâle comme chez la femelle, est invaginé et constitue l'armure génitale.

1.3.2.4. Les élytres et les ailes

Les coléoptères sont caractérisés par deux élytres (les ailes antérieures) qui forment deux pièces sclérifiées symétriques, contiguës le long de leur bord postérieur sur la ligne longitudinale médiane du corps. Elles recouvrent plus ou moins complètement l'abdomen, mis à part le dernier tergite abdominal ou pygidium.

Les élytres jouent des rôles protecteurs multiples : protection contre la déshydratation, protection contre les blessures. Elles ne jouent pas de rôle actif en vol et sont tenues perpendiculairement au corps (Du Chatenet, 2005).

Les ailes membraneuses ou postérieures sont les seules utilisées pour voler. Les ailes sont articulées et peuvent se replier transversalement, l'extrémité apicale se rabattant sur la partie basale, afin de pouvoir se loger sous les élytres (fig. 2).

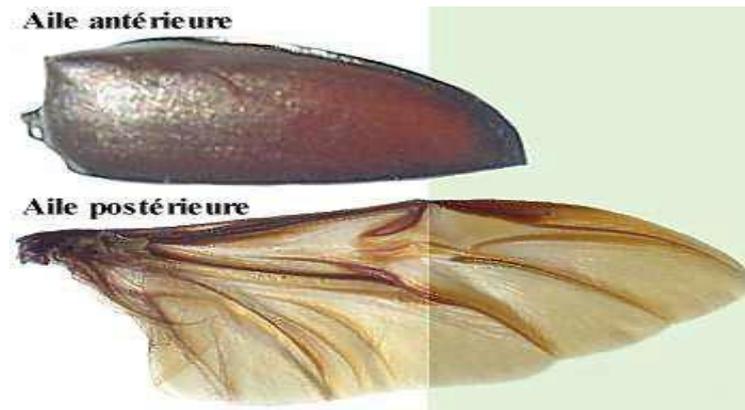


Figure 2 : Elytre et aile membraneuse d'un Coléoptère

© C.Thiriet/biosphoto

1.3.2.5. Les pattes

La patte d'un Coléoptère est composée de cinq segments distincts : la coxa, qui est le premier segment, le trochanter le deuxième segment, le fémur représente le troisième segment de la patte suivi du tibia et enfin les tarses qui se terminent par des griffes.

1.3.3. Description des stades biologiques des Scarabaeoidea

Les Scarabaeoidea sont des insectes holométabole (métamorphose complète). Au cours de leur cycle de développement, de stade œuf à l'adulte parfait, le scarabée subit toute une série de transformations. Ils passent par quatre stades biologiques distincts (fig. 3) : l'œuf, les trois stades larvaires, la nymphe et l'adulte. Le cycle de vie des scarabées varient avec le climat, étant les plus longs dans les régions plus tempérées. Les cycles de vie les plus courts se trouvent dans les zones tropicales (Richter, 1958)

1.3.3.1. L'œuf

Les œufs sont généralement pondus par les femelles adultes dans le sol où la larve trouve sa nourriture, les œufs sont sphériques (un millimètre au moment de la ponte, deux millimètres après absorption de l'eau du sol), de couleur blanche, et pourvus d'une coque résistante (Richter, 1966).

1.3.3.2. La larve

Les larves de la plupart des espèces scarabées sont presque universellement connues sous le nom de "vers blancs" (Richter, 1966). Ils sont généralement arqués comme celle des hannetons. La larve du premier stade sont peu mobiles et se nourrissent de la matière

organique dans le sol (Richter 1958). Le deuxième et le troisième stade apparaissent après des mues. Le troisième stade larvaire connaît une forte croissance pondérale. Les larves se trouvent à une profondeur de 20 à 30 cm sur les racines et de 5 cm de la surface sous un couvert d'herbe. Les larves âgées descendent et montent jusqu'à la surface du sol selon les contraintes alimentaires, hydriques et thermiques. Le développement larvaire s'étale jusqu'à 4 ans pour quelques espèces des scarabées (Richter, 1966).

1.3.3.3. La nymphe

Par la suite, la larve âgée de troisième stade se prépare pour la nymphose. Elle ne s'alimente plus et reste immobile. Elle connaît d'importantes modifications et va subir sa dernière mue qui apparaît sous forme d'une peau ratatinée (exuvie) à l'extrémité d'une momie jaune immobile couverte d'une nouvelle cuticule cirée. Elle se pigmente progressivement et laisse apparaître la forme de l'insecte (Balachowsky 1962).

1.3.3.4. L'adulte

Après l'émergence, la forme des adultes ne rappelle plus rien de celle des larves dont ils sont issus. Les adultes sont des scarabées ailés qui ne vivent en général que quelques semaines au cours desquelles ils n'ont qu'un seul objectif, se reproduire. Dans la plupart des cas, même l'adulte meurt dès qu'il s'est reproduit (Richter, 1966).

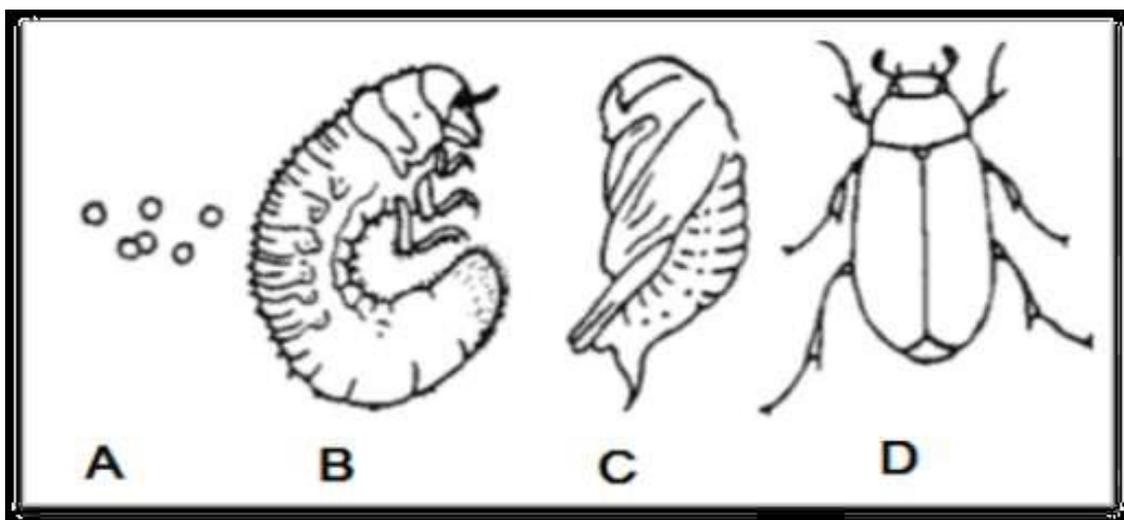


Figure 3 : Stades de développement de ver blanc. A : oeufs, B : larve, C : nymphe
D : adulte (Duval, 1993).

1.4. Exemple de ver blanc des céréales (*Geotrogus deserticola*)

1.4.1. Description

Le ver blanc des céréales *Geotrogus deserticola* Blanchard est l'espèce la plus rencontrée sur les céréales en Algérie. C'est un redoutable ravageur qui s'attaque à toutes les espèces végétales notamment les céréales qui sont considérées comme plantes préférables. En effet, les dommages sont causés principalement par les larves qui sectionnent complètement les racines. Les plants ainsi endommagés se fanent et finissent par se dessécher. Sur le plan morphologique, l'adulte de ce ravageur fait entre 1.5 et 2 cm de longueur pour le mâle et de 2 à 2,2 cm pour la femelle, de couleur brune fauve, plus ou moins foncé et homogène avec une pilosité importante sur tout le corps, la tête porte des antennes composées de 07 à 10 articles avec 03 à 06 feuilles aux extrémités (Balachowskey, 1962). Les larves ont une forme arquée, de couleur blanche pâle à tête brune, elles font de 3.5 à 04 cm au dernier stade de développement (Richter, 1966).

1.4.2. Position systématique

Selon la classification de Bouchard et *al.*, (2011), La position systématique de *Geotrogus deserticola* est comme suit :

Règne : Animalia Linnaeus, 1758

Phylum : Arthropoda Latreille, 1829

Classe : Insecta Linnaeus,

Ordre : Coleoptera Linnaeus, 1758

Sous-Ordre : Polyphaga

Infra-Ordre : Scarabaeiformia

Super-Famille : Scarabaeoidea Latreille, 1802

Famille : Scarabaeidae Latreille, 1802

Sous-Famille : Melolonthinae Leach, 1819

Tribu : Rhizotrogini Burmeister, 1855

Genre : *Geotrogus* Guérin-Méneville, 1842

Espèce : *Geotrogus deserticola* (Blanchard, 1850)

1.4.3. Cycle de développement

La durée du cycle évolutif de *Geotrogus deserticola* varie en fonction, d'une part, du nombre et de la durée des phases d'arrêt du développement (diapauses) pendant la vie larvaire, d'autre part, elle est influencée par les conditions climatiques (la température et l'humidité) pendant les périodes d'activité (Richter, 1966).

L'accouplement se fait à la surface du sol, ensuite les femelles retournent dans les terres cultivées et les prairies avoisinantes pour pondre leurs œufs. Après l'éclosion, les différents stades larvaires sont passés dans les sols à des profondeurs différentes, Le développement larvaire se caractérise par 03 stades larvaires : Le premier stade larvaire dure environ 3 mois, le deuxième stade larvaire dure environ de 12 à 15 mois, le troisième stade larvaire dure plus de trois mois (Yahiaoui et Bekri, 2014).

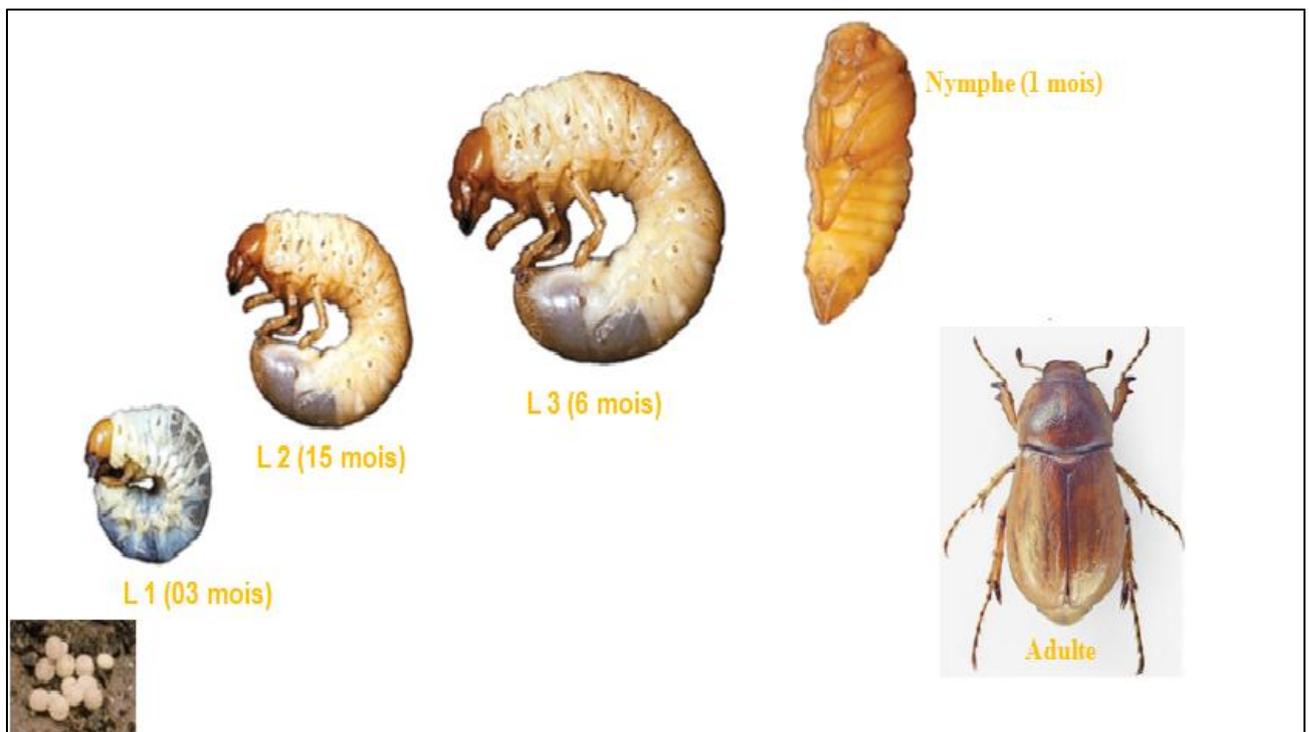


Figure 4 : Cycle biologique du ver blanc des céréales (*Geotrogus deserticola*)

(INPV, 2015)

1.4.4. Dégâts Occasionnés par les vers blancs des céréales

Les vers blancs des céréales sont des ravageurs polyphages qui s'attaquent pratiquement à toutes les cultures ainsi qu'à de nombreuses plantes adventices (Fabre, 1919).

Les dégâts occasionnés sont variables en fonction de l'année, du climat, de la culture en place et du précédent cultural. Il est connu que les journées pluvieuses permettent la propagation des larves dans les parcelles avoisinantes. Les parcelles attaquées sont caractérisées par de larges taches sur les emblavures (fig. 5). De plus, les larves sectionnent complètement les racines. Les plants ainsi endommagés se fanent et finissent par se dessécher (INPV, 1985).

En Algérie, Les dommages de ce ravageur peuvent être importants sur la céréaliculture. Selon Yahiaoui et Bekri (2014), les dégâts avaient atteint 2000 Ha et 1200 Ha respectivement au cours de l'année 1994/1995 et de l'année 2001/2002 dans la région d'Oran.



Figure 5 : A) *G. deserticola* sur les racines de blé ; B) les dégâts de *G. deserticola* dans un champ de blé (Originale 2019).

1.4.5. Méthodes de lutte

Pour faire face à ce ravageur phytophage, une stratégie basée sur les mesures prophylactiques, associées aux applications chimiques très limitées dans le temps et en fréquence doivent permettre de préparer le terrain pour le contrôle biologique.

1.4.5.1. La lutte mécanique

Durant l'été les vers blancs se tiennent dans la couche superficielle du sol où ils dévorent les racines sachant que les larves sont très sensibles aux chocs, ainsi qu'à la déshydratation. Le traitement mécanique aura lieu avant la mi-septembre, à l'aide d'outils à dents, fixes ou animées, ou à disques est le plus efficace. Le labour quand il bouscule profondément le sol et remonte en surface les larves, ce qui les expose au soleil et aux oiseaux (Sebih, 2018). De plus, en cas des cultures en lignes, une fois la plantation réalisée, l'intervention sera limitée aux interlignes (Abgrall, 1991).

En Algérie, les mêmes recommandations ont été préconisées par les services de l'institut national de la protection des végétaux afin de limiter l'invasion de ce ravageur.

1.4.5.2. La lutte chimique

La prise en compte des effets négatifs des pesticides de synthèse chimique contre les populations d'insectes non-cibles et l'évolution de la législation phytosanitaire limitent désormais énormément les possibilités de cette méthode de lutte (Abgrall, 1991).

L'application des insecticides contre le ver blanc est effectuée avant l'apparition des dommages, généralement pendant la période de ponte. Une irrigation ou une pluie est nécessaire dans les 24h suivant l'application afin de faire pénétrer et diffuser le produit dans le sol (INPV, 2015).

1.4.5.3. La lutte biologique

L'utilisation des agents de lutte biologique (prédateurs ou parasites) pour lutter contre les pullulations de ver blanc a fait l'objet de recherche dès la fin du 19ème siècle. Les insectes prédateurs, comme les fourmis, se nourrissent d'œufs de hanneton. Les Asilidae sont des prédateurs importants des Scarabées du sol (Richter, 1958). Certaines guêpes parasitoïdes, (scolies du genre *Tiphia*) et mouche (Tachinaires du genre *Hyperecteina*) aident à contrôler la population de hanneton avec un taux de parasitisme pouvant atteindre 75% chez *Amphimallon solstitialis* (Beaubet 2013). Aux USA, un nématode *Neoplectana glaseri* (Rhabditoidea)

spécifique des lamellicornes, dont l'élevage en masse est facile, a été utilisé contre *Popillia japonica* (Sebih, 2018).

En Europe, la recherche s'est plutôt tournée vers les champignons entomopathogènes en particulier avec *Beauveria brognartii*, soit en tentant de contaminer les larves dans le sol par épandage et enfouissement de grains de graminées préalablement contaminés, soit en pulvérisant des spores sur les feuilles au moment des phases d'alimentation des adultes, pour contaminer les femelles avant la ponte (Abgrall, 1991).

Le champignon *Metarhizium anisopliae* (Metchnikoff) est un facteur important contre les vers blancs sur plusieurs continents. Dans une région d'Algérie, Moutia (1940) a trouvé 90% des larves de *Geotrogus* attaquées (Richter, 1958)

C'est en 1995 avec le produit Bétel® que la technique de lutte par les bio-pesticides était remise à l'honneur, Combiné au Suxon, le Bétel protège efficacement les plantations : l'insecticide a un effet immédiat, qui persiste les trois premières années, le temps nécessaire à l'entomopathogène pour se propager dans le sol. Puis, en 2004, son emploi est interdit (François-Régis, 2016).



Figure 6 : Larve du troisième stade d'*Heteronychus plebejus*, recouvert de muscardine verte (Rakotoarisoa, 2007)

Chapitre II
Les champignons
entomopathogènes

2. Généralités sur les micro-organismes antagonistes

Introduction

Les insectes et leurs micro-organismes antagonistes sont depuis longtemps intimement associés dans la majorité des écosystèmes (Belhoucine, 2013). D'une manière générale, les interactions peuvent se faire de façons différentes allant du parasitisme aux symbioses (Blackwell et Jones, 1997)

En profitant ces interactions naturelles « insectes-microorganismes », l'utilisation de micro-organismes entomopathogènes est une alternative très prometteuse pour assurer une protection phytosanitaire performante de par l'ubiquité naturelle des agents microbiologiques dans les écosystèmes, leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action et aussi leur persistance dans l'environnement (De Kouassi, 2001).

Dans le domaine agronomique, on entend par lutte biologique toute forme d'utilisation d'organismes vivants ayant pour but de limiter la pullulation et/ou la nocivité des divers ennemis des cultures. (Jourdeuil et *al.*, 1991).

Dans le sens écologique strict, l'application de la lutte biologique peut être considérée comme une stratégie pour restaurer la biodiversité dans les agro-écosystèmes par l'addition des antagonistes naturels (parasite ou prédateur) (Altieri, 1999; Nautiyal C.S., 2000 ; Aouar 2012).

Historiquement, l'étude de quelques maladies affectant certaines organismes utiles à savoir le ver à soie et l'abeille domestique est à l'origine de la pathologie des invertébrés (Saiah, 2014). En 1834, Bassi a permis pour la première fois d'associer un microorganisme, en l'occurrence le champignon *Beauveria bassiana*, à l'apparition d'une maladie chez le ver à soie. Quelques années plus tard, Louis Pasteur a fait des études de façon rigoureuse sur les diverses maladies du ver à soie. Ces deux pionniers du XIXe siècle montraient que les microorganismes sont susceptibles d'être mis à profit pour lutter contre les insectes nuisibles (Steinhaus, 1956).

Actuellement, des milliers de micro-organismes entomopathogènes ont été décrits et plus d'une centaine d'espèces sont utilisées (Ignoffo ,1970 et Ignoffo, 1973). La majorité des bio-pesticides à base de micro-organismes deviennent de plus en plus performantes avec des prix compétitifs (Ahmed et *al.*, 1994 et Starnes et *al.*, 1993 ; De Kouassi, 2001).

Les micro-organismes antagonistes d'insectes sont naturellement présents dans l'environnement (sol, air, eau) et infectent généralement leur hôte et peuvent leur engendrer

une maladie, soit par ingestion, soit par pénétration à travers la cuticule ou par les orifices naturelles (Saiah 2014 ; Benserradj 2014).

La pathogénicité de ces micro-organismes naturels peut se traduire par une destruction des tissus, par septicémie ou toxémie entraînant sa mort plus ou moins à brève échéance. Ils se caractérisent par des formes de résistance leur permettant de persister dans l'environnement et de perpétuer leur cycle de vie (Jourdeuil et *al.*, 1991).

Ces microorganismes antagonistes appartiennent à plusieurs taxons à savoir les protozoaires, les virus, les nématodes, les bactéries et les microchampignons qui font l'objet de notre étude.

2.1. Les bactéries entomopathogènes

Les bactéries entomopathogènes sont des procaryotes microscopiques. Plus d'une centaine de bactéries ont présentés un pouvoir pathogène et ayant un potentiel d'utilisation en lutte biologique (Starnes et *al.*, 1993) ; appartenant essentiellement aux trois grandes familles différentes : les *Bacillaceae*, les *Enterobacteriaceae* et les *Pseudomonaceae* (Greathead et *al.*, 1994).

Ces microorganismes entomopathogènes ont particulièrement une action spécifique vis-à-vis leurs hôtes ; Par exemple, La bactérie *Bacillus thuringiensis* est révélée efficace contre certaines espèces de coléoptères, lépidoptères et diptères (Morris, 1983; Ahmed et *al.*, 1994). Néanmoins, elle ne serait pas efficace contre les acridiens (Greathead et *al.*, 1994). Elles forment le plus souvent des symbiotes avec les nématodes qui agissent comme vecteur, libérées dans l'hémocoèle, elles tuent rapidement leur hôte (Greathead et *al.*, 1994). Elles se caractérisent par un mode d'action par ingestion.

Cependant, l'utilisation abusive et répétée de ces microorganismes peut induire une résistance chez certaines espèces (Dunphy et Tibelius, 1992).

2.2. Les nématodes entomopathogènes

Les nématodes entomopathogènes sont des petits vers non segmentés, effilés, incolores, de très petites tailles et invisibles à l'œil nu (Simard, 2006). Ils sont bénéfiques en raison de leur potentiel à infecter les insectes. Ces nématodes transportent avec eux une bactérie symbiotique laquelle cause la mort rapide (24-48 heures) des insectes par septicémie (Gaugler, 2002). Deux genres sont actuellement distingués: *Steinernema* et *Heterorhabditis*. Ces organismes entomopathogènes ont la capacité, suivant un même processus, d'infecter des insectes appartenant à plusieurs ordres différents (Ehlers et Gerwien, 1993; Simard et *al.*, 2001; Simard et *al.*, 2002). Leur cycle biologique est relativement simple comprenant l'oeuf,

quatre stades larvaires, et l'adulte (Gaugler, 2002). De plus, lorsque les ressources à l'intérieur de l'hôte sont épuisées, un stade larvaire infectieux possédant une bactérie symbiotique se développe. Ces larves ne se nourrissent pas mais localisent leur hôte à l'aide de stimuli chimiques (ex. gradient de bioxyde de carbone) ou physiques (ex. température) (Simard, 2006). Les larves résistent davantage aux conditions à l'extérieur de l'hôte et peuvent survivre dans le sol pendant une plus longue période (Gaugler, 2002).

2.3. Les champignons entomopathogènes

2.3.1. Définition

Les champignons constituent un groupe d'organismes hétérotrophes ubiquistes, présentant des structures et des caractéristiques biologiques extrêmement diversifiées, dépendant de leur mode de vie parasitaire, saprophyte ou symbiotique (Senal et *al.*, 1993; Kirk et *al.*, 2001).

Sur le plan morphologique, Les champignons sont des eucaryotes avec des noyaux, des organites bien définis et une paroi cellulaire chitineuse. Ils sont constitué d'un thalle qui forme leur appareil végétatif (Hawksworth et *al.*, 1994). Ils se présentent sous forme de filaments (hyphes) constituant le mycélium et dans lesquels sont rangées les cellules (Saiah 2014). Les champignons ont généralement un mode de reproduction soit se fait par formation des spores sexuées ou asexuées (Launois-Luong, 1994). Lorsque certaines conditions sont favorables pour le développement se trouvent réunies, ces cryptogames peuvent engendrer des pathologies aux insectes (Balachowsky, 1951). Ces derniers sont appelés les champignons entomopathogènes.

A cause de leur compétence dans l'infection d'une large gamme d'insectes, Les champignons entomopathogènes ont un intérêt agronomique considérable dans la lutte biologique contre les ravageurs de cultures et ont donc fait l'objet de longues et fructueuses recherches. Actuellement, plus de 700 espèces de microchampignons sont entomopathogènes (Starnes et *al.*, 1993) et la commercialisation de ces derniers est en pleine expansion et a connu des taux de croissance atteignant 25% par an (De Kouassi, 2001).

2.3.2. La systématique des champignons entomopathogènes

A la lumière des découvertes récentes, La taxonomie des champignons entomopathogènes et leur biodiversité biologique a connu une grande importance en vue de leur classification (Feng et *al.*, 1994). Elle a basé sur une transition d'une classification

classique qui a établi des groupes ou taxons en fonction d'un simple critère de ressemblance globale vers une classification phylogénétique qui suppose que l'on regroupe les êtres vivants en fonction de leurs liens de parenté (Saiah 2014).

Selon la classification classique de Ferron (1975), les champignons entomopathogènes appartiennent à quatre groupes différents : les Entomophthorales, les Ascomycètes Coelomomyces et les champignons imparfaits.

Suite à l'avènement de la biologie moléculaire, l'utilisation de techniques moléculaires et des analyses phylogénétiques ont permis une meilleure compréhension de la parenté génétique qui permet de relier la forme asexuée (anamorphe) des champignons à leur forme sexuée (téléomorphe) (Saiah 2014). Cette approche va conduire à l'abondement des termes de Fungi Imperfecti, Deutéromycètes et hyphomycètes (Taylor, 1995; Blackwell et al., 2006), qui renferment de nombreux champignons entomopathogènes, et leur reclassement dans le phylum Ascomycota (Humber, 2012 ; Vega et al., 2012).

D'après la classification de Hibbett et al (2007), Vega et al (2012) et Humber (2012) ; les champignons entomopathogènes appartiennent aux quatre groupes bien distingués : Basidiomycota, Zygomycota, Chytridiomycota, , et Ascomycota.

2.3.2.1. Basidiomycota

Ce sont des espèces caractérisées par des cellules spécialisées à l'extrémité appelés basides où ils se développent les spores. Les basidiomycètes renferment trois sous-embranchements : Pucciniomycotina, Agaricomycotina et Ustilaginomycotina), les parasites seulement les Septobasidiales des Pucciniomycetes qui agissent comme des parasites, c'est le cas des champignons de la rouille phytopathogène (Aime et al., 2006). Selon Henk et Vilgalys (2007) ; quelques genres de ce phylum à savoir les espèces de genres Septobasidium Auriculosypha, Uredinella, Coccidiodictyon et Ordonia sont des parasites spécialisés de cochenilles mais ils tuent rarement leur hôtes (Humber, 2008).

2.3.2.2. Zygomycota:

Les espèces de ce phylum présentent des cellules non cloisonnées et des spores non flagellées. Le phylum Zygomycota était un assemblage hétérogène dont la nouvelle classification phylogénétique a intégré les zygomycètes mycorhiziens dans le nouveau phylum « Glomeromycota », tandis que le reste des zygomycètes réparti dans les nouveaux sous-embranchements : Entomophthoromycotina, Kickxellomycotina, Mucormycotina et Zoopagomycotina ; chacun de ces sous-embranchements peut être reconnue comme un

nouveau phylum (ou partiellement recombinaés dans un autre nouveau phylum) (James et *al.*, 2006 ; Hibbett et *al.*, 2007).

2.3.2.3. Ascomycota

Ce phylum comprend les champignons qui ont des spores produites à l'intérieur de sacs appelés les asques. En phase de maturité, les asques s'ouvrent et projettent les spores à l'extérieur. Les Ascomycètes sont classés en trois sous-embranchements : Taphrinomycotina , Saccharomycotina et Pezizomycotina dont les deux premiers ne renferment pas de genres pathogènes d'insectes. Les Taphrinomycotina sont saprophytes ou pathogènes de plantes et de vertébrés (Hibbett et *al.*,2007). Selon Vega et Dowd (2005), beaucoup des Saccharomycotina sont associés avec des insectes et ils se dispersent par ces derniers, cependant, il ne présentent aucune pathogénicité vis-à-vis des insectes (Kurtzman et *al.*, 2011). Tandis que les Pezizomycotina renferment des genres entomopathogènes (Humber, 2008 ; Blackwell, 2010). Leur cycle de vie est caractérisé par deux formes, anamorphe (forme asexuée) et téléomorphe (forme sexuée), c'est le cas des Hypocréales.

2.3.2.4. Les Chytridiomycota :

Ce phylum représente les espèces aquatiques avec des spores flagellées. Ils sont considérés comme les ancêtres de tous les autres champignons.

D'après la classification d'Hibbett et *al* (2007), l'embranchement des Chytridiomycota est reclassé comme un ensemble polyphylétique qui a été divisé en trois phylums : Les Chytridiomycota comprennent deux classes: Chytridiomycetes et Monoblepharidomycetes ; les Neocallimastigomycota et les Blastocladiomycota. Parmi ces trois phylums, le troisième regroupe un nombre important de genres avec de nombreuses espèces entomopathogènes.

Le tableau 01 regroupe plusieurs espèces de champignons appartenant à différents phyllum et reconnu comme étant entomopathogènes.

Tableau 01: Genres et espèces de champignons entomopathogènes appartenant à différents Phylums.

PHYLLAM	GENRE	ESPECE	AUTEUR
Zygomycota	<i>Batkoa</i> huber	<i>B. apiculata</i> et <i>B. major</i>	Balazy,1993
	<i>Conidiobolus</i> Brefeld	<i>C. coronatu</i>	Soper et af,1988
		<i>C. obscurus</i> et <i>C. thromboides</i>	Humber, 2012
	<i>Entomophaga</i> Batko	<i>E. aulicae</i> , <i>E. maimaiga</i> et <i>E. grylli</i>	
		<i>E. calopteni</i>	Humber, 1989
	<i>Entomophthora</i> Fresenius	<i>E. culicis</i> et <i>E. muscae</i>	Keller, 2002
		<i>E. planchoniana</i>	Humber, 2012
	<i>Erynia</i> Nowakowski	<i>E. aquatica</i> et <i>E. rhizospora</i>	Keller, 1991
		<i>E. conica</i>	Balazy, 1993
		<i>E. ovispora</i>	Humber, 2012
	<i>Furia</i> Batko	<i>F americana</i>	Keller, 1991
		<i>F. F. virescens</i>	Balazy, 1993
	<i>Massospora</i> Peck	<i>M. cicadina</i>	Humber, 2012
<i>Neozygites</i> Witlaczil	<i>N. fresenii</i> , <i>N. parvispora</i> et <i>N. floridana</i>		
<i>Pandora</i> Humber	<i>P. blunckii</i> et <i>P. neoaphidis</i>		
<i>Zoophthora</i> Batko	<i>Z. phalloides</i> et <i>Z phytonomi</i>	Balazy, 1993	
	<i>Z radicans</i>		
basidiomycota	<i>Septobasidium</i>	<i>Septobasidium</i> sp	Henk et vilgalys, 2007
	<i>Auriculosocypha</i>	<i>Auriculosocypha</i> sp	
	<i>Uredinella</i>	<i>Uredinella</i> ,sp	
	<i>Coccidiodyctyon</i>	<i>Coccidiodyctyon</i> sp	Sung et al, 2007
	<i>Ordonia</i>	<i>Ordonia</i> sp	
ascomycota	<i>Aschersonia</i>	<i>A. aleyrodis</i>	Chaverri et al, 2008.
		<i>A.Montagne</i>	Liu et al, 2006
	<i>Ascosphaera</i> Spiltoir	<i>A. aggregata</i>	Anderson et al, 1998
	<i>Beauveria</i> Vuillemin	<i>B.bassiana</i> (Balsamo)	Rehner et al, 2011
		<i>B. brongniartii</i> (Saccardo)	
	<i>Cordyceps</i>	<i>Cmilitaris</i> et <i>Cuberculata</i>	Kepler et al, 2012
	<i>Fusarium</i> Link	<i>Fusarium</i> sp	O'donnell et al. 1998
	<i>Gibellula</i> Cavara	<i>G. pulchra</i> et <i>G. leiopus</i>	Tzean et al, 1997
	<i>Hirsuella</i> Patouillard	<i>H. saussurei</i>	Rombach et Roberts, 1989
		<i>H. thompsoni</i>	Hodge et al, 1996
	<i>Hymenostilbe</i> Petch	<i>H. thompsoni</i>	Hodge et al., 1996
		<i>H. citriformis</i>	Humber, 2012
		<i>H. rhossiliensis</i> et <i>H. saussurei</i>	Hodge et al., 1996
	<i>Isaria</i> Persoon	<i>I. farinosa</i> et <i>I. fumosorosea</i>	Humber, 2012
	<i>Paecilomyces</i> Bainier	<i>P lilacinus</i>	
	<i>Lecanicillium</i> Gams et Zare	<i>L lecanii</i>	Zare et al., 2001
	<i>Metarhizium</i> Sorokin	<i>M. anisopliae</i>	Bischoff et al 2009
		<i>M. flavoviride</i>	Driver et al., 2000
		<i>M. majus</i> et <i>M. acridum</i>	Kepler et al., 2012
	<i>Nomuraea</i> Maublanc	<i>N. rileyi</i>	Kepler et al, 2012
<i>Tolypocladium</i>	<i>T.niveunm</i>	Humber, 2012	
	<i>T. cylindrosporium</i>	Hodge et al.,1996	
<i>Torrubiella</i> Boudier	<i>T. ratticaudata</i>	Sato et al, 2010	
	<i>T. aranicida</i>	Sung et al., 2007	

2.3.3. Mode de reproduction

Le mode de reproduction des champignons entomopathogènes peut se faire soit d'une manière sexuée ou asexuée. Suite à une méiose, la reproduction sexuée implique la fusion de deux noyaux permettant ainsi une nouvelle combinaison de gènes, une possibilité qui habituellement ne se produit pas dans la reproduction asexuée (Saiah 2014). Le mode asexuée s'effectue par fragmentation du mycélium ou la production de spores appelées conidies suite d'une division mitotique et sont formées directement sur des hyphes ou à partir de cellules conidiogènes (conidiophore) situés souvent à l'extrémité des hyphes (Alexopoulos et *al.*, 1996, Read et *al.*, 2010).

2.3.4. Mode d'action

Généralement, les champignons entomopathogènes réduisent la vigueur des hôtes qu'ils infectent afin de les tuer. Ces ennemis naturels deviennent plus efficaces lorsque l'insecte ciblé est préalablement affaibli par d'autre facteur comme un stress nutritif, leur mode de transmission et de leurs besoins abiotiques. Aussi, ils sont généralement très efficaces lorsque la densité des populations d'insectes ciblés est très élevée (Benserradj 2014).

Le processus infectieux chez les champignons entomopathogènes est divisé en quatre étapes distinctes (Vega et *al.*, 2012).

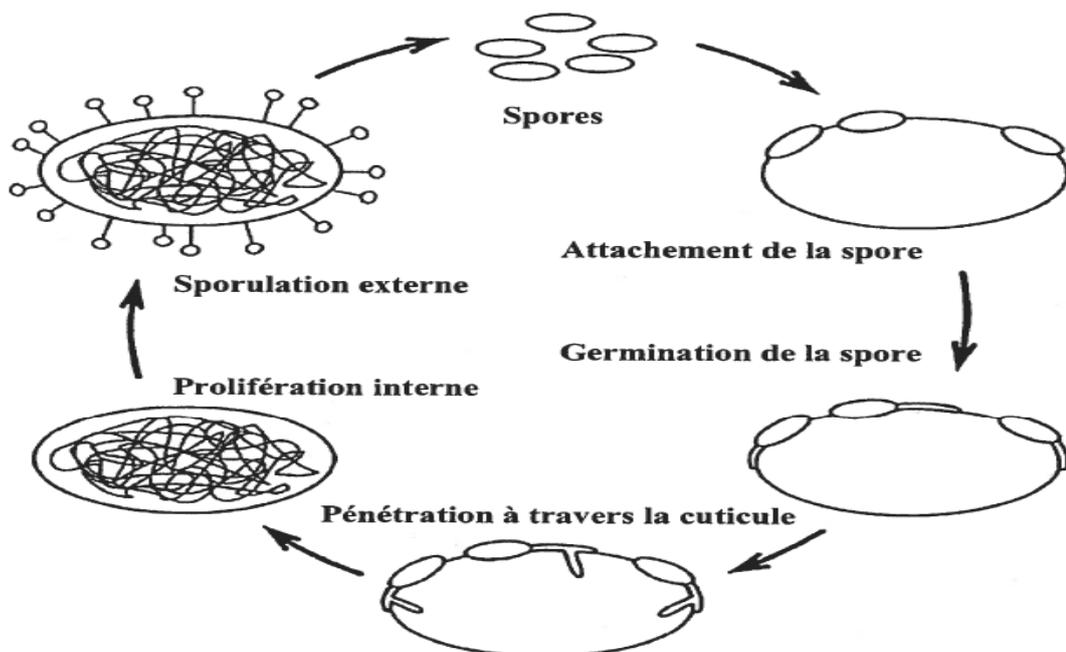


Figure 7 : Schéma du cycle biologique des champignons entomopathogènes

(Ferron et *al.*, 1993)

2.3.4.1. La phase d'adhésion

Les spores des champignons entomopathogènes entrent en contact passivement avec les insectes à l'aide des agents naturels tels que le vent et l'eau. L'adhésion est déclenchée par un mécanisme de reconnaissance et de compatibilité des spores avec les cellules tégumentaires de l'insecte. Cette phase se divise en deux étapes distinctes :

La phase passive : c'est la fixation des spores sur la cuticule, cette étape est réalisée grâce à des interactions hydrophobes et des forces électrostatiques (Holder et Keyhani, 2005 ; Wang et St. Leger 2007a).

La phase active : Une fois la spore contacte la cuticule, il produit activement un mucilage hygroscopique qui permet la modification de l'épicuticule de l'insecte facilitant la germination des spores (Boucias et *al.*, 1991 ; Holder et Keyhani, 2005 ; Meikle et *al.*, 2007).

L'adhésion des spores de certains champignons à savoir les conidies de *M. anisopliae* à la cuticule de l'insecte se fait par l'intermédiaire d'une protéine de type adhésine, connue sous le nom MAD1 (Wang et St. Leger, 2007a ; Pava-Ripoll et *al.*, 2011)

L'adhérence des conidies peut aussi être influencée par certains facteurs physiques tel que la spécificité des régions infectées et la topographie de la cuticule, par exemple, l'accumulation des conidies est plus élevée dans les zones contenant un grand nombre de soies et d'épines (Sosa-Gomez et *al.*, 1997), ainsi sur les membranes inter segmentaire (Butt et *al.*, 1995 ; Hajek et Eastburn, 2003). En plus de l'invasion de l'insecte via les zones cuticulaires et les membranes intersegmentaires, les champignons entomopathogènes envahissent également les insectes à travers les organes de sens et des stigmates, et "per os" (Charnley, 1984 ; St. Leger et *al.*, 1991).

2.3.4.2 La phase de germination

La germination des spores dépend de l'état physiologie de l'hôte (composition biochimique de la cuticule de l'hôte) et aussi des conditions environnantes, qui peuvent la favoriser ou l'inhiber (Butt et *al.*, 1994 ; Meikle et *al.*, 2007).

Cette phase aboutit à la production d'appressoria, structures terminales servant à l'ancrage de la cuticule et favorisant la pénétration. Dès que l'attachement de la conidie à la cuticule, un appressorium pourrait se former à l'extrémité du tube germinatif, qui en exerçant une pression mécanique va pénétrer par force à l'intérieur de la cellule et donc la coloniser (Howard et Valent, 1996 ; Bechinger et *al.*, 1999).

En plus de la température et de l'humidité, la valeur nutritive de la cuticule joue un rôle important et peut influencer la germination (Benserradj 2014). Cependant des études ont démontré que pour que le champignon entomopathogène *B. bassiana* puisse germer et former un tube germinatif, des sources de carbone et d'azote sont nécessaires (Smith et Grula, 1982). Bien que les éléments nutritionnels de la cuticule des insectes ont une action stimulante (Notini et *al.*, 1944 ; Veen, 1968), ils pourraient avoir une action inhibitrice de la germination des conidies (ex. acides gras à chaîne courte, phénols) (St Leger et *al.*, 1991; SOSA-Gomez et *al.*, 1997; Priyatno et Ibrahim, 2002). L'antagonisme de la flore saprophyte présent sur la cuticule pourrait également inhiber la germination (Schabel, 1976 ; Charnley, 1989).

L'efficacité des entomopathogènes fongiques est aussi en relation avec le stade évolutif de l'hôte, la mue en cas d'immaturation pourrait réduire leur effet à cause de l'effusion des conidies attachées à la cuticule muée (Vey et Fargues, 1977; Luz et *al.*, 2003).

2.3.4.3 La phase de pénétration de l'hôte

La pénétration est réalisée par la pression mécanique et hydrolyse enzymatique dégradant la cuticule, pour se nourrir et coloniser l'insecte (Goettel et *al.*, 1989).

Plus précisément, le champignon entomopathogène sécrète des enzymes extracellulaires telles que les protéases, les lipases et les chitinases, qui attaquent et dissolvent les protéines, la chitine, et les lipides constituant de la cuticule (Wang et St. Leger, 2007b), permettant aux spores de pénétrer à travers la cuticule et de se développer dans le corps de l'insecte (Hajek et St Leger, 1994). Une fois que le champignon a pu accéder à la hémocoel, il commence à utiliser les nutriments disponibles pour sa croissance et sa reproduction.

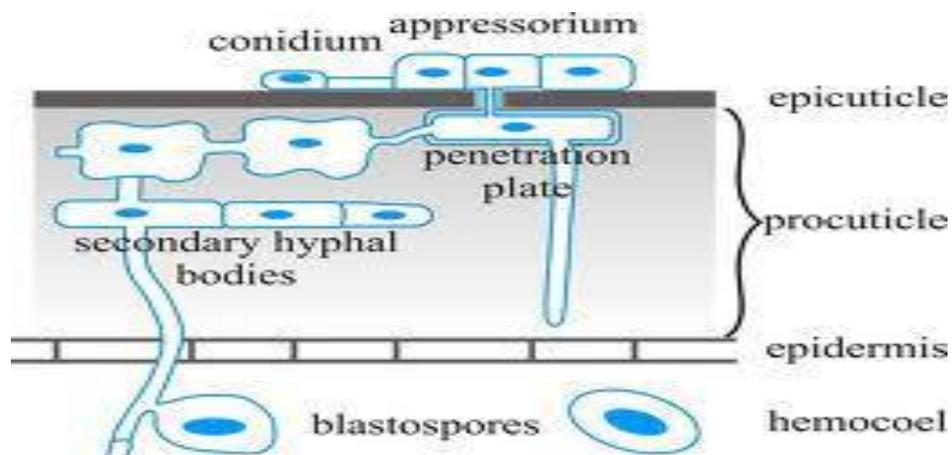


Figure 8: Mode de pénétration des champignons entomopathogènes dans la cuticule des insectes (Clarkson and Charnley, 1996)

2.3.4.4. La phase de réponse de l'insecte à l'infection

Après l'échec des barrières passives de freiner l'invasion de l'agent pathogène, il existe une cascade de réponses actives lorsque les pathogènes ont atteint l'hémocoèle de l'insecte (Hoffmann et Reichhart, 2002). Il s'agit des réactions cellulaires (ex. phagocytose, encapsulation), la mélanisation (la formation de la mélanine par polymérisation de composés phénoliques), la production des inhibiteurs de protéases et les réactions humorales (ex. phénoloxidase, lectines) (Gillespie et *al.*, 2000).

Selon Bidochka et *al.*, 2010, certains champignons entomopathogènes à savoir *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* sont capables d'éviter la réaction d'encapsulation. Cette adaptation est supposée être en relation avec la biologie de ces champignons, qui ont la capacité de persister au niveau du sol comme saprophytes facultatifs où ils peuvent survivre encapsulés par des prédateurs amiboïdes.

La fièvre comportementale représente l'une des réponses les plus fascinantes employées par les insectes contre l'infection fongique. (Roy et *al.*, 2006). Les insectes modifient leurs comportements, comme par exemple, se dorer au soleil, pour augmenter la température du corps ayant un effet négatif sur la survie du champignon entomopathogène présent dans l'hémocoèle (Elliot et *al.*, 2002).

2.3.5. Facteurs influençant l'efficacité des champignons entomopathogènes

Le potentiel infectieux des champignons entomopathogènes comme agent de lutte biologique est influencé par un ensemble des facteurs tels que les propriétés physiologiques de l'agent pathogène, la population de l'hôte et aussi d'autres conditions environnementales (Ferron et *al.*, 1991).

2.3.5.1. Facteurs liés à l'agent pathogène

Le choix d'un bon agent à la lutte biologique dépend de deux éléments essentiels : sa virulence et sa spécificité (Benserradj 2014). Des isolats différents de *M.anisopliae* présentent des différents niveaux de virulence vis-à-vis des insectes d'une même population (Todorova et *al.*, 1994).

2.3.5.2. Facteurs liés à l'hôte

Tous les stades évolutifs de l'insecte, de l'œuf jusqu'à l'adulte, sont exposés à l'infection fongique. Si l'hôte est à un stade immature, la mue pourrait réduire l'efficacité des

entomopathogènes fongiques, en partie à cause de l'effusion des conidies attachées à la cuticule muée (Vey et Fargues, 1977; Luz et *al.*, 2003).

2.3.5.3. Facteurs environnementaux

L'efficacité des entomopathogènes fongique contre les insectes est souvent influencée par des conditions abiotiques de l'environnement à savoir :

2.3.5.3.1. Rayonnement solaire (lumière ultraviolette)

L'exposition au rayonnement solaire représente l'un des paramètres environnementaux les plus importants pour la persistance des spores fongiques entomopathogènes. L'effet des radiations solaires même l'exposition pour quelques heures en particulier la partie d'UVB du spectre (285-315nm) peut complètement inactiver les conidies de *Metarhizium anisopliae* (Braga et *al.*, 2001a)

L'exposition des conidies au rayonnement UV peut provoquer des altérations physiologiques ou génétiques qui réduisent la virulence du l'agent pathogène, par exemple, réduire et retarder la germination (Hunt et *al.*, 1994; Braga et *al.*, 2001b). Les dommages causés par la lumière UV sont dus aux photoréactions des acides nucléiques, des protéines, des lipides, et des membranes (Tevini, 1993).

En plus, il a été démontré que les conidies les plus pigmentées sont généralement plus tolérantes au rayonnement UV (Fargues et *al.*, 1996; Braga et *al.*, 2006). De même, d'autres contraintes sublétaux (nutritionnel, osmotique, etc) peuvent améliorer la tolérance des conidies au rayonnement solaire (Rangel et *al.*, 2008).

2.3.5.3.2 Température

La température est un élément majeur qui peut influencer tous les processus de de cycle évolutif des entomopathogènes fongiques (le taux de germination, la croissance, la sporulation et la survie des champignons entomopathogènes)

L'évaluation des effets de la température sur les entomopathogènes fongiques reste difficile à déterminer parce que dans les conditions du laboratoire, la plupart des études sont basées sur des températures constantes qui n'imitent pas les conditions naturelles (Saiah 2014). Selon Benz (1987), les conditions environnementales généralement mesurées sur le terrain pourraient ne pas refléter celles rencontrées dans le microenvironnement habité par les insectes.

La vitesse de l'infection des insectes par les champignons entomopathogènes est affectée par les variations de températures (élevées et basses), en inhibant la germination des spores, ce qui affecte à son tour la formation du tube germinatif et la pénétration à travers la cuticule de l'insecte. (Soza-Gomez et Alves, 2000 ; Mitsuaki, 2004).

Un aspect positif, lié à la température, dans l'évaluation des risques lors du processus d'homologation des bio-pesticides, c'est que les champignons entomopathogènes ne poussent pas à la température du corps humain (37°C) (Butt, 2002). En effet, le *B. bassiana* a été isolé réalisé à partir d'une lésion du foie chez un patient recevant un traitement immunodépresseur, cet isolat n'était pas capable de croître à 37°C, mais s'est avéré être très virulent au doryphore, *Leptinotarsa decemlineata* (Henke et al., 2002).

2.3.5.3.3 Humidité

L'humidité est un paramètre très important qui peut avoir un effet sur la germination des conidies, la croissance fongique ultérieure, la sporulation sur le cadavre de l'insecte ainsi que la persistance et la survie des champignons entomopathogènes (Jaronski, 2010 ; Benserradj 2014).

D'après Liu et al (2000), Un taux d'humidité relativement élevée dans les endroits abrités fournit un micro-environnement favorable pour le développement des spores. L'application des champignons entomopathogènes, dans les conditions sèches, les rend moins pathogènes. En effet, la nécessité de l'humidité pour que une infection soit réussite a été attribuée au microclimat qui entoure la conidie sur la cuticule de l'insecte (Ferron, 1977; Inglis et al., 2001)

Les deux champignons *Metarhizium* et *Beauveria* peuvent germer et infecter efficacement les insectes à une basse humidité à condition qu'il y ait suffisamment d'humidité dans les microhabitats (Inglis et al., 2001).

2.3.5.3.4. Le sol

Le sol constitue un protège naturel des champignons contre le rayonnement ultraviolet, la dessiccation et les températures extrêmes (McCoy et al., 1990). De même, le sol peut aussi considérer comme un réservoir pour les insectes infectés, sur le feuillage, par des champignons et qu'ils sont plus tard tombés sur le sol (Keller S., 1991).

En plus, l'efficacité des entomopathogènes peut être influencée par la présence de microflore saprophytes existant dans le sol (Keller S., 1991). En général, l'étude de l'écologie des champignons entomopathogènes dans l'environnement, en particulier le sol est

un paramètre crucial et nécessaire pour une application efficace de ces agents de biocontrôle dans le champ.

2.3.6. Avantages de l'utilisation des champignons entomopathogènes dans la lutte biologique

A l'heure actuelle, l'utilisation d'insecticides de synthèse chimiques, en raison de son efficacité et de son application facile et pratique, constitue la technique la plus utilisée pour lutter contre les insectes nuisibles (Bouhadiba, 2014). Cependant, l'emploi intensif et inconsidéré de ces insecticides a provoqué une contamination de la biosphère et de la chaîne alimentaire, une éradication des espèces non cible telles que la faune auxiliaire et l'apparition d'insectes résistants (Devonshire, 1998). En effet, les champignons entomopathogènes sont devenus la pierre angulaire de plusieurs programmes de lutte intégrée, notamment dans les secteurs agricoles où la présence de résidus de pesticides dans les aliments constitue une source de préoccupation majeure (Benserradj 2014). Un des principaux avantages de l'utilisation des champignons entomopathogènes comme des agents de lutte biologique réside dans le fait qu'ils peuvent être un bon remplaçant, au moins partiellement, de certains pesticides de synthèse chimique les plus dangereux. En plus, l'accès à des agents de lutte biologique plus sûrs, plus sélectifs et biodégradables comporte d'importants avantages au plan écologique (Saiah 2014).

Partie expérimentale

Chapitre III
Inventaire des coléoptères des
champs cultivés

3. Inventaire des coléoptères des champs cultivés

Introduction

En Algérie, où le climat méditerranéen est dominant, les études sur les coléoptères, notamment en milieu agricole, sont encore à leurs débuts car la plupart d'entre elles n'ont pas été entièrement identifiées. De plus, leur biologie et leurs rôles dans les agro-écosystèmes n'ont pas été complètement élucidés.

De ce fait, l'objectif principal de cette étude était de faire un inventaire spécifique des coléoptères des champs cultivés, de fournir des informations fondamentales sur sa structure communautaire et d'évaluer l'impact de différentes cultures sur sa diversité.

3.1. Matériel et méthodes

3.1.1 Région d'étude

Un inventaire des insectes coléoptères a été réalisé, de mars 2018 à février 2020, dans quatre sites dans les wilayas de Mostaganem et Relizane dans le nord-ouest Algérien. Ces régions ont été choisies compte tenu de leur production agricole importante dans le pays.

Notre étude s'est concentrée sur différents champs cultivés (céréales, cultures maraîchères et vergers) (fig 10) et la collecte a été menée dans quatre stations : Sirat 1, Sirat 2, Souaflias et Yellel (fig. 9). Les caractéristiques générales des zones d'étude sont mentionnées dans le tableau 02 et (fig. 9).

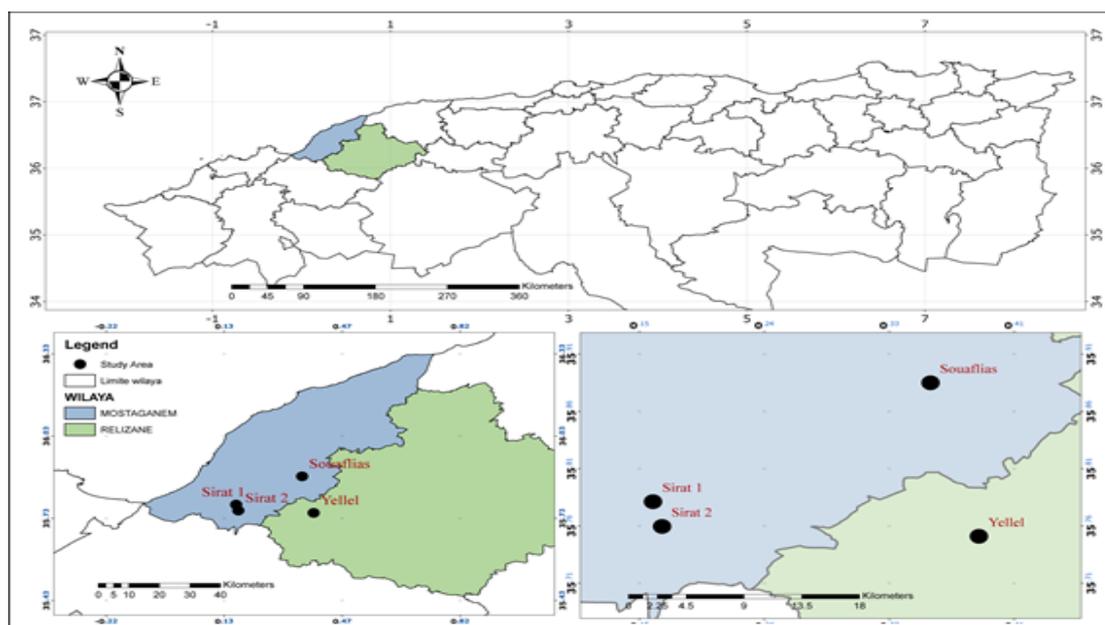


Figure 9: Localisation de la région d'étude

Tableau 02: Caractéristiques générales des quatre stations étudiées.

Stations	Coordonnées géographiques	Altitude(m)	Cultures
Sirat 1	35 ° 78' 37" N 0° 15' 98" E	42	PDT
Sirat 2	35 ° 76' 19" N 0° 16' 59" E	47	PDT
Souaflias	35 ° 88' 75" N 0° 35' 42" E	284	CR
Yellel	35 ° 75' 36" N 0° 38' 83" E	131	AG

PDT : pomme de terre. CR : céréales. AG : agrumes

**Sirat 1****Sirat 2****Souaflias****Yellel****Figure 10 :** Les sites expérimentaux (Originale, 2018)

3.1.2. Caractéristiques climatiques

Le climat est un facteur écologique très important qui agit directement sur le cycle biologique des êtres vivants. En effet, ils ne peuvent se maintenir en vie, que si des limites bien précises de température, de pluviométrie et d'humidité sont réunies. (Dajoz, 2003a).

Sur le plan climatique, Mostaganem appartient à l'étage méditerranéen semi-aride. La période chaude et sèche couvre au moins cinq mois de l'année (fig. 11a). Sur les deux années cumulées (2018/2019), la température moyenne à Mostaganem est de 17.9 °C avec une précipitation moyenne est de 347 mm. Le mois le plus sec est celui de Juillet, tandis que le mois de Novembre affiche les précipitations les plus importantes, avec une moyenne de 60 mm.

En parallèle, Relizane est située aussi dans l'étage bioclimatique semi-aride. Il y a peu de précipitations, quelque soit la période de l'année. Sur les deux années cumulées (2018/2019), la température moyenne à Relizane est de 18.3 °C avec une précipitation moyenne est de 349 mm. Les précipitations moyennes les plus faibles sont enregistrées en Juillet avec 1 mm seulement. En Novembre, les précipitations sont les plus importantes de l'année avec une moyenne de 54 mm. (fig. 11b)

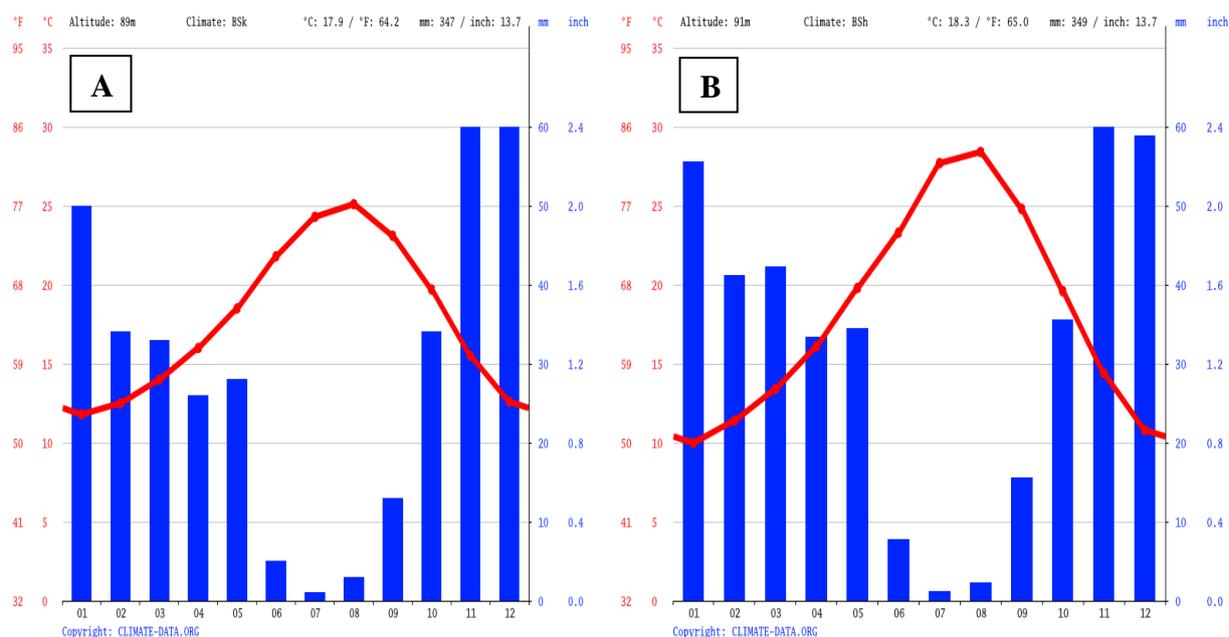


Figure 11: Diagramme ombrothermique des régions d'étude en (2018-2019)

A : Mostaganem, B : Relizane (Climate-data.org)

3.1.3. Méthodes de collection

La collecte des spécimens sur les sites a été fait systématiquement à partir de 96 relevés répartis sur 24 mois; en utilisant les différentes techniques habituellement utilisées dans le domaine de l'entomologie (Piège de Barber et piège jaune en plus des chasse à vue sur le terrain) (Benkhelil 1991).

3.1.3.1. La chasse à vue

Elle a impliqué des observations minutieuses de plantes cultivées, des arbres et même du sol. Tous les individus présents ont été prélevés et mis dans des boîtes en plastiques aérées.

3.1.3.2. Les pièges Barber

Les pièges sont constitués de pots en polystyrène (50 cl) enterrés jusqu'au bord supérieur de façon à créer un puits dans lequel les insectes marcheurs vont choir. Ces pièges ont été rendus attractifs par l'addition de 20 cl de solution constituée de l'eau, détergent et de sel (conservateur) (Benkhelil 1991), dans chaque station on a mis 30 pots séparés les uns aux autres.

3.1.3.3. Les pièges jaunes

Les pièges sont constitués de pots en polystyrène (20 cl) de couleur jaune. Ces pièges ont été rendus attractifs par l'addition de 5 cl de solution constituée de l'eau, détergent et de sel (conservateur) (Benkhelil 1991), dans chaque station on a mis 30 pots.



Chasse à vue



piège Barber



piège jaune

Figure 12 : Les différentes techniques de piégeage utilisées (Originale 2018).

3.1.4. Traitement des spécimens

Les spécimens collectés ont ensuite été transportés au laboratoire d'entomologie de la station régionale de la protection des végétaux où ils ont été séparés, traités et conservés dans des tubes étiquetés contenant de l'alcool éthylique à 70 ° puis ils ont été identifiés à l'aide des spécialiste (Hervé Brustel Université de Toulouse, France ; Estefania Mico et José Verdu Université d'Alicante, Espagne) et des clés d'identification.

3.1.5. Classification et analyse de la diversité

La classification des espèces a été effectuée selon la taxonomie de Bouchard et *al* 2011. Pour chaque espèce, le nombre d'individus collectés, le site, la date de collecte et les hôtes sont indiqués.

Afin de déterminer la complexité des populations étudiées et leur composition, plusieurs paramètres et indices écologiques ont été calculés:

3.1.5.1. Fréquence centésimale (Cf %) :

C'est le rapport du nombre d'individus d'une espèce trouvés dans une zone donnée N_i au nombre total d'individus de toutes les espèces confondues N (Dajoz, 1985). Elle est donnée par la formule suivante : $Cf = N_i \cdot 100/N$.

3.1.5.2. Indice de Shannon ou indice de diversité (H') :

C'est la méthode la plus simple et la plus utilisée pour déterminer la diversité des populations (Magurran, 1988, Barrantes et Sandoval, 2009). Il est donné par la formule suivante:

$$H' = - \sum_{i=1}^s p_i \ln (p_i)$$

Où: $p_i = n_i / N$

H' : Indice de Shannon (diversité).

P_i : Fréquence relative des individus d'espèces trouvées dans une zone donnée par rapport au nombre total d'individus de toutes les espèces combinées.

n_i : Nombre total des individus de l'espèce (i).

N : Nombre total des individus de toutes les espèces combinées.

3.1.5.3. L'équitabilité (E)

Cet indice représente le rapport de l'indice de Shannon calculé à l'indice théorique maximal dans la population. . Il varie entre 0 et 1 (Blondel, 1979).

$$E = H' / H'_{max}$$

Où:

H'_{max} : représente la diversité maximale.

3.1.5.4. Indice de Sorenson (similarité qualitative) :

Il permet de déterminer la similitude ou la différence entre les compositions des populations d'insectes collectées dans deux stations différentes (Magurran, 1988). Il est calculé par la formule suivante:

$$S = 2C / (A+B)$$

Où :

A: Nombre d'espèces collectées dans la station A.

B: Nombre d'espèces collectées dans la station B.

C: Nombre d'espèces communes dans les stations A et B.

3.1.5.5. Indice de Jaccard (similarité quantitative) : (Younes et Saporta, 2004) Il est donné par la formule suivante:

$$J = C / (A+B+C)$$

Où :

A: Nombre d'espèces collectées uniquement dans la station A.

B: Nombre d'espèces collectées uniquement dans la station B.

C: Nombre d'espèces communes dans les stations A et B

3.1.5.6. Exploitation des résultats par des méthodes statistiques

Le test du χ^2 a été utilisé pour déterminer la dépendance de la richesse spécifique et l'abondance relative des différentes familles ainsi que la dépendance des quatre agroécosystèmes étudiés. Le test ANOVA et le test t ont été utilisés pour montrer les différences significatives entre le nombre d'espèces des différentes stations et les différentes saisons. Les calculs statistiques ont été effectués à l'aide du logiciel SPSS v21.

3.2. Résultats et discussions

3.2.1. Inventaire des espèces collectées

L'inventaire de la biodiversité des coléoptères au sein des différentes cultures prospectées a dévoilé la présence de 4633 individus classés en 29 familles différentes, 69 sous-familles, 146 genres et 205 espèces. Le plus grand nombre de coléoptères a été enregistré dans le champ des céréales avec 1472 individus et 114 espèces, suivi par le verger d'agrumes avec 1266 individus et 96 espèces, le champ de la pomme de terre (2) avec 1074 individus et 82 espèces et enfin par le champ de la pomme de terre (1) avec 821 individus et 72 espèces (Tableau 03; Fig 13).

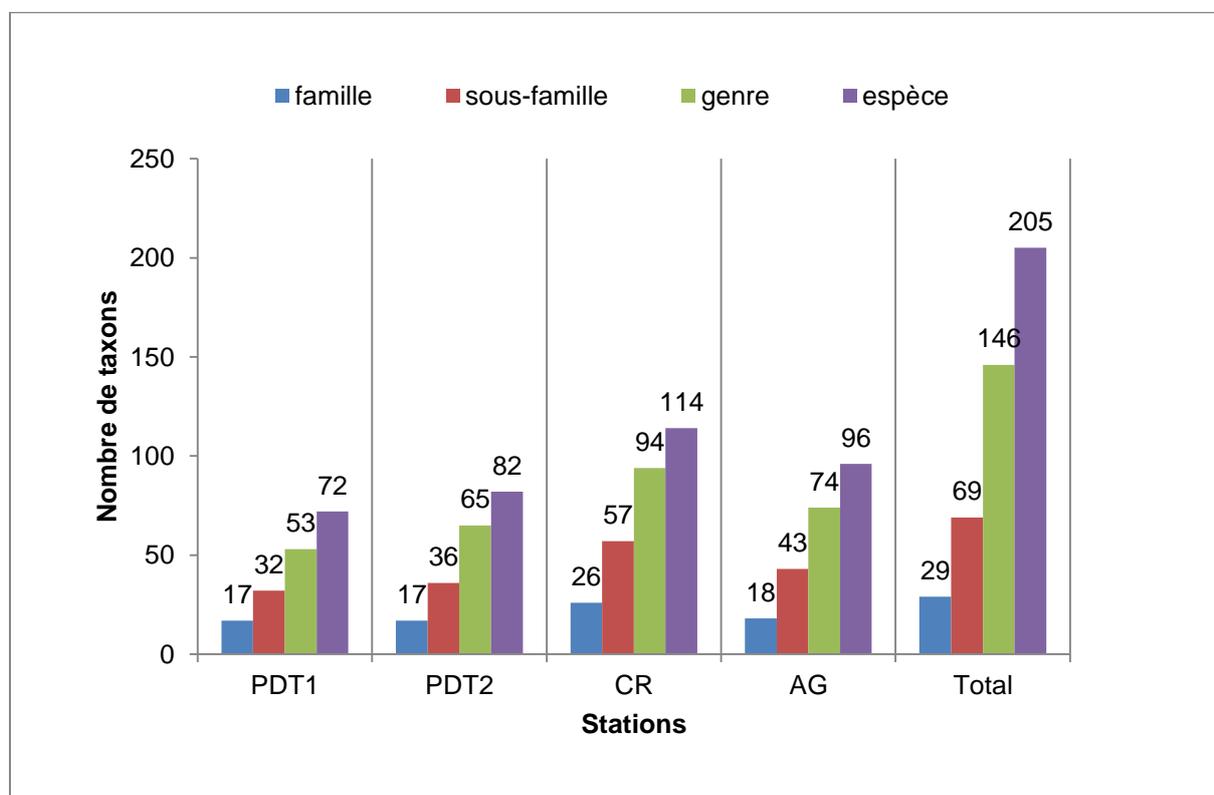


Figure 13: Nombre total des familles, sous-familles, genres et espèces de coléoptères pour les quatre agroécosystèmes prospectés.

Tableau 03: Composition de la faune coléoptérique dans les quatre stations étudiées.

Famille	Sous-famille	Espèce	PT1	PT2	CR	AG	
Carabidae	Harpalinae	<i>Harpalus oblitus</i> Dejean, 1829	+	+	+	+	
		<i>Harpalus tenebrosus</i> Dejean, 1829	-	-	+	-	
		<i>Harpalus punctatostriatus</i> (Dejean, 1829)	-	-	-	+	
		<i>Harpalus attenuatus</i> Stephens, 1828	-	-	-	+	
		<i>Harpalus</i> sp	-	+	-	+	
		<i>Ophonus opacus</i> (Dejean, 1829)	-	-	-	+	
		<i>Ophonus cordatus</i> (Duftschmid, 1812)	-	-	-	+	
		<i>Ophonus</i> sp	-	-	-	+	
		<i>Poecilus quadricollis</i> (Dejean, 1828)	-	-	+	-	
		<i>Poecilus purpurascens</i> (Dejean, 1828)	+	-	-	-	
		<i>Poecilus</i> sp1	+	+	-	-	
		<i>Poecilus</i> sp2	-	+	-	-	
		<i>Graphipterus serrator</i> (Forsskal, 1775)	-	-	+	-	
		<i>Platytarus faminii</i> (Dejean, 1826)	-	-	+	-	
		<i>Amara aenea</i> (De Geer, 1774)	-	-	-	+	
		<i>Amara rufipes</i> Dejean, 1828	+	-	-	-	
		<i>Licinus punctatulus</i> (Fabricius, 1792)	-	+	-	-	
		<i>Licinus silphoides</i> (Rossi, 1790)	-	-	+	-	
		<i>Microlestes corticalis</i> (L.Dufour, 1820)	-	+	-	+	
		<i>Microlestes</i> sp	-	-	+	+	
		<i>Laemostenus algerinus</i> (Gory, 1833)	-	-	-	+	
		<i>Sphodrus leucophthalmus</i> (Linnaeus, 1758)	-	+	-	+	
		<i>Zabrus ignavus</i> Csiki, 1907	+	-	-	-	
		<i>Carterus calydonius</i> (P. Rossi, 1790)	-	-	-	+	
		<i>Carterus fulvipes</i> (Latreille, 1817)	+	+	+	+	
		<i>Oedesis villosulus</i> (Reiche, 1859)	-	+	-	+	
		<i>Chlaenius</i> sp	-	+	-	+	
		<i>Agonum marginatum</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	-	+	
		<i>Calathus opacus</i> Luca, 1846	-	+	-	+	
		<i>Calathus fuscipes</i> (Goeze, 1777)	+	+	-	-	
		<i>Calathus</i> sp	-	-	+	+	
		Cicindellinae	<i>Myriochile melancholica</i> (Fabricius, 1798)	-	-	-	+
			<i>Cicindela lunulata</i> Fabricius, 1781	-	-	+	-
	<i>Cicindela</i> sp		-	-	+	+	
	Lebiinae	<i>Cymindis setifensis</i> Lucas, 1842	-	-	-	+	
	Carabinae	<i>Carabus morbillosus</i> Fabricius, 1792	-	-	+	+	
		<i>Calosoma algiricum</i> Géhin, 1885	-	-	+	-	
		<i>Calosoma inquisitor</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	+	-	
	Nebriinae	<i>Nebria andalusia</i> Rambur, 1837	-	-	+	+	
		<i>Notiophilus</i> sp	-	+	-	+	
Scaritinae	<i>Distichus planus</i> (Bonelli, 1813)	-	-	+	-		
	<i>Dyschyrius chalybeus</i> Putzeys, 1846	-	-	+	-		
	<i>Scarites</i> sp	-	+	+	-		
Siagoninae	<i>Siagona europaea</i> Dejean, 1826	+	+		+		
Broscinae	<i>Broscus politus</i> (Dejean, 1828)	-	-	+	-		
Trechinae	<i>Pogonus chalceus</i> (Marsham, 1802)	+	+	-	-		
	<i>Notaphus varius</i> (Olivier, 1795)	-	-	+	-		
Scarabaeidae	Cetoniinae	<i>Tropinota squalida</i> (Scopoli, 1763)	+	+	+	+	
		<i>Aethiessa floralis</i> (Fabricius, 1787)	-	+	+	-	
		<i>Oxythyrea funesta</i> (Poda, 1761)	-	-	-	+	
		<i>Protaetia opaca</i> (Fabricius, 1787)	-	-	-	+	
	Melolonthinae	<i>Hoplia</i> sp1	+	+	+	-	
		<i>Hoplia</i> sp2	-	-	+	-	
		<i>Hymenoplia</i> sp	+	+	+	-	

		<i>Pachydema</i> sp1	+	+	-	-
		<i>Pachydema</i> sp2	+	+	-	-
		<i>Sphodroxia mauritanica</i> , (Lucas, 1846)	-	-	+	-
		<i>Geotrogus deserticola</i> (Blanchard, 1851)	-	-	+	-
	Rutelinae	<i>Anthoplia floricola</i> (Fabricius, 1787)	-	+	+	-
		<i>Hemichaetoplia pallidipennis</i> (Gyllenhal, 1817)		+	+	+
	Scarabaeinae	<i>Euoniticellus pallens</i> (Olivier, 1789)	+	-	-	-
		<i>Onitis alexis</i> Klug, 1835	+	+	-	-
		<i>Onthophagus(Trichonthophagus) maki</i> (Illiger, 1803)	-	-	+	-
		<i>Onthophagus(sensu stricto)tarus</i> (Schreber, 1759)	-	-	-	+
		<i>Scarabeus</i> sp	-	-	+	-
	Dynastinae	<i>Pentodon algerinum</i> (Herbst, 1789)	+	+	+	+
		<i>Phyllognathus excavatus</i> (Forster, 1771)	+	+	+	+
		<i>Oryctes nasicornis(L.) spp grypus</i> (Illiger 1803)	-	-	-	+
	Orphninae	<i>Hybalus</i> sp	-	-	-	+
	Aphodiinae	<i>Aphodius</i> sp	+	+	+	-
		<i>Pleurophorus</i> sp	+	-	+	-
		<i>Calamosternus granarius</i> (Linnaeus 1767)	-	-	+	+
Cebrionidae		<i>Cebrio</i> sp	-	-	+	-
Anthicidae	Notoxinae	<i>Notoxus</i> sp1	-	+	-	-
		<i>Notoxus</i> sp2	-	-	+	-
Bostrichidae	Bostrichinae	<i>Apate monachus</i> Fabricius, 1775	-	-	+	-
Buprestidae	Polycestinae	<i>Acmaeodera adpersula</i> (Illiger, 1803)	-	+	+	+
		<i>Acmaeodera</i> sp1	+	+	+	-
		<i>Acmaeodera</i> sp2	-	+	+	-
		<i>Acmaeodera</i> sp3	+	-	+	-
		<i>Acmaeodera</i> sp4	-	+	-	-
		<i>Acmaeodera</i> sp5	-	+	+	-
	Buprestinae	<i>Anthaxia scutellaris</i> (Gené, 1839)	+	-	+	+
		<i>Anthaxia umbellatarum</i> (Fabricius, 1787)	-	-	+	-
		<i>Anthaxia funerula</i> (Illiger, 1803)	-	+	-	+
		<i>Anthaxia</i> sp(<i>Melanthaxia</i>)	-	-	+	
Chrysochroinae	<i>Sphenoptera rauca</i> (Fabricius, 1787)	-	-	+	-	
	<i>Capnodis tenebrionis</i> (Linnaeus, 1760)	-	-	+	-	
	Agrilinae	<i>Trachys fabricii</i> Schaefer, 1949	-	-	-	+
Cerambycidae	Cerambycinae	<i>Trichoferus fasciculatus</i> (Faldermann, 1837)	-	-	-	+
		<i>Stenopherus ater</i> (Linnaeus, 1767)	-	+	-	-
		<i>Stenopterus mauritanicus</i> Lucas, 1849	-	+	-	-
		<i>Purpuricenens desfontainii</i> (Fabricius, 1792)	-	-	+	-
	Lamiinae	<i>Agapanthia cardui</i> (Linnaeus, 1767)	+	-	-	-
		<i>Agapanthia suturalis</i> (Fabricius, 1792)	+	+	-	-
		<i>Niphona picticornis</i> Mulsant, 1839	-	+	-	-
		<i>Calamobius filum</i> (Rossi, 1790)	-	+	-	-
Chrysomelidae	Galerucinae	<i>Galeruca interrupta</i> Illiger, 1802	+	+	+	+
		<i>Galeruca barbara</i> (Erichson, 1841)	+	+	+	+
		<i>Altica ampelophaga</i> (Guérin-Méneville, 1858)		+	+	+
	Cassidinae	<i>Cassida</i> sp	+	+	+	+
	Chrysomelinae	<i>Chrysolina</i> sp	+	-	+	+
	Cryptocephalinae	<i>Cryptocephalus rugicollis</i> Olivier, 1791	-	+	+	+
		<i>Lachnaia</i> sp	-	-	+	+
		<i>Clytra</i> sp	+	+	+	+
Cleridae	Clerinae	<i>Trichodes umbellatarum</i> (Olivier,1795)	+	-	+	+
Coccinellidae	Coccinellinae	<i>Hippodamia tredecimpunctata</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	+	-
		<i>Hippodamia undecimnotata</i> (Schneider, 1792)	+	+	-	-
		<i>Hippodamia variegata</i> (Goeze, 1777)	+	+	-	+
		<i>Hippodamia</i> sp	+	+	-	-
		<i>Henosepilachna elaterii</i> (Rossi, 1794)	-	-	+	-
		<i>Scymnus apetzi</i> Mulsant, 1846	-	-	+	-

		<i>Scymnus interruptus</i> (Goeze, 1777)	-	+	-	+
		<i>Scymnus</i> sp1	-	-	+	-
		<i>Scymnus</i> sp2	-	+	-	-
		<i>Coccinella algerica</i> Kovar, 1977	+	+	-	-
		<i>Coccinella</i> sp	-	-	-	+
Curculionidae	Lixinae	<i>Lixus algerius</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	+	+
		<i>Lixus elegantulatus</i> (boheman, 1842)	-	-	+	-
		<i>Lixus</i> sp	+	+	+	+
		<i>Cleonus</i> sp	+	-	-	-
		<i>Larinus</i> sp	-	-	+	-
	Curculioninae	<i>Sibinia primita</i> (Herbst, 1795)	-	-	+	-
		<i>Pachytychius</i> sp	-	+	-	+
		<i>Mecinus janthinus</i> Germar, 1821	-	-	-	+
	Rhynchophorinae	<i>Sphenophorus piceus</i> (Pallas, 1771)	-	-	+	-
	Bagoinae	<i>Bagous argillaceus</i> Gyllenhal, 1836	-	-	+	-
	Apioninae	<i>Apion</i> sp	-	-	+	-
	Baridinae	<i>Baris</i> sp	-	-	-	+
		<i>Aulacobaris</i> sp	-	-	+	-
	Entiminae	<i>Sitona macularius</i> (Marsham 1802)	-	-	+	-
<i>Sitona</i> sp1		-	-	+	-	
<i>Sitona</i> sp2		+	-	+	-	
Hyperinae	<i>Donus salviae</i> (Schrank, 1789)	-	-	+	-	
Dermestidae	Megatominae	<i>Anthrenus verbasci</i> (Linnaeus, 1767)	-	-	+	-
		<i>Dermestes</i> sp	-	+	+	-
	Attageninae	<i>Attagenus</i> sp1	+	-	-	-
		<i>Attagenus</i> sp2	-	-	+	-
Elateridae	Cardiophorinae	<i>Cardiophorus</i> sp1	+	-	-	+
		<i>Cardiophorus</i> sp2	+	-	+	-
	Agrypninae	<i>Drasterius bimaculatus</i> (Rossi, 1790)	-	+	-	+
		<i>Drasterius</i> sp1	-	+	+	+
		<i>Drasterius</i> sp2	-	+	-	+
	Elaterinae	<i>Agriotes sordidus</i> (Illiger, 1807)	+	-	-	+
		<i>Agriotes pilosellus</i> (Schönherr, 1817)	+	+	-	+
Hypnoidinae	<i>Athous</i> sp	+	+	-	-	
Endomychidae		<i>Dapsa pallescens</i> Marseul, 1868	-	+	-	-
Geotrupidae	Geotropinae	<i>Thorectes puncticollis</i> Lucas, 1845	-	-	+	-
Glaphyridae	Glaphyrinae	<i>Eulasia bombylius</i> (Fabricius, 1787)	-	-	+	+
Histeridae	Histerinae	<i>Saprinus</i> sp1	+	+	+	+
		<i>Saprinus</i> sp2	+	+	-	+
		<i>Hister</i> sp	-	-	+	-
Hybosoridae	Hybosorinae	<i>Hybosorus arator</i> Illiger, 1803	+	+	+	-
Hydrophilidae	Acidocerinae	<i>Helochares lividus</i> (Forster, 1771)	+	+	-	-
	Enochrinae	<i>Enochrus</i> sp	-	-	+	-
Meloidae	Meloinae	<i>Mylabris variabilis</i> (Pallas, 1781)	+	-	-	-
		<i>Mylabris</i> sp	+	-	-	-
		<i>Meloe cavensis</i> Petagna, 1819	-	-	+	-
		<i>Meloe</i> sp	-	-	+	-
		<i>Berberomeloe</i> sp	-	-	+	-
		<i>Oenas afra</i>	-	-	+	-
Melyridae	Dasytinae	<i>Dasytes virens</i> (Marsham, 1802)	-	-	+	+
		<i>Dasytes</i> sp	-	-	-	+
	Malachiinae	<i>Axinotarsus pulicarius</i> (Fabricius, 1777)	-	-	+	+
Mordellidae	Mordellinae	<i>Mordella</i> sp	-	-	+	+
Nitidulidae	Carpophilinae	<i>Urophorus humeralis</i> (Fabricius, 1798)	+	-	-	-
		<i>Carpophilus</i> sp	+	-	-	-
	Epuraeinae	<i>Epuraea</i> sp	-	-	+	-
Oedemeridae	Oedemerinae	<i>Oedemera lurida</i> (Marsham, 1802)	-	-	+	+
Prionoceridae		<i>Lobonyx aeneus</i> (Fabricius, 1787)	-	-	-	+

Scraptiidae	Anaspidinae	<i>Anaspis</i> sp	-	-	-	+
Silphidae	Silphinae	<i>Silpha puncticollis</i> Lucas, 1846	+	+	+	-
Staphylinidae	Staphylininae	<i>Quedius pallipes</i> Lucas, 1846	-	+	+	-
		<i>Staphylinus olens</i> (O. Müller, 1764)	-	+	-	+
	Oxytelinae	<i>Carpelimus corticinus</i> (Gravenhorst, 1806)	-	-	+	+
		<i>Bledius</i> sp	-	+	-	+
Tenebrionidae	Pimeliinae	<i>Pimelia muricata</i> Olivier, 1795	+	+	+	+
		<i>Pimelia costata</i> Waltal, 1835	+	+	+	-
		<i>Zophosis</i> sp1	+	+	+	+
		<i>Zophosis</i> sp2	+	-	-	+
		<i>Erodius</i> sp	+	+	-	-
		<i>Pachychila</i> sp1	+	+	+	+
		<i>Pachychila</i> sp2	+	-	+	+
		<i>Tentyria interrupta</i> Latreille, 1807	-	+	-	+
		<i>Akis</i> sp	+	-	+	+
		<i>Scaurus striatus</i> Fabricius, 1792	+	-	+	+
		<i>Scaurus</i> sp1	+	+	-	-
		<i>Scaurus</i> sp2	+	-	+	-
		<i>Asida</i> sp	-	-	-	+
		Tenebrioninae	<i>Opatrum sabulosum</i> Linnaeus, 1758	+		+
	<i>Opatrum</i> sp1		+	+	-	-
	<i>Opatrum</i> sp2		+	-	-	-
	<i>Eledona agricola</i> (Herbst, 1783)		+	+	-	+
	<i>Neopachypterus mauritanicus</i> (Lucas, 1846)		-	-	-	+
	<i>Dendarini</i> sp		-	-	+	-
	<i>Catomus</i> sp		-	-	+	-
	<i>Blaps</i> sp groupe B <i>gigas</i>		-	-	+	+
	<i>Diaclina fagi</i> (Panzer, 1799)		+	+	-	-
	<i>Tenebrio molitor</i> Linnaeus, 1758		+	+	-	-
	Alleculinae		<i>Heliotaurus ruficollis</i> (Fabricius 1781)	+	+	+
		<i>Heliotaurus</i> sp	+	-	-	+
		<i>Hymenalia</i> sp	-	+	-	+
	Helopinae	<i>Raiboscelis</i> sp	-	-	+	+
	Lagriinae	<i>Lagria villosa</i> (Fabricius, 1781)	-	-	+	+
		<i>Lagria atripes</i> Mulsant & Guillebeau, 1855	-	-	-	+

+ Présent, - Absent

3.2.2. Composition et abondance de la communauté des coléoptères collectées :

L'analyse de la composition taxonomique de l'ensemble des coléoptères collectés dans la région d'étude a montré que le plus grand nombre d'espèces appartenait aux familles des Carabidae (22,92%), Tenebrionidae (14,14%) et Scarabaeidae (12,19%). Le reste des espèces a été répartie sur les autres différentes familles (Fig. 14). Cependant, Ténébrionidae étaient la famille la plus dominante en terme de nombre d'individus dans les quatre agroécosystèmes étudiées, suivi par la famille des Scarabaeidae dans la céréaliculture et dans les deux champs de la pomme de terre et suivi par la famille des Carabidae dans le verger d'agrumes (Tableau 04). L'ensemble des familles des Buprestidae, Chrysomelidae, Coccinellidae, Curculionidae, Elateridae, Histeridae et Staphylinidae étaient également présentes dans toutes les stations agricoles prospectées mais avec des fréquences faibles. Les Bostrichidae, Geotrupidae et Cebriionidae n'ont été signalés que dans le champ des céréales. Endomychidae n'était présent

que dans le champ de la pomme de terre et les Scaptiidae et les Prionoceridae n'ont été collectés que dans le verger d'agrumes avec une espèce pour chacune des familles (tableau 4).

Dans l'ensemble, la richesse spécifique (S) des familles et l'abondance relative (RA%) étaient différentes. Le test du χ^2 a montré que l'abondance des familles était dépendante des stations ($P < 0,0001$), tandis que les valeurs de la richesse spécifique des familles étaient indépendantes des stations ($P = 0,60$).

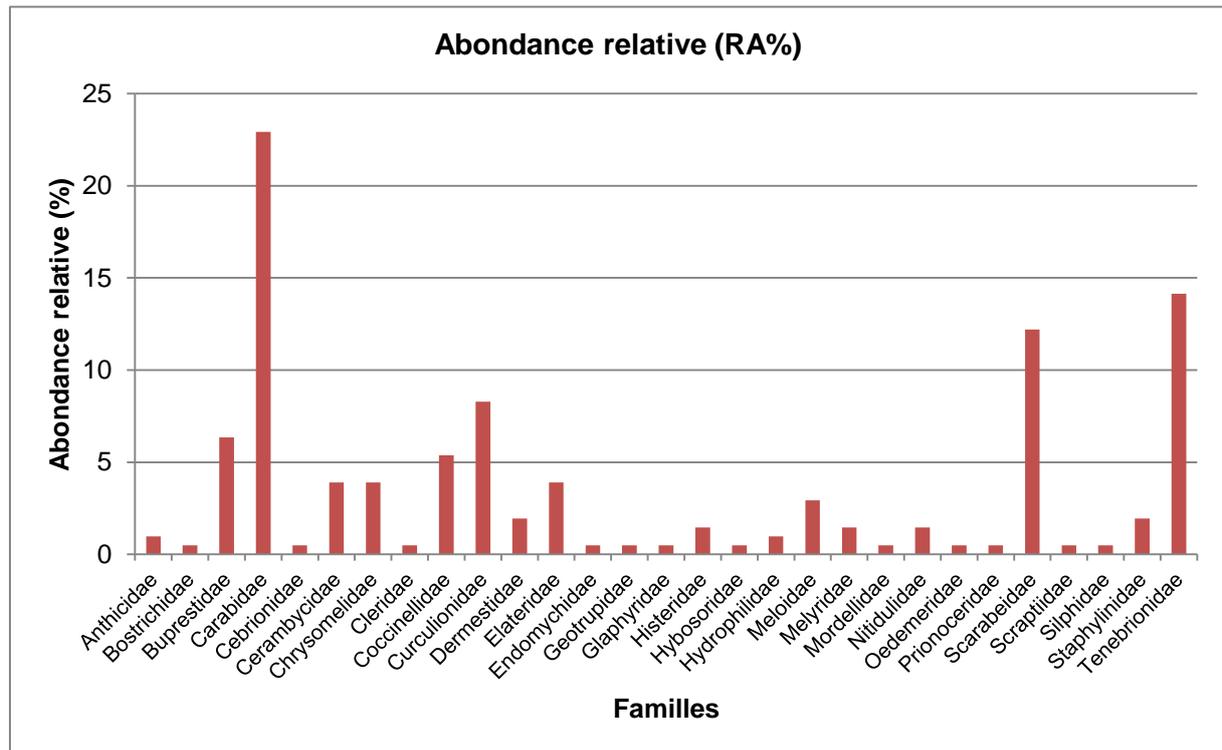


Figure 14 : Abondance relative des différentes familles enregistrées dans les quatre agroécosystèmes.

Tableau 04 : Richesse spécifique et fréquence centésimale des différentes familles de coléoptères dans les quatre agroécosystèmes prospectés.

Familles	PDT1			PDT2			CF			AG		
	N. sp*	N. ind**	Fr. (%)***	N. sp	N. ind	Fr. (%)	N. sp	N. ind	Fr. (%)	N. sp	N. ind	Fr. (%)
Anthicidae	-	-	-	1	5	0.47	1	1	0.07	-	-	-
Bostrichidae	-	-	-	-	-	-	1	1	0.07	-	-	-
Buprestidae	3	5	0.61	6	32	2.98	10	123	8.36	4	72	5.69
Carabidae	9	11	1.34	16	49	4.56	20	57	3.87	26	176	13.90
Cebrionidae	-	-	-	-	-	-	1	2	0.14	-	-	-
Cerambycidae	2	3	0.37	5	11	1.02	1	2	0.14	1	3	0.24
Chrysomelidae	5	40	4.87	6	49	4.56	8	92	6.25	8	108	8.53
Cleridae	1	2	0.24	-	-	-	1	21	1.43	1	1	0.08
Coccinellidae	4	59	7.19	6	45	4.19	4	8	0.54	3	18	1.42
Curculionidae	3	15	1.83	2	3	0.28	13	40	2.72	5	25	1.97
Dermestidae	1	1	0.12	1	3	0.28	3	10	0.68	-	-	-
Elateridae	5	25	3.05	5	62	5.77	2	12	0.82	6	49	3.87
Endomychidae	-	-	-	1	13	1.21	-	-	-	-	-	-
Geotrupidae	-	-	-	-	-	-	1	1	0.07	-	-	-
Glaphyridae	-	-	-	-	-	-	1	14	0.95	1	1	0.08
Histeridae	2	6	0.73	2	15	1.40	2	3	0.20	2	9	0.71
Hybosoridae	1	97	11.81	1	26	2.42	1	4	0.27	-	-	-
Hydrophilidae	1	3	0.37	1	7	0.65	1	6	0.41	-	-	-
Meloidae	2	2	0.24	-	-	-	4	139	9.44	-	-	-
Melyridae	-	-	-	-	-	-	2	24	1.63	3	20	1.58
Mordellidae	-	-	-	-	-	-	1	2	0.14	1	2	0.16
Nitidulidae	2	8	0.97	-	-	-	1	1	0.07	-	-	-
Oedemeridae	-	-	-	-	-	-	1	4	0.27	1	27	2.13
Prionoceridae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	5	0.39
Scarabeidae	11	205	24.97	12	92	8.57	16	267	18.14	10	33	2.61
Scraptiidae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	0.16
Silphidae	1	7	0.85	1	2	0.19	1	4	0.27	-	-	-
Staphylinidae	-	-	-	3	10	0.93	2	12	0.82	3	20	1.58
Tenebrionidae	19	332	40.44	13	650	60.52	15	622	42.26	19	695	54.90
Total	72	821	100	82	1074	100	114	1472	100	96	1266	100

* nombre d'espèces, **nombre d'individus, *** fréquence centésimale.

3.2.3 Diversité des coléoptères :

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que la population des coléoptères variait d'un agroécosystème à l'autre. En effet, les hautes valeurs de diversité et d'équitabilité ont été enregistrées dans le champ de céréales qui est considéré comme l'écosystème le plus diversifié et équitable ($H'=3,63$ bits ; $E=0,76$). Le verger d'agrumes a été rangé en deuxième position avec une diversité de 3,49 bits et une équitabilité de 0,76. De plus, les deux champs de la pomme de terre ont montré des faibles niveaux de diversité et d'équitabilité par rapport aux autres agroenvironnements étudiés (Tableau 05). Alors que, aucune différence significative n'a été observée entre les moyennes de nombre d'espèces dans les quatre milieux agricoles étudiés.

Tableau 05 : Paramètres structuraux des populations de coléoptères évalués pour chaque agroécosystème.

Agroécosystèmes	PDT 1	PDT 2	CR	AG
Paramètres				
S*	72	82	114	96
H'	2.96	3.15	3.63	3.49
H _{max} ***	4.27	4.40	4.73	4.56
E****	0.69	0.71	0.76	0.76

* Richesse spécifique, ** Indice de Shannon, *** Diversité Maximale, ****Equitabilité

A l'échelle saisonnière, tous les agroécosystèmes prospectés ont montré leurs hauts niveaux de diversité au printemps et en été. Les niveaux de diversité observés étaient légèrement inférieurs en automne et très faibles en hiver. De plus, les valeurs de diversité les plus élevées ont été notées au printemps dans le champ de céréales et dans le verger d'agrumes, respectivement, avec un indice de Shannon de 3,60 et 3,47 bits vis-à-vis les deux champs de pomme de terre avec 2,93 et 3,26 bits. Cependant, la communauté de coléoptères dans le verger d'agrumes était la plus équitable par rapport aux autres milieux étudiés. Les valeurs d'équitabilité dans cet agroécosystème pérenne étaient, respectivement, de 0,81, 0,86 et 0,83 au printemps, en automne et en hiver (tableau 06). Les moyennes de nombre d'espèces différaient significativement entre les environnements étudiés durant les saisons ($F = 33,87$; $p < 0,0001$).

Tableau 06 : Paramètres structuraux saisonniers des populations de coléoptères évalués pour chaque agroécosystème

Agroécosystèmes	paramètres	Printemps	Eté	Automne	Hiver
PDT1	H'*	2.93	2.34	1.82	0.55
	H _{max} **	3.85	3.55	2.39	1.09
	E***	0.76	0.65	0.76	0.50
PDT2	H'	3.26	2.40	1.76	0.73
	H _{max}	4.12	3.61	2.48	1.60
	E	0.79	0.66	0.71	0.45
CR	H'	3.60	3.01	1.96	1.44
	H _{max}	4.47	3.87	3.09	1.94
	E	0.76	0.77	0.63	0.74
AG	H'	3.47	2.59	2.43	1.50
	H _{max}	4.24	3.80	2.83	1.79
	E	0.81	0.68	0.86	0.83

* Indice de Shannon, ** Diversité Maximale, ***Equitabilité

3.2.4 Similitude des agroécosystèmes étudiés:

Même si chaque milieu d'échantillonnage a présenté des conditions différentes, les indices de Sorensen et de Jaccard ont montré de fortes similitudes entre les espèces de coléoptères inventoriées dans les deux champs de pomme de terre. Cependant, un peu moins de similarité a été notée entre celles du verger d'agrumes, des céréales et du champ de pomme de terre (PDT1) et de très faible similarité a été enregistrée entre le champ de céréales et le champ de pomme de terre (PDT2) (Tableau 07).

Tableau 07 : Les Valeurs de l'indice de similarité de Sorenson (au-dessus de la diagonale) et de l'indice de similarité de Jaccard (au-dessous de la diagonale) entre la faune coléoptérique des quatre agroécosystèmes étudiées

Faune coléoptérique	FCPDT1	FCPDT2	FCCR	FCAG
FCPDT1 *	-	0.57	0.36	0.36
FCPDT2 **	0.4	-	0.34	0.46
FCCR ***	0.22	0.20	-	0.41
FCAG ****	0.22	0.29	0.26	-

FCPDT1* : faune coléoptérique de PDT 1, FCPDT2** : faune coléoptérique de PDT 2,

FCCR*** : faune coléoptérique des céréales, FCAG**** : faune coléoptérique du verger d'agrumes.

3.3 Discussion :

Les familles de coléoptères les plus dominantes collectées dans cette étude étaient les Carabidae, les Tenebrionidae et les Scarabaeidae. Ces résultats étaient presque similaires à plusieurs études menées sur la faune de coléoptères dans différents pays (Baghem, 2012 ; Daas et *al.*, 2016 ; Bouraada et *al.*, 2016 ; Tom et Kaippallil, 2016). En Algérie, une étude réalisée par Baghem (2012) a montré la dominance de la famille des Carabidae dans les champs de céréales conduites par un semi conventionnel dans l'Est algérien. Une autre étude menée par Daas et al (2016) a rapporté la dominance des Carabidae et des Scarabaeidae dans deux forêts de chêne liège dans le Nord-Est algérien. Cependant, une étude sur la diversité des coléoptères dans les dunes mobiles du nord-est du Maroc a révélé que les Scarabaeidae et les Tenebrionidae étaient les familles les plus dominantes (Bouraada et *al.*, 2016). Dans une région rurale en Inde, Tom et D Kaippallil (2016), ont rapporté la dominance de la famille des Melolonthiidae suivie des Tenebrionidae. Généralement, Le peuplement entomologique est dominé, sur le plan de la richesse taxonomique, par la famille des Tenebrionidae (Bouraada et *al.*, 1999), qui est une famille très riche et diversifiée en Afrique du Nord (Pierre 1958). L'abondance des familles enregistrées dans la présente étude pourrait être en relation avec l'utilisation abusive de la bouse des bovins comme fumure organique dans la région d'étude, la disponibilité de leurs habitats, les sites d'hivernation et les ressources alimentaires.

Bouraada et *al* (2016) ont suggéré que Cette bonne diversification est, en grande partie, due aux espèces coprophages, généralement indépendantes du milieu et étroitement liées à la présence de fèces, de matière organique et de couvert végétal pour les espèces phytophages. De plus, les carabidés sont abondants dans les agroécosystèmes tempérés et jouent un rôle central en tant qu'agents de lutte biologique pour la régulation des semences de mauvaises herbes et des ravageurs (Sint et *al.*, 2018).

Les résultats obtenus dans cette étude ont montré que la population de coléoptères variait d'un agroécosystème à l'autre. L'écosystème le plus diversifié était le champ de céréales, suivi du verger d'agrumes, du champ de pomme de terre 2 et enfin du champ de pomme de terre 1. Cependant, une étude récente menée sur la diversité entomologique dans les agroécosystèmes du Nord-Ouest Algérien a révélé que le plus grand nombre d'insectes a été signalé dans le champ non cultivé suivi par les vergers d'agrumes, puis les cultures céréalières et enfin la pomme de terre (Mohammedi et *al.*, 2019).

Les différences constatées semblent provenir de la variation des cultures, des conditions microclimatiques et du couvert végétal. Cela peut aussi être due à la présence de certaines espèces originaires d'autres habitats environnants où maintiennent des populations

abondantes, comme il est suggéré précédemment (Gibrán et al., 2018). En effet, plusieurs conditions, y compris la monoculture qui sont fréquemment envahies par des ravageurs, peuvent expliquer la variation de l'abondance des insectes d'une culture à l'autre (Dajoz, 2003b). De plus, la richesse des communautés végétales peut aussi favoriser la diversité des insectes (Hartley et al., 2003). La différence observée entre les familles de coléoptères varie selon les différentes associations d'habitats (Tom et Kaippallil, 2016). Par ailleurs, les variations climatiques et les techniques agricoles appliquées peuvent aussi avoir une action sur la diversité des espèces (Baghem, 2012). De même, il existe une interaction entre l'agriculture et la biodiversité, par exemple, certaines mauvaises herbes qui envahissent le champ agricole telles que les légumineuses, les ombellifères et les composées peuvent jouer un rôle écologique crucial en hébergeant et en soutenant un complexe d'arthropodes bénéfiques qui aident à supprimer les populations de ravageurs (Altieri, 1999).

Les résultats de la présente étude ont montré que le champ de céréales était l'écosystème le plus diversifié et le plus équitable. Cette étude a également démontré la présence de certaines espèces forestières dans cette zone. Cela peut s'expliquer par sa proximité d'une forêt. Les bords des champs sont généralement caractérisés par une plus grande diversité végétale qui peut fournir des ressources plus diversifiées aux espèces forestières (Aviron et al., 2003). Selon Da Silva et al. (2013) les environnements plus proches de la nature fournissent des ressources alimentaires aux espèces généralistes. Les valeurs de l'indice de Shannon-Weaver ont révélé des niveaux de diversité légèrement faibles dans les autres agrosystèmes prospectés. Ce résultat peut être lié au système de monoculture appliqué dans les régions qui n'est pas suffisant pour héberger la plupart des espèces. Il a été suggéré que les écosystèmes pérennes et les cultures annuelles conduisent à des environnements uniformes, provoquant la résilience de l'écosystème et minimiser la biodiversité (Lacoste et Salanon, 2001). D'autres facteurs, dont Les pratiques agricoles et l'expansion des monocultures au détriment de la végétation naturelle ont été considérées comme la cause principale de l'instabilité des agroécosystèmes, aboutissant à une faible diversité (Mohammedi et al., 2019).

Dans l'ensemble des parcelles prospectées, les populations de Coléoptères ont montré leurs hauts niveaux de diversité au printemps et en été. Les niveaux de diversité observés étaient légèrement inférieurs en automne et très faibles en hiver. La diversité la plus élevée a été notée en hiver au verger d'agrumes tandis que la plus faible a été signalée aux champs de pomme de terre. Dans les mêmes conditions climatiques, Mohammedi et al. (2019). ont rapporté que la diversité de l'entomo-faune la plus élevée a été trouvée dans les champs non

cultivés et la plus faible dans le champ de céréales durant leur étude menée dans le Nord-Ouest de l'Algérie. Cette perturbation de la diversité peut être due à l'intensification des pratiques culturales appliquées dans les cultures maraîchères (PDT). De même, la présence de plusieurs strates exploitables par les communautés biologiques comme sites d'hivernation et l'intégration des végétaux au sein de la parcelle ou de la bordure peuvent également être à l'origine de la diversité végétale dans les vergers (Rigamonti et Lozzia, 2002 ; Debras et *al.*, 2007). La stratégie intensive de la protection des cultures ont également été considérées comme l'une des principales causes de la destruction de l'équilibre naturel au sein du champ de pomme de terre, en réduisant la biodiversité (Debras et *al.*, 2007).

Les deux indices de Sorenson et de Jaccard ont montré des fortes similarités entre les espèces de coléoptères inventoriées dans les deux parcelles de pomme de terre, et un peu moins de similarités entre celles du verger d'agrumes et les autres milieux, mais de très faibles similarités entre le champ de céréales et la parcelle de pomme de terre 2. Il a été suggéré que les faibles valeurs de l'indice de similarité sont liées à de grandes différences de richesse, d'abondance et de dominance des espèces entre les paires de régions (Da Silva et *al.*, 2013). La similitude et la dissemblance entre la faune des différents agroécosystèmes peut être le résultat de la distance entre les stations d'études, des conditions microclimatiques et de l'hétérogénéité de la végétation.

Il s'agit du premier inventaire spécifique fournissant des informations fondamentales sur la structure communautaire de la faune coléoptère dans les agroécosystèmes du nord-ouest algérien. Ainsi, la culture annuelle et l'écosystème pérenne apparaissent clairement comme les agroécosystèmes favorables au développement de la diversité faunistique des coléoptères. Néanmoins, les cultures maraîchères constituent un milieu dans lequel se développent un petit nombre d'espèces. L'intensification des pratiques culturales dans les cultures maraîchères permet l'instabilité de ces milieux et réduit les habitats et refuges nécessaires à ces espèces, entraînant une biodiversité limitée et une perte de production agricole. De plus, la préservation d'habitats et de sites d'hivernation comme les plantes sauvages et les haies naturelles dans les milieux cultivés pour les espèces bénéfiques, comme celles trouvées dans cette étude (les Scarabeidae coprophages, les Carabidae et les coccinellidae) devraient être préservées de la dévastation afin d'adopter une stratégie de lutte durable contre les ravageurs, de soutenir l'agriculture biologique et d'améliorer la productivité de nos agroécosystèmes.

Chapitre IV
Isolement des champignons
entomopathogènes

4. Isolement des champignons entomopathogènes

4.1. Isolement à partir de *Phyllognathus excavatus*

Introduction

Afin d'utiliser les champignons entomopathogènes comme agent de lutte de nombreuses espèces d'insectes ravageurs, il faut chercher activement de ces microorganismes sur des spécimens contaminés (larves parasitées, cadavres, ... etc), les identifier et les tester.

4.1.1. Matériel et méthodes

4.1.1.1. Matériel biologique

Des larves parasitées et des cadavres (adultes) de *Phyllognathus excavatus* présentant des symptômes d'infection fongique ayant servies à l'isolement des champignons entomopathogènes, proviennent de deux sites distincts : une parcelle de pomme de terre de la commune de Sirat – Mostaganem et un verger d'agrumes de la commune de Ain Tadles – Mostaganem (fig. 15)

Les spécimens sont placés dans des boites de Pétri avec un coton humide à une température de 25° afin de favoriser la croissance mycélienne.

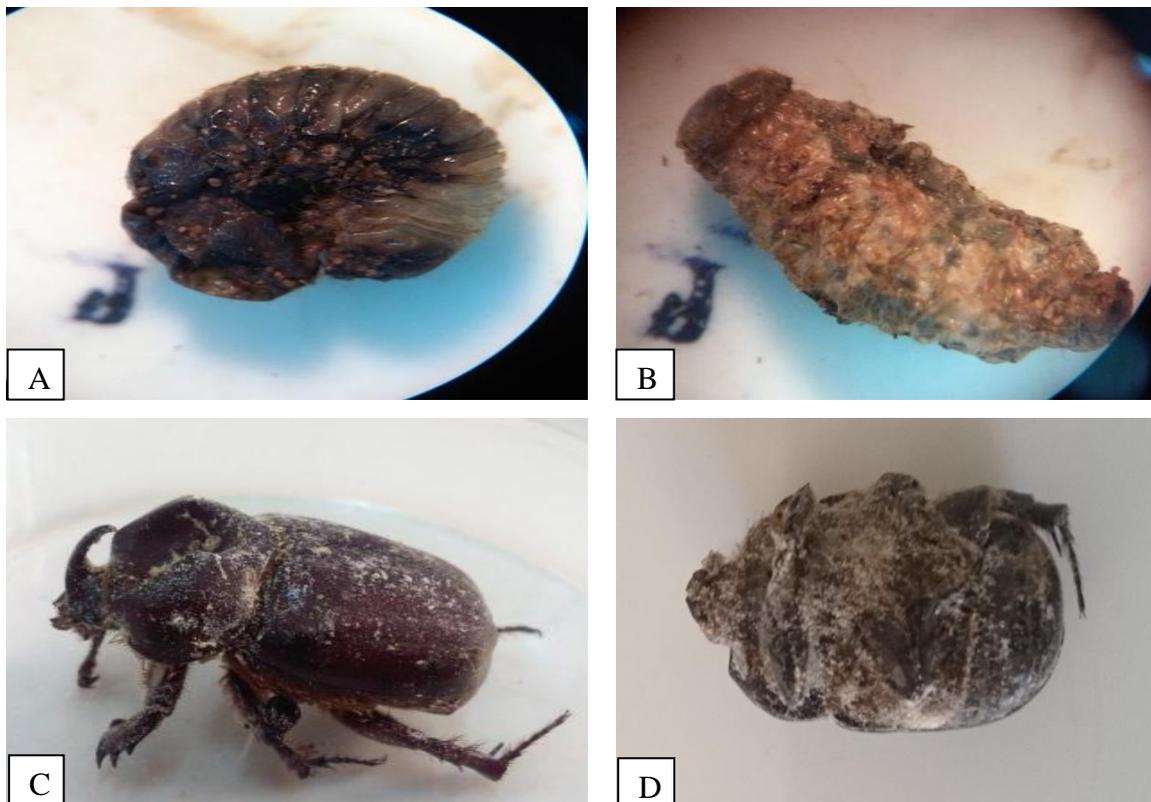


Figure. 15: Larves (A,B) et Adultes (C,D) de *Phyllognathus excavatus* présentant des symptômes d'infection fongique (Originale, 2017)

4.1.2. Méthode d'isolement des champignons

L'isolement des souches entomopathogènes, à partir des spécimens de *Phyllognathus excavatus* morts, est réalisé dans des conditions aussi stériles que possible (à proximité de la flamme du bec bunsun) pour éviter tous risques de contamination. Les cadavres sont découpés puis ils ont subi à une désinfection à l'eau de javel titrée à 2° chlorométrique pendant 2min suivant par trois rinçages à l'eau distillée stérile, ensuite, un séchage sur papier buvard stérilisé, les fragments sont alors déposées sur milieu de culture en boîtes de Pétri à raison de cinq fragments par boîte puis incubé à 25 ° C (fig. 16).

4.1.3. Milieux d'isolement

Afin d'assurer un bon développement mycélien des souches fongiques, deux milieux synthétiques ont été utilisés pour l'isolement des champignons :

- PDA: Potato Dextrose Agar (Annexe 1)
- SDA: Sabouraud Dextrose Agar (Annexe 1)

Des substances inhibitrices (antibiotiques) ont été additionnées aux milieux de culture à une concentration de 50 µg/l afin d'inhiber la croissance bactérienne (Botton *et al.*, 1990).



Figure.16 : Isolement des champignons à partir des spécimens de *Phyllognathus excavatus* morts (Originale, 2017)

4.1.4. Purification des isolats

Habituellement, les colonies développées autour des fragments de l'insecte n'étant pas toujours pures ; ils sont, dans la plus part des cas, contaminées par d'autres microorganismes. Pour cela, des repiquages successifs nécessaires sont réalisés jusqu'à obtention d'une souche

pure. Des explants de culture sont choisis au niveau de la zone périphérique de croissance des colonies et redéposés dans des boîtes de pétri contenant le milieu P.D.A. (Saiah, 2014)

4.1.5. Identification

4.1.5.1. Identification morphologique

En général, l'identification des champignons fait essentiellement appel aux caractères cultureux et à la morphologie. Pour l'identification des isolats en question, nous nous sommes basés sur leurs aspects macroscopiques et microscopiques.

4.1.5.1.1. Aspect macroscopique

Après ensemencement de quelques spores ou une petite bouture mycélienne prélevée auparavant à l'aide d'une anse de platine stérile et déposée au centre des boîtes contenant les milieux de cultures spécifiques cités ci-dessus. Les caractères cultureux ont été déterminés par une évaluation quotidienne de la croissance et du développement observés à l'œil nu sur les colonies pures après l'incubation. Ce suivi permet de rassembler des indices révélateurs sur l'identité de nos souches (couleur du mycélium aérien et sa variation au cours du temps, couleur du revers de la boîte, production de pigment diffusible, présence ou absence de gouttelettes sur le mycélium etc...)

4.1.5.1.2. Aspect microscopique

L'identification microscopique consistait à mettre un petit fragment mycélien à l'état frais entre lame et lamelle en présence d'une goutte du liquide de montage (Lacto-phénol) pour être observés au microscope optique. Le montage a été légèrement dilacéré avec deux aiguilles afin d'éviter la réalisation d'une préparation trop dense et inobservable (Botton, 1990), puis a été recouvert délicatement d'une lamelle en évitant de créer des bulles d'air. Toutes les manipulations se font entre deux bécuns Bunsen afin d'éviter tout risque de contamination.

Un ensemble de caractères morphologiques sont pris en considération lors de l'identification microscopique d'un champignon isolé en se basant sur les clés de détermination de Barnett et *al.* (1977):

- La forme du mycélium
- Le mode de ramification
- La présence ou l'absence de cloisons
- La forme et la taille des spores
- La morphologie générale du champignon

4.1.5.1.3. Conservation des isolats

Après avoir identifié les isolats, les souches obtenues, ont été conservées dans des tubes à essai inclinés contenant le milieu P.D.A., leurs conservation s'effectue à basse température entre 4 et 8°C (Wraight et *al.*, 1987).

4.1.5.2. Caractérisation moléculaire des isolats

Bien qu'il soit possible d'identifier de nombreuses espèces de champignons à l'aide de caractéristiques morphologiques, cette approche reste insuffisante pour identifier clairement les isolats collectés ; ce qui nécessite une caractérisation moléculaire des isolats afin de les confirmer jusqu'à l'espèce précise. En effet, cette technique s'est déroulée en plusieurs phases :

4.1.5.2.1. Extraction de l'AND génomique

Afin d'obtenir un matériel frais, les isolats ont été d'abord cultivés sur un milieu PDA, dans des boîtes de Pétri de 85 mm de diamètre. Après une incubation, à l'obscurité et maintenus à température ambiante, le mycélium de chaque isolat est récolté par grattage (Kouadio et *al.*, 2018). L'extraction de l'ADN a été réalisée par l'utilisation d'un kit commercial (DNAesy Mini Kit Plant de Qiagen, Germany).

4.1.5.2.2. Amplification de l'AND (PCR des ITS et Ef)

L'amplification s'effectue sur un fragment d'ADN à partir de deux amorces oligonucleotidiques s'appariant spécifiquement aux extrémités des deux brins complémentaires qui délimitent la partie d'ADN à amplifier. Pour identifier les souches isolées, une réaction de polymérisation en chaîne a été réalisée en utilisant les amorces suivantes: (Internal Transcribed Spacer : ITS1 et ITS4, Elongation factor 1-alpha : EF-728F et EF-2) (tableau 08)

Tableau 08 : Les amorces utilisées pour la caractérisation moléculaire.

Non	Séquence 5'-3'	Tm	Taille fragment	sources
ITS1	CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA	55	550 bp	<u>Gardes & Bruns (1993)</u>
ITS4	TCCTCCGCTTATTGATATGC	55		
EF-728F	CAT CGA GAA GTT CGA GAA GG	52	450 bp	<u>Carbone & Kohn (1999)</u>
EF-2	GGA RGT ACC AGT SAT CAT GTT	52		

Les réactions d'amplification ont été réalisées dans un volume final de 25 µL contenant le mélange réactionnel (tableau 09) : 5 µl de tampon Taq Promega (1X), 1,5 mM MgCl₂, 0,2 mM dNTP, 1 µl d'amorce F (10 µl), 1 µl d'amorce R (10 µl), 0,2 µl Taq polymérase Promega (1U), 2 µl d'ADN génomique et d'eau ultra pure. L'amplification par PCR était conforme au programme suivant: une dénaturation initiale à 95 ° C pendant 5 min (1 cycle) suivie d'une dénaturation à 95 ° C pendant 30 secondes; Hybridation à 55 ° C (ITS) et 52 ° C (EF) pendant 30 secondes et allongement à 72 ° C pendant 45 secondes (35 cycles). Une extension finale à 72 ° C pendant 5 min (1 cycle) a été réalisée (tableau 10).

Tableau 09 : Mixture PCR

Réactifs	Concentrations initiales	Concentrations finales	Volume à prélever
Eau ultra pure			
Tampon de Taq Promega	5X	1X	5 µl
MgCl ₂	25mM	1,5mM	1,5 µl
dNTP	25mM	0,2mM	0,2 µl
Amorce F	10µM	0,5	1µl
Amorce R	10µM	0,5	1µl
Taq polymérase Promega	5U	1U	0,2 µl
ADN génomique			2 µl
Volume final :			25 µl

Tableau 10 : Les conditions d'amplification (PCR)

	Etapes	Température (°C)	Temps
	Dénaturation initiale	95	5 min
35 cycles	Dénaturation	95°C	30 min
	Hybridation	(*) 55-52°C	30 min
	Élongation	72°C	45 min
	Élongation finale	72°C	7 min
	Stockage avant révélation	10°C	jusqu'à utilisation

(*) La température d'hybridation est de 55°C pour les amorces ITS et de 52°C pour les Ef

4.1.5.2.3. Révélation des produits PCR

Les produits d'amplification ont été révélés après une électrophorèse sur gel d'agarose à 1,5% d'un dépôt de 10µl de produits de PCR. La migration est suivie d'une coloration dans un bain de bromure d'éthidium (0,5µg/ml). Après, l'ADN a été visualisé et photographié sous UV par l'utilisation du Gel doc système de biorad (USA)

4.1.5.2.4. Purification des produits PCR

Les produits PCR ont été purifiés par le kit NucleoSpin® Gel and PCR Clean-up de Macherey- Nagel (Germany).

4.1.5.2.5. Séquençage des produits PCR

Les produits PCR isolés et purifiés ont été séquencés par la technique de Sanger (Sanger et *al.* 1977) en utilisant le kit BigDye v3.1 d'Applied Biosystems et les amorces PCR utilisées pour l'amplification des fragments d'intérêt.

Les séquences obtenues sont analysées et nettoyées par l'utilisation du logiciel CHROMAS PRO.

4.1.5.2.6. Comparaison des séquences avec la banque informatique

Les séquences finales sont alors comparées avec celles de la banque de données GeneBank par l'utilisation du Programme BLAST (Blast local Alignement Search Tool) (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> Blast) de NCBI (National Center For Biotechnology Information) pour l'identification des isolats étudiés en se basant sur le pourcentage d'homologie avec les souches de références.

4.2. Résultats et interprétation

4.2.1. Isolement des champignons entomopathogènes à partir de *Phyllognathus*

excavatus

L'isolement des champignons entomopathogènes a été effectué à partir des larves et d'adultes morts (cadavres) de *Phyllognathus excavatus*. Deux souches de champignons entomopathogènes ont été retenues (tableau 11).

En se basant sur leurs aspects macroscopiques caractéristiques de chaque isolat, les deux souches ont été repérées, ensuite ont subi à une opération de purification afin d'obtenir des cultures pures.

Tableau 11 : Les champignons isolés et leurs origines

Source	Site	Nombre d'isolats	
		PDA	SDA
Larves (<i>P. excavatus</i>)	Ain Tadles - Mostaganem	01	00
Adultes (<i>P. excavatus</i>)	Sirat - Mostaganem	00	01

4.2.2. Identification des souches isolées

4.2.2.1. Caractères morphologiques et culturaux

A l'aide des clés de détermination des champignons en se basant sur un ensemble de caractères culturaux et morphologiques à savoir la forme du mycélium, le mode de ramification, la présence ou l'absence de cloisons et la forme et la taille des spores, il s'est avéré que les deux isolats fongiques appartiendraient au deux genres différents : *Metarhizium* et *Aspergillus*.

4.2.2.1.1 Aspect macroscopique

Chacun des deux isolats *Metarhizium* sp et *Aspergillus* sp présente des caractères morphologiques et des aspects culturels différents.

D'une part, la souche *Metarhizium* sp a formé une colonie verdâtre avec un aspect cotonneux poudreux formant des îlots. Le mycélium était plat de couleur blanche, la couleur de revers était brune, ainsi que la croissance des colonies assez lente sur milieu PDA. En

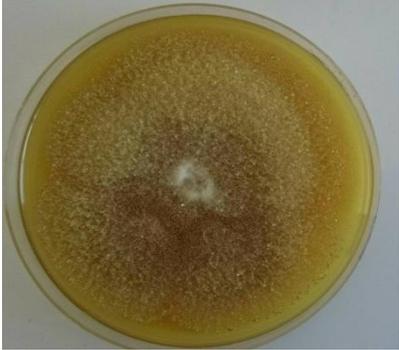
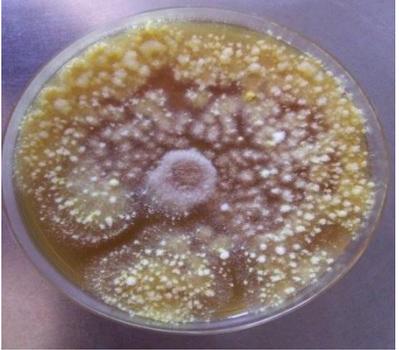
revanche, la colonie d'*Aspergillus* sp est apparue de noisette beige à marron, elle présente également une texture poudreuse duveteuse, la couleur de revers est de jaune à marron orange et un relief plat avec une croissance rapide sur le même milieu (tableau 12 et 13). Ces caractéristiques culturelles ont permis une distinction préliminaire des deux isolats.

Tableau 12: Caractéristiques macroscopiques de différents isolats.

	<i>Metarhizium acridum</i>	<i>Aspergillus terreus</i>
Relief	Plat	Plat
Texture	Ct / Pr	Dv/ Pr
Couleur	Bl puis Vf	Be puis Bn
Revers	Br	Jn puis Br Og
Aérobic	Aérien	Aérien
Vitesse de croissance (mm/j)		

Br : Brun Vf : vert foncé Bl : blanc Be : Beige Bn : brun noisette
 Og : orange Jn : jaune Ct : cotonneux Dv : Duveteux Pr : poudreux

Tableau 13 : Aspect macroscopique des souches isolées

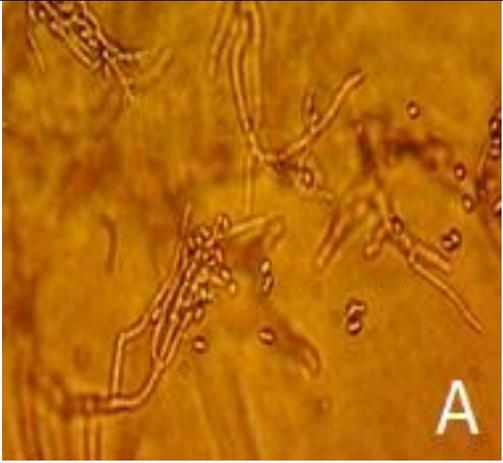
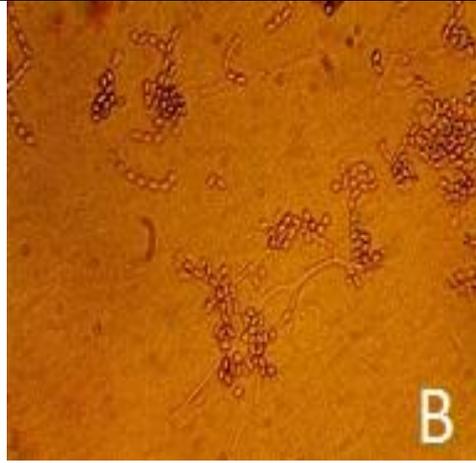
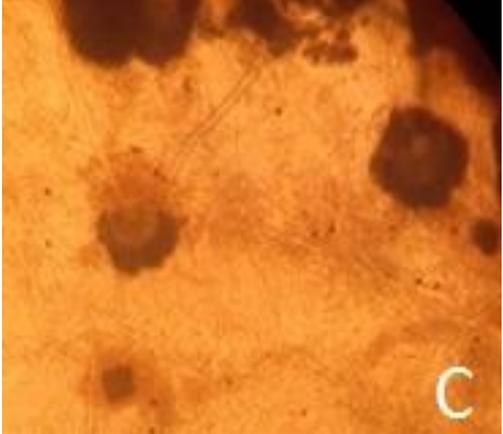
Souche	PDA	SDA
<i>Metarhizium</i> S1		
<i>Aspergillus</i> S2		

4.2.2.1.2 Aspect microscopique

L'examen microscopique de la souche *Metarhizium* a révélé des hyphes hyalins, lisses, cloisonnés et ramifiés, les conidiophores étaient irrégulièrement ramifiés, les conidies avaient une forme allongée plus ou moins cylindrique ($4,4 \times 2,7 \mu\text{m}$) avec des extrémités arrondies formant des chaînes basipétales caractéristiques du genre *Metarhizium* (Tableau 14).

Cependant, la souche d'*Aspergillus* sp présente, au microscope, une tête aspergillaire avec un aspect éventail formé de conidiophores incolores, se terminant par des vésicules globuleuses portant des phialides à leur sommet. Les conidies sont petites avec une forme globuleuse à légèrement elliptique; ils ont un diamètre moyen de $2 \mu\text{m}$ (Tableau 14).

Tableau 14: Aspect microscopique des souches isolées

<p><i>Metarhizium</i> S1</p>	 <p>A</p>	 <p>B</p>
<p><i>Aspergillus</i> S2</p>	 <p>C</p>	

A : Phialide de *Metarhizium* (x10), **B :** Conidies de *Metarhizium* (x10)

C : Tête aspergillaire (x10)

4.2.3. Caractéristiques moléculaires des isolats

4.2.3.1 Amplification PCR des ITS et Ef

L'amplification des régions ITS de l'ADNr, en utilisant les amorces universelles ITS1 et ITS4, a produit des fragments d'ADN dont la taille approximative est d'environ 550 pb pour les deux isolats *Metarhizium* sp et *Aspergillus* sp, cependant, environ 450 pb de fragments d'ADN ont été obtenus à partir de l'amplification par PCR des EF région de l'ADNr utilisant les amorces EF-728F et EF-2 pour les isolats fongiques analysés (fig 17).

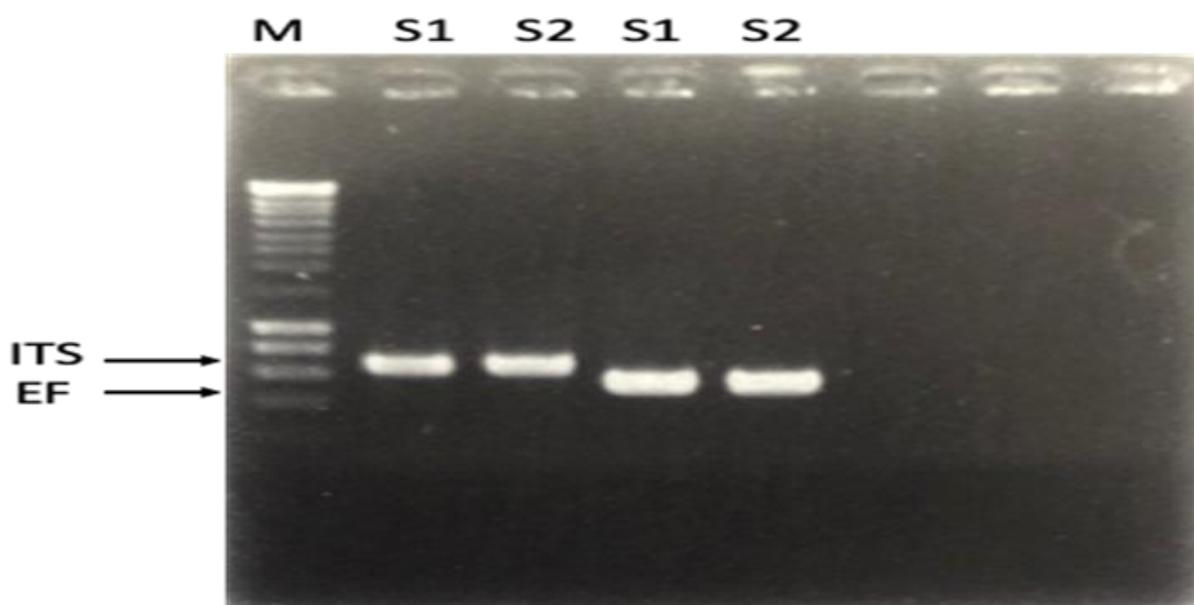


Figure 17: Profil d'amplification de l'ADNr avec les amorces ITS1 / ITS4 et les amorces EF-728F / EF-2 dans les deux isolats fongiques S1: *Metarhizium* sp, S2: *Aspergillus* sp, M: Marqueur

4.2.3.2. Séquençage des produits PCR et leurs comparaison avec la banque de données GeneBank

Ensuite, le séquençage des produits de PCR et leur comparaison avec ceux de la base de données GeneBank, l'analyse des régions ITS et EF des deux isolats ont montré une correspondance maximale avec différentes souches de *Metarhizium acridum* et *Aspergillus terreus*.

Pour la souche de *Metarhizium*, les séquences ont montré une similitude de 99% avec les espèces *Metarhizium acridum* ARSEF 7486 ITS (NR132019.1) et *Metarhizium acridum* translation elongation factor 1-alpha (EF-1alpha) (KT124636.1), tandis que les séquences de

souches d'*Aspergillus* ont montré une similitude de 100% avec l'espèce *Aspergillus terreus* isolate OUCMDZ-5167 (MK583577.1) et *Aspergillus terreus* NIH2624 facteur d'élongation 1-alpha (ATEG_03010) (XM 001212188.1) (tableau 15). Les deux isolats ont été isolés pour la première fois de *P. excavatus*.

Tableau 15: Affiliation phylogénétique des isolats

Souches	Identité	Espèces proches	Numéro d'accèsion
S1	99%	<i>Metarhizium acridum</i> ARSEF 7486 (ITS)	NR132019.1
	99%	<i>Metarhizium acridum</i> (EF)	KT124636.1
S2	100%	<i>Aspergillus terreus</i> isolate OUCMDZ-5167 (ITS)	MK583577.1
	100%	<i>Aspergillus terreus</i> NIH2624 (EF)	XM 001212188.1

4.3. Discussion

L'exploration des échantillons collectés dans le présent travail a abouti à la récolte de deux isolats entomopathogènes à partir des larves et d'adultes morts de *P. excavatus* présentant des symptômes d'infection fongique, trouvés dans les champs cultivés.

Compte tenu de leurs caractéristiques morphologiques, les deux isolats ont été identifiés comme étant *Metarhizium sp* et *Aspergillus sp*. En se basant sur la morphologie des conidies, la première espèce *Metarhizium* présentait des conidies de forme allongée plus ou moins cylindrique (4,4 x 2,7 µm) avec extrémités arrondies formant des chaînes basipétales. Selon Driver et *al.*, 2000, la morphologie des conidies est considérée comme le seul caractère morphologique potentiellement utile pour distinguer plusieurs espèces. Une souche de référence utilisée lors de la caractérisation des isolats de genre *Metarhizium* au Mexique a révélé des dimensions des conidies de 4,5 x 2,6 µm (Navarro-Barranco et *al.*, 2018). A l'inverse, la seconde espèce *Aspergillus* a révélé des petites conidies de forme globuleuse à légèrement elliptique et ayant un diamètre moyen de 2 µm insérées sur une tête aspergillaire caractéristique du genre *Aspergillus*. Selon Balajee (2009), Les conidies d'*Aspergillus terreus* varient en taille de 1,5 à 2,4 µm de diamètre, lisses, globuleuses à légèrement elliptiques et striées.

Bien qu'il soit possible d'identifier de nombreuses espèces de champignons en reposant sur leurs caractéristiques morphologiques, cette approche reste insuffisante pour identifier clairement les isolats collectés. Selon Entz et *al* 2005, les espèces fongiques peuvent avoir une morphologie différente lorsqu'elles sont exposées dans des conditions environnementales et physiologiques variables. Il est également noté qu'à la base de la taille et de la forme des spores, le *M. anisopliae* var. *acridum* est difficilement distinguable des autres variétés de *M. anisopliae*. (Lomer et *al.*, 2001). Ainsi, l'examen morphologique n'est pas suffisant pour identifier avec précision les variétés et les espèces de *Metarhizium spp* (Kouadio et *al.*, 2018). D'autre part, plusieurs travaux ont clairement montré que les méthodes morphologiques sont des marqueurs insuffisants pour identifier les espèces du genre *Aspergillus*, alors que les méthodes moléculaires peuvent être utiles pour l'identification. (Hong et *al.*, 2008, Balajee et *al.*, 2005).

Par conséquent, les approches moléculaires ont été utilisées en complément des méthodes morphologiques; ils permettent de détecter des variations entre organismes à partir de séquences nucléotidiques (Kouadio et *al.*, 2018, Entz et *al.*, 2005, Driver et *al.*, 2000).

Nos données ont montré que l'analyse moléculaire des régions ITS de l'ADNr et les régions EF amplifiée à l'aide d'amorces :

ITS1: 5'-CTTGGTCATTTAGAGGAAGTA A-3'

ITS4: 5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC -3') Gardes & Bruns (1993),

EF-728F : 5'-CAT CGA GAA GTT CGA GAA GG-3'

EF-2 : 5'- GGA RGT ACC AGT SAT CAT GTT-3') Carbone & Kohn (1999)

Confirme que les deux isolats enregistrés correspondaient à *Metarhizium acridium* et *Aspergillus terreus*. La comparaison des ITS d'ADNr des isolats fongiques obtenus par rapport à la base de données GenBank (NCBI) a indiqué que les isolats présentaient une homologie de 99% avec *Metarhizium acridium* ARSEF 7486 et *Metarhizium acridium* (EF-1alpha) (NR132019.1; KT124636.1) et 100% d'identité avec l'isolat d'*Aspergillus terreus* OUCMDZ-5167 et d'*Aspergillus terreus* NIH2624 EF1-alpha (ATEG-03010) (MK583577.1; XM 001212188.1).

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) basé sur les marqueurs moléculaires, comme les séquences ITS-ADNr, a été largement appliqué pour identifier les champignons et déterminer la diversité génétique (Driver et al., 2000, Benserradj 2014, Kouadio et al., 2018). Ces dernières sont toujours considérés comme des codes-barres d'ADN les plus couramment utilisés (Rogee et al., 2017). Néanmoins, plusieurs études ont montré certaines difficultés à différencier les séquences voisines en fonction de la séquence ITS-ADNr (Bruns 2001, Geiser 2004, Bischoff et al., 2009, Kouadio et al., 2018). De plus, dans certains genres, comme *Metarhizium*, le manque de sites informatifs entraîne une mauvaise résolution pour certains clades (Driver et al., 2000). Par conséquent, l'analyse phylogénétique, utilisant des informations de séquence provenant de plusieurs régions codant pour des protéines, peut clarifier la taxonomie de ces isolats. Une autre approche (PCR) multiplex couvrant les régions EF-1 α , RPB1, RPB2 et du gène β -tubulin a été proposé pour classer et différencier précisément les souches fongiques (Bischoff et al., 2009, Kouadio et al., 2018).

Chapitre V
Etude de pathogénicité des
champignons isolés sur les
larves de Geotrogus
deserticola

5. Etude de pathogénicité des champignons isolés sur les larves de *Geotrogus deserticola*

Introduction

De nombreux symptômes observables sur des spécimens ou des cadavres sont à l'origine d'une infection fongique, néanmoins des contaminations artificielles (postulat de Kock) sont nécessaires avant de prendre aucune décision sur l'agent pathogène.

Ce chapitre représente les tests de l'effet pathologique des champignons isolés préalablement sur des larves de *Geotrogus deserticola* (Melolonthinae - Scarabaeidae) même famille que celle servi à l'isolement.



Figure18: A) les dégâts de *G. deserticola* dans un champ de blé ; B) *G. deserticola* sur les racines de blé (Originale 2019).

5.1. Matériel et méthodes

5.1.1. Matériel biologique

Des larves de 3^{ème} stade de *Geotrogus deserticola* récoltées à partir d'une parcelle de blé dur infestée de la commune de Sidi Ali – Mostaganem, font l'objet de nos tests. Les larves capturées ont été transportées au laboratoire dans des boîtes en plastique avec de la terre d'origine de la parcelle afin de favoriser la survie pendant le transport.

Les deux champignons *Metarhizium acridum* et *Aspergillus terreus* sont utilisés pour le test pathologique

5.1.2. Substrats

Afin de mieux déterminer l'efficacité des deux champignons testés, deux substrats sont utilisés pour les biotests :

- Un comportement des larves de *Geotrogus deserticola* est mis dans des boîtes de Pétri contenant le sol de la parcelle origine de collecte des larves.
- En parallèle, d'autre comportement des larves sont mis dans des boîtes de Pétri contenant du coton humidifié. En effet, celui-ci maintient le milieu humide durant une période permettant le bon développement des larves (fig. 19).



Figure 19 : Dispositif expérimental pour le test de pathogénicité

5.1.3. Conduite de biotests par les champignons isolés

Les tests de pathogénicité sont effectués par la méthode de pulvérisation directe sur les larves de *Geotrogus deserticola* (vivantes non parasitées).

Nous avons choisi cinq doses de suspension de spores à savoir : 10^8 , 10^7 , 10^6 , 10^5 et 10^4 spores/ml, additionné d'une goutte de Tween 80. Le test est réalisé sur des lots de 10 larves avec trois répétitions. Chaque lot est traité par une seule dose, d'une seule espèce.

De même, les larves de lot témoin est traité par l'eau distillée stérile contenant une goutte de tween 80. Un lot témoin zéro, non inoculé est également retenu.

Le comptage des taux de mortalité a été effectué quotidiennement afin de déterminer l'effet de ces champignons sur les larves traitées. Le pourcentage de mortalité corrigé a été calculé afin d'éliminer la mortalité naturelle et de connaître la toxicité réelle des bio-larvicides en utilisant la formule de (Schneider et Oreilli, 1947) :

$$\text{Mortalité corrigée (MC \%)} = \frac{M2 - M1}{100 - M1} * 100$$

Où

M2 : Pourcentage de mortalité dans le lot traité.

M1 : Pourcentage de mortalité dans le lot témoin.

5.1.4. Analyses statistiques

5.1.4.1. Analyse de la variance

Afin de déterminer la variabilité des échantillons, une analyse de variance est recommandée pour faire comparer les moyennes (Dagnelie, 1975).

Nous avons réalisé une analyse de la variance à deux facteurs avec répétition dans le but d'identifier l'efficacité de chaque facteur étudié.

5.1.4.2. Le test de Newman Keuls au seuil de 5%

Ce test est appliqué en cherchant la plus petite différence significative. Il permet de comparer les moyennes deux à deux afin de les classer en groupes homogènes et en groupes hétérogènes selon leurs niveaux de signification.

5.1.4.3. L'analyse Probit

A travers ce troisième test, les taux de mortalité corrigée sont tabulés et transformés en probit (Cavalier, 1976), afin d'estimer la dose nécessaire et suffisante pour tuer la moitié de la population (DL_{50}) et le temps létal au bout duquel on obtient 50% de mortalité (TL_{50}).

Les DL_{50} et les TL_{50} sont calculés par des équations de droit de régression « probit-logarith » selon la formule suivante :

$$Y = a x + b$$

Où ;

Y : probit des mortalités corrigées

x : logarithmes de la dose ou du temps

a : la pente

5.2. Résultats et interprétation

5.2.1. Essai de pathogénicité des champignons isolés à partir de *Phyllognatus excavatus* sur les larves de *Geotrogus deserticola*

5.2.1.1. Effet de *Metarhizium acridum* sur les larves de *Geotrogus deserticola* dans le sol

5.2.1.1.1. Taux de mortalité

A la suite au test d'inoculation des larves de *G. deserticola* par le champignon *M. acridum*, on remarque des mortalités dans l'ensemble des lots traités. Les taux de mortalité au sein des larves ont été notés quotidiennement pour chacune des concentrations pulvérisées et pour l'ensemble des répétitions. Les moyennes des mortalités cumulées ont été représentées dans le tableau 1 (Annexe 2). En effet, la mortalité des larves augmente proportionnellement en fonction des doses dans le temps.

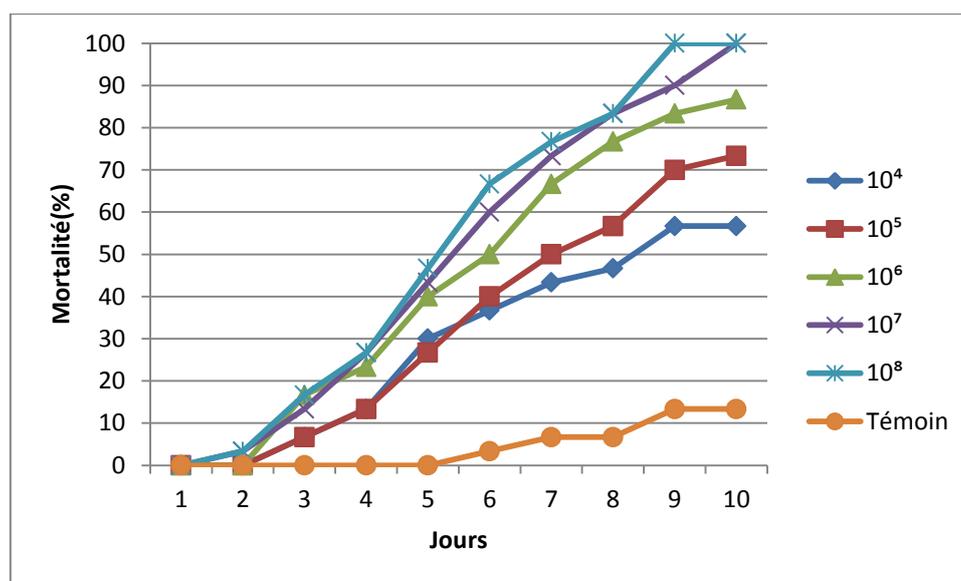


Figure 20: Effet de différentes concentrations de *Metarhizium acridum* sur la mortalité des larves de *Geotrogus deserticola* dans le sol

La figure 20 présente clairement la progression des pourcentages de mortalité des larves sous l'effet des différentes doses de *Metarhizium acridum*, les résultats obtenus montrent que l'effet de faible dose D1(10⁴) est aperçu à partir du 3^{ème} jour de traitement avec 6,66 % de mortalité et progressé, par la suite pour atteindre son maximum de 56,66% de mortalité à la fin de l'essai

Par ailleurs, la dose la plus élevée D5(10⁸) a provoqué des mortalités dès le deuxième jour du traitement et a réussi d'éliminer la totalité de population traitée au bout de 09 jours de traitement.

Il est noté que seulement les deux doses D5 (10⁷) et D6 (10⁸) qui étaient capables de tuer la totalité des larves durant la période de ce bio-test. Le taux de la mortalité naturelle n'a dépassé que 13% à la fin de l'essai.

5.2.1.1.2. Analyse de la variance

L'analyse de la variance des deux facteurs dose et temps, nous révèle une différence significative ($P \leq 0.05$), cela nous indique que les doses de *M. acridum* (Facteur1), le temps (Facteur2) ainsi que l'interaction entre ces deux facteurs, ont une influence sur le taux de mortalité des larves de *G. deserticola* (tableau 16).

Tableau 16: Analyse de la variance

Source des variations	SCE	DDL	CM	F	P	Valeur critique pour F
Var.Total	1944,64	179				
Var.Facteur1	467,54	5	93,51	280,54	1,98563E-64	2,28
Var.Facteur2	1218,2	9	135,35	406,06	2,01367E-85	1,95
Var.Inter F1*2	218,86	45	4,86	14,59	1,6701E-31	1,47
Var.Résiduelle	40	120	0,33			

5.2.1.1.3. Test du Newman keuls

Pour regrouper les moyennes de mortalités des larves traitées par différentes concentrations, un test de Newman keuls à 5% est effectué en prendre en considération leurs degrés de différence.

A travers cette analyse statistique, le classement des moyennes de mortalité en fonction de dose et en fonction du temps révèle 6 groupes bien distincts (Annexe 3). Le groupe A renferme les taux de mortalité les plus élevés (52%) correspond à la dose D5 (10⁸ spores/ml)

et le groupe F qui correspond à la mortalité naturelle de lot témoin non traité. Les mortalités correspondant aux doses D4, D3, D2 et D1 sont classées respectivement dans les groupes (B), (C), (D) et (E).

Par ailleurs, les moyennes de mortalité en fonction du temps sont regroupées en 10 groupes hétérogènes dont le premier groupe A correspond aux mortalités moyennes les plus élevées (71,66%) relatives au 10^{ème} jour et le groupe J correspond aux mortalités nulles enregistrées dans le premier jour de traitement. (Annexe 3)

5.2.1.1.4. Calcul de DL₅₀

Afin d'estimer la dose nécessaire et suffisante pour tuer la moitié de la population (DL₅₀), nous avons transformé les moyennes de mortalité enregistrées en 6^{ème} jour en probit (Annexe 4). A base de ces données, la droite de régression avec son coefficient de détermination a été tracée pour déterminer la DL₅₀ relative à la mortalité de 50% des larves.

A partir de droit de régression, on constate que $Y = 0,204 x + 3,786$

Pour une mortalité de 50% , Y est égale à 5 (Probit)

$$x = \frac{5 - 3,786}{0,204} \quad x = 5,95$$

$$\text{antilog } x = 891250,93$$

Cette concentration a été arrondie à 0,89 x 10⁶ spores/ml

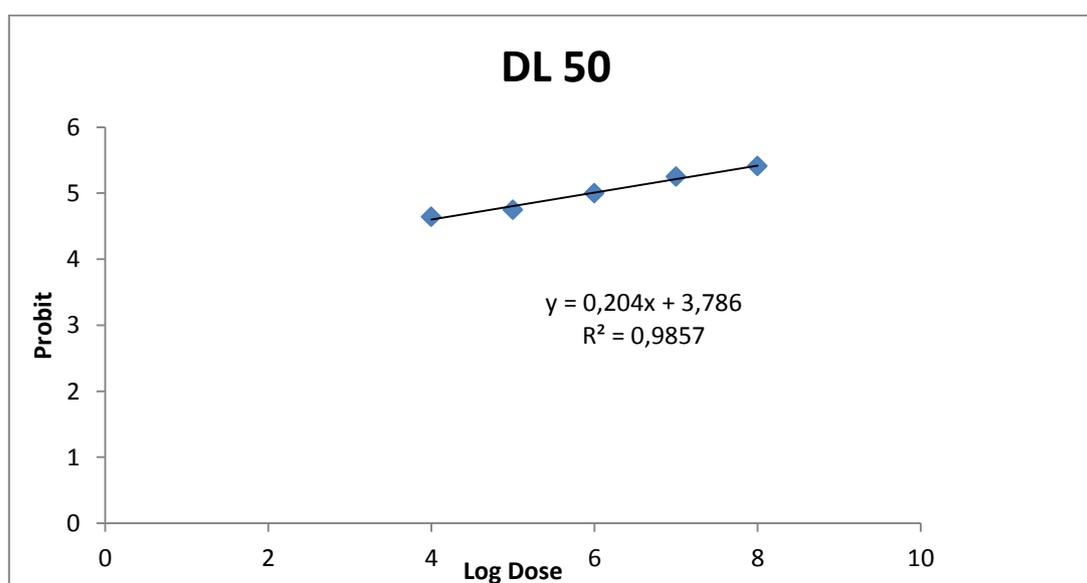


Figure 21 : Taux de mortalité des larves de *G. deserticola* sous l'effet de *M. acridum* noté au 6^{ème} jour du traitement dans le sol

5.2.1.1.5. Calcul des TL₅₀

A partir du calcul des TL₅₀ (temps léthal au bout duquel on obtient 50% de mortalité) de *M. acridum* testé sur les larves de *G. deserticola*, on déduit que le temps varie proportionnellement avec la variation de la dose.

Les résultats concernant les valeurs du TL₅₀ des cinq doses sont présentés dans les figures 10 et 11. Pour cela nous avons effectué la transformation des pourcentages de mortalité en Probits et celles des temps en logarithme décimal (Annexe 4).

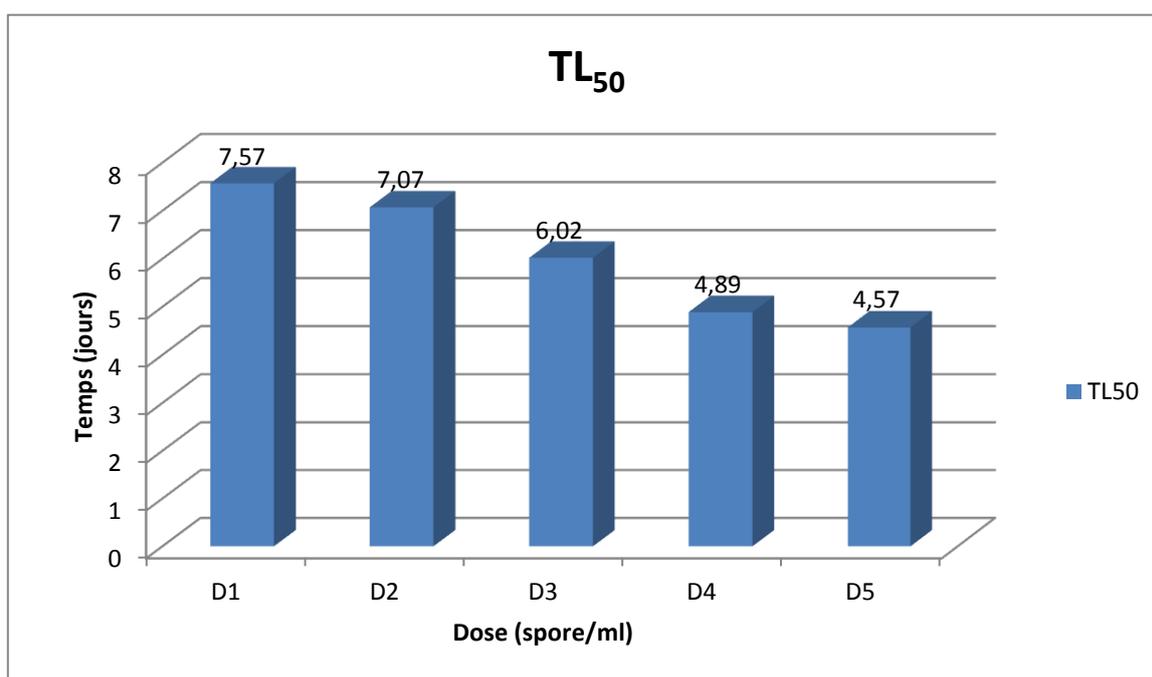


Figure 22 : les valeurs du TL₅₀ relatifs aux différentes doses de *M. acridum* D1, D2, D3, D4 et D5 appliquées dans le sol

A partir des équations de droites de régression, nous avons déduit les valeurs du TL₅₀ relatifs à chaque dose. La figure 22 montre clairement la différence entre les TL₅₀ pour les cinq concentrations appliquées. Le temps de 4,57 jours était suffisant pour tuer les 50% des larves de *G. deserticola* traitées par la dose la plus élevée D5 (10⁸), alors que les TL₅₀ pour les doses D4, D3, D2 et D1, les TL₅₀ sont de l'ordre de 4,89, 6,02, 7,07 et 7,57 jours respectivement

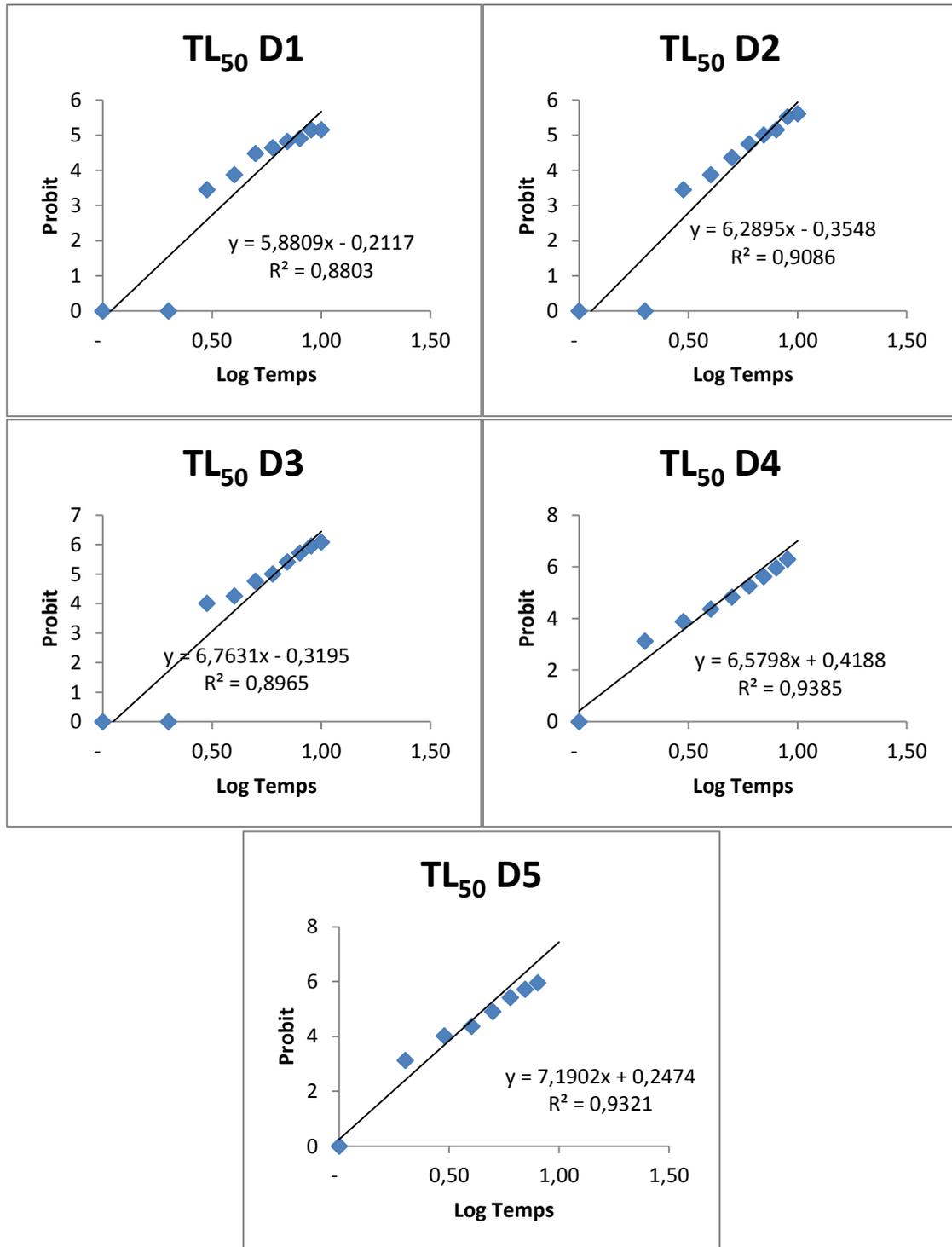


Figure 23 : Efficacité de *M. acridum* dans le temps vis-à-vis des larves de *G. deserticola* traitées par les différentes doses D1, D2, D3, D4 dans le sol

5.2.1.2. Effet d'*Aspergillus terreus* sur les larves de *Geotrogus deserticola* dans le sol

5.2.1.2.1. Taux de mortalité

Après avoir pulvérisé la suspension à base des spores d'*Aspergillus terreus*, des mortalités remarquables ont été enregistrées au sein des populations des larves de *Geotrogus deserticola*.

De même, Les pourcentages des mortalités cumulées ont été présentés dans le tableau 2 (Annexe 2) et dans la figure 24, avec une progression proportionnelle en fonction des doses dans le temps.

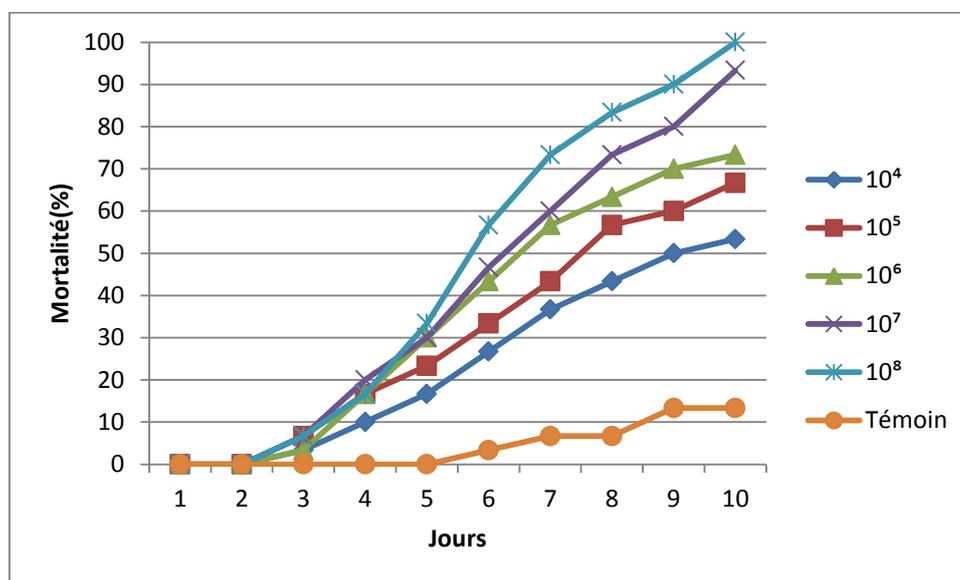


Figure 24: Effet de différentes concentrations d'*A. terreus* sur la mortalité des larves de *G. deserticola* dans le sol

Nous avons remarqué que la mortalité des larves traitées par la souche d' *Aspergillus terreus* a commencé à partir du troisième jour de traitement par la dose la plus élevée D5 (10^8) avec un taux de 6,66% pour atteindre son maximum (100%) au dixième jour de traitement, cependant, la mortalité observé chez les larves traitées par la faible dose D1 (10^4) n'a commencé qu'avec un taux de 3,33% le troisième jour du traitement et elle n'a dépassé que les 53% à la fin de test (fig. 24).

Alors que les taux de mortalité de celles qui représente le lot témoin n'ont dépassé que 13% au dixième jour de l'essai.

5.2.1.2.2. Analyse de la variance

Afin de mieux interpréter les résultats obtenus, nous nous sommes appuyés sur l'analyse de la variance à deux facteurs avec répétition : les différentes doses D1, D2, D3, D4 et D5 et le temps avec 10 niveaux indiquant 10 jours d'observations.

L'analyse de la variance à deux critères de classification révèle une différence significative entre les moyennes de mortalité enregistrées pour les deux facteurs : dose et temps. (Tableau 17)

Tableau 17: Analyse de la variance

Source des variations	SCE	DDL	CM	F	P	Valeur critique pour F
Var.Total	1638,86	179				
Var.Facteur1	331,16	5	66,23	229,26	1,23424E-59	2,28
Var.Facteur2	1071,13	9	119,01	411,97	8,71064E-86	1,95
Var.Inter F1*2	201,89	45	4,48	15,53	8,46667E-33	1,47
Var.Résiduelle	34,66	120	0,28			

5.2.1.2.3. Test de Newman keuls

Cette analyse permet de déterminer clairement la différence entre les moyennes de mortalités engendrées suite à l'application des différentes concentrations d'*Aspergillus terreus*

Pour le facteur dose, le test de Newman Keuls révèle la présence de six groupes hétérogènes correspondant aux différentes doses (Annexe 3).

Le premier groupe (A) regroupe les taux de mortalité provoqués par la dose la plus élevés D5, suivi par les groupes (B, C, D et E) qui correspond avec les doses D4,D3,D2 et D1 respectivement. Alors que le dernier groupe (F) intéresse la dose nulle (témoin D0).

D'autre part le test du facteur temps révèle 09 groupes bien distincts, le groupe (A) intéresse le maximum de mortalité (66,66%) enregistré à partir du 10^{ème} jour tandis que le

groupe I correspond aux mortalités nulles enregistrées dans le premier et le deuxième jour de traitement. (Annexe 3)

5.2.1.2.4. Calcul de DL₅₀

Après la transformation des moyennes de mortalité enregistrées en 6^{ème} jour en probit (Annexe 4), nous avons estimé la dose nécessaire et suffisante pour tuer la moitié de la population des larves (DL₅₀) à partir de la droite de régression avec son coefficient de détermination.

A partir de droit de régression, on constate que $Y = 0,192x + 3,606$

Pour une mortalité de 50% , Y est égale à 5 (Probit)

$$x = 5 - 3,606 / 0,192 \quad x = 7,26$$

$$\text{antilog } x = 18197008$$

Cette concentration a été arrondie à $1,8 \times 10^7$ spores/ml

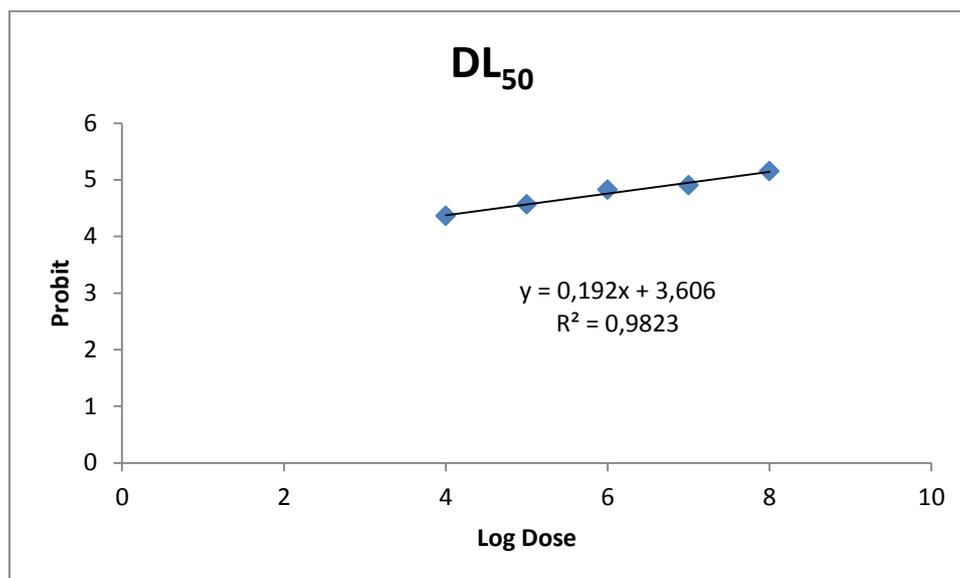


Figure 25 : Taux de mortalité des larves de *G. deserticola* sous l'effet d'*A. terreus* noté au 6^{ème} jour du traitement

5.2.1.2.5. Calcul des TL₅₀ :

Une variation proportionnelle du temps avec la variation de la dose d'*A. terreus* testé sur les larves de *G. deserticola*, est enregistrée lors le calcul des TL₅₀ (temps léthal au bout duquel on obtient 50% de mortalité).

Les figures 26 et 27 montrent les résultats concernant les valeurs du TL₅₀ des cinq doses pulvérisées. Pour cela, les pourcentages de mortalité sont transformés en Probits et ceux du temps en logarithme décimal (annexe 4).

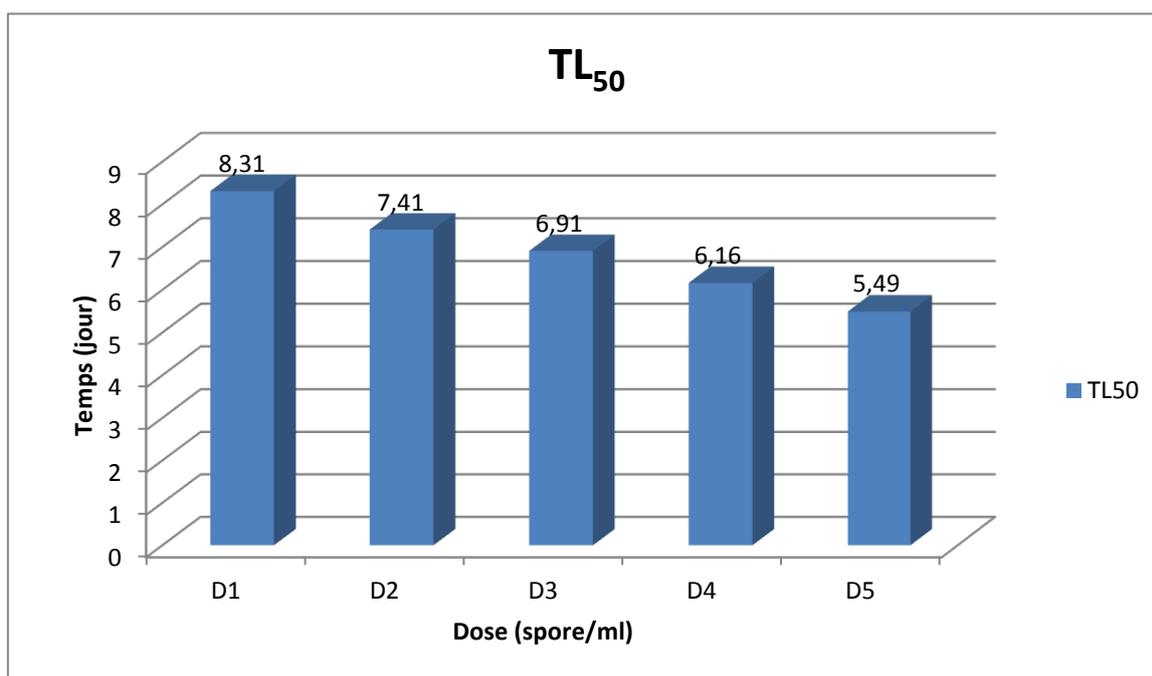


Figure 26: Les valeurs du TL₅₀ relatifs aux différentes doses d'*A. terreus* D1, D2, D3, D4 et D5 appliquées dans le sol

La figure 26 montre clairement la différence entre les valeurs de TL₅₀ relatifs aux cinq doses appliquées. Les 50% des larves de *G. deserticola* traitées par la dose la plus élevée D5 (10^8) d'*Aspergillus terreus* sont tuées au bout du temps de 5,49 jours, alors que les TL₅₀ pour les doses D4, D3, D2 et D1, les TL₅₀ sont de l'ordre de 6,16, 6,91, 7,41 et 8,31 jours respectivement.

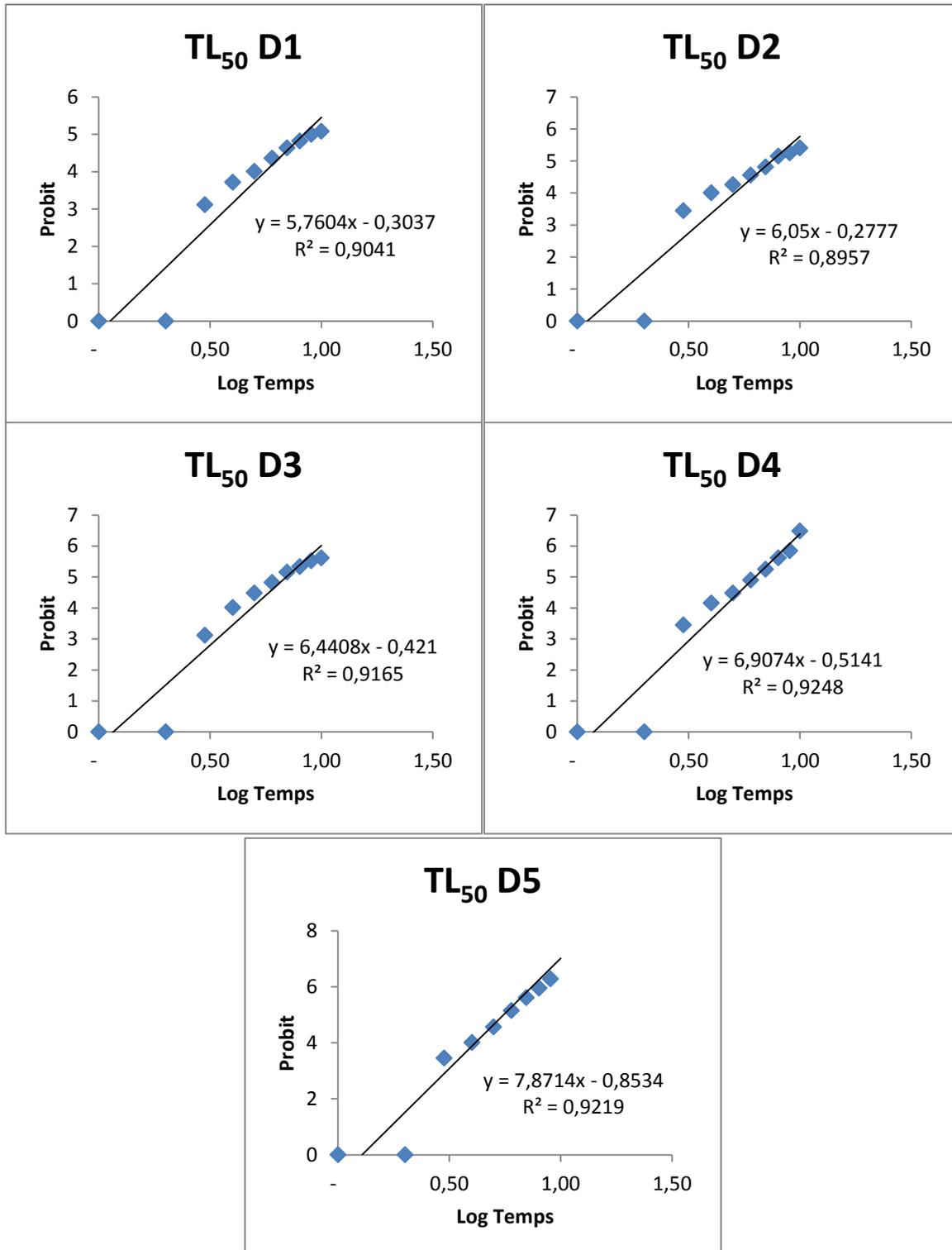


Figure 27 : Efficacité d'*A. terreus* dans le temps vis-à-vis des larves de *G. deserticola* traitées par les différentes doses D1, D2, D3, D4 dans le sol

5.2.1.3. Effet de *Metarhizium acridum* sur les larves de *Geotrogus deserticola* hors sol

5.2.1.3.1. Taux de mortalité

Pour tester l'influence de substrat sur l'efficacité des deux champignons, des bio-essais sont menés dans des boîtes contenant du coton humidifié.

Les pourcentages cumulés de mortalité journalière des larves traitées par *M. acridum* sont représentés dans le tableau 3 (Annexe 2).

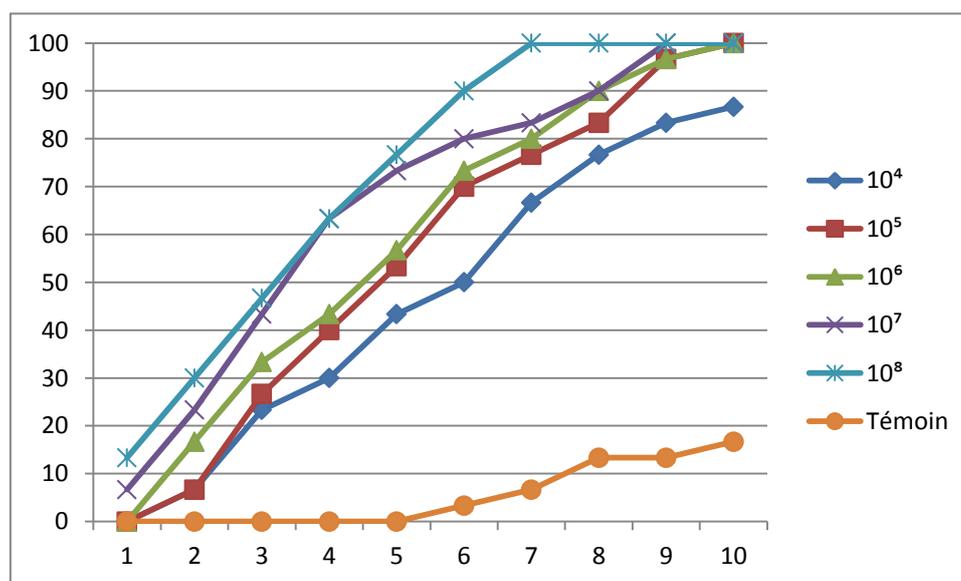


Figure 28: Effet de différentes concentrations de *M. acridum* sur la mortalité des larves de *G. deserticola* hors sol.

La figure 28 ci-dessus montre que les premières mortalités ont été enregistrées après seulement 24 heures du traitement au sein des larves des lots traités par les doses D4 et D5 et après 48 pour ceux traités par les doses D1, D2 et D3; provoquant des taux de mortalité allant de 6 à 13%. La dose la plus élevée D5 a provoqué un taux de mortalité de 100% au septième jour du traitement.

Nous avons aussi remarqué que l'ensemble des doses D2, D3, D4 et D5 de *M. acridum* ont réussi éliminer la totalité des larves, tandis que le pourcentage de mortalité n'a dépassé que 16% pour le lot témoin à la fin du test.

5.2.1.3.2. Analyse de la variance

L'analyse de la variance de deux facteurs de classification (Doses et temps ainsi que leurs interactions.) a révélé une différence hautement significative entre les moyennes de mortalité, ce qui nous indique l'influence de ces deux facteurs (concentration et la durée de traitement sur les taux de mortalité des larves de *G. deserticola* (tableau 18).

Tableau 18: Analyse de la variance

Source des variations	SCE	DDL	CM	F	P	Valeur critique pour F
Var.Total	2408,91	179				
Var.Facteur1	858,54	5	171,76	594,58	7,25094E-83	2,28
Var.Facteur2	1315,13	14	146,12	505,82	5,66667E-91	1,95
Var.Inter F1*2	200,26	45	4,45	15,40	1,24953E-32	1,47
Var.Résiduelle	34,66	120	0,28			

5.2.1.3.3. Test de Newman keuls à 5%

Six groupes significativement différents ont été classé à travers le test de Newman keuls à 5% pour le facteur dose (Annexe 3).

Le groupe A correspond au maximum de mortalité (72%) provoquée par la dose la plus élevée D5, suivi par les groupes B, C, D et E relatifs aux taux de mortalité allant de 66% jusqu'à 46% d'une manière décroissante respectivement.

Alors que le groupe E représente les taux de mortalités enregistrées sur les larves du lot témoin (non traité).

Pour le facteur temps, le test révèle la présence de dix groupes différents indiquant les dix jours de traitement dont le premier groupe A renferme les taux les plus élevés de mortalité tandis que le groupe J représente les taux notés au premier jour de traitement.

5.2.1.3.4. Calcul de DL₅₀

Les taux de mortalité enregistrés en fonction des dose dans le quatrième jour de traitement sont transformés en probit en relation avec les logarithmes décimaux des différentes doses appliquées de *Metarhizium acridum* afin d'estimer le DL₅₀ capable d'éliminer la moitié des populations des larves de *Geotrogus deserticola* (Annexe 4)

A partir de droit de régression, on constate que $Y = 0,228x + 3,574$

Pour une mortalité de 50% , Y est égale à 5 (Probit)

$$x = 5 - 3,574 / 0,228 \quad x = 6,25$$

$$\text{antilog } x = 177827,41$$

Cette concentration a été arrondie à $1,7 \times 10^5$ spores/ml

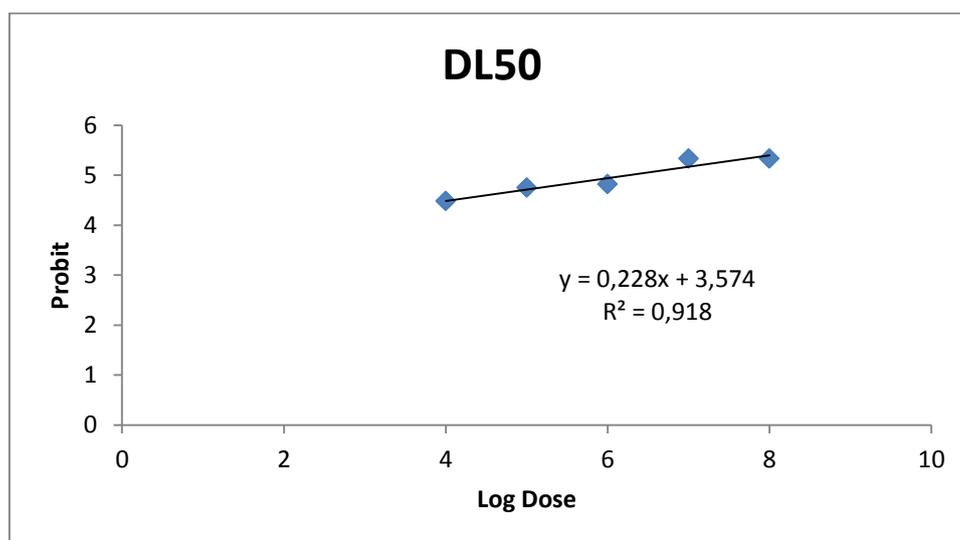


Figure 29 : Taux de mortalité des larves de *G. deserticola* sous l'effet de *M. acridum* noté au 4^{ème} jour du traitement hors sol

5.2.1.3.5. Calcul des TL₅₀ :

Pour calculer les TL₅₀ relatifs aux cinq doses de *Metarhizium acridum* testé sur les larves de *G. deserticola* hors sol, nous avons transformé les pourcentages des mortalités en probit et le temps en log décimal (Annexe 4).

A partir des équations des droites de régressions (Fig. 30), nous avons calculé les valeurs des TL₅₀ pour chaque dose.

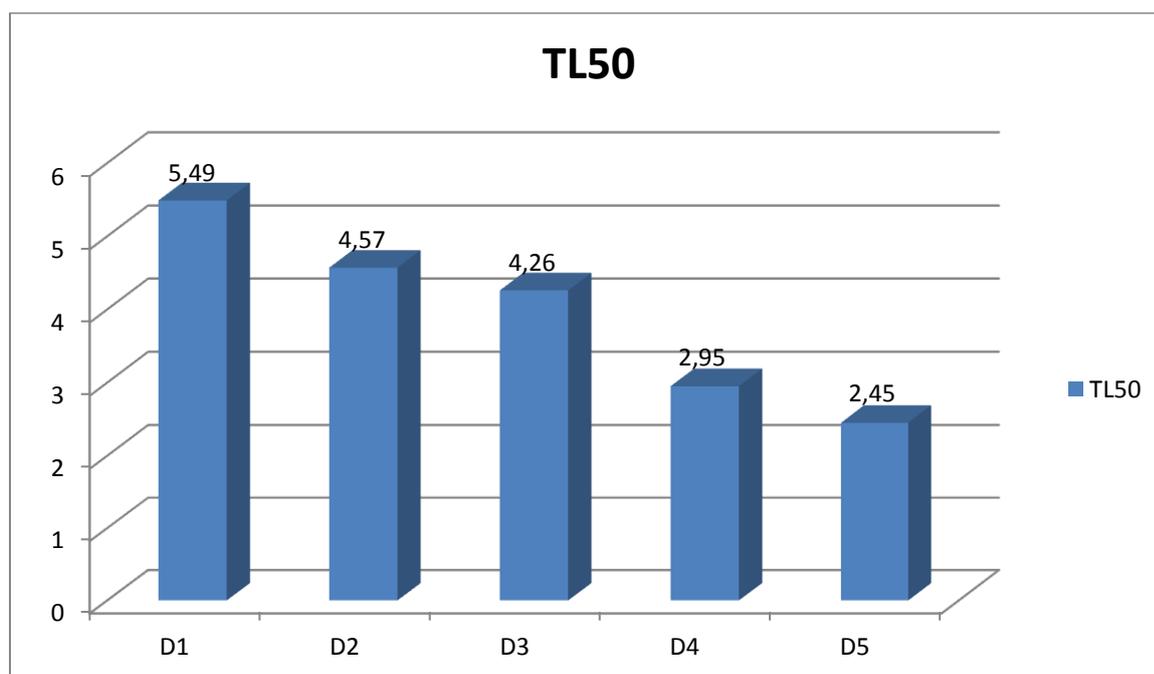


Figure 30 : les valeurs du TL₅₀ relatifs aux différentes doses de *M. acridum* D1, D2, D3, D4 et D5 appliquées hors sol

La figure 30 présente la différence entre les différentes valeurs de TL₅₀ relatifs aux cinquante concentrations appliquées. Le temps de 2,45 jours était suffisant pour tuer la moitié des larves de *G. deserticola* traitées par la dose la plus élevée D5 (10⁸) de *M. acridum* hors sol, alors que les TL₅₀ pour les doses D4, D3, D2 et D1, les TL₅₀ sont de l'ordre de 2,95, 4,26, 4,57 et 5,49 jours respectivement.

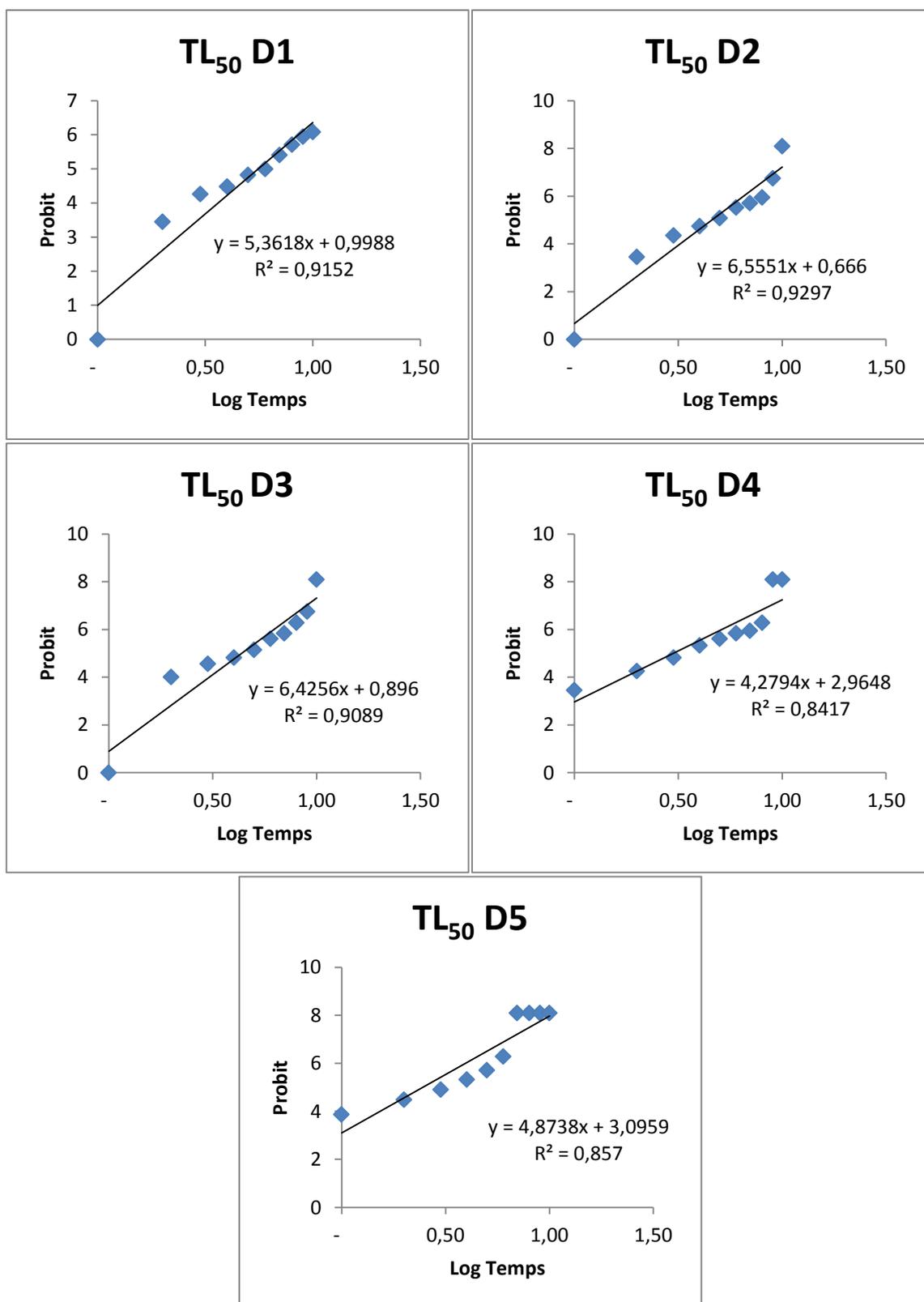


Figure 31 : Efficacité de *M. acridum* dans le temps vis-à-vis des larves de *G. deserticola* traitées par les différentes doses D1, D2, D3, D4 hors sol

5.2.1.4. Effet d'*Aspergillus terreus* sur les larves de *Geotrogus deserticola* hors sol

5.2.1.4.1. Taux de mortalité

Les résultats relatifs aux pourcentages de mortalités moyennes des larves traitées par *Aspergillus terreus* hors sol sont mentionnés dans le tableau 4 (Annexe 2) et représentés par la figure 32.

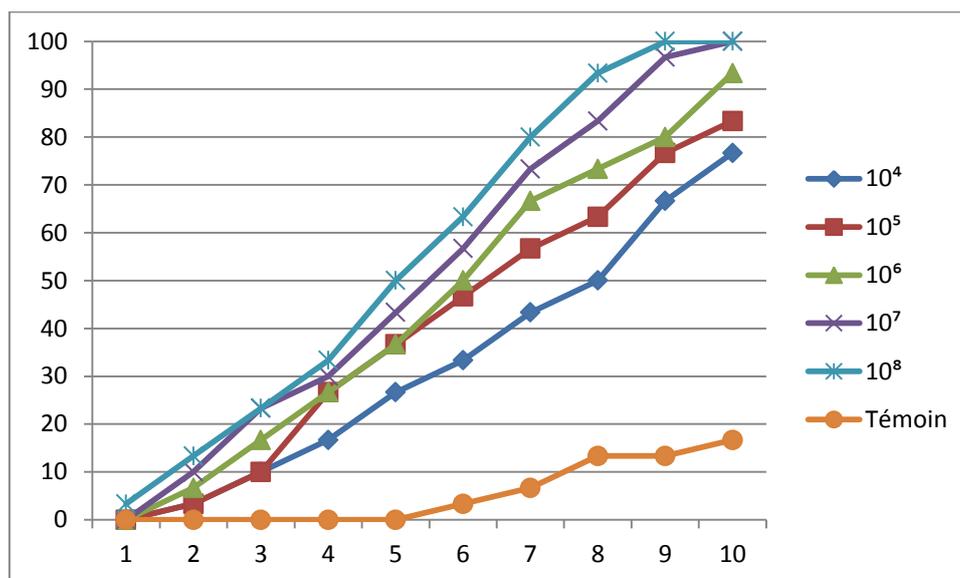


Figure 32: Effet de différentes concentrations d'*A. terreus* sur la mortalité des larves de *G. deserticola* hors sol

Les essais biologiques d'*Aspergillus terreus* sur les larves de *G. deserticola* hors sol ont montré que le début de mortalité des larves traitées avec les doses D1, D2, D3 et D4 a été remarqué dès le deuxième jour de traitement pour atteindre son maximum (100%) durant le neuvième jour sous l'effet de la dose la plus élevée D5 (fig. 32).

Une mortalité totale est enregistrée pour les doses D4 et D5 alors qu'elle n'a dépassé les 16% pour le lot témoin à la fin de l'essai.

5.2.1.4.2. Analyse de la variance

L'analyse de variance des données pour ce test, montre un effet significatif ($P \leq 0.05$), des doses et du temps pour le bio-insecticide à base des spores d'*Aspergillus terreus* ce qui explique l'efficacité de ce dernier vis-à-vis des larves de *G. deserticola* même hors substrat original. Les résultats de cette analyse sont figurés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 19: Analyse de la variance

Source des variations	SCE	DDL	CM	F	P	Valeur critique pour F
Var.Total	1983,64	179				
Var.Facteur1	496,51	5	99,30	270,82	1,38525E-63	2,28
Var.Facteur2	1257,75	9	139,75	381,13	7,90059E-84	1,95
Var.Inter F1*2	185,37	45	4,11	11,23	2,78858E-26	1,47
Var.Résiduelle	44	120	0,36			

5.2.1.4.3. Test Newman keuls

A travers ce test statistique, le classement des moyennes de mortalité en fonction de dose révèle 6 groupes bien distincts correspond au différentes doses d'*Aspergillus terreus* appliquées (Annexe 3).

Le groupe A vient toujours en première position englobe les taux de mortalité les plus élevés, suivi par les groupes B, C, D et E correspond aux taux de mortalité provoqués par D4, D3, D2 et D1 respectivement. De même façon que les tests précédents, le groupe F représente les faibles mortalités de lot témoin.

Par ailleurs, dix groupes sont classés par le test de Newman keuls à 5% pour le facteur temps de A à J distribués avec manière décroissante des taux de mortalité enregistrés durant les 10 jours du traitement.

5.2.1.4.4. Calcul de DL₅₀

Pour déterminer la dose nécessaire et suffisante pour tuer la moitié de la population (DL₅₀) hors sol sous l'effet d'*A. terreus* les moyennes de mortalité enregistrées en 5^{ème} jour, sont d'abord transformées en probit (Annexe 4). Ensuite, la DL₅₀ relative à la mortalité de 50% des larves a été déterminé à partir de la droite de régression avec son coefficient de détermination.

A partir de droit de régression, on constate que $Y = 0,146x + 3,852$

Pour une mortalité de 50% , Y est égale à 5 (Probit)

$$x = 5 - 3,852 / 0,146 \quad x = 7,86$$

antilog x = 7244359

Cette concentration a été arrondie à $0,72 \times 10^7$ spores/ml

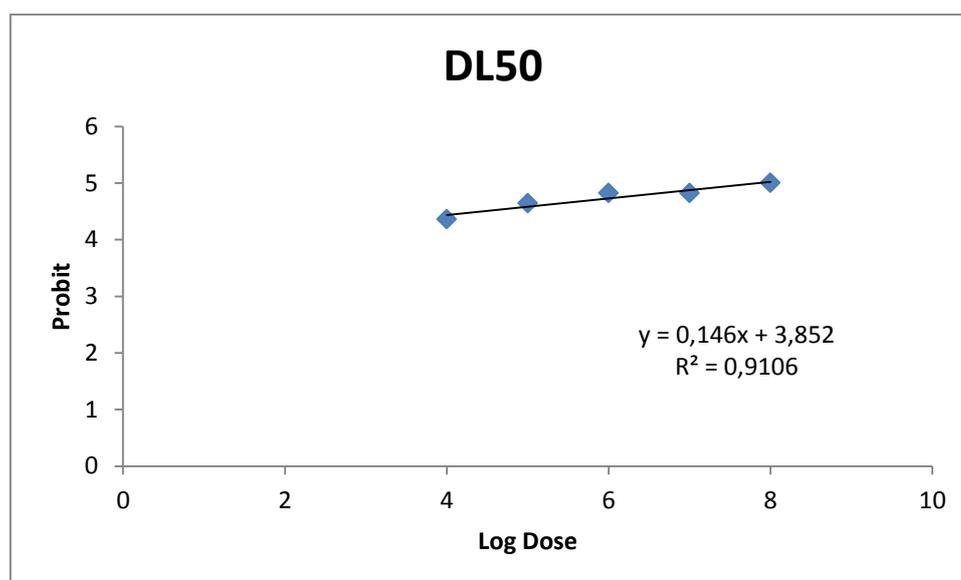


Figure 33 : Taux de mortalité des larves de *G. deserticola* sous l'effet d'*A. terreus* noté au 5^{ème} jour du traitement hors sol

5.2.1.4.5. Calcul des TL₅₀ :

Les résultats concernant les valeurs du TL₅₀ relatifs aux cinq doses d'*Aspergillus terreus* D1, D2, D3, D4 et D5 appliquées sur les larves de *G. deserticola* hors sol sont représentés dans les figures 34 et 35

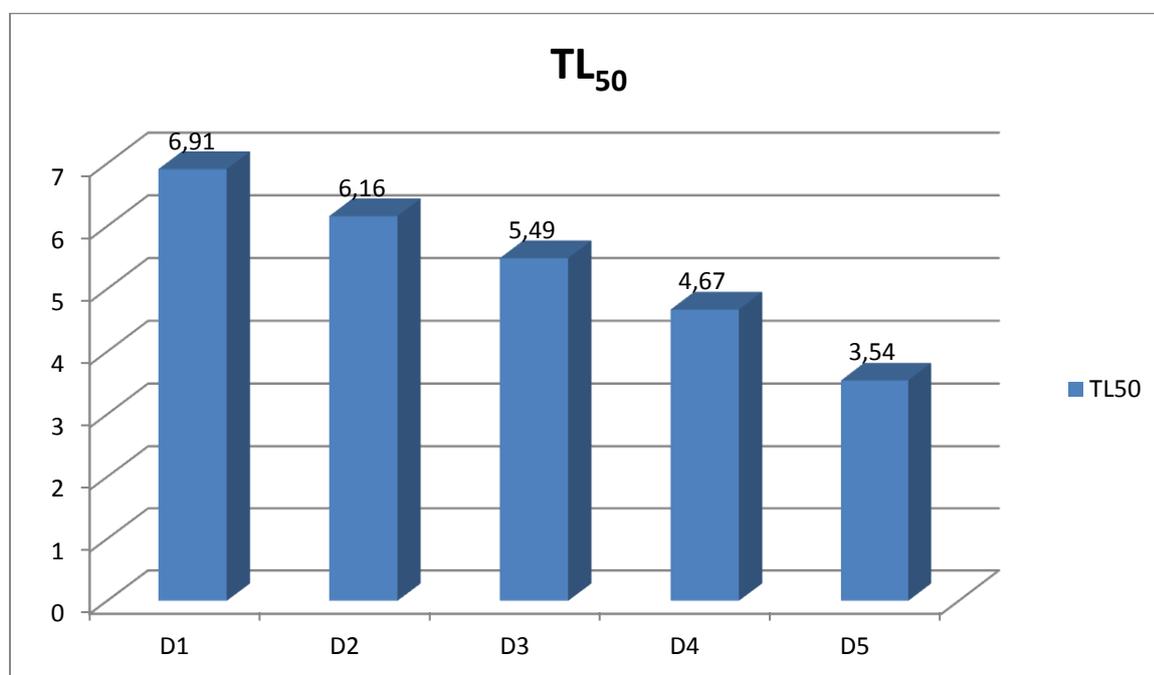


Figure 34 : Les valeurs du TL₅₀ relatifs aux différentes doses d'*A. terreus* D1, D2, D3, D4 et D5 appliquées hors sol.

D'après la figure 34 ci-dessus, on remarque que le temps de 3,54 était suffisant de tuer la moitié des populations des larves de *G. deserticola* traitées par la dose la plus élevée D5 (10^8) du bio-larvicide à base des spores d'*Aspergillus terreus*. Cependant les valeurs des TL₅₀ : 4,67 ; 5,48 ; 6,16 et 6,91 étaient correspond aux différentes doses D4, D3, D2 et D1 respectivement.

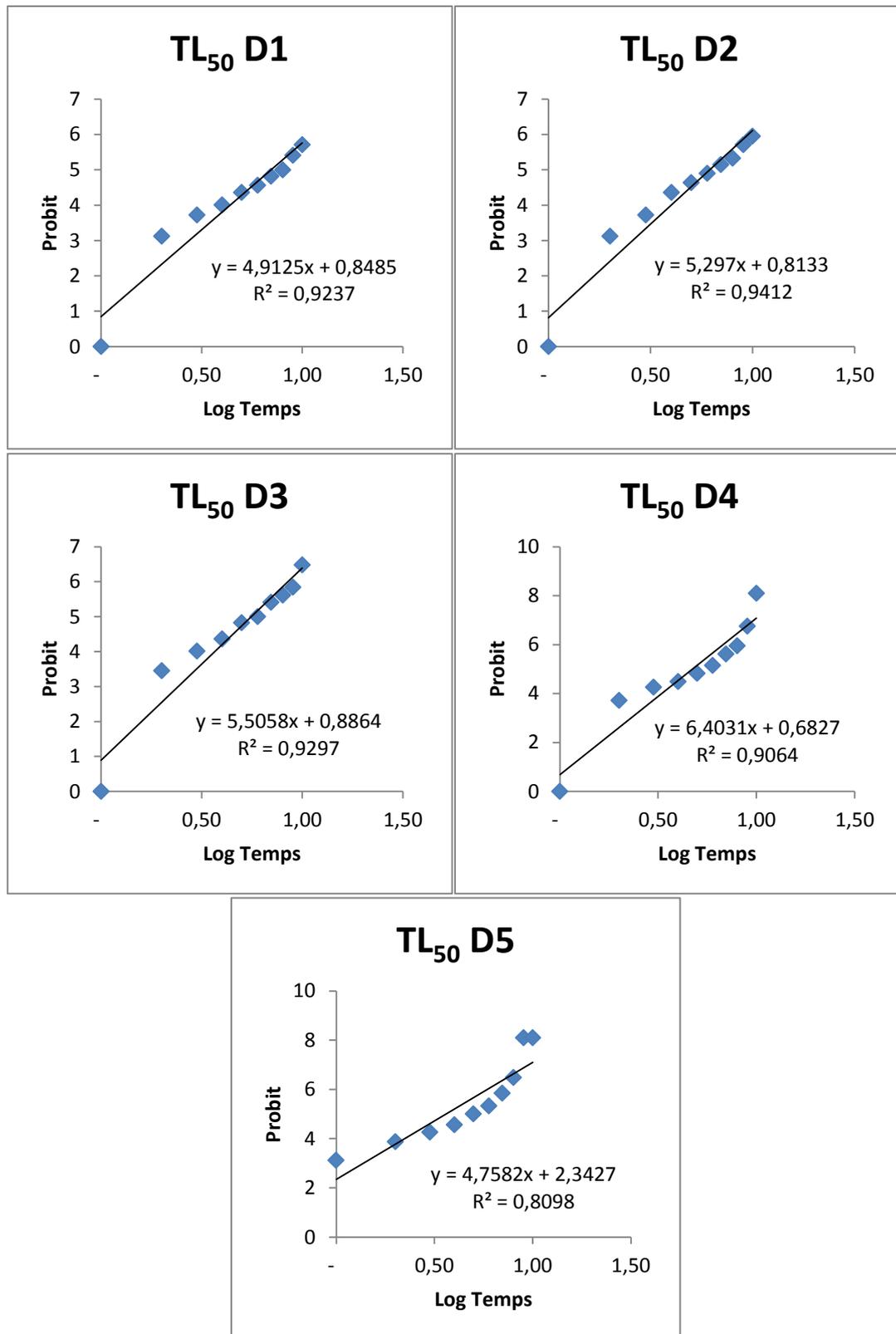


Figure 35 : Efficacité d'*A. terreus* dans le temps vis-à-vis des larves de *G. deserticola* traitées par les différentes doses D1, D2, D3, D4 hors sol

5.3. Discussion

Un grand nombre d'insectes ont présenté leur sensibilité vis-à-vis aux microorganismes dont les champignons, les bactéries et les virus (Schoch et al., 2010). Dans des habitats aquatiques, terrestres et souterrains, environ 750 espèces de champignons décrites sont des pathogènes obligatoires ou facultatifs sur un ou plusieurs stades de développement des insectes (McCoy et al., 1988).

Cette partie de notre travail a été consacrée pour l'étude de l'effet pathologique des deux souches fongiques sélectionnées après avoir donné des résultats positifs lors des tests préliminaires (postulat de Kock) et après leur identification morphologique et moléculaire. Notons que l'un des souches *Metarhizium acridum* est connu par leur pathogénicité à l'égard des acrides et d'autres insectes et le deuxième *Aspergillus terreus* est testé pour la première fois sur les larves de *Geotrogus deserticola*.

Les résultats obtenus, après la pulvérisation des deux souches avec des concentrations différentes, ont montré un effet significatif de mortalité au sein des populations des larves de 3^{ème} stade de *Geotrogus deserticola* pour les deux champignons testés.

Le *Metarhizium acridum* était le plus efficace contre les larves de *Geotrogus deserticola* parce qu'il a réussi à éliminer la totalité des larves au bout de 9^{ème} jour de traitement avec une dose de 10⁸ spores/ml dans le sol et de 7^{ème} jour de traitement hors sol.

La grande pathogénicité des espèces de *Metarhizium sp* et leurs capacités à contrôler les populations d'insectes d'ordres différents ont été démontrées par plusieurs travaux de recherche (George et al. (1984) ; Wright et Roberts (1987) ; Gottel (1992) ; Vincent et Coderre (1992) ; Saiah 2014). Ils ont même actuellement été utilisés sous forme d'insecticides biologiques.

Par ailleurs, l'*Aspergillus terreus* a présenté un caractère entomopathogène avec de bons résultats de mortalité. Il a provoqué la mortalité totale des larves au 10^{ème} jour après traitement dans le sol et le 9^{ème} jour hors sol. Des études récentes ont révélé que l'*A. terreus* a présenté un effet toxique modéré sur les différents stades de moustiques tels que les œufs, les larves, les nymphes et les adultes d'*Anopheles stephensi*, *Culex quinquefasciatus*, and *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) et elles ont suggéré que les métabolites d'*A. terreus* pourraient servir d'alternative, rentable, respectueuse de l'environnement, et cibler à l'avenir un agent anti-moustique spécifique (Ragavendran et al 2018).

A travers de cette étude, nous avons prouvé et affirmer l'efficacité de ces deux champignons sur la mortalité des larves de *G. deserticola*. Ils peuvent être donc utilement détournés la stratégie de lutte contre *G. deserticola*

Selon Ramoska, 1984 ; Riba et Marcandier, 1984 ; Khachatourians, 1986 ; Poinar et Thomas, 1985 ; Cloutier, 1992, Saiah 2014), le mode d'action d'un champignon sur un insecte peut être résultant de l'une des actions suivantes :

- L'action des toxines libérées, l'obstruction physique de la circulation ;
- L'invasion des organes et la destruction des tissus de l'insecte ;
- La déficience nutritionnelle.

Chapitre VI
Étude de l'influence de
quelques paramètres
abiotiques sur le
comportement «in vitro» des
champignons isolés

6. Etude de l'influence de quelques paramètres abiotiques sur le comportement «*in vitro*» des champignons isolés

Introduction

Les champignons entomopathogènes jouent un rôle primordiale dans la lutte microbiologiques des insectes nuisibles vue à son origine naturel; cependant ils ont souvent une activité très dépendante des conditions environnementales notamment climatiques (Ferron *et al.*, 1991 ; Lacey *et al.*, 1996 ; Luz et Fargue, 1997). En effet, ces paramètres abiotiques rendent l'utilisation de ces microorganismes entomopathogènes et leur maîtrise un peu difficile.

Par conséquent, plusieurs travaux ont démontré la concordance entre l'optimum thermique de développement et de l'activité du champignon et celle de l'infection fongique sur l'insecte hôte (Hall et Papierok, 1982 et Ferron, 1985, Saiah 2014).

Afin de déterminer les températures, humidités et pH optimales sur leurs croissances mycéliennes et leur sporulations ; une étude de l'effet de quelques facteurs abiotiques sur le comportement « *in vitro* » des isolats entomopathogènes testés préalablement fait partie de notre travail, vu a son intérêt comme agent de lutte biologique.

6.1. Matériel et méthodes

6.1.1. Matériel

6.1.1.1. Matériel fongique

Les deux isolats fongiques *Métarhizium acridum* et *Aspergillus terreus* isolés à partir des larves et des adultes morts de *Phyllognatus excavatus* et qui présentent une meilleure pathogénicité vis-à-vis les larves de *Geotrogus deserticola* font l'objet de la présente étude.

6.1.1.2. Choix de milieux de culture

Une grande partie de champignons entomopathogènes à savoir les hyphomycètes peuvent être cultivés " *in vitro*" sur milieu de culture à l'exception de quelques champignons entomopathogènes appartenant à l'ordre des entomophtorales dénommés " parasites obligatoires (Greathead *et al.* 1992). Le choix du milieu de culture repose sur les besoins nutritionnels de champignons assurant une bonne croissance mycélienne et une sporulation abondante (Saiah, 2014). Le milieu ordinaire PDA est retenu pour l'ensemble des tests suivants.

6.1.2. Méthodes

6.1.2.1. Evaluation de la croissance mycélienne

Afin d'estimer l'effet des différents facteurs abiotiques (Température, Humidité, pH, Lumière et obscurité) sur les deux isolats étudiés, des mesures sont effectués sur la croissance linéaire et diamétrale « in vitro » d'explants calibrés (Rapilly, 1968 ; Fargues *et al.*, 1992). A l'aide d'un emporte-pièce, des explants de culture non sporulées (trois jours après ensemencement) sont prélevés et transférés sur milieu PDA stérile à raison d'un explant (5 mm de diamètre) par boîte de Pétri (85 mm de diamètre). Les mesures sont réalisées quotidiennement et s'achèvent lorsque l'une des boites est complètement recouverte par la colonie mycélienne.

La croissance mycélienne est déterminée selon la formule suivante :

$$L=D-d/2$$

Où:

L : croissance mycélienne (mm)

D : diamètre de colonie (mm)

d : diamètre de l'explant initial (mm)

6.1.2.2. Mesure de la sporulation

L'estimation de la sporulation des deux isolats sous l'effet des différents facteurs suscités est effectuée lorsque la boîte est complètement recouverte par la colonie mycélienne. Le comptage a été effectué à l'aide de la cellule de Malassez. Les valeurs sont exprimées en nombre de spores par unité de volume (ml) (Rapilly, 1968).

La préparation de la suspension consiste à

- Un découpage de la colonie avec son milieu de culture en petits cubes.
- Un raclage des petits cubes et les mettre dans un bécher contenant 100 ml d'eau distillée.
- Mettre la solution obtenue est sous agitation afin d'extraire le maximum de spores.
- Une filtration à l'aide d'une mousseline dans un entonnoir menant à un bécher, pour éliminer les débris (fragments mycéliens) qui pourraient interférer avec l'observation (OIE, 2008).

Dans le but d'obtenir une concentration supposée raisonnable pour le comptage, une dilution au 1/10 est réalisée quand l'une des suspensions de spores est trop concentrée; ce résultat est multiplié par le facteur de dilution (inverse de la dilution) (Baledent, 2000)

6.1.2.3. Conduites des tests de l'effet des facteurs abiotiques sur la croissance et la sporulation des deux isolats

6.1.2.3.1. Influence de la température

L'effet d'un intervalle des températures étudié sur le comportement « *in vitro* » de deux isolats retenus allant de 15C° vers 40C°, soit 06 étages de température. L'évaluation de la croissance mycélienne et la sporulation des champignons en questions s'effectue selon la méthode décrite ci-dessus.

6.1.2.3.2. Influence de l'humidité

Afin d'évaluer l'effet ce paramètre abiotique, différents niveaux d'humidité ont préparé selon la méthode décrite par Solomen (1951).

Après l'ensemencement des explants de 5 mm de diamètre sur milieu PDA, les boites sont retournées couvercle en bas, nous avons versé 10 ml de chaque concentration dans chaque boite, trois répétition sont retenus pour chaque niveau d'humidité. L'évaluation de la croissance mycélienne radiale et l'estimation de la sporulation sont identiques à celles décrites par (Rapilly, 1968).

6.1.2.3.3. Influence du Ph

Afin de déterminer l'effet du pH sur la croissance mycélienne et la sporulation des souches fongiques en question, une gamme de pH allant de 4,1 à 8,3 a été testé. Après la répartition d'un milieu P.D.A, qu'on a préalablement préparé, dans des erlenmeyers de 100 ml où on a ajouté des quantités de HCl (4N) et NaOH (4N), le tableau 19 présente les différents pH préparés.

Tableau 20 : les différents pH préparés.

Valeur de pH	HCl (4N)	NaOH (4N)
4,1	1	0
5,4	0	0
6,3	0	1
7,4	0	2
8,3	0	3

Après l'addition des molécules de NaOH et HCl dans chaque milieu, un contrôle de chaque pH obtenu a été effectué à l'aide d'un pH mètre pour une éventuelle correction. Les milieux tamponnés sont autoclavés, les étapes d'évaluation de la croissance mycélienne et la sporulation sont identiques à celles décrites ci-dessus.

6.1.2.3.4. Influence de la lumière et de l'obscurité

Dans le but d'étudier l'effet de la lumière et de l'obscurité sur la croissance mycélienne de nos isolats, six boîtes de Pétri par isolatsensemencée de la même façon que pour les autres tests; dont trois d'entre elles sont placées à la lumière continue, les autres sont couvertes par du papier aluminium puis mises à incuber; les mesures de croissance mycélienne ont été effectuées quotidiennement jusqu'à l'une de ces boîtes sera totalement recouverte.

6.2. Résultats et interprétations

6.2.1. Influence de la température

6.2.1.1. Influence de la température sur la croissance mycélienne

L'effet de la température sur la croissance mycélienne des deux souches *Metarhizium acridum* et *Aspergillus terreus* est présenté dans les figures 36 et 37. L'analyse statistique révèle un effet significatif pour les deux facteurs souche entomopathogène et température.

La figure 36 montre clairement les différences enregistrées dans la croissance mycélienne de la souche de *Metarhizium acridum* sous l'effet des variations de température. Nous avons remarqué que l'optimum de croissance est situé entre 25 et 30°C où la souche recouverte complètement la boîte de Pétri. Le développement de la colonie était minimale à 40°C, alors qu'il n'a pas dépassé les 20 mm à l'étage 15°C jusqu'à la fin du test. Le reste des températures favorisent une croissance intermédiaire.

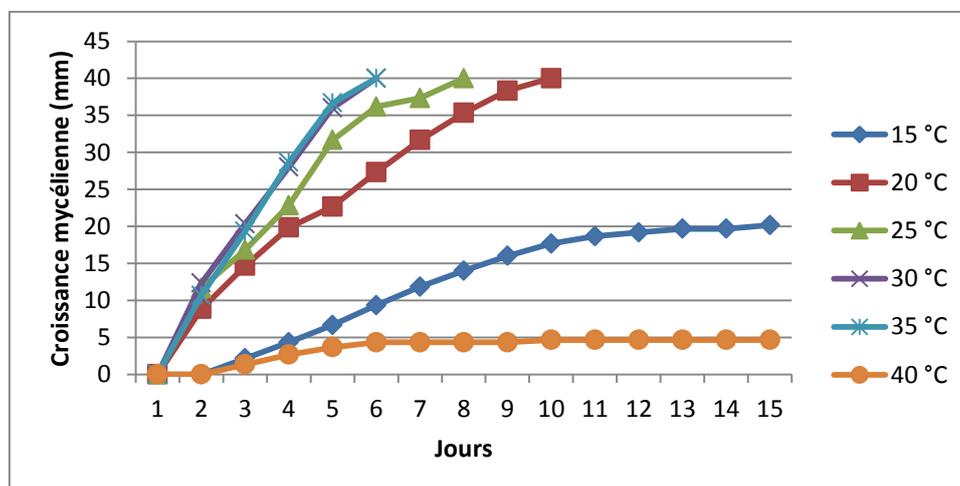
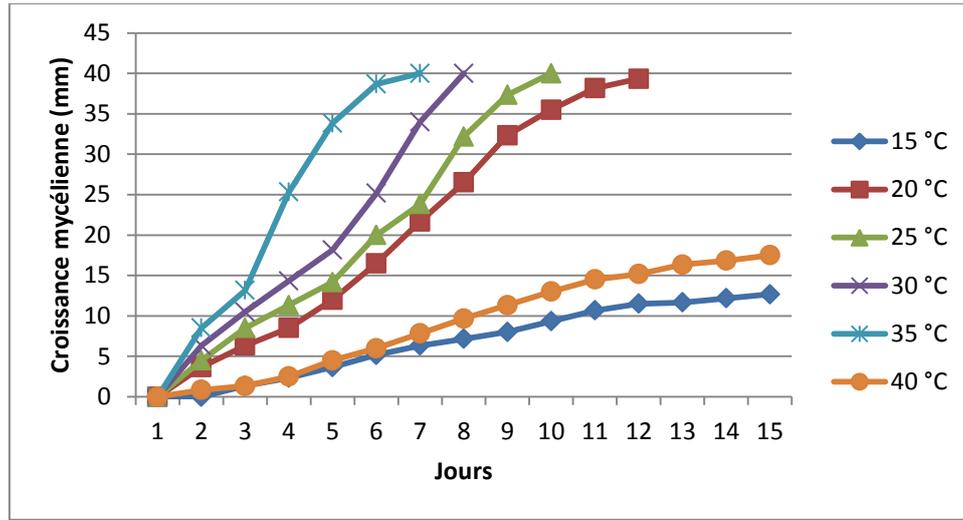


Figure 36 : Effet de température sur la croissance mycélienne de *Metarhizium acridum*

D'autre part, nous avons remarqué à travers la figure 37 qui représente la croissance mycélienne de l'isolat d'*Aspergillus terreus* sous l'effet de température qu'à 15°C la croissance était minimale où elle n'a pas dépassé les 13 mm, puis elle s'est améliorée proportionnellement que la température augmentait pour atteindre son optimum à 35°C. Cependant, la vitesse de croissance mycélienne a diminué légèrement à 20°C et 25°C, pour chuter à 40°C jusqu'à environ 16 mm à la fin du test.

**Figure 37 :** Effet de température sur la croissance mycélienne d'*Aspergillus terreus*

6.2.1.2. Influence de la température sur la sporulation

Les résultats de test des différents étages de température sur la sporulation de nos isolats sont présentés dans les figures 38 et 39. D'après l'analyse de la variance, on a constaté que l'effet des températures sur la sporulation des deux souches fongique est significatif et qu'il varie proportionnelle avec la croissance mycélienne.

La figure 38 montre que la sporulation de la souche de *Metarhizium acridum* augmente d'une manière progressive avec la température pour atteindre son optimum à 30°C, puis diminuer légèrement à 35°C, afin de chuter par la suite à 40°C.

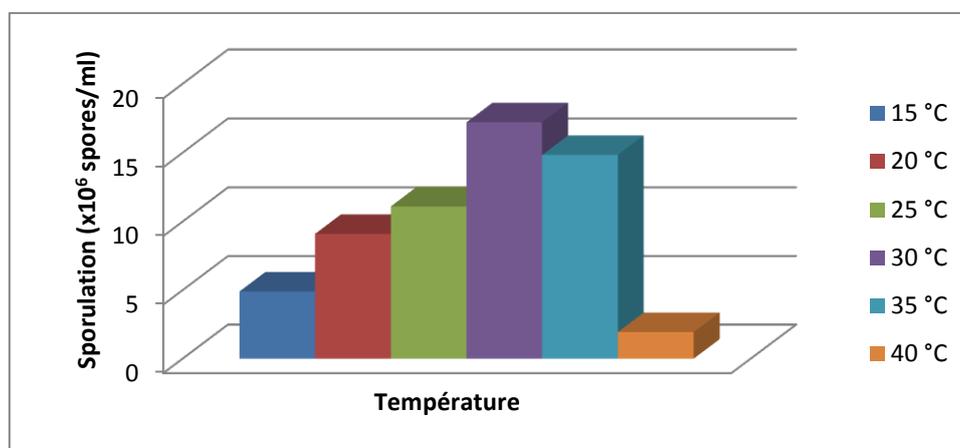


Figure 38 : Effet de température sur la sporulation de *Metarhizium acridum*

La sporulation d'*Aspergillus terreus*, est représentée sur la figure 39, et démontre que cette souche a présenté une sporulation faible aux températures basses pour augmenter progressivement et proportionnellement avec la température pour atteindre son maximum de 30. 10⁶ spores /ml à 35°C, et se diminuer jusqu'à 10. 10⁶ spores /ml 40°C.

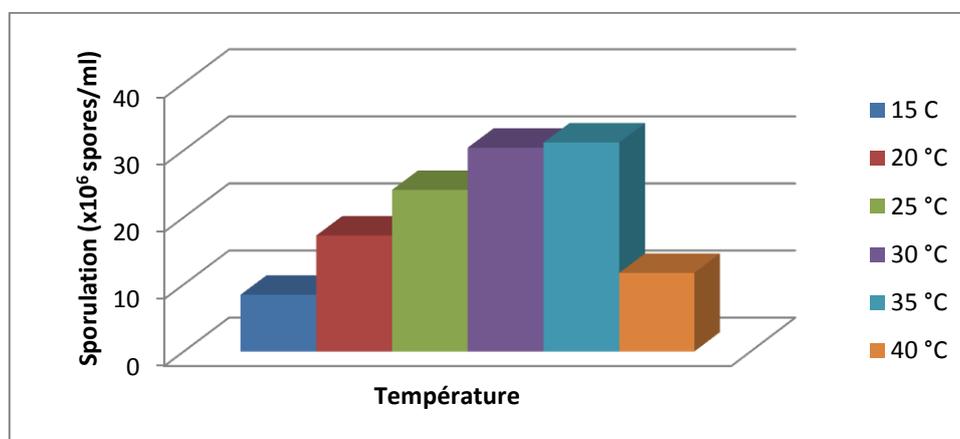


Figure 39 : Effet de température sur la sporulation d'*Aspergillus terreus*

6.2.2. Influence de l'humidité

6.2.2.1. Influence de l'humidité sur la croissance mycélienne

Les figures 40 et 41 représentent l'effet de l'humidité relative sur la croissance mycélienne de nos isolats fongiques retenus.

A travers la figure 40, nous avons remarqué que l'optimum de croissance mycélienne de *Metarhizium acridum* est aux alentours de 84% d'humidité relative, elle diminue progressivement lorsque l'atmosphère approche de la saturation (100%). La croissance est fortement faible à 50% et nettement nulle à 15%.

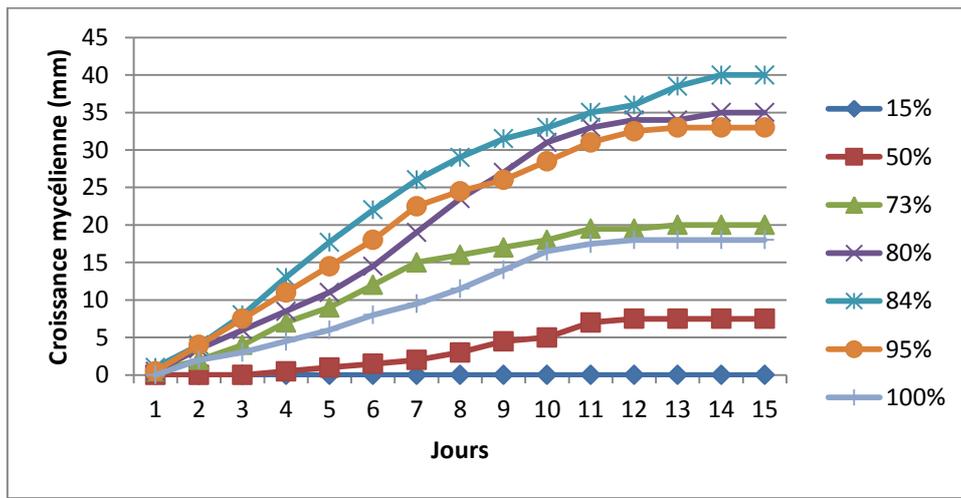


Figure 40 : Effet de différents niveaux d'humidité sur la croissance mycélienne de *Metarhizium acridum*

Les résultats obtenus de l'effet de différents niveaux d'humidités sur la croissance mycélienne d'*Aspergillus terreus* montre que cette dernière est optimale à 95%, légèrement diminué aux autres niveaux et nulle à 15% d'humidité relative (fig. 41).

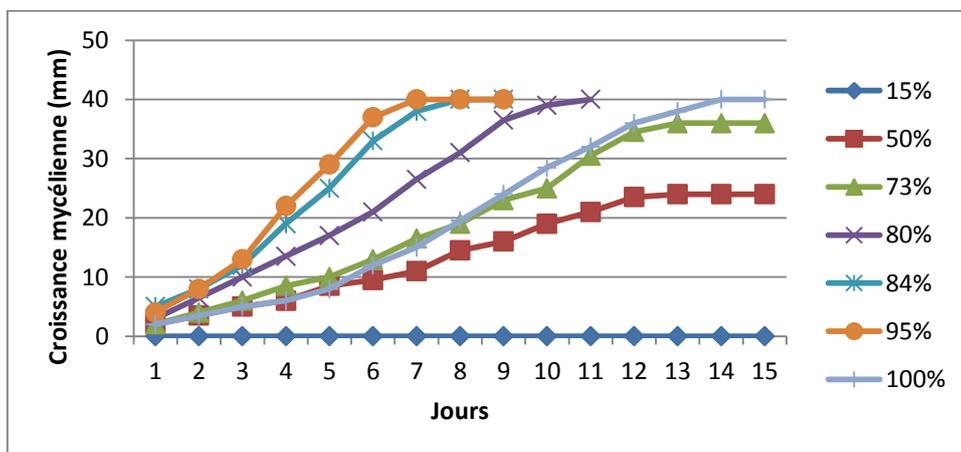


Figure 41 : Effet de différents niveaux d'humidité sur la croissance mycélienne d'*Aspergillus terreus*

6.2.2.2. Influence de l'humidité sur la sporulation

D'après la figure 42, on remarque que la meilleure sporulation de *Metarhizium acridum* était à 84% d'humidité relative tout comme la croissance mycélienne, puis elle a diminué avec l'augmentation des niveaux d'humidité. Notons que la sporulation de ce champignon était faible à 50% et il était incapable de sporuler à une humidité relative de 15%.

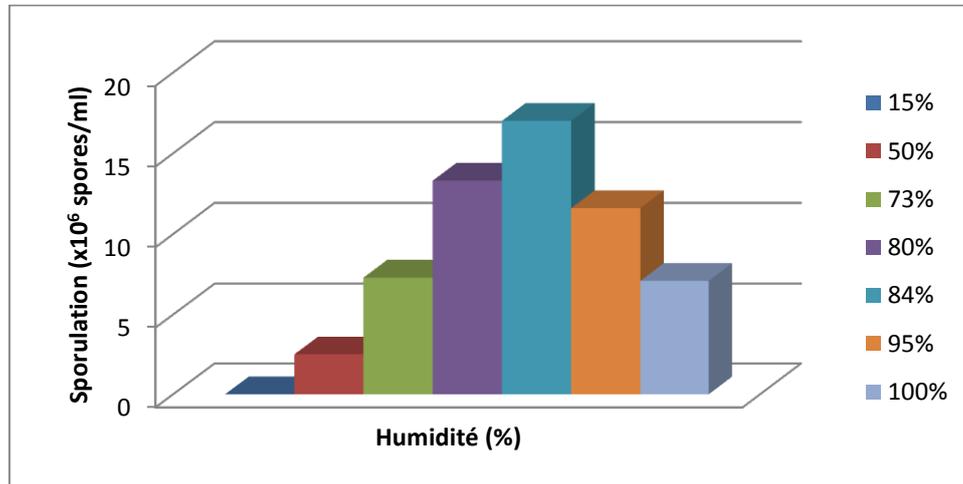


Figure42 : Effet de différents niveaux d'humidité sur la sporulation de *Metarhizium acridum*

Par ailleurs, le champignon *Aspergillus terreus* marque son optimum de sporulation à 95% d'HR. De même, il est incapable de sporuler à 15% d'HR tandis qu'il a présenté différents taux de sporulation en relation avec la variation des niveaux d'humidité (43).

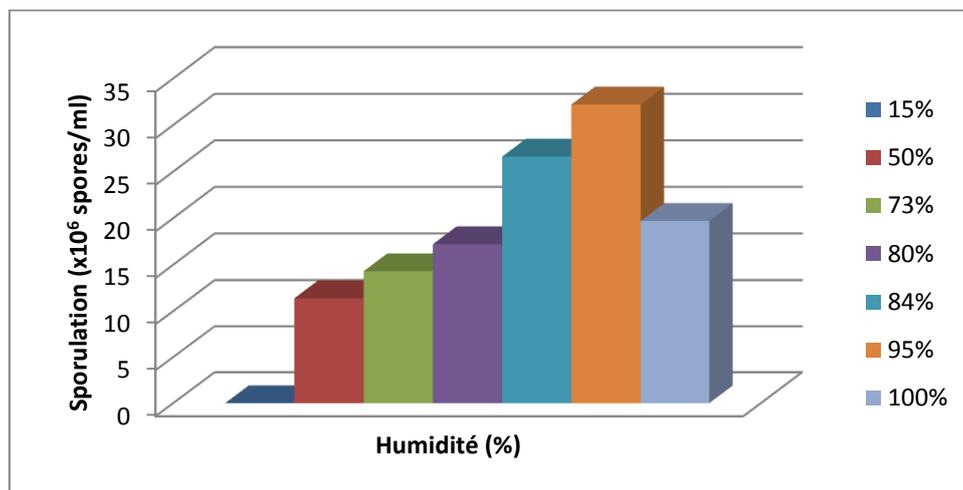


Figure 43 : Effet de différents niveaux d'humidité sur la sporulation d'*Aspergillus terreus*

6.2.3. Influence du pH

6.2.3.1. Influence du pH sur la croissance mycélienne

La variation des cinq niveaux de pH testés révèle un effet non significatif de ce paramètre abiotique sur la croissance mycélienne des champignons étudiés.

D'après la figure 44, nous avons remarqué que la croissance mycélienne de la souche de *Metarhizium acridum* sous les différents pH est très proche ; à l'exception de pH acide 4,1 où la croissance est légèrement faible.

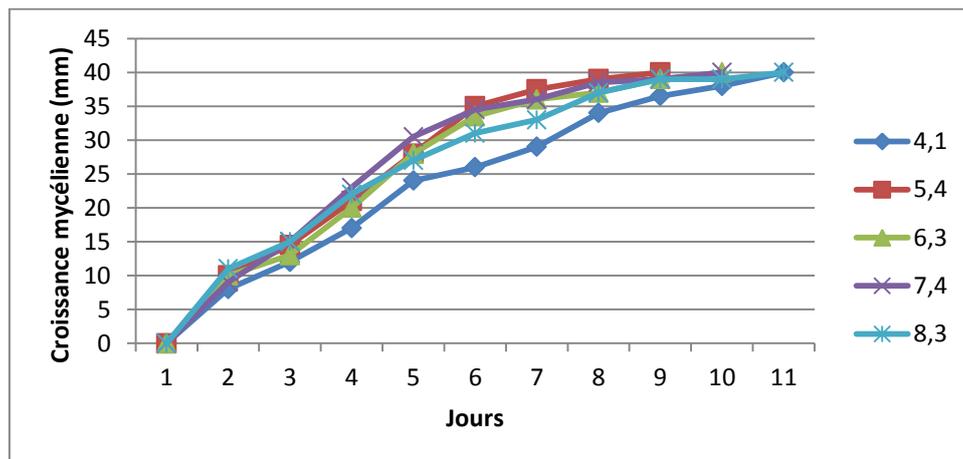


Figure 44 : Effet de pH sur la croissance mycélienne de *Metarhizium acridum*

De même, l'*Aspergillus terreus* a présenté, sous les différents pH testés, une croissance presque similaire au cours de la période de l'essai (fig. 45).

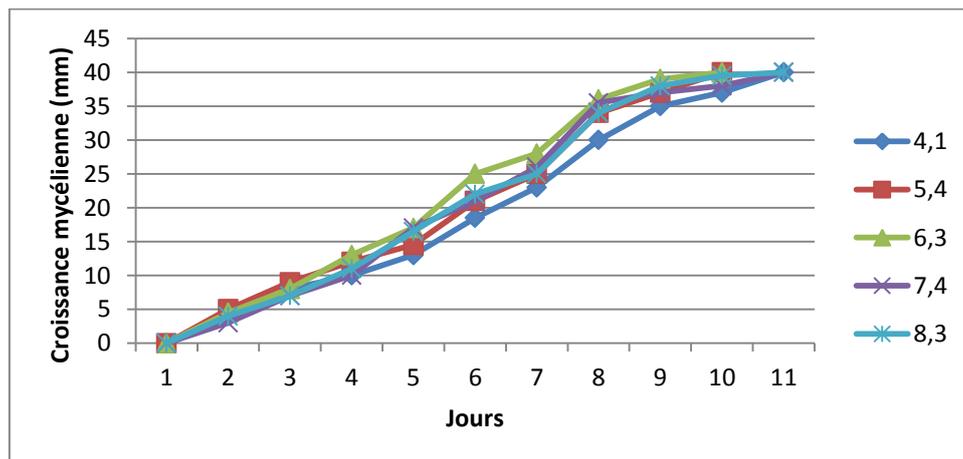


Figure 45 : Effet de pH sur la croissance mycélienne d'*Aspergillus terreus*

6.2.3.2. Influence du pH sur la sporulation

Pour l'effet de ce paramètre sur la sporulation, nous avons remarqué que les deux isolats fongiques n'ont pas été influencés par la variation du niveau de pH. Les figures 46 et 47 montrent clairement que l'intervalle de sporulation des deux champignons, entre les différents niveaux du pH est assez faible

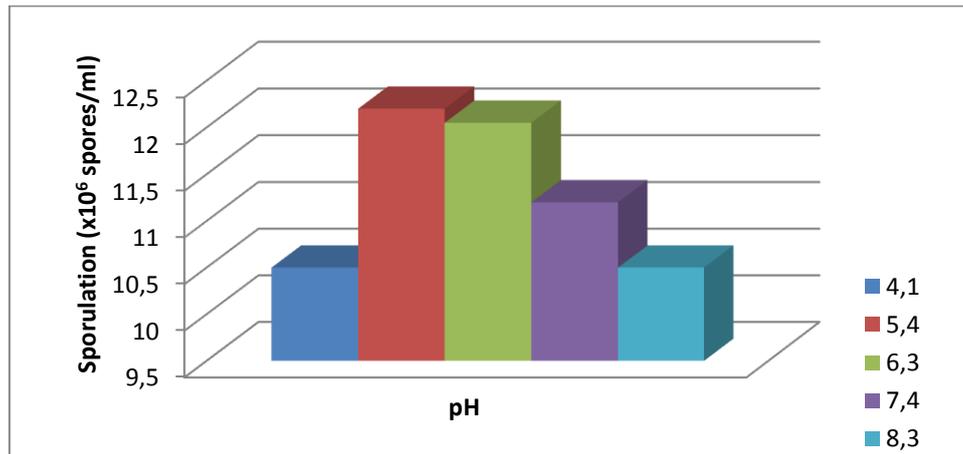


Figure 46 : Effet de pH sur la sporulation de *Metarhizium acridium*

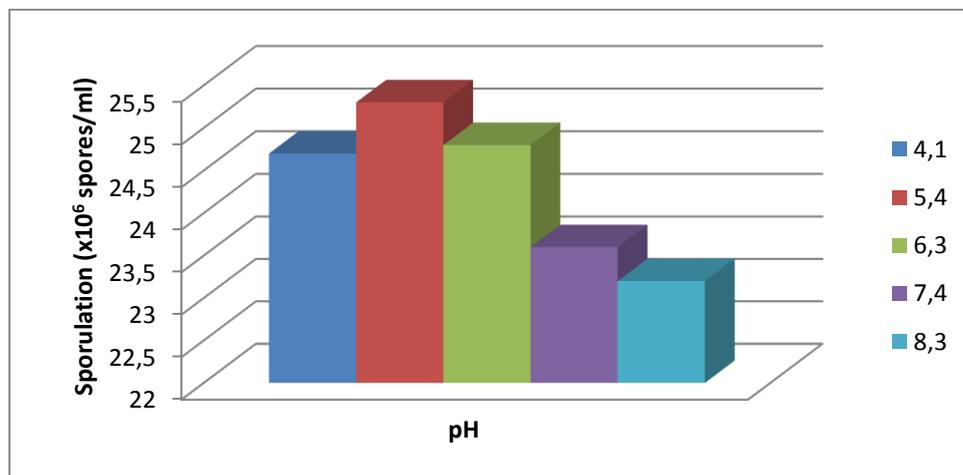


Figure 47 : Effet de pH sur la sporulation d'*Aspergillus terreus*

6.2.4. Influence de la lumière et de l'obscurité

6.2.4.1. Influence de la lumière et de l'obscurité sur la croissance mycélienne

Suite à l'étude de l'effet de la lumière et de l'obscurité sur le développement des deux isolats, nous avons constaté à travers les figures 48 et 49 une similarité de taux de croissance pour *Metarhizium acridum* ainsi que pour *Aspergillus terreus* avec une légère préférence de la lumière pour les deux champignons.

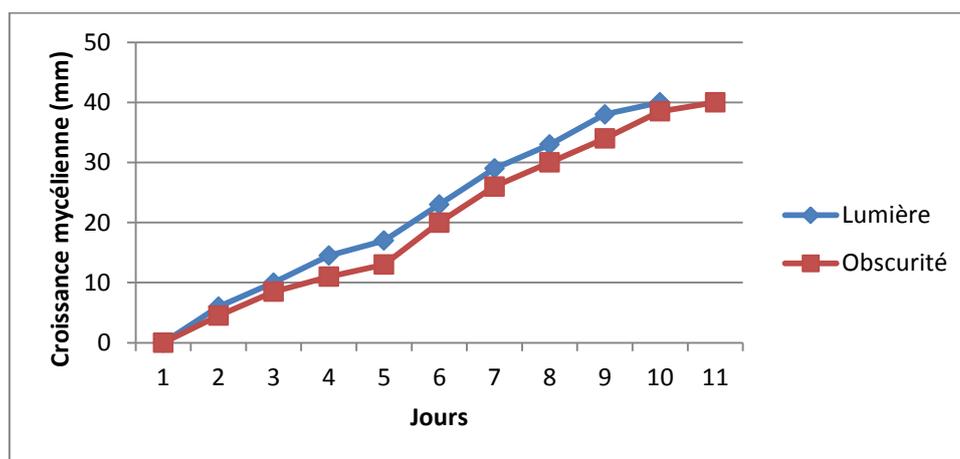


Figure 48 : Effet de la lumière et de l'obscurité sur la croissance mycélienne de *Metarhizium acridum*

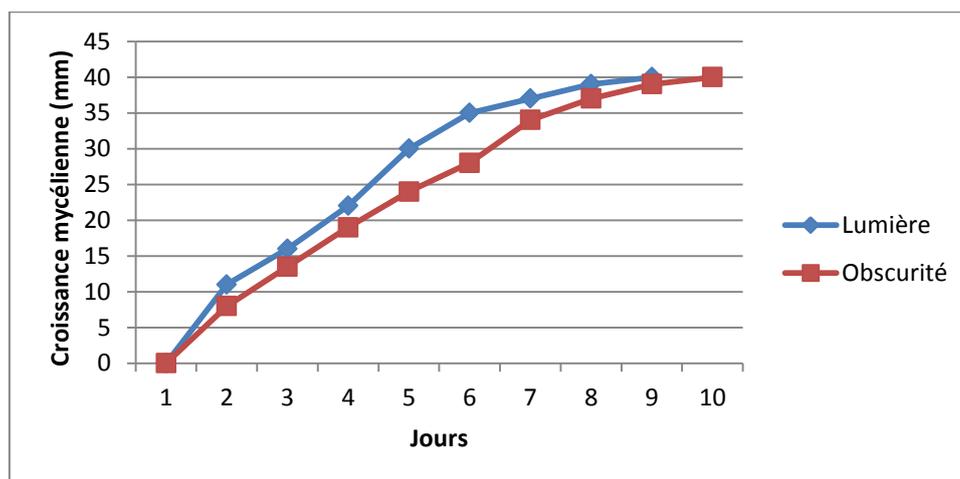


Figure 49 : Effet de la lumière et de l'obscurité sur la croissance mycélienne d'*Aspergillus terreus*

6.2.4.2. Influence de la lumière et de l'obscurité sur la sporulation

Les figures 50 et 51 présentent l'effet de la lumière et de l'obscurité sur la sporulation. En effet, nous avons remarqué que l'effet de la lumière sur la sporulation des deux isolats : *Metarhizium acridum* et *Aspergillus terreus* est significativement différents de celui de l'obscurité. Les deux champignons étudiés ont montré une capacité de sporulation sous la lumière bien que sous l'obscurité.

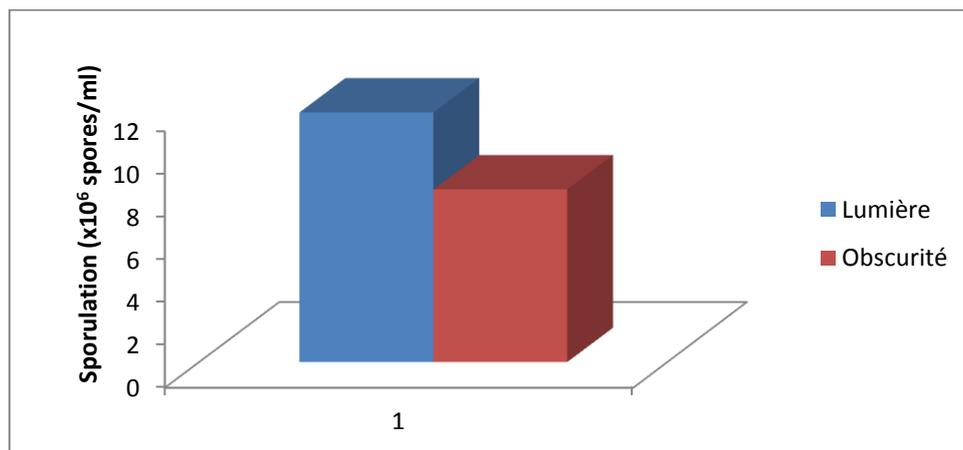


Figure 50 : Effet de la lumière et de l'obscurité sur la sporulation de *Metarhizium acridum*

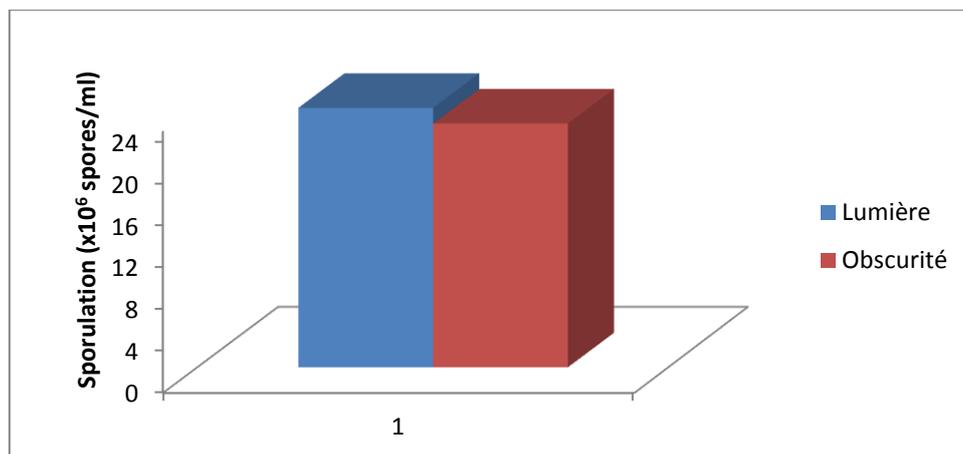


Figure 51: Effet de la lumière et de l'obscurité sur la sporulation d'*Aspergillus terreus*

6.3. Discussion

A travers cette étude, nous avons remarqué que la température optimale de la croissance et de sporulation de nos isolats fongiques sous l'effet des différents étages de température, se situe dans un intervalle de température entre 25 et 35°C avec une moyenne de 28°C.

En effet, Il faut donc noter que les deux champignons *Metarhizium acridum* et *Aspergillus terreus* appartiennent à la catégorie des champignons mésophile puisque l'optimum de leur croissance mycélienne est situé au-dessous de 50 °C (Fargues et al., 1992)

Plus précisément, l'isolat de *Metarhizium acridum* a présenté un bon développement mycélien et une sporulation abondante à un optimum thermique de 30°C, tandis que la température optimale de croissance mycélienne et de sporulation d'*Aspergillus terreus* est égale à 35°C. En parallèle, des faibles niveaux de croissance et de sporulation sont enregistrés aux températures de 15 et 40°C pour les deux champignons.

D'après Saiah (2014), les espèces de genre *Metarhizium* ont présenté un bon développement mycélien et une sporulation abondante dans un intervalle de température compris entre 10 et 35°C.

Les basses températures ne sont pas létales pour le champignon, car ce dernier, se conserve en formant des chlamydospores, et repart rapidement dès que les conditions lui redeviennent favorables, alors qu'un séjour de 3 jours à une température supérieur à 35°C lui est fatal. (Monteny, 1990),

De même, Selan (1964) in Fargues (1992) a remarqué qu'il y ait une certaine adaptation thermique suivant l'origine des biotypes. Cela confirme la présence de l'*Aspergillus terreus* sur les adultes de *Phyllognatus excavatus* qui ont une émergence estivale.

Les résultats de test de l'effet de l'humidité relative ont montré que l'intervalle allant de 80 à 100% d'HR était le plus adéquate pour les deux souches de *Metarhizium acridum* et d'*Aspergillus terreus* qui ont présenté leurs optimum du développement mycélien et même de sporulation à 84% et 95% d'HR respectivement. A la lumière de ces résultats, les deux isolats semblent sensibles à un environnement sec. La croissance et la sporulation étaient nulles aux faibles niveaux d'HR (15%) ce qui confirme les résultats démontrés par (Saiah 2014) concernant l'effet d'humidité sur des espèces de *Metarhizium*.

Par ailleurs, nous n'avons pas noté des sensibilités de nos isolats vis-à-vis les variations du pH, alors que les deux champignons se sont montrés capables de se développer et de sporuler aux différents niveaux de pH.

D'autre part, il s'est avéré que les deux isolats préfèrent légèrement la lumière pour mieux se croître et sporuler. Plusieurs travaux de recherche ont montré que la lumière peut avoir un rôle sur le développement et la sporulation des champignons. (Ignoffo, 1992 ; Silvy et Riba, 1989 Monteny, 1990 et Saiah, 2014).

Conclusion

Conclusion

Ce présent travail fait une partie de la recherche des micro-organismes antagonistes des insectes coléoptères hébergés dans les champs cultivés au niveau de la région Nord-Ouest Algérien. Nous nous sommes intéressées à la biodiversité entomologique des coléoptères, ses antagonistes fongiques et leur pouvoir pathologique.

Les travaux de la première partie ont été orientés vers un diagnostic initial de la faune coléoptériques des champs cultivés à savoir la céréaliculture, les cultures maraichères ainsi que les vergers. L'inventaire de la biodiversité des coléoptères au sein des différentes cultures à savoir la céréaliculture, cultures maraichères et des vergers a dévoilé la présence de 4633 individus classés en 29 familles différentes, 69 sous-familles, 146 genres et 205 espèces. La culture annuelle (céréales) et l'agroécosystème pérenne (verger d'agrume) apparaissent clairement comme les agroécosystèmes favorables au développement de la diversité faunistique des coléoptères. Néanmoins, les cultures maraichères (pomme de terre) constituent un milieu dans lequel se développent un petit nombre d'espèces.

La deuxième partie de notre recherche a été consacré pour l'isolement des champignons antagonistes d'une espèce scarabéique typique de la région du Nord d'Afrique ; il s'agit de *Phyllognatus excavatus* (Dynastinae – Scarabeidae). Les résultats de l'isolement des champignons à partir des larves parasités et d'adultes de l'espèce *Phyllognatus excavatus*, présentant des symptômes d'infection fongique, a permis de mettre en évidence la présence de deux espèces fongique qui sont révélées entomopathogènes après les tests préliminaires (postulat de Kock). Les deux souches en question ont fait l'objet d'identification selon les méthodes morphologiques et moléculaires :

Une étude des caractères cultureux et morphologique nous a conduits à identifier les deux isolats jusqu'à l'échelle genre. Les résultats obtenus, à travers cette étude, ont montré que les deux souches seraient apparentées au genre *Metarhizium* et au genre *Aspergillus*.

Une identification moléculaire des deux souches se basant sur l'analyse des régions ITS (*Internal transcribed spacer*) et les facteurs d'élongation EF-1alpha (*Elongation Factor*) en utilisant des amorces universelles (ITS1 et ITS4) et les amorces (EF-728F et EF-2). L'analyse des séquences d'ADN et leur comparaison avec celles de la banque de données « Genbanque », l'une des souches a été assimilée à l'espèce *Metarhizium acridum* avec un pourcentage d'homologie de 99%, alors que la deuxième souche a montré une correspondance avec l'espèce *Aspergillus terreus* avec un pourcentage d'homologie de 100%.

La troisième partie de notre travail a pour but de tester la pathogénéicité de ces deux espèces fongiques vis-à-vis les larves d'une autre espèce scarabéique très redoutable dans la céréaliculture dans la région d'étude. Il s'agit de *Geotrogus deserticola*. Les résultats du bio-test ont mis en exergue l'efficacité de *Metarhizium acridum* qui a causé une forte mortalité au sein des populations des larves de *Geotrogus deserticola*, alors que l'espèce *Aspergillus terreus* vient en deuxième position de point de vue de son efficacité. Le calcul de la DL₅₀ pour les deux espèces fongiques confirme les résultats obtenus. Il a montré que la dose de *Metarhizium acridum* nécessaire et suffisante pour tuer la moitié de la population des larves est arrondie à $0,89 \times 10^6$ spores/ml, tandis que le DL₅₀ pour l'*Aspergillus terreus* est égale à $1,8 \times 10^7$ spores/ml. Il en ressort que ces deux souches peuvent être considérer comme entomopathogènes. D'autre part, afin de valider, aussi leur efficience sous les différents paramètres abiotiques, cette étude a montré que l'optimum pour se croitre et sporuler était sous les conditions suivantes : un intervalle thermique allant de 25°C et 35°C ; une humidité relative entre 80% à 95%, aucune n'influence par les différents pH, avec une légère préférence de la lumière pour mieux se croitre et sporuler.

Enfin, compte tenu de l'immense surface agricole en Algérie avec ses différentes cultures, de la Méditerranée au désert, on peut dire que la liste des insectes coléoptères pourrait être plus diversifiée. Cependant, les structures de ce groupe d'insectes sont encore mal connues. Cette étude préliminaire peut fournir un point de départ pour une analyse plus approfondie et pour planifier de futures études sur les champs agricoles afin de maximiser la diversité des insectes et prévenir contre les ravageurs

En ce qui concerne les champignons entomopathogènes antagonistes des insectes coléoptères, les résultats obtenus ont montré l'importance des deux souches, lorsqu'elles ont le potentiel d'être utilisées comme agents microbiens pour une lutte biologique respectueuse de l'environnement et qu'elles pourraient être utilisées en conjonction avec d'autres stratégies de lutte intégrée contre les ravageurs à un seuil économique. Néanmoins, ces résultats doivent être confirmés par une évaluation supplémentaire en laboratoire, ainsi que par des essais sur le terrain pour valider l'efficacité de ces champignons dans les conditions climatiques de la région de Mostaganem.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- Abgrall J.F., 1991.** Observations biologiques et essais de lutte contre le hanneton commun dans les vergers à graine. RFF XLIII – 6 – 1991.
- Ahmed S., Saha J.L. and Leather S. R., 1994.** Suitability and potential of entomopathogenic microorganisms for forest pest management – some point for consideration. Inter. J .pest management 40: 287-292. Afrikjan.
- Aime M. C., Matheny P. B., Henk D A., Frieders, E.M., Nilsson R. H., Goethe J.W., McLaughlin D. J., Szabo L.J., Begerow D., Sampaio J.P., Bauer R., Weib M., Oberwinkler F. and Hibbet D., 2006.** An overview of the higher level classification of Pucciniomycotina based on combined analyses of nuclear large and small subunit rDNA sequences. Mycologia, 98(6), 2006, pp. 896–905.
- Alexopoulos C.J., Mims C.W. and Blackwell M., 1996.** Introductory Mycology. John Wiley and Sons, New York. 869p.
- Altieri M.A., 1999.** The ecological role of biodiversity in agroecosystems. Agri. Ecosystems Environ. 74, 19-31.
- Aouar L., 2012.** Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Thèse Doctorat - Univ Constantine - Algerie.
- Aviron S., Burel F., Baudry J. et Collet S., 2003.** Impacts à long terme des pratiques agricoles sur les communautés de coléoptères carabiques dans différents contextes paysagers. In: Actes des journées 2003 de l'Association Internationale pour l'Écologie du Paysage IALE France (p. 91-97).
- Baghem O., 2012.** Effet des Techniques Culturelles sur la Biodiversité Faunistique des céréales dans la zone Semi-aride. Mémoire Magister 53 p Univ Sétif Algérie.
- Balachowsky A. S., 1962.** Entomologie appliquée à l'agriculture. Coléoptères I. Masson et Cie (ed.). Paris, France. 1: 24-204.
- Balachowsky A.S., 1951.** Les insectes nuisibles aux plantes cultivées, leur moeurs, leur destructions. Ed .Paris. pp 1245-1268.
- Balajee A.S., 2009.** *Aspergillus terreus* complex Medical Mycology 2009, 47 (Supplement 1), S42S46
- Balajee SA, Gribskov JL, Hanley E, Nickle D and Marr KA., 2005.** *Aspergillus lentulus* sp nov., a new sibling species of *A. fumigatus*. Eukaryotic Cell 2005; 4: 625 632.
- Baledent, F., 2000.** Les cellules hématimètres. Développement et Santé, n°148, pp1-5

- Barnett H.L. and Hunter B.B., 1977.** Illustrated genera of imperfect fungi. *Second edition*. Burgess Publishing Co 180 P.
- Barrantes, G. and Sandoval L., 2009.** Conceptual and statistical problems associated with the use of diversity indices in ecology. *Revista de Biología Tropical*, 57(3), 451–460.
- Beaubet F., 2013.** Hannetons ravageurs, quatre espèces à redécouvrir : Face à la mauvaise surprise que constitue le retour de dégâts de vers blancs, notamment en pépinières et gazonnières, une révision est utile. [En ligne] (Page consultée le 20/06/2017)
- Bechinger C., Giebel K.F., Schnell M., Leiderer P., Deising H.B. and Bastmeyer M., 1999.** Optical measurements of invasive forces exerted by appressoria of a plant pathogenic fungus. *Science* 285:1896–1899.
- Belhoucine L., 2013** Les champignons associés au *platypus cylindrus* (Coleoptera, Curculionidae, Platypodinae) dans un jeune peuplement de chêne-liège du forêt de M'sila (Oran Nord-ouest d' Algérie) Etude particulière de la biologie et l'épidémiologie de l'insecte. Thèse doctorat, univ Tlemcen. 201p.
- Benkhellil M., 1991.** Les techniques de récoltes et de piégeage utilisées en entomologie terrestre. Ed. Office des publications universitaires, Alger, 57 p
- Bennas N., 2002.** Coléoptères Aquatiques Polyphaga du Rif (Nord du Maroc) : faunistique, Ecologie Biogéographie. Thèse en Sciences Biologiques, Université Abdelmalek Essaâdi, Faculté des Sciences de Tetouan : 383 p.
- Benserradj O., 2014.** Evaluation de *Metarhizium anisopliae* à titre d'agent de lutte biologique contre les larves de moustiques. Thèse Doctorat - Univ Constantine -Algerie.
- Benz G., 1987.** Environment. In: Epizootiology of insect diseases (Fuxa JR, Tanada Y eds) John, Wiley and Sons, New York, 177-214.
- Bidochka M.J., Clark D.C., Lewis M.W. and Keyhani N.O., 2010.** Could insect phagocytic avoidance by entomogenous fungi have evolved via selection against soil amoeboid predators. *Microbiology* 156, 2164–2171.
- Bischoff F.J., Rehner S.A. and Humber R.A 2009.** A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia* 101: 512-530.
- Blackwell M and Jones k., 1997.** Taxonomic diversity and interactions of insect associated ascomycetes. *Biodiversity and Conservation*, 6:689-699
- Blackwell M., 2010.** Fungal evolution and taxonomy. *BioControl*, 55,7-16.
- Blackwell M., Hibbett D. S., Taylor J. W. and Spatafora J. W., 2006.** Research coordination networks: a phylogeny for the kingdom Fungi (Deep Hypha). *Mycologia*, 98, 829-837.

- Blondel J., 1979.** Biogéographie et écologie. Ed Masson. Paris. 173 pp.
- Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J., Vayssier Y et Veau P., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, (ed) Masson, Paris.
- Bouchard P., Bousquet Y., Davies A. E., Alonso-Zarazaga M. A., Lawrence J. F., Lyal C., H. C., Newton A. F. M., Reid C. A., Schmitt M., Ślipiński S. A., et al., 2011.** Family group names in Coleoptera (Insecta). ZooKeys. 88: 1–972.
- Boucias D.G and Pendland J.C., 1991.** Attachment of mycopathogens to cuticle. In: The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals. (Cole GT, Hoch HC (Editors). Plenum Press, New York.
- Bouhadiba R., 2014.** Etude de l'effet insecticide de *Mentha piperita* et de *Nerium oleander* sur *Aphis spiraecola*. Mémoire Master. (pp. 3-65) Univ Mostaganem. Algérie.
- Boukli Hacene S., 2012.** Bioécologie des Coléoptères (Arthropodes-Insectes) du marais salé de l'embouchure de la Tafna (Tlemcen). Thèse de Doctorat, Univ. Tlemcen, 159 P.
- Bouraada K., Chavanon, G. et Chergui H., 1999.** Peuplement en coléoptères de dunes fixées par des graminées vivaces dans la région orientale du Maroc. Actes Institut Agronomique et. Vétérinaire, 19, 219-230.
- Bouraada K., Chavanon G., Essafi M., El Ghadraoui L. et Benjelloun M., 2016.** Diversité écologique du peuplement de coléoptères des écosystèmes dunaires mobiles de la frange septentrionale et de la région orientale du Maroc. *ecologia mediterranea*, 42(1), 39-50.
- Braga G., Flint S., Miller C., Anderson A. and Roberts D., 2001a.** Variability in response to UV-B among species and strains of *Metarhizium* isolated from sites at latitudes from 61°N to 54°S. *J Invertebr Pathol* .78 :98-108
- Braga G.U., Rangel D.E., Flint S.D., Anderson A.J. and Roberts D.W., 2006.** Conidial pigmentation is important to tolerance against solar simulated radiation in the entomopathogenic fungus *Metarhizium*.
- Braga G.U.L., Flint S.D., Messias C.L., Anderson A.J. and Roberts D.W., 2001b.** Effects of uv-B on conidia and germlings of the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae*. *Mycol Res* 105:874–882.
- Bruns T. D., 2001.** ITS Reality. *Inoculum*. 52: 2-3.
- Butt T. M., 2002.** Use of entomogenous fungi for the control of insect pests. In F. Kempken (Ed.), *The Mycota XI, Agricultural Applications* (pp. 111-134). Berlin: Springer.

- Butt T. M., Ibrahim L., Clark S. J. and Beckett A., 1995.** The germination behaviour of *Metarhizium anisopliae* on the surface of aphid and flea beetle cuticles. *Mycol. Res.*, 99, 945-950.
- Butt T.M., Ibrahim L., Ball B.V. and Clark S.J., 1994.** Pathogenicity of the entomogenous fungi *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against crucifer pests and the honey bee. *Biocontr.; Sci. Technol.* 4 :207-214
- Carvalho M. S. G., 2018.** Características funcionais, generalismo e preferência alimentar de rola-bosta (Coleoptera: Scarabaeinae) no Cerrado brasileiro. Tese de Doutorado do curso de PósGraduação em Zoologia do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília comomrequisito parcial para a obtenção do título de Doutor em Zoologia.
- Cavalier M., 1976.** Cours de phytopharmacie. Ed. Institut National Agronomique, T.1, El-Harrach, 514 p.
- Charnley A. K., 1984.** Physiological aspects of destructive pathogenesis in insects by fungi: a speculative review. In J. M. Anderson, A. D. M. Rayner & D. W. H. Walton (Eds.), *Invertebrate Microbial Interactions* (pp. 229-270). Cambridge: Cambridge University Press.
- Charnley A.K., 1989.** Mechanisms of fungal pathogenesis in insects. In :*Biotechnology fungi for improving plant growth.* Whipps JM, Lumsden RD (eds), Cambridge Univ.Press ,UK .p.85-123
- Clarkson J.M., et Charnley A.K., 1996.** New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects,*Trends Microbiol.*4 :197-204.
- 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*, pp 19-88. Chicoutimi, Québec, canada: Gaétan MORIN éditeur ltée.
- DA Silva P. G., Vaz-DE-Mello F. Z. and DI Mare R. A., 2013.** Diversity and seasonality of Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeidae) in forest fragments in Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brazil *An Acad Bras Cienc* (2013) *Anais da Academia Brasileira de Ciências* (2013) (Annals of the Brazilian Academy of Sciences) Printed version ISSN 0001-3765 / Online version ISSN 1678-2690 www.scielo.br/aabc
- Daas H., Adjami Y., Ghanem R., Viñolas A., Ouakid M. L. et Tahraoui A., 2016.** Inventaire des Coléoptères des subéraies du Nord-Est Algérien. *Turkish Journal of Forestry*, (Special Issue): 11-17. DOI: 10.18182/tjf.10489
- Dagnelie B., 1975.** Théorie et méthodes de statistiques : applications agronomiques. Ed.

- Dajoz R., 2003b** Les coléoptères Carabidés et Ténébrionidés: écologie et biologie. Éd. Lavoisier Tec. & Doc., Londres, Paris, New York, 522p.
- Dajoz R., 1985.** Précis d'écologie. Ed. Bordas. Paris. 505 p.
- Dajoz R., 2003a.** Précis d'écologie. Ed. Dunod. Paris, 615 p.
- De Kouassi M., 2001.** Les possibilités de la lutte microbiologique. Emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*. Vertigo : volume2 ; numero2
- Debras J. F., Dussaud A., Rieux R. et Dutoit T., 2007.** Recherches prospectives sur le rôle «source » des haies en Production Fruitière Intégrée, le cas des Perce oreilles : *Forficula auricularia* L. et *Forficula pubescens* Gené. Comptes Rendus de l'Académie des sciences, Comptes Rendus Biologies, 330, 664-667.
- Devonshire A.L., Field L.M. and Foster S.P., 1998.** The evolution of insecticide resistance in the peach-potato aphid, *Myzus persicae*. Philos Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci. 1998 ; (353) : 1677-84.
- Driver F., Milner R. J. and Trueman J. H., 2000.** A taxonomic revision of *Metarhizium* based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. Mycological Research, 104, 134–150.
- Du Chatenet G., 2005.** Coléoptères d'Europe, Carabes, Carabiques et Dytiques. Tome 1. Adephaga. N.A.P. éditions.1-359p.
- Dunphy G. B. et Tibelius K. H., 1992.** Les progrès biotechnologiques augmentant l'efficacité 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, pp. 305-322. Chicoutimi, Québec, Canada. Gaetan Morin éditeur ltée.
- Eckard S., Ansari MA., Bacher S., Butt TM., Enkerli J. and Grabenweger G., 2014** Virulence of in vivo and in vitro produced conidia of *Metarhizium brunneum* strains for control of wireworms. Crop Prot 64:137–142.
- Ehlers R. U. and Gerwien A., 1993.** Sélection of entomopathogenic nematodes (Steinernematidae and Heterorhabditidae, Nematoda) for biological control of crane-fly larvae *Tipula paludosa* (Tipulidae, Diptera). Journal of Plant Disease and Protection 100: 343-353.
- Elliot S. L., Blanford S. and Thomas M. B., 2002.** Host-pathogen interactions in a varying environment: temperature, behavioural fever and fitness. Proc. R. Soc. Lond. B, 269, 1599-1607.

- Entz C., Johnson L., and Kawchuk L., 2005.** Development of a PCRbased diagnostic assay for the specific detection of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var.*acridum*. Mycol. Res.109(11) : 1302–1312.
- Fabre J. H., 1919.** Les ravageurs- Récit. Sur les insectes nuisibles à l'agriculture.
- Fargues J., Goettel M., Smits N., Ouedraogo A., Vidal C., Lacey L., Lomer C. and Rougier M., 1996.** Variability in susceptibility to stimulated sunlight of conidia among isolates of entomopathogenic Hyphomycetes. Mycopathologia (135) 171-181.
- Fargues J., Maniania N.K., Delmas J.C. et Smits N., 1992.** Influence de la température sur la croissance in vitro d'hyphomycètes entomopathogènes. Agronomie 12: 557-564.
- Feng M.G., Poprawski T.J. and Khachatourians G.G., 1994.** Production, formulation and application of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* for insect control: current status. Biocont. Sci. Tech. 4: 3-34.
- Ferrand M., Garrin M., Merigue T.B. et Gadoum S., 2014.** Réalisation d'un inventaire diagnostic entomologique dans le cadre d'une démarche Oasis-nature (portée par Humanité et Biodiver-sité) dans le parc de la Villette (75), Rapport final 2012-2014. Etablissement public du parc et de la grande halle de la Villette (EPPGHV), Office pour les insectes et leur environnement (Opie), 90 p.
- Ferron P., 1975.** Les champignons, entomopathogènes: évolution des recherches au cours des dix dernières années. Bull. S.R.O.P. (3):1-54.
- Ferron P., 1977.** Influence of relative humidity on the development of fungal infection caused by *Beauveria bassiana* [Fungi Imperfecti, Moniliales] in imagines of *Acanthoscelides obtectus* [Col.: Bruchidae]. Entomophaga, 22, 393-396.
- Ferron P., Fargues J. et Riba G., 1991.** Fungi as microbial insecticides against pests. In: Arora D.K., Ajello L., Mukerji K.G (eds) Handbook of Applied Mycology. Volume 2: Humans, Animals, and Insects.18: 665–706. Marcel Dekker, Inc, New York.
- Ferron P., Fargues J. et Riba G., 1993.** Les champignons agents de lutte microbiologique contre les ravageurs D5, 65-92. (Handbook of applied mycology, vol. 2, Humans, Animals and Insects, 1991).
- Ferron, P., 1985.** Fungal control. In: Kerkut GA, Gilbert LI (Eds.), Comprehensive Insect physiology, Biochemistry and Pharmacology. Pergamon, Oxford, pp. 313-346.
- François-Régis G. P. M., 2016.** La lutte contre le ver blanc de la canne à sucre à la Réunion : histoire d'une réussite, Cirad UPR Aida. [En ligne], (page consultée le : 19/06/2017)
- Gaugler R., 2002.** Entomopathogenic nematology. CABI Publishing, New York, 400p.

- Geiser D.M., Jimenez-Gasco M.D., Kang S.C., Makalowska I., Veeraraghavan N., Ward T.J., Zhang, N., Kuldau G.A. and O'Donnell K., 2004.** Fusarium-id v. 1.0: A DNA sequence database for identifying *Fusarium*. *European Journal of Plant Pathology* 110:473–479.
- Gibrán S. H., Gómez B., Delgado L., López M. E. R. and Chamé -Vázquez E. R., 2018.** Diversidad de escarabajos copronecrófagos (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) en la Reserva de la Biosfera Selva El Ocote, Chiapas, Méxic doi: <https://dx.doi.org/10.15446/caldasia.v40n1.68602> *Caldasia* 40(1):144-160. Enero-junio 2018
- Gillespie J.P., Bailey A.M., Cobb B and Vilcinskis A., 2000.** Fungi as elicitors of insect immune responses. *Arch Insect Biochem Physiol.* 44 :49–68
- Goettel M.S., 1992.** Des champignons comme agent de lutte biologique. In: Pibadam, CAB
- Goettel M.S., St Leger R.J., Rizzo N.W., Staples R.C and Roberts D.W., 1989.** Ultrastructural localization of a cuticle-degrading protease produced by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* during penetration of host (*Manduca sexta*) cuticle. *J. General. Microbiol.* 135 :2233-2239.
- Greathead D.J., Kooyman C., Launois-Luong M.H. et Popov G.B., 1994.** Les ennemis naturels des criquets du Sahel. Ed. Cirad/Prifas, Collection Acridologie Opérationnelle, Montpellier, 147p.
- Greathead, D. J., 1992.** Biological control as a potential tool for locust and grasshopper control. In *Biological Control of Locusts and Grasshoppers*. Lomer, C.J. and Prior C. (eds.). C.A.B. International, Wallingford, UK, 4-7.
- Hajek A. E and Eastburn C. C., 2003.** Attachment of germination of Entomophaga maimaiga conidia on host and non-host larval cuticle. *J. Invertebr. Pathol.*, 82, 12-22.
- Hajek A.E and St Leger., 1994.** Interaction between fungal pathogens and insect host. *Ann. Rev. Entomol.*39:293-322.
- Hall, R. A and Papierok B. 1982.** Fungi as biological control agents of arthropods of agricultural and medical importance. *Parasitology* 84, 205-40.
- Hanski I. and Cambefort Y., 1991.** Dung Beetle Ecology. U.K.: Princeton University Press.
- Hartley E. E., Gaedner S. M. and Mitchell R. J. 2003.** Indirect effects of grazing and nutrient addition on the hemipteran community of heather moorlands: Moorland vegetation and insect community diversity. *Journal of Applied Ecology*, 40,793–803.
- Hawksworth D.L., Sutton B.C., Ainsworth G.C. and James, P.W. 1983.** Dictionnaire de Ainsworth and Bisby des champignons, 7th ed., Commonwealth Mycol.inst., Kew, United kingdom.445p.

- Hayes W. P., 1930.** Morphology, Taxonomy, and Biology of Larval Scarabaeoidea, 203 P, University of Illinois Urbana-Champaign
- Henk D. A. and Vilgalys R., 2007.** Molecular phylogeny suggests a single origin of insect symbiosis in the Pucciniomyces with support for some relationships within the genus *Septobasidium*. *Am. J. Bot.*, 94, 1515-1526.
- Henke M. O., de Hoog G. S., Gross U., Zimmermann G., Kraemer D. and Weig M., 2002.** Human deep tissue infection with an entomopathogenic *Beauveria* species. *J. Clin. Microbiol.* 40, 2698-2702.
- Hibbett D. S., Binder M., Bischoff J. F., Blackwell M., Cannon, P. F., Eriksson O. E., Huhndorf S., James T., Kirk P. M., Lücking R., Lumbsch H. T., Lutzoni F., Matheny P. B., McLaughlin D. J., Powell M. J., Redhead S., Schoch C. L., Spatafora J. W., Stalpers J. A., Vilgalys R., Aime M. C., Aptroot A. Bauer R., Begerow D., Benny G. L., Castlebury L. A., Crous P.W., Dai Y. C., Gams W., Geiser D. M., Griffith G. W., Gueidan C., Hawksworth D. L., Hestmark G., Hosaka K., Humber R. A., Hyde K. D., Ironside J. E., Kořljalg U., Jyrtznabm C. P., Larsson K. H., Lichtwardt R., Longcore J., Miadlikowska J., Miller A., Moncalvo J. M., Mozley-Standridge S., Oberwinkler F., Parmasto E., Reeb V., Rogers J. D., Roux C., Ryvarden L., Sampaio J. P., Schubler A., Sugiyama J., Thorn R. G., Tibell L., Untereiner W. A., Walker C., Wang Z., Weir A., Weiß M., White M. M., Winka K., Yao, Y. J. and Zhang N., 2007.** A higher-level phylogenetic classification of the fungi. *mycol. res.*, 111, 509-547.
- Hoffmann J.A. et Reichhart J.M., 2002.** *Drosophila* innate immunity: An evolutionary perspective. *Nature Immunol.* 3:121-126.
- Holder D. J. and Keyhani N. O., 2005.** Adhesion of the entomopathogenic fungus *Beauveria* (*Cordyceps*) *bassiana* to substrata. *Appl Environ Microbiol* 71, 5260–5266.
- Hong S.B., Shin H.D., Hong J., Frisvad J. C., Nielsen P. V., Varga j. and Samson R. A., 2008.** New taxa of *Neosartorya* and *Aspergillus* in *Aspergillus* section *Fumigati*. *Antonie Van Leeuwenhoek* 2008; 93: 87-98.
- Howard R.J. and Valent B., 1996.** Breaking and entering: Host penetration by the fungal rice blast pathogen *Magnaporthe grisea*. *Annu. Rev. Microbiol.* 50, 491–512.
- Huchet J. B., 2014.** Hybosoridae Erichson, 1847. In: *Les Coléoptères de l'île de la Réunion*, Editors : Gomy Y, Lemagnen R and Poussereau J). Orphie, Saint Denis, La réunion. pp. 238-240

- Humber R. A., 2008.** Evolution of entomopathogenicity in fungi. *J. Invertebr. Pathol.*, 98, 262-266.
- Humber R. A., 2012.** Identification of entomopathogenic fungi. *Manual of techniques in invertebrate pathology*. Published by Elsevier Ltd. pp151-187.
- Hunt T. R., Moore D., Higgins P. M. and Prior C., 1994.** Effect of sunscreens, irradiance and resting periods on the germination of *Metarhizium flavoviride* conidia. *Entomophaga*, 39, 313-322.
- I.N.P.V. 1985.** Note technique sur les vers blancs.
- I.N.P.V. 2015.** Le ver blanc des céréales : comment y faire face ? L'institut national de la protection des végétaux INPV. <http://www.inpv.edu.dz>.
- Ignoffo C. M. and Garcia C., 1992.** Influence of conidial color on inactivation of several entomogenous fungi (Hyphomycetes) by simulated sunlight. *Environ. Entomol.*, 21, 913-917.
- Ignoffo C. M., 1970.** Proceedings of the Tall Timbers Conference on Ecology of Animal Contributions by Habitat Management, Tallahassee, Florida. Tall Timbers Research Station: 47-57.
- Ignoffo C. M., 1973.** Effects of entomopathogens on vertebrates. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 217, 141-172.
- Inglis G. D., Goettel M. S., Butt T. M. and Strasser H., 2001.** Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests. In T. M. Butt, C. Jackson & N. Magan (Eds.), *Fungi as Biocontrol Agents: Progress, Problems and Potential* (pp. 23-69). Wallingford: CABI International, IITA, La lutte biologique contre les acridiens, Nigeria, p. 122-131.
- James T. Y., Letcher P. M., Longcore J. E., Mozley-Standridge S. E., Porter D., Powell M. J., Griffith G. W. and Vilgalys R., 2006.** A molecular phylogeny of the flagellated fungi (Chytridiomycota) and description of a new phylum (Blastocladiomycota). *Mycologia* (98) 860-871.
- Jaronski S.T., 2010.** Ecological factors in the inundative use of fungal entomopathogens. *BioControl*, 55, 159-185.
- Jourdheuil P., Grison P. et Fraval A., 1991.** La lutte biologique: un aperçu historique. La lutte biologique. Dossier de la Cellule environnement de l'INRA N°5, pp11-35.
- Keller S., 1991.** Arthropod-pathogenic Entomophthorales of Switzerland. II. *Erynia*, *Eryniopsis*, *Neozygites*, *Zoophthora*, and *Tarichium*. *Sydowia*, 43, 39-122.
- Khachatourians G., 1986.** Production and use of biological pest control agents. *Trends Biotech* 4: pp120-124.

- Kirk P.M., Cannon P.F., David J.C., Egham U.K. and Stophes J.A., 2001.** Ainsworth and Bysby's Dictionary of fungi , 9 th edn .CABI. Bioscience.UK. Center and central Bureau Voie. Ultrach. The Net.
- Kölliker U., Biasio L. and Jossi W., 2011.** Potential control of Swiss wireworms with entomopathogenic fungi. IOBC/WPRS Bull 66:517–520.
- Kouadio D. L. M., Aby N., Abo K., Kouadjo C., Kobenan K., Traore S. et Gnonhour P., 2018.** Caractérisation D'isolats Locaux De *Metarhizium* Spp, Champignon Entomopathogène De Cosmopolites Sordidus Germar, Isoles Des Bananeraies En Côte d'Ivoire. European Scientific Journal July 2018 edition Vol.14, No.21
- Kurtzman C. P., Fell J. W. and Boekhout T., 2011.** The Yeasts: A Taxonomic Study (5th ed.). Amsterdam: Elsevier, 2080 p.
- Lacey L. A., Fransen J. J. and Carruthers R. I., 1996.** Global distribution of naturally occurring fungi of Bemisia, their biologies and use as biological control agents. In: Bemisia 1995: Taxonomy, Biology, Damage, and Management' (Gerling, D. and Mayer, R., Eds.), pp. 401- 433. Intercept, Andover.
- Lacoste A. et Salanon R., 2001.** Eléments de Biogéographie et d'Ecologie. Ed. Nathan/HER, Paris. 318 pp.
- Launois-Luong M.H., Rachadi T. et J.D., 1994.** Les biopesticides en lutte antiacridienne. Insecte N°92.pp1-5.
- Liu B.L., Chen J.W et Tzeng Y.M., 2000.** Production of cyclodepsipeptides destruxin A and B from *Metarhizium anisopliae*. Biotechnol Prog .16 :993–999.
- Lomer C. J., Bateman R. P., Johnson D. L., Langewald J. and Thomas M., 2001.** Biological control of locusts and grasshoppers. Annual Review of Entomology 46: 667–702.
- Luz C., Fargues J. and Romana C., 2003.** Influence of starvation and blood meal-induced moult on the susceptibility of nymphs of *Rhodnius prolixus* Sta^o1 (Hem., Triatominae) to *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. infection. J. Appl. Entomol., 127, 153-156.
- Luz, C. and Fargues, J., 1997.** Temperature and moisture requirement for conidial germination of an isolate of *Beauveria bassiana*, pathogenic to *Rhodnius prolixus*. Mycopathologia 138:117-125.
- Magurran A.E., 1988.** Ecological Diversity and its Measurements. Princeton University Press.

- McCoy C. W., Samson R. A., and Boucias D. G., 1988.** In C. M. Ignoffo (Ed.), CRC Handbook of Natural Pesticides. Entomogenous fungi, Vol. 5 (Part A) (pp. 151-236). Boca Raton: CRC Press
- Meikle W, G., Mercadier G., Girod V., Derouane F., and Jones W. A., 2007.** Les micro-champignons, nouvel espoir dans la lutte biologique contre *Varroa destructor*. Abeilles & cie. n°118 pp 14-19.
- Meziane B., 2017.** Les coléoptères saproxyliques des Monts d'Ouarsenis (Nord-Ouest Algérien) : cas du Parc National de Theniet El Had. Mémoire de Magister, Univ. Tlemcen, 116 P.
- Mitsuaki S., 2004.** Effect of temperature on growth of *Beauveria bassiana* F-263, a strain highly virulent to the Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus*, especially tolerance to high temperatures. Appl Entomol Zool. 39 : 469-475.
- Mohammedi A., Arous A. S., and Kerrouzi M., 2019.** Entomofaunal diversity and similarity indices of different agroecosystems in northwest Algeria. Journal of Insect Biodiversity and Systematics, 5 (2), 143–152.
- Monteny N., 1990.** Influence de facteurs biotiques et abiotiques, induits et naturels, sur l'efficacité larvicide de *Bacillus sphaericus* Neide, 1904.thèse de docteur en sciences. Université Paris sud centre d'Orsay.142p
- Morris O. N., 1983.** Microorganisms isolated from forest insects in British Columbia. J. Entomol. Sci. BC. 80: 29-36.
- Moutia L. A., 1940.** Bull. Entomol. Research, 31, 193-208 (1940)
- Nautiyal C.S., 2000.** Biocontrol of plant diseases for agricultural sustainability. In: Biocontrol potential and its exploration in sustainable agriculture. Upadhyay R.K., Mukherji K.G., Chamola B.P. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers, USA. 9-23.
- Navarro-Barranco H., Carolina Brunner-Mendoza, María del Rocío Reyes-Montes, Esperanza Duarte-Escalante, Toriello C., 2018.** Phenotypic and molecular analysis of Mexican *Metarhizium anisopliae* strains. Taxonomy and systematics Revista Mexicana de Biodiversidad 90 (2019): e902643.
- Nichols E., Spector S., Louzada J., Larsen T., , Amézquita S., and Favila M.E., 2008.** Ecological functions and ecosystem services provided by Scarabaeinae dung beetles. Biological Conservation, 141, 1461–1474. <https://doi.org/10.1016/j.biocon.2008.04.011>
- Notini G., Mathlein R., & Lihnell D., 1944.** Green mycosis caused by *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. I. Green mycoses as a biological means of insect control. II.

- Physiological investigations on the green mycosis fungus. Rev. Appl. Mycol., 25, 161-162.
- OIE, 2008.** Varroose des abeilles mellifères. Manuel terrestre de l'organisation mondiale de la santé animale. Pp463-468.
- Pava-Ripoll M., Angelini C., Fang W., Wang S., Posada F. J., and St. Leger R., 2011.** The rhizosphere-competent entomopathogenic *Metarhizium anisopliae* expresses a specific subset of genes in plant root exudate. Microbiology 157: 47 – 55.
- Pierre, F. 1958** Écologie et peuplement entomologique des sables vifs du Nord-occidental. Série Biologique n° 1, Centre national de recherche scientifiques, France, p 332.
- Poinar G.O. and Thomas G.M., 1985.** Laboratory guide to insect pathogens and parasite, Plenum Presses, New York, 329 p.
- Pope T. W., Hough, Arbona G., Roberts C., Bennison H., Buxton J., Prince G., et Chandler D. 2018.** Investigating the potential of an autodissemination system for managing populations of vine weevil, *Otiorhynchus sulcatus* (Coleoptera: Curculionidae) with entomopathogenic fungi. Journal of Invertebrate Pathology, 154, 79–84.
- Presse agronomique de Gembloux, Vol. II, Gembloux, 459 p
- Priyatno T. P. and Ibrahim Y.B., 2002.** Free fatty acids on the integument of the striped flea beetle, *Phyllotreta striolata* F., and their effects on conidial germination of the entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* and *Paecilomyces fumosoroseus*. Pertanika J. Trop. Agric. Sci., 25, 115-120.
- Ragavendran C., Srinivasan R., Kim M. and Natarajan D., 2018)** *Aspergillus terreus* (Trichocomaceae): A Natural, Eco-Friendly Mycoinsecticide for Control of Malaria, Filariasis, Dengue Vectors and Its Toxicity Assessment Against an Aquatic Model Organism *Artemia nauplii*. Front. Pharmacol. 9:1355. doi: 10.3389/fphar.2018.01355
- Rakotoarisoa H. L., 2007.** Contribution à l'étude de l'efficacité du *Metarhizium anisopliae* contre *Heteronychus plebejus* sur riz pluvial sur couverture végétale morte dans la région du Lac Alaotra. Mémoire de fin d'études, D.E.A d'entomologie. Antananarivo : Faculté des Sciences de l'Université d'Antananarivo, Département d'entomologie, 2007, 81p.
- Ramoska W.A., 1984.** The influence of relative humidity on *Beauveria bassiana* infectivity and replication in the ching bug, *Blissus leucopterus*. J. Invertebr Patho.43:389-394.
- Rangel D. E. N., Anderson A. J. and Roberts D. W., 2008.** Evaluating physical and nutritional stress during mycelial growth as inducers of tolerance to heat and UV-B radiation in *Metarhizium anisopliae* conidia. Mycol. Res., 112, 1362-1372.

- Rapilly F., 1968.** Les techniques de mycologie en pathologie végétale. Ann. Epiphyt., Institut National de la Recherche Agronomique, 19, 101 p.
- Read N. D., Fleibner A., Roca M. G. and Glass N. L., 2010.** Hyphal fusion. In K. A. Borkovich & D. J. Ebbole (Eds.), Cellular and Molecular Biology of Filamentous Fungi (pp. 260-273). Washington, DC: American Society for Microbiology Press.
- Riba G., & Marcandier S., 1984.** Influence de l'humidité relative sur l'agressivité des souches de *Beauveria bassiana* (Bals) Vuillemin et de *Metarhizium anisoplaie* (metsh.) Sorokin Hyphomycetes pathogenes de la pyrale du maïs *Ostrinia nubilalis* Hubn. Agronomie 4: 189-194.
- Rigamonti I. E., Lozzia G. C., 2002.** Phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) on apple tree and spontaneous flora under different environmental and cultural conditions in Valtellina (Lombardy, Northern Italy). Bollettino di Zoologia agraria e di Bachicoltura, 34: 53-70.
- Ritcher P. O., 1958.** Biology of Scarabaeidae, Department of Entomology, Oregon State College, Corvallis, Oregon, Annu. Rev. Entomol. 1958.3:311-334. Downloaded from www.annualreviews.org by Washington University - Olin Library on 08/28/13.
- Ritcher P. O., 1966.** White grubs and their allies. A study of North American Scarabeid larvae. – Oregon State University Press, Oregon. 219 pp.
- Rogge S. A., Mayerhofer J., Enkerli J., Bacher S. and Grabenweger G. 2017.** Preventive application of an entomopathogenic fungus in cover crops for wireworm control, BioControl.
- Roth F.X., 1980.** Micro-organisms as a source of protein for animal nutrition. Anim. Res. Dev., 12: 7-19.
- Roy H. E., Steinkraus D., Eilenberg J., Hajek A. E. and Pell J. K., 2006.** Bizarre interactions and endgames: entomopathogenic fungi and their arthropod hosts. Annu. Rev. Entomol., 51, 331-357.
- Saiah F., 2014.** Contribution à l'étude sur la lutte biologique à l'égard de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera ; Gracillariidae), mineuse des Citrus. Thèse Doctorat - Univ Mostaganem – Algerie 118p.
- Schabel H.G., 1976.** Green muscardine disease of *Hylobius pales* (Herbst) (Coleoptera: curculionidae). Z. Angew.entomol. 81, 413-421.
- Schneider-orelli O., 1947.** Entomologisches praktikum-Einführung in die land-un forstwirtschaftliche insektenkunde.Sauerlander and co., aarau, Germany.
- Schoch C. L., Sung G.-H., Lo'pez-Gira'ldez F., Townsend J. P., Miadlikowska J., Hofstetter V., Robbertse B., Matheny P. B., Kauff F., Wang Z., Gueidan C.,**

- Andrie R. M., Trippe K., Ciufetti L. M., Wynns A., Fraker E., Hodkinson B. P., Bonito, G., Groenewald, J. Z., Arzanlou, M., de Hoog, G. S., Crous, P. W., Hewitt, D., Pfister D. H., Peterson K., Gryzenhout M., Wingfield M. J., Aptroot A., Suh S.-O., Blackwell M., Hillis D. M., Griffith G. W., Castlebury L. A., Rossman A. Y., Lumbsch H. T., Lücking R., Büdel B., Rauhut A., Diederich P., Ertz D., Geiser D. M., Hosaka K., Inderbitzin P., Kohlmeyer J., Volkmann-Kohlmeyer B., Mostert L., O'Donnell K., Sipman H., Rogers J. D., Shoemaker R. A., Sugiyama J., Summerbell R. C., Untereiner W., Johnston P. R., Stenroos S., Zuccaro A., Dyer P. S., Crittenden P. D., Cole M. S., Hansen K., Trappe J. M., Yahr R., Lutzoni F. and Spatafora J. W., 2009.** The Ascomycota tree of life: a phylum-wide phylogeny clarifies the origin and evolution of fundamental reproductive and ecological traits. *Syst.Biol.*, 58, 224-239.
- Schoolmeesters P., 2018.** Scarabs: World Scarabaeidae Database (version Apr2018). In: Roskov Y., Ower G., Orrell T., Nicolson D., Bailly N., Kirk P.M., Bourgoin T., DeWalt R.E., Decock W., Nieukerken E. van, Zarucchi J., Penev L., eds. (2016): *Species 2000 & ITIS Catalogue of Life*, 30th October 2018. Digital resource at www.catalogueoflife.org/col. Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. ISSN 2405-8858.
- Sebih H., 2018.** Évaluation préliminaire de l'effet in vitro de l'entomopathogène autochtone *Beauveria* sp. (Hypocreales: Clavicipitaceae) sur les larves du ver blanc. Mémoire de Master. Univ. Mostaganem. 59 p.
- Senal J., Fraselle J., Impens R., Kummert J., Lepoivre Ph., Meulmans M., Seilleur P., Vandevcken J. et Viseur J., 1993.** *Traité de pathologie végétale*. Gembloux. Belgique.
- Silvy C. et Riba G., 1989.** Biopesticides contre maladies, insectes, mauvaise herbe. Dossier de l'environnement, N° J 9, pp 157-20.
- Simard L., 2006.** Distribution, abondance et écologie saisonnière des principaux insectes ravageurs du gazon sur les terrains de golf du Québec et évaluation du potentiel de contrôle de nématodes entomopathogènes indigènes. Thèse doctorat l'Université Laval-Québec 187p.
- Simard L., Bélair G. and Brodeur J., 2001.** Susceptibility of the European chafer (Coleoptera: Scarabaeidae) to entomopathogenic nematodes (Rhabditida: Steinemematidae, Heterorhabditidae). *Supplément to the Journal of Nematology* 33: 297-301.

- Simard L., Bélair G. and Brodeur J., 2002.** Susceptibility of cranberry girdler to entomopathogenic nematodes. *Canadian Entomologist* 134: 329-330.
- Sint D., Guenay Y., Mayer R., Traugott M. and Wallinger C., 2018.** The effect of plant identity and mixed feeding on the detection of seed DNA in regurgitates of carabid beetles. *Ecology and Evolution*, 8(28), 10834-10846.
- Smith R.J. and Grula E.A., 1982.** Toxic components on the larval surface of the corn earworm (*heliopsis zea*) and their effects on germination and growth of *Beauveria bassiana*. *J.invertebr.Pathol.*39:15-22.
- Solomon M.E., 1951.** Control of humidity with potassium hydroxide, sulphuric acid, or other solutions. *Bulletin of Entomological Research*, 42, 543-554.
- Sosa-Gomez D. R., Boucias D. G. and Nation J. L., 1997.** Attachment of *Metarhizium anisopliae* to the southern green stink bug *Nezara viridula* cuticle and fungistatic effect of cuticular lipids and aldehydes. *J. Invertebr. Pathol.*, 69, 31-39.
- Soza-Gómez D.R and Alves S. B., 2000.** Temperature and relative humidity requirements for conidiogenesis of *Beauveria bassiana* (Deuteromycetes: Monillicae). *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil (english version)* 29 :515-521
- St. Léger RJ, Cooper RM and Charnley AK., 1991.** Characterization of chitinase and chitobiase produced by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *J Invertebr Pathol* 58:415-426.
- Starnes R.L., Liu C.L and Marone P.G., 1993.** History, use and future of microbial insecticides. *Amer. Entomol.* 39: 83-91.
- Steenhuisen S. L., and Johnson S.D., 2012.** Evidence for beetle pollination in the African grassland sugarbushes (*Protea: Proteaceae*). *Plant Syst. Evol.* 298: 857–869.
- Steinhaus E. A., 1956.** Principles of insect pathology. McGraw Hill Book. Co. Inc., Toronto. 757p. Steinhaus, E. A., 1963. Insect pathology advanced treatise. Academic Press. New York, vol. 1: 661p., vol.2: 689p.
- Takatsuka J., 2007.** Characterization of *Beauveria bassiana* Isolates from Japan Using Intersimple Sequence Repeat-anchored Polymerase Chain Reaction (ISSR-PCR) amplification. *Applied Entomology and Zoology*, 42, 563-571.
- Tanyeli E., Sevim A., Demirbag Z., Eroglu M. and Demir I. 2010.** Isolation and virulence of entomopathogenic fungi against the great spruce bark beetle, *Dendroctonus micans* (Kugelann) (Coleoptera: Scolytidae) *Biocontrol Science and Technology*, Vol. 20, No. 7, 2010, 695-701.

- Taylor J.W., 1995.** Making the Deuteromycota redundant: a practical integration of mitosporic and meiosporic fungi. *Can. J. Bot.*, 73S, S754-S759.
- Tevini M., 1993.** Molecular biological effects of ultraviolet radiation. In M. Tevini (Ed.), *UV-B Radiation and Ozone Depletion: Effects on Humans, Animals, Plants, Microorganisms, and Materials* (pp. 1-15). Boca Raton: Lewis Publishers.
- Todorova S.J., Côté L.C., Martel P. and Coderre D., 1994.** Heterogeneity of two *Beauveria bassiana* strains revealed by biochemical tests, protein profiles and bioassays on *Leptinotarsa decemlineata* (Col: Coccinelidae) larvae. *Entomophaga*. 39 :159-169.
- Tom H., and Kaippallil J. D., 2016.** A preliminary study on the diversity of coleopterans in a rural area in Changanacherry, Kerala. *JEZS* 2016; 4(5): 297-300.
- Touroult J. and Le Gall P., 2013.** Fruit feeding Cetoniinae community structure in an anthropogenic landscape in West Africa. *Journal of Insect Conservation*, 17, 23-34.
- Veen K. H., 1968.** Recherches sur la maladie, due à *Metarhizium anisopliae* chez le criquet pelerin. *Mededel. Landbouwhogeschool Wageningen*, 68, 1-77.
- Vega F.E. and Dowd P. F., 2005.** The role of yeasts as insect endosymbionts. In F. E. Vega & M. Blackwell (Eds.), *Insect- Fungal Associations: Ecology and Evolution* (pp. 211-243). New York: Oxford University Press.
- Vega F. E., Meyling N.V., Luangsa-ard J.J. and Blackwell M., 2012.** Fungal Entomopathogens. *Insect Pathology*. Elsevier Inc.150p.
- Vey A. and Fargues J., 1977.** Histological and ultrastructural studies of *Beauveria bassiana* infection in *Leptinotarsa decemlineata* larvae during ecdysis. *J. Invertebr. Pathol.*, 30, 207-215.
- Vincent C. and Coderre D., 1992.** La lutte biologique à la croisée des chemins. In C. Vincent et D. Coderre : *La lutte biologique*. Gaëtan Morin, Québec, 645-650.
- Wang C. and St. Leger R. J., 2007a.** The MAD1 adhesin of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and the MAD2 adhesin enables attachment to plants. *Eukaryot. Cell*, 6, 808-816.
- Wang C. and St. Leger R. J., 2007b.** The *Metarhizium anisopliae* perilipin homolog MPL1 regulates lipid metabolism, appressorial turgor pressure, and virulence. *J. Biol. Chem.*, 282, 21110-21115.
- Wright R.J. and Roberts D., 1987.** Insect control effort with fungi. *Developments in industrial microbiology* 28, p. 77-87.
- Yahiaoui D. et Bekri N., 2014.** Etude des méthodes de lutte contre le ver blanc des céréales (*Geotrogus deserticola*) dans la région d'Oran. AFPP –Dixième conférence

internationale sur les ravageurs en agricultures. 22 et 23 octobre 2014, Montpellier - France.

Younes G. et Saporta, G., 2004. Une méthodologie pour la comparaison de partitions. *Revue de Statistique Appliquée*. 52, 97–120.

Site Web: <http://insectmania.free.fr/biologie.htm>

[http:// C.Thiriet/biosphoto.htm](http://C.Thiriet/biosphoto.htm)

[http:// Climate-data.org](http://Climate-data.org).

FEB - FRESENIUS ENVIRONMENTAL BULLETIN

Founded jointly by F. Korte and F. Coulston

Production by PSP - Vimy Str. 1e, 85354 Freising, Germany in
cooperation with PRT-Parlar Research & Technology

Vimy Str 1e, 85354 Freising

Copyright© by PSP and PRT, Vimy Str. 1e, 85354 Freising, Germany

All rights are reserved, especially the right to translate into foreign language or other processes - or convert to a machine language, especially for data processing equipment - without written permission of the publisher. The rights of reproduction by lecture, radio and television transmission, magnetic sound recording or similar means are also reserved.

Printed in Germany-ISSN 1018-4619

BIODIVERSITY OF BEETLES FAUNA IN AGRICULTURAL ENVIRONMENTS FROM NORTHWESTERN ALGERIA

Mohammed Boutaiba Benklaouz^{1,*}, Fatiha Righi Assia¹, Amine Ghelamallah², Mouffok Elouissi¹

¹Biology Systems and Geomatics Laboratory, Faculty of Nature and Life Sciences, Mascara University 29000, Algeria

²Plant Protection Laboratory, Faculty of Nature and Life Sciences, Mostaganem University 27000, Algeria

ABSTRACT

Beetles provide valuable ecosystem services as biological pest control and soil fertilization. However, their community structure has not been completely elucidated. The current study was performed to make specific inventories of beetles in agricultural environments, provide fundamental information on their community structure and evaluate their diversity based on the seasonal climate of Northwestern Algeria. Regular sampling of beetle specimens was done by using the Barber pitfall traps and the yellow traps in four agroecosystems: one cereal field (CF), one citrus orchard (CO) and two potato fields (PT1 and PT2). A total of 205 species, belonging to 29 families, were recorded from the four studied environments. Tenebrionidae, carabidae and Scarabeidae were the most dominant families in terms of individuals and species. However, the Shannon-Wiener index and equitability presented their highest values in the CF ($H^{\prime}=3.63$ and $E=0.76$). The biggest qualitative and quantitative similarities were recorded between the faunas of PT1 and PT2 ($S=0.57$; $J=0.40$). The chi-squared test showed that the family abundances were dependent of the environments. The species number rates differed significantly among the seasons in the four studied environments. An important taxonomic diversity of the beetle community was found, which is highly related to environmental variables.

KEYWORDS:

Agricultural environments, Beetles, Biodiversity, Northwestern Algeria

INTRODUCTION

The biodiversity of insects acts directly on the dynamics and functioning of ecosystems by intervening at all levels of trophic chain [1]. The beetles are considered as one of the most important groups of insects which can shelter in cultivated fields. They represent one-third of the world's known insects [2]. Although polyphagy is the main feature of beetles feeding behavior, their biology features enable them provide valuable ecosystem services. This is the case

of scarabaeinae as soil fertilization and biological pest control [3, 4], carabids and their effects on invertebrate pests [5], some Hybosoridae as predators [6] and Cetoniinae as pollinators and good bioindicators of environmental changes [7, 8]. In contrast, these include also a number of so-called phytophagous species which are responsible for crops damage (i.e., some melolonthids, rutelids and dynastines) whose larvae feed on roots that can act as important pests [9].

Biodiversity restoring is a key strategy in sustainable agriculture [10]. This one makes agroecosystems able to sponsoring their own soil fertility, crop productivity and protection through restoration of natural control of insect, diseases and nematodes [11]. However, various studies reported that the assembly of entomological fauna composition was influenced by several factors, including human-induced disturbances, such as destruction and fragmentation of natural habitats and the application of pesticides [12, 13].

In agricultural areas, Beetles fauna group can provide crucial ecosystem roles as biological pest control (predators) and soil fertilization (coprophagous). However, the heavy agricultural practices in cultivated areas could be the cause of their limited biodiversity and abundance [13]. Updated beetles inventories can provide important data on their biodiversity in order to adopt new strategies for their preservation. In Algeria, studies on beetles in agroecosystems are still incipient because most of them are not fully identified and their community structure is not completely elucidated. Therefore, this study was performed to make specific inventories of beetles in different agroecosystems and to provide fundamental information on their diversity and community structure based on seasonal climate of Northwestern Algeria.

MATERIALS AND METHODS

Study area. The present study was carried out at four different agroecosystems located in Mostaganem and Relizane areas, Northwestern Algeria. These regions were chosen given their high fertility and important agricultural production in this country. Our inventory has focused on three potential crops

grown in these two provinces: Potato fields (PT), cereal field (CF) and citrus orchard (CO). The surveys were conducted in four stations: Sirat 1 (35°78' 37" N; 0°15' 98" E; elvation: 42 m a.s.l), Sirat 2 (35°76'19" N; 0°16' 59" E; elvation: 47 m a.s.l), Souaflias (35°88' 75" N; 0°35'42" E; elvation: 284 m a.s.l) and Yellel (35°75' 36" N; 0°38' 83" E; elvation: 131 m a.s.l) (Figure 1). Based on the climatic data for the period 2000–2020 provided by the meteorological station of Mostaganem, the study area has a semiarid bioclimate. Precipitation was very irregular with large fluctuations; it was totaled 381.47 mm where November was the rainiest month with an average of 64.53 mm, while July was the driest month with 0.59 mm. The highest maximum temperature was recorded in July with 40.75 °C, whereas the lowest minimum temperature was recorded in January with 0.71 °C.

Sampling. The sampling of beetles fauna on the site was done regularly from 96 surveys distributed during two years, from March 2018 to February 2020, using the previously described techniques (Barber pitfall trap and yellow trap) [14]. Captured beetles were collected weekly and transferred to the laboratory, where they were counted and examined. Specimens were then sorted, labeled and identified with the help of specialists and identification keys.

Diversity analysis. For the diversity analysis of the beetle assemblages, several structural param-

eters and ecological indexes were calculated as previously described for the relative abundance (RA %) and centesimal frequency (Cf %) [15], Shannon-Weaver diversity index (H') [16], Equitability index (E) [17], Sorenson index (S) [18] and Jaccard index (J) [19].

Statistical analysis. The chi-squared test was used to test the dependency of the species richness and the relative abundances of the different families and the four agroecosystems. One way ANOVA with t-test were used to test the significance of differences between species number of the different stations and seasons. All data were presented as mean \pm standard deviation. p values <0.05 were considered to be significant. Statistical calculations were performed using SPSS v21 software.

RESULTS

Composition and abundance of beetle community. A total of 4633 individuals classified into 29 different families, 69 subfamilies, 146 genera and 205 species, were identified in the four studied agroecosystems. The largest number of beetles was recorded in the CF with 1472 individuals and 114 species), followed by the CO with 1266 individuals and 96 species, the PT2 with 1074 individuals and 82 species and finally by the PT1 with 821 individuals and 72 species) (Table 1; Figure 2).

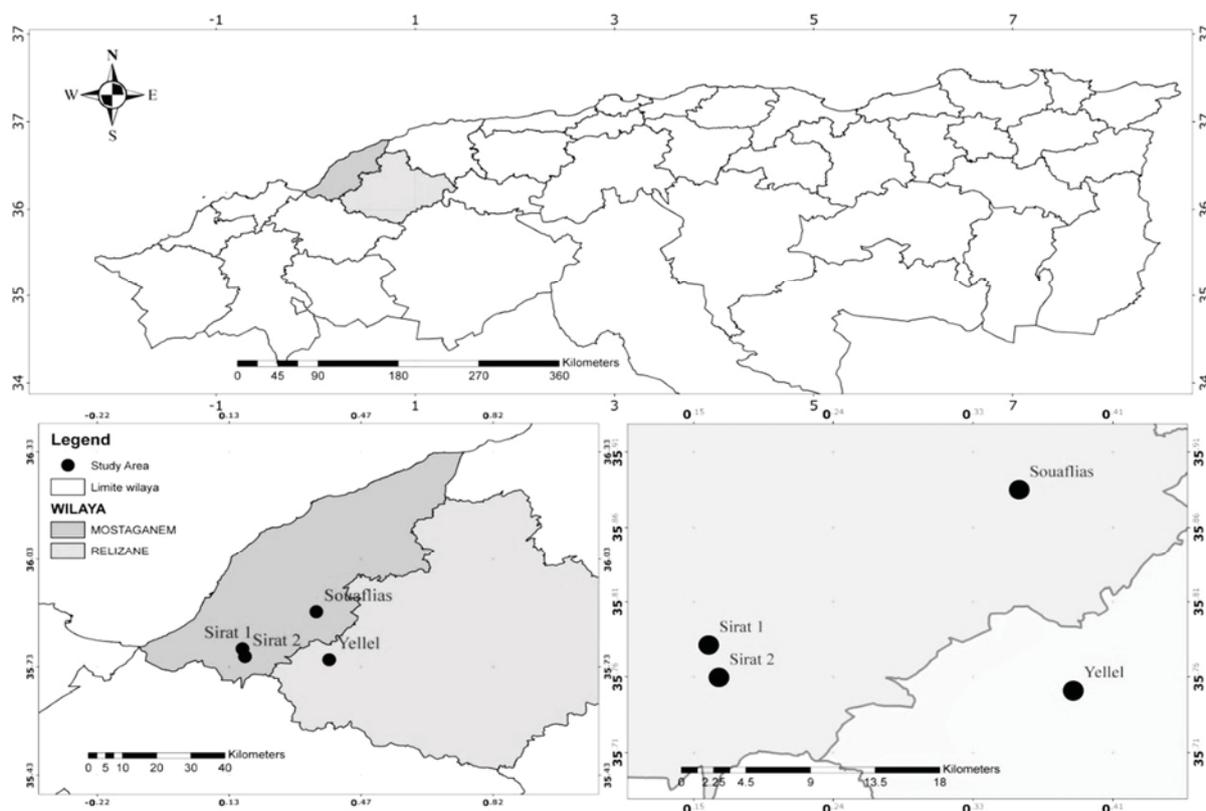


FIGURE 1
Study area localization

TABLE 1
Checklist of beetles recorded in the study (+ : present, - absent)

Family	Subfamily	Species	PT	PT	CF	CO
			1	2		
Carabidae	Harpalinae	<i>Harpalus oblitus</i> (Dejean, 1829)	+	+	+	+
		<i>Harpalus tenebrosus</i> (Dejean, 1829)	-	-	+	-
		<i>Harpalus punctatostrigatus</i> (Dejean, 1829)	-	-	-	+
		<i>Harpalus attenuatus</i> (Stephens, 1828)	-	-	-	+
		<i>Harpalus</i> sp	-	+	-	+
		<i>Ophonus opacus</i> (Dejean, 1829)	-	-	-	+
		<i>Ophonus cordatus</i> (Duftschmid, 1812)	-	-	-	+
		<i>Ophonus</i> sp	-	-	-	+
		<i>Poecilus quadricollis</i> (Dejean, 1828)	-	-	+	-
		<i>Poecilus purpurascens</i> (Dejean, 1828)	+	-	-	-
		<i>Poecilus</i> sp1	+	+	-	-
		<i>Poecilus</i> sp2	-	+	-	-
		<i>Graphipterus serrator</i> (Forsskal, 1775)	-	-	+	-
		<i>Platytarus faminii</i> (Dejean, 1826)	-	-	+	-
		<i>Amara aenea</i> De Geer, 1774	-	-	-	+
		<i>Amara rufipes</i> (Dejean, 1828)	+	-	-	-
		<i>Licinus punctatulus</i> (Fabricius, 1792)	-	+	-	-
		<i>Licinus silphoides</i> (Rossi, 1790)	-	-	+	-
		<i>Microlestes corticalis</i> (Dufour, 1820)	-	+	-	+
		<i>Microlestes</i> sp	-	-	+	+
		<i>Laemostenus algerinus</i> (Gory, 1833)	-	-	-	+
		<i>Sphodrus leucophthalmus</i> (Linnaeus, 1758)	-	+	-	+
		<i>Zabrus ignavus</i> (Csiki, 1907)	+	-	-	-
		<i>Carterus calydonius</i> (P. Rossi, 1790)	-	-	-	+
		<i>Carterus fulvipes</i> (Latreille, 1817)	+	+	+	+
		<i>Oedesis villosulus</i> (Reiche, 1859)	-	+	-	+
		<i>Chlaenius</i> sp	-	+	-	+
		<i>Agonum marginatum</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	-	+
		<i>Calathus opacus</i> (Luca, 1846)	-	+	-	+
		<i>Calathus fuscipes algiricus</i> (Gautier des Cottés, 1866)	+	+	-	-
	<i>Calathus</i> sp	-	-	+	+	
	<i>Myriochile melancholica</i> (Fabricius, 1798)	-	-	-	+	
	Cicindellinae	<i>Cicindela lumulata</i> (Fabricius, 1781)	-	-	+	-
		<i>Cicindella</i> sp	-	-	+	+
	Lebiinae	<i>Cymindis setifensis</i> (Lucas, 1842)	-	-	-	+
		<i>Carabus morbillosus</i> (Fabricius, 1792)	-	-	+	+
	Carabinae	<i>Calosoma algiricum</i> (Géhin, 1885)	-	-	+	-
		<i>Calosoma inquisitor</i> (Linné, 1758)	-	-	+	-
	Nebriinae	<i>Nebria andalusia</i> (Rambur, 1837)	-	-	+	+
		<i>Notiophilus</i> sp	-	+	-	+
	Scaritinae	<i>Distichus planus</i> (Bonelli, 1813)	-	-	+	-
		<i>Dyschyrus chalybeus</i> (Putzeys, 1846)	-	-	+	-
		<i>Scarites</i> sp	-	+	+	-
	Siagoninae	<i>Siagona europaea</i> (Dejean, 1826)	+	+		+
	Broschinae	<i>Brosicus politus</i> (Dejean, 1828)	-	-	+	-
Trechinae	<i>Pogonus chalceus</i> (Marsham, 1802)	+	+	-	-	
	<i>Notaphus varius</i> (Olivier, 1795)	-	-	+	-	
Cetoniinae	<i>Tropinota squalida</i> (Scopoli, 1763)	+	+	+	+	
	<i>Aethiessa floralis</i> (Fabricius, 1787)	-	+	+	-	
	<i>Oxythyrea funesta</i> (Poda, 1761)	-	-	-	+	
	<i>Protaetia opaca</i> (Fabricius, 1787)	-	-	-	+	
Scarabaeidae	Melolonthinae	<i>Hoplia</i> sp1	+	+	+	-
		<i>Hoplia</i> sp2	-	-	+	-
		<i>Hymenoplia</i> sp	+	+	+	-
		<i>Pachydema</i> sp1	+	+	-	-
		<i>Pachydema</i> sp2	+	+	-	-
		<i>Sphodroxia mauritanica</i> , (Lucas, 1846)	-	-	+	-
	<i>Geotrogus deserticola</i> (Blanchard, 1851)	-	-	+	-	
	Rutelinae	<i>Anthoplia floricola</i> (Fabricius, 1787)	-	+	+	-
		<i>Hemichaetoplia pallidipennis</i> (Gyllenhal, 1817)	-	+	+	+
	Scarabaeinae	<i>Euoniticellus pallens</i> (Olivier, 1789)	+	-	-	-
		<i>Onitis alexis</i> (Klug, 1835)	+	+	-	-
		<i>Onthophagus</i> (<i>Trichonthophagus</i>) <i>maki</i> (Illiger, 1803)	-	-	+	-

		<i>Onthophagus(sensu stricto)tarus</i> (Schreber, 1759)	-	-	-	+
		<i>Scarabeus</i> sp	-	-	+	-
		<i>Pentodon algerinum</i> (Herbst, 1789)	+	+	+	+
	Dynastinae	<i>Phyllognathus excavatus</i> (Forster, 1771)	+	+	+	+
		<i>Oryctes nasicornis</i> (L.) spp <i>grypus</i> (Illiger 1803)	-	-	-	+
	Orphninae	<i>Hybalus</i> sp	-	-	-	+
		<i>Aphodius</i> sp	+	+	+	-
	Aphodiinae	<i>Pleurophorus</i> sp	+	-	+	-
		<i>Calamosternus granarius</i> (Linnaeus 1767)	-	-	+	+
	Cebrionidae	<i>Cebrion</i> sp	-	-	+	-
		<i>Notoxus</i> sp1	-	+	-	-
	Anthicidae	<i>Notoxus</i> sp2	-	-	+	-
	Bostrichidae	<i>Apate monachus</i> (Fabricius, 1775)	-	-	+	-
		<i>Acmaeodera adspersula</i> (Illiger, 1803)	-	+	+	+
		<i>Acmaeodera</i> sp1	+	+	+	-
		<i>Acmaeodera</i> sp2	-	+	+	-
	Polycestinae	<i>Acmaeodera</i> sp3	+	-	+	-
		<i>Acmaeodera</i> sp4	-	+	-	-
		<i>Acmaeodera</i> sp5	-	+	-	-
	Buprestidae	<i>Anthaxia scutellaris</i> (Gené, 1839)	+	-	+	+
		<i>Anthaxia umbellatarum</i> (Fabricius, 1787)	-	-	+	-
	Buprestinae	<i>Anthaxia funerula</i> (Illiger, 1803)	-	+	-	+
		<i>Anthaxia</i> sp(<i>Melanthaxia</i>)	-	-	+	-
		<i>Sphenoptera rauca</i> (Fabricius, 1787)	-	-	+	-
	Chrysochroinae	<i>Capnodis tenebrionis</i> (Linnaeus, 1760)	-	-	+	-
		<i>Trachys fabricii</i> (Schaefer, 1949)	-	-	-	+
	Agrilinae	<i>Trichoferus fasciculatus</i> (Faldermann, 1837)	-	-	-	+
		<i>Stenopherus ater</i> (Linnaeus, 1767)	-	+	-	-
	Cerambycinae	<i>Stenopterus mauritanicus</i> (Lucas, 1849)	-	+	-	-
		<i>Purpuricenus desfontainii</i> (Fabricius, 1792)	-	-	+	-
	Cerambycidae	<i>Agapanthia cardui</i> (Linnaeus, 1767)	+	-	-	-
		<i>Agapanthia suturalis</i> (Fabricius, 1792)	+	+	-	-
	Lamiinae	<i>Niphona picticornis</i> (Mulsant, 1839)	-	+	-	-
		<i>Calamobius filum</i> (Rossi, 1790)	-	+	-	-
		<i>Galeruca interrupta</i> (Illiger, 1802)	+	+	+	+
	Galerucinae	<i>Galeruca barbara</i> (Erichson, 1841)	+	+	+	+
		<i>Altica ampelophaga</i> (Guérin-Méneville, 1858)		+	+	+
	Chrysomelidae	<i>Cassida</i> sp	+	+	+	+
		<i>Chrysolina</i> sp	+	-	+	+
	Chrysomelinae	<i>Cryptocephalus rugicollis</i> (Olivier, 1791)	-	+	+	+
		<i>Lachnaia</i> sp	-	-	+	+
	Cryptocephalinae	<i>Clytra</i> sp	+	+	+	+
	Cleridae	<i>Trichodes umbellatarum</i> (Olivier,1795)	+	-	+	+
		<i>Hippodamia tredecimpunctata</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	+	-
		<i>Hippodamia undecimnotata</i> (Schneider, 1792)	+	+	-	-
		<i>Hippodamia variegata</i> (Goeze, 1777)	+	+	-	+
		<i>Hippodamia</i> sp	+	+	-	-
		<i>Henosepilachna elaterii</i> (Rossi, 1794)	-	-	+	-
	Coccinellidae	<i>Scymnus apetzi</i> (Mulsant, 1846)	-	-	+	-
		<i>Scymnus interruptus</i> (Goeze, 1777)	-	+	-	+
		<i>Scymnus</i> sp1	-	-	+	-
		<i>Scymnus</i> sp2	-	+	-	-
		<i>Coccinella algerica</i> (Kovar, 1977)	+	+	-	-
		<i>Coccinella</i> sp	-	-	-	+
		<i>Lixus algirus</i> (Linnaeus, 1758)	-	-	+	+
		<i>Lixus elegantulatus</i> (boheman, 1842)	-	-	+	-
	Lixinae	<i>Lixus</i> sp	+	+	+	+
		<i>Cleonus</i> sp	+	-	-	-
		<i>Larinus</i> sp	-	-	+	-
		<i>Sibinia primita</i> (Herbst, 1795)	-	-	+	-
	Curculionidae	<i>Pachytychius</i> sp	-	+	-	+
		<i>Mecinus janthinus</i> (Germar, 1821)	-	-	-	+
	Rhynchophorinae	<i>Sphenophorus piceus</i> (Pallas, 1771)	-	-	+	-
	Bagoinae	<i>Bagous argillaceus</i> (Gyllenhal, 1836)	-	-	+	-
	Apioninae	<i>Apion</i> sp	-	-	+	-
		<i>Baris</i> sp	-	-	-	+
	Baridinae	<i>Aulacobaris</i> sp	-	-	+	-

		<i>Sitona macularius</i> (Marsham 1802)	-	-	+	-
	Entiminae	<i>Sitona</i> sp1	-	-	+	-
		<i>Sitona</i> sp2	+	-	+	-
	Hyperinae	<i>Donus salviae</i> (Schränk, 1789)	-	-	+	-
	Megatominae	<i>Anthrenus verbasci</i> (Linnaeus, 1767)	-	-	+	-
Dermestidae		<i>Dermestes</i> sp	-	+	+	-
	Attageninae	<i>Attagenus</i> sp1	+	-	-	-
		<i>Attagenus</i> sp2	-	-	+	-
	Cardiophorinae	<i>Cardiophorus</i> sp1	+	-	-	+
		<i>Cardiophorus</i> sp2	+	-	+	-
		<i>Drasterius bimaculatus</i> (Rossi, 1790)	-	+	-	+
Elateridae	Agrypninae	<i>Drasterius</i> sp1	-	+	+	+
		<i>Drasterius</i> sp2	-	+	-	+
	Elaterinae	<i>Agriotes sordidus</i> (Illiger, 1807)	+	-	-	+
		<i>Agriotes pilosellus</i> (Schönherr, 1817)	+	+	-	+
	Hypnoidinae	<i>Athous</i> sp	+	+	-	-
Endomychidae		<i>Dapsa pallescens</i> (Marseul, 1868)	-	+	-	-
Geotrupidae	Geotropinae	<i>Thorectes puncticollis</i> (Lucas, 1845)	-	-	+	-
Glaphyridae	Glaphyrinae	<i>Eulasia bombylius</i> (Fabricius, 1787)	-	-	+	+
		<i>Saprinus</i> sp1	+	+	+	+
	Histeridae	<i>Saprinus</i> sp2	+	+	-	+
		<i>Hister</i> sp	-	-	+	-
Hybosoridae	Hybosorinae	<i>Hybosorus arator</i> (Illiger, 1803)	+	+	+	-
Hydrophilidae	Acidocerinae	<i>Helochares lividus</i> (Forster, 1771)	+	+	-	-
	Enochrinae	<i>Enochrus</i> sp	-	-	+	-
		<i>Mylabris variabilis</i> (Pallas, 1781)	+	-	-	-
		<i>Mylabris</i> sp	+	-	-	-
	Meloidae	<i>Meloe cavensis</i> (Petagna, 1819)	-	-	+	-
	Meloinae	<i>Meloe</i> sp	-	-	+	-
		<i>Berberomeloe</i> sp	-	-	+	-
		<i>Oenas afra</i>	-	-	+	-
	Dasytinae	<i>Dasytes virens</i> (Marsham, 1802)	-	-	+	+
Melyridae		<i>Dasytes</i> sp	-	-	-	+
	Malachiinae	<i>Axinotarsus pulicarius</i> (Fabricius, 1777)	-	-	+	+
Mordellidae	Mordellinae	<i>Mordella</i> sp	-	-	+	+
		<i>Urophorus humeralis</i> (Fabricius, 1798)	+	-	-	-
Nitidulidae	Carpophilinae	<i>Carpophilus</i> sp	+	-	-	-
	Epuraeinae	<i>Epuraea</i> sp	-	-	+	-
Oedemeridae	Oedemerinae	<i>Oedemera lurida</i> (Marsham, 1802)	-	-	+	+
Prionoceridae		<i>Lobonyx aeneus</i> (Fabricius, 1787)	-	-	-	+
Scraptiidae	Anaspidinae	<i>Anaspis</i> sp	-	-	-	+
Silphidae	Silphinae	<i>Silpha puncticollis</i> (Lucas, 1846)	+	+	+	-
		<i>Quedius pallipes</i> (Lucas, 1846)	-	+	+	-
Staphylinidae	Staphylininae	<i>Staphylinus olens</i> (O. Müller, 1764)	-	+	-	+
	Oxytelinae	<i>Carpelimus corticinus</i> (Gravenhorst, 1806)	-	-	+	+
		<i>Bledius</i> sp	-	+	-	+
		<i>Pimelia muricata</i> (Olivier, 1795)	+	+	+	+
		<i>Pimelia costata</i> , (Waltal, 1835)	+	+	+	-
		<i>Zophosis</i> sp1	+	+	+	+
		<i>Zophosis</i> sp2	+	-	-	+
		<i>Erodius</i> sp	+	+	-	-
		<i>Pachychila</i> sp1	+	+	+	+
		<i>Pachychila</i> sp2	+	-	+	+
	Pimeliinae	<i>Tentyria interrupta</i> (Latreille, 1807)	-	+	-	+
		<i>Akis</i> sp	+	-	+	+
		<i>Scaurus striatus</i> (Fabricius, 1792)	+	-	+	+
Tenebrionidae		<i>Scaurus</i> sp1	+	+	-	-
		<i>Scaurus</i> sp2	+	-	+	-
		<i>Asida</i> sp	-	-	-	+
		<i>Opatrum sabulosum</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	+	+
		<i>Opatrum</i> sp1	+	+	-	-
		<i>Opatrum</i> sp2	+	-	-	-
	Tenebrioninae	<i>Eledona agricola</i> (Herbst, 1783)	+	+	-	+
		<i>Neopachypterus mauritanicus</i> (Lucas, 1846)	-	-	-	+
		<i>Dendarini</i> sp	-	-	+	-
		<i>Catomus</i> sp	-	-	+	-
		<i>Blaps</i> sp groupe B <i>gigas</i>	-	-	+	+

	<i>Diaclina fagi</i> (Panzer, 1799)	+	+	-	-
	<i>Tenebrio molitor</i> (Linnaeus, 1758)	+	+	-	-
	<i>Heliotaurus ruficollis</i> (Fabricius 1781)	+	+	+	+
Alleculinae	<i>Heliotaurus</i> sp	+	-	-	+
	<i>Hymenalia</i> sp	-	+	-	+
Helopinae	<i>Raiboscelis</i> sp	-	-	+	+
Lagriinae	<i>Lagria villosa</i> (Fabricius, 1781)	-	-	+	+
	<i>Lagria atripes</i> (Mulsant & Guillebeau, 1855)	-	-	-	+

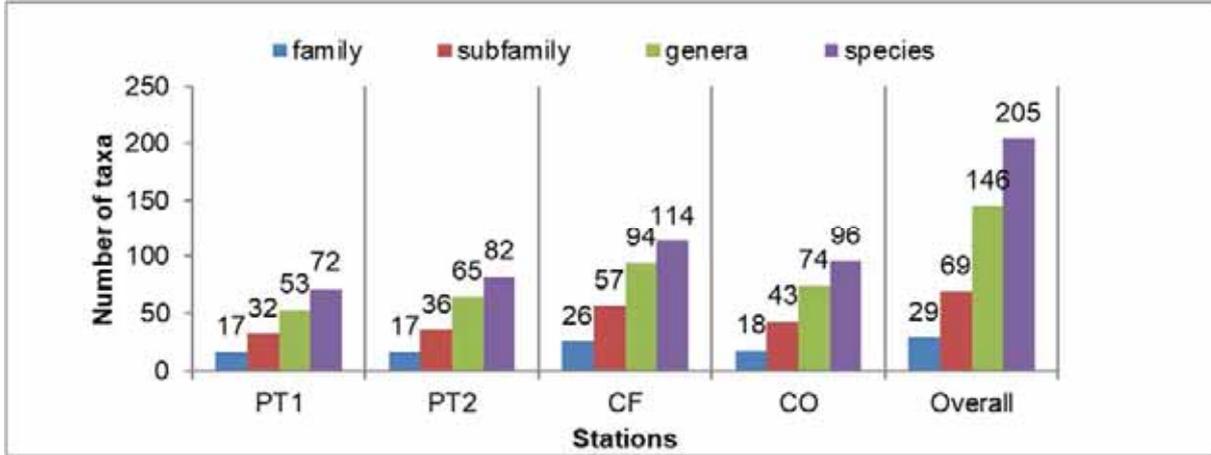


FIGURE 2
Total number of families, subfamilies, genera, and species of beetles for the four prospected agroecosystems

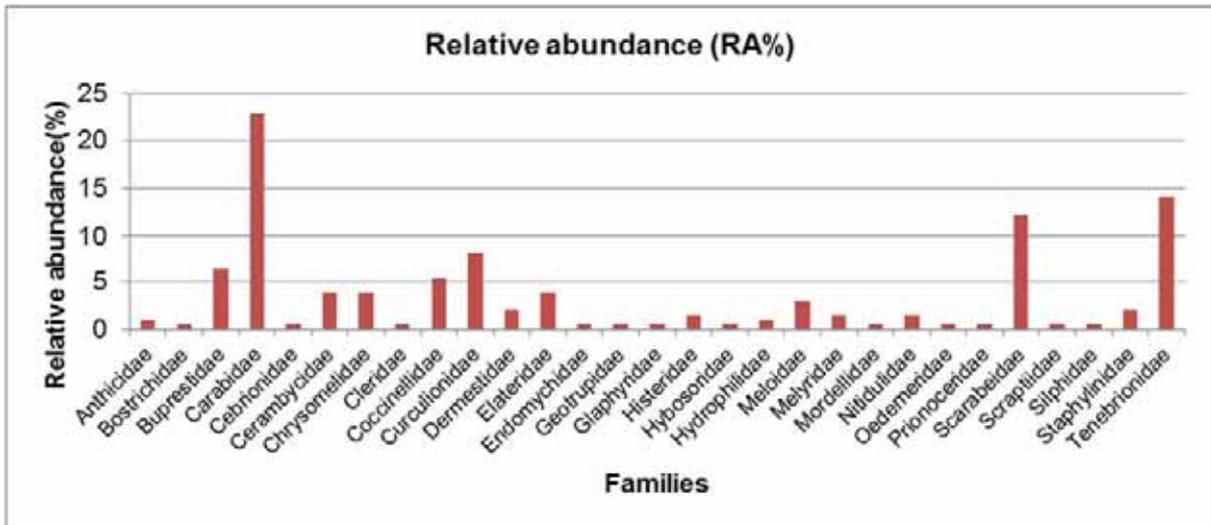


FIGURE 3
Relative abundance of various families recorded in the four agroecosystems

For the whole reported beetles, the highest number of species belonged to the Carabidae (22.92%), Tenebrionidae (14.14%) and Scarabaeidae (12.19%). The remaining species were distributed over the other families (Figure 3).

However, the tenebres were the most dominant family in term of individuals in the four studied crops, followed by Scarabaeidae in the CF and the

PT and by Carabidae in the CO (Table 2). Buprestidae, Chrysomelidae, Coccinellidae, Curculionidae, Elateridae, Histeridae and Staphylinidae were also present in all the studied agricultural areas but with low frequencies. The Bostrichidae, Geotrupidae and Cebrionidae were reported only in the CF. Endomychidae was present only in the PT and Scaptiidae and Prionoceridae were reported only in the CO with one species for each (Table 2). Overall, the species

TABLE 2
Species richness and centesimal frequency of different beetles families
in the four prospected agroecosystems

Families	Potato field 1			Potato field 2			Cereal field			Citrus orchard		
	N. sp*	N. ind**	C.fr (%)***	N. sp	N. ind	C.fr (%)	N. sp	N. ind	C.fr (%)	N. sp	N. ind	C.fr (%)
Anthicidae	-	-	-	1	5	0.47	1	1	0.07	-	-	-
Bostrichidae	-	-	-	-	-	-	1	1	0.07	-	-	-
Buprestidae	3	5	0.61	6	32	2.98	10	123	8.36	4	72	5.69
Carabidae	9	11	1.34	16	49	4.56	20	57	3.87	26	176	13.90
Cebrionidae	-	-	-	-	-	-	1	2	0.14	-	-	-
Cerambycidae	2	3	0.37	5	11	1.02	1	2	0.14	1	3	0.24
Chrysomelidae	5	40	4.87	6	49	4.56	8	92	6.25	8	108	8.53
Cleridae	1	2	0.24	-	-	-	1	21	1.43	1	1	0.08
Coccinellidae	4	59	7.19	6	45	4.19	4	8	0.54	3	18	1.42
Curculionidae	3	15	1.83	2	3	0.28	13	40	2.72	5	25	1.97
Dermestidae	1	1	0.12	1	3	0.28	3	10	0.68	-	-	-
Elateridae	5	25	3.05	5	62	5.77	2	12	0.82	6	49	3.87
Endomychidae	-	-	-	1	13	1.21	-	-	-	-	-	-
Geotrupidae	-	-	-	-	-	-	1	1	0.07	-	-	-
Glaphyridae	-	-	-	-	-	-	1	14	0.95	1	1	0.08
Histeridae	2	6	0.73	2	15	1.40	2	3	0.20	2	9	0.71
Hybosoridae	1	97	11.81	1	26	2.42	1	4	0.27	-	-	-
Hydrophilidae	1	3	0.37	1	7	0.65	1	6	0.41	-	-	-
Meloidae	2	2	0.24	-	-	-	4	139	9.44	-	-	-
Melyridae	-	-	-	-	-	-	2	24	1.63	3	20	1.58
Mordellidae	-	-	-	-	-	-	1	2	0.14	1	2	0.16
Nitidulidae	2	8	0.97	-	-	-	1	1	0.07	-	-	-
Oedemeridae	-	-	-	-	-	-	1	4	0.27	1	27	2.13
Prionoceridae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	5	0.39
Scarabeidae	11	205	24.97	12	92	8.57	16	267	18.14	10	33	2.61
Scaptiidae	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	2	0.16
Silphidae	1	7	0.85	1	2	0.19	1	4	0.27	-	-	-
Staphylinidae	-	-	-	3	10	0.93	2	12	0.82	3	20	1.58
Tenebrionidae	19	332	40.44	13	650	60.52	15	622	42.26	19	695	54.90
Total	72	821	100	82	1074	100	114	1472	100	96	1266	100

*number of species, **number of individuals, ***centesimal frequency

TABLE 3
Structural parameters of beetle populations evaluated for each agroecosystem

Agroecosystems Parameters	Potato field 1	Potato field 2	Cereal field	Citrus orchard
S*	72	82	114	96
H**	2.96	3.15	3.63	3.49
H _{max} ***	4.27	4.40	4.73	4.56
E****	0.69	0.71	0.76	0.76

*Species richness, **Shannon diversity index, ***Maximal diversity, ****Equitability

richness (S) of the families and the relative abundance (RA%) were different. The chi-squared test showed that the family abundances were dependent on the stations ($P < 0.0001$), while the species richness values of families were independent of the stations ($P = 0.60$).

Beetles diversity. The present study showed that the beetles diversity varied from one agroecosystem to another. In effect, the highest level of diversity and equitability was reported in the CF which considered as the most diversified and equitable environment ($H^* = 3.63$ bits; $E = 0.76$). The CO was ranked in second position with a diversity of 3.49 bits and an equitability of 0.76. In addition, both of

the PT1 and the PT2 showed the lowest values of diversity and equitability in comparison with the other studied environments (Table 3). Whereas, no statistically significant differences were observed between the species number rates in the four studied environments.

At season scale, all the prospected areas showed their highest values of diversity in spring and summer. The diversity levels observed were slightly less in autumn and very low in winter. Furthermore, the highest diversity values were noted in spring in the CF and CO with a Shannon-Weaver index of 3.60 and 3.47 bits, respectively, against both of the PT with 2.93 and 3.26 bits. However, beetles).

TABLE 4
Seasonal structural parameters of beetle populations for each agroecosystem

Agroecosystems	parameters	Spring	Summer	Autumn	Winter
Potato field 1	H' *	2.93	2.34	1.82	0.55
	H _{max} **	3.85	3.55	2.39	1.09
	E ***	0.76	0.65	0.76	0.50
Potato field 2	H'	3.26	2.40	1.76	0.73
	H _{max}	4.12	3.61	2.48	1.60
	E	0.79	0.66	0.71	0.45
Cereal field	H'	3.60	3.01	1.96	1.44
	H _{max}	4.47	3.87	3.09	1.94
	E	0.76	0.77	0.63	0.74
Citrus orchard	H'	3.47	2.59	2.43	1.50
	H _{max}	4.24	3.80	2.83	1.79
	E	0.81	0.68	0.86	0.83

*Shannon diversity index, **Maximal diversity, ***Equitability

TABLE 6
Values of the Sorenson similarity index (above diagonal) and the Jaccard similarity index (below diagonal) between the beetles fauna of the four studied areas

Beetles fauna	BFPT1	BFPT2	BFCF	BFCO
BFPT1*	-	0.57	0.36	0.36
BFPT2**	0.4	-	0.34	0.46
BFCF***	0.22	0.20	-	0.41
BFCO****	0.22	0.29	0.26	-

BFPT1*: beetles fauna of the potato field 1, BFPT2**: beetles fauna of the potato field 2, BFCF***: beetles fauna of the cereal field, BFCO****: beetles fauna of the citrus orchard.

community in the CO was the most equitable in comparison with the other studied environments. Equitability values in this perennial agroecosystem (CO) were 0.81, 0.86 and 0.83 in spring, autumn and winter, respectively (Table 4). The species number rates differed significantly among the seasons in the four studied environments ($F=33.87$; $p<0.0001$) (Table 5

TABLE 5
Result of the pairwise of species number between the different seasons

Seasons	Species number
Spring	66.75±8.54 ^a
Summer	41.25±3.12 ^b
Autumn	15.50±2.53 ^c
Winter	5.25±0.85 ^c
Anova	$F=33.87$; $p<0.0001$

a, b, c mean difference between groups

Similarity of the studied agroecosystems.

Even though each sampling habitats had different conditions, both of Sorenson and Jaccard indexes showed high similarities between the beetles species inventoried in the both PT. However, slightly less similarities were noted between those of the CO, CF and the PT1 and a very low similarities were recorded between the CF and the PT2 (Table 6).

DISCUSSION

The most dominant beetle families reported in this study were Carabidae, Tenebrionidae and Scarabaeidae. These results were almost similar to several studies conducted on beetles fauna in different countries [20, 21, 1, 22]. In Algeria, a study carried out by Baghem [20] showed the dominance of the Carabidae family in CF conducted with conventional seeding in Eastern Algeria. Another study conducted by Daas et al [1] reported the dominance of Carabidae and Scarabaeidae in two cork forests in North-eastern Algeria. However, a study on beetles diversity in the mobile dunes of Northeastern Morocco revealed that the Scarabaeidae and the Tenebrionidae were found as the most dominant families [21]. In a rural area in India, Tom and D Kaippallil [22] reported the dominance of Melolonthiidae family followed by Tenebrionidae. Generally, the entomological fauna is taxonomically dominated by the Tenebrionidae family [23], which is considered as one of the most diversified family in North Africa [24]. The abundance of the families recorded in the current study might be in relation with the abusive use of cow dung as organic manure in the study area and the availability of their habitats, overwintering sites and food resources.

Bouraada et al [21] suggested that the good species diversity is largely due to the coprophagous species, generally independent to the environment and closely linked to the presence of faeces, organic mat-

ter and plant cover for the species. Moreover, Carabids are abundant in temperate agroecosystems and play a pivotal role as biocontrol agents for weed seed and pest regulation. While there is good knowledge regarding their effects on invertebrate pests, direct evidence for seed predation in the field is missing [5].

The results obtained in this study showed that beetles population varied from one agroecosystem to another. The most diversified ecosystem was the CF, followed by the CO, the PT2 and finally by the PT1. A recent study conducted by Mohammedi et al [13] in agroecosystems in Northwestern Algeria reported that the largest number of insects was recorded in uncultivated field followed by CO, CF and PT. The difference observed between the various studied agroecosystems may be influenced by crops variation, microclimatic conditions and vegetation cover. It may also be due to the presence of some species originated from other surrounding habitats, where maintain abundant populations as previously suggested [25]. Furthermore, other factors including monoculture that are frequently invaded by pests can play a crucial role in the variation of insect abundance from one crop to another [26]. In addition, the richness of plant communities can also favor diversity of insects [27]. The differences in families of beetles were suggested to be influenced by different habitat association [22]. Moreover, climatic variations and applied agricultural techniques may also have an action on the diversity of species [20]. Likewise, there is an interaction between agriculture and biodiversity. i.e., some weeds such as Leguminosae, Umbelliferae and Compositae can play a crucial ecological role by harboring and supporting a complex of beneficial arthropods that help in suppressing pest populations [11].

The results of the present study showed that the CF was the most diversified and equitable environment. This study demonstrated also the presence of some forest species (i.e. *Sphrodroxia* sp.) in this agroecosystem. This can be explained by the vicinity of this area to a forest. Generally, more diversified resources for forest species are found at the edges of fields which are characterized by greater plant diversity [28]. Furthermore, the environments closer to natural provide food resources to generalist species [29]. Shannon-Weaver's Diversity index values revealed slightly low levels of diversity in the other prospected areas (PT1, PT2 and CO). This can be explained by the monoculture system applied in those regions that is not sufficient to attract most diversified species.

Perennial ecosystems and the annual crops have been suggested to lead to uniform environments, causing the resilience of the ecosystem and less biodiversity [30]. Other factors, including the expansion of monocultures and heavy agricultural practices at the expense of natural vegetation can also influence the instability of the agroecosystems, generating diversity weaknesses [13].

At the whole prospected cultivated fields, Beetles populations showed their highest values of diversity in spring and summer. However, the diversity observed was slightly less in autumn and very low in winter. The highest diversity was noted in winter at the CO while the lowest was reported at the PT. Under the same climatic conditions, Mohammedi et al [13] reported that the highest entomofauna diversity was found in uncultivated fields and the lowest one in CF in their study conducted in Northwestern Algeria. This diversity disturbance may be due to the intensification of cultural practices applied in the vegetable crops (PT). The presence of several layers exploitable by biological communities as overwintering sites and the creation of plant developments within the plot or border may also be the origin of plant diversity in orchards [31, 32]. Cultural practices and the heavy crop protection management strategy have also been considered as the main causes for devastating a natural balance within the PT, reducing faunal population [33].

The both Sorenson and Jaccard indexes showed high similarities between the beetles species inventoried in the PT1 and the PT2, and slightly less similarities between those of the CO and the other environments, but very low similarities between the CF and the PT2. Low values of similarity index have been suggested to be linked to great differences in richness, abundance and species dominance among the pairs of areas [29]. The degrees of similarities observed may be the result of the distance between the four study areas, the vegetation heterogeneity and the microclimatic conditions.

This is the first specific inventory providing fundamental information on community structure of beetles fauna in agroecosystems in Northwestern Algeria. Thus, the annual crop and the perennial ecosystem clearly appear as the agroecosystems favorable to the development of beetles fauna diversity. Nevertheless, vegetable crops environments constitute landscape in which a small number of species develop. The intensification of cultural practices in vegetable crops allows to the instability of these environments and reduces a necessary habitats and refuges to these species, leading to limited biodiversity and lost agricultural production. Furthermore, providing habitats and overwintering sites as the wild plants and natural hedges in the cultivated areas for beneficial species, like those found in this study (i.e., coprophagous Scarabeidae, Carabidae and coccinellidae) should be preserved from being devastated in order to adopt sustainable pest management strategies, support organic agriculture and improve productivity of our agroecosystems.

ACKNOWLEDGEMENTS

We are deeply grateful to Professor Hervé BRUSTEL (France) for specimens' identification.

We also thank the staff of the Regional Station of Plant Protection of Mostaganem for their technical assistance and the farmers for allowing us the collection of specimens.

REFERENCES

- [1] Daas, H., Adjami, Y., Ghane, R., Viñolas, A., Ouakid, M.L., Tahraoui, A. (2016) Coleoptera inventory in cork oak stands of North-Eastern Algeria. *Turkish Journal of Forestry*. 17(special issue), 11-17. (in French).
- [2] Zagatti, P., Horellou, A., Mari, A., Arnaboldi, F., Reisdorf, P. (2001) Atlas of beetles of the Massif Rambouillet and of the Regional Natural Park of the High Chevreuse Valley. Tom 1: 1990-2000, National Invertebrate Observatory. Office for Eco-entomological Information. Paris. (in French).
- [3] Nichols, E., Spector, S., Louzada, J., Larsen, T., Amézquita, S., Favila, M.E. (2008) Ecological functions and ecosystem services provided by Scarabaeinae dung beetles. *Biological Conservation*. 141, 1461-1474.
- [4] Carvalho, M.S.G. (2018) Functional characteristics, generals and food preference of dung beetle (Coleoptera: Scarabaeinae) in the Brazilian Cerrado. Doctoral Thesis of the Postgraduate Course in Zoology, Institute of Biological Sciences, University of Brasilia. (in Portuguese).
- [5] Sint, D., Guenay, Y., Mayer, R., Traugott, M., Wallinger, C. (2018) The effect of plant identity and mixed feeding on the detection of seed DNA in regurgitates of carabid beetles. *Ecology and Evolution*. 8(28), 10834-10846.
- [6] Huchet, J.B. (2014) Hybosoridae Erichson, 1847. In: *The beetles of Reunion Island*, Editors: Gomy Y, Lemagnen R and Poussereau J. Orphie, Saint Denis, Reunion. 238-240. (in French)
- [7] Steenhuisen, S.L., Johnson, S.D. (2012) Evidence for beetle pollination in the African grassland sugarbushes (Protea: Proteaceae). *Plant Systematics and Evolution*. 298, 857-869.
- [8] Touroult, J., Le Gall, P. (2013) Fruit feeding Cetoninae community structure in an anthropogenic landscape in West Africa. *Journal of Insect Conservation*. 17, 23-34.
- [9] Hayes, W.P. (1930) *Morphology, Taxonomy, and Biology of Larval Scarabaeoidea*. (Editors: Buchholz J T, Tanner F W and Zeleny C.) University of Illinois Urbana-Champaign.
- [10] Altieri, M. (1994) *Biodiversity and Pest Management in Agroecosystems*. Haworth Press, New York. 185.
- [11] Altieri, M. (1999) The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 74, 19-31.
- [12] Escobar, F., Halffter, G., Arellano, L. (2007) From forest to pasture: an evaluation of the influence of environment and biogeography on the structure of dung beetle (Scarabaeinae) assemblages along three altitudinal gradients in the Neotropical region. *Ecography*. 30, 193-208.
- [13] Mohammedi, A., Ali Arous, S., Kerrouzi, M. (2019) Entomofaunal diversity and similarity indices of different agroecosystems in northwest Algeria. *Journal of Insect Biodiversity and Systematics*. 5(2), 143-152.
- [14] Benkhellil, M. (1991) *Sampling and trapping techniques used in terrestrial entomology*. Office des publications universitaires. Alger. 60. (in French).
- [15] Dajoz, R. (1985) *Precis of ecology*. Ed. Bordas. Paris. 505. (in French).
- [16] Barrantes, G., Sandoval, L. (2009) Conceptual and statistical problems associated with the use of diversity indices in ecology. *Revista de Biología Tropical*. 57(3), 451-460.
- [17] Blondel, J. (1979) *Biogeography and ecology*. Ed. Masson. Paris. 173. (in French).
- [18] Magurran, A.E. (1988) *Measuring biological Diversity*. Blackwell science Ltd, UK copyright, designs and patents Act.
- [19] Younes, G., Saporta, G. (2004) A methodology for partition comparison. *Revue de Statistique Appliquée*. 52, 97-120. (in French).
- [20] Baghem, O. (2012) *Effect of Cultivation Techniques on Faunistic Biodiversity of Cereals in the Semi-arid region*. Mémoire Magister. Université de Sétif Algérie. 53. (in French).
- [21] Bouraada, K., Chavanon, G., Essafi, M., El Ghadraoui, L., Benjelloun, M. (2016) Ecological diversity of the beetle population in the mobile dune ecosystems of the northern fringe and of the eastern region of Morocco. *Ecologia Mediterranea*. 42(1), 39-50. (in French).
- [22] Tom, H., Kaippallil, J.D. (2016) preliminary study on the diversity of coleopterans in a rural area in Changanacherry, Kerala. *Journal of Entomology and Zoology Studies*. 4(5), 297-300.
- [23] Bouraada, K., Chavanon, G., Chergui, H. (1999) Beetles population of dune fixed by perennial grasses in the eastern region of Morocco. *Actes Institut Agronomique et Vétérinaire*. 19, 219-230. (in French)
- [24] Pierre, F. (1958) *Ecology and entomological population in the living sands of the North-West*. Biological Series n° 1, National Center for Scientific Research, France. 332. (in French)
- [25] Gibrán, S.H., Gómez, B., Delgado, L., López, M.E.R., Chamé-Vázquez, E.R. (2018) Diversity of copronecrophagous beetles (Coleoptera: Scarabaeidae: Scarabaeinae) in the Selva El Ocote Biosphere Reserve, Chiapas, Mexico. *Ecologia*. 40(1), 144-160. (in Spanish).
- [26] Dajoz, R. (2003) *Precis of ecology*. Ed. Dunod. Paris. 615. (in French).

- [27] Hartley, E.E., Gaedner, S.M., Mitchell, R.J. (2003) Indirect effects of grazing and nutrient addition on the hemipteran community of heather moorlands: Moorland vegetation and insect community diversity. *Journal of Applied Ecology*. 40, 793–803.
- [28] Aviron, S., Burel, F., Baudry, J., Collet, S. (2003) Long-term impacts of agricultural practices on carabid beetles communities in different landscape contexts. In: Proceedings of the days of the International Association for Landscape Ecology IALE, France, 2003. 91-97. (in French)
- [29] Da Silva, P.G., Vaz-De-Mello, F.Z., Di Mare, R.A. (2013) Diversity and seasonality of Scarabaeinae (Coleoptera: Scarabaeidae) in forest fragments in Santa Maria. Rio Grande do Sul. Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*. 85(2), 679-697.
- [30] Lacoste, A., Salanon, R. (2001) Elements of Biogeography and Ecology. Nathan/HER, Paris. 318. (in French)
- [31] Altieri, M., Schmidt, L.L. (1986) The dynamics of colonizing arthropod communities at the interface of abandoned, organic and commercial apple orchards and adjacent woodland habitats. *Agriculture, Ecosystems & Environment*. 16, 29-43.
- [32] Rigamonti, I.E., Lozzia, G.C. (2002) Phytoseiid mites (Acari: Phytoseiidae) on apple tree and spontaneous flora under different environmental and cultural conditions in Valtellina (Lombardy, Northern Italy). *Bollettino di Zoologia agraria e di Bachicoltura*. 34, 53-70.
- [33] Debras, J.F., Dussaud, A., Rieux, R., Dutoit, T. (2007) Prospective research on the role of hedges in Integrated Fruit Production, the case of Earwigs: *Forficula auricularia* L. et *Forficula pubescens* Gené. *Reports of the Academy of Sciences. Comptes Rendus Biologies*. 330, 664-667. (in French).

Received: 07.10.2021

Accepted: 24.11.2021

CORRESPONDING AUTHOR

Mohammed Boutaiba Benklaouz

Biology Systems and Geomatics Laboratory,
Faculty of Nature and Life Sciences,
Mascara University 29000 – Algeria

e-mail: mohamed.boutaiba@univ-mascara.dz

Annexes

Annexe 1**Milieux de culture****PDA : Potato Dextrose Agar**

- Pomme de terre 200 g
- Glucose 20g
- Agar20 g
- Eau distillée 1000 ml

SDA : Sabouraud Dextrose Agar

- Peptone 10 g
- Saccharose 20 g
- Agar 15 g
- Eau distillée 1000 ml

Annexe 2

Tableau 1 : Pourcentage moyen de mortalité des larves de *Geotrogus deserticola* traitées par *Metarhizium acridum* dans le sol

Doses (Spores/ml)	D0 :	D1(10 ⁴)	D2(10 ⁵)	D3(10 ⁶)	D4(10 ⁷)	D5(10 ⁸)
Temps (Jours)	Témoin					
01	0	0	0	0	0	0
02	0	0	0	0	3,33	3,33
03	0	6,66	6,66	16,33	13,33	16,66
04	0	13,33	13,33	23,66	26,66	26,33
05	0	30	26,66	40	43,33	46,66
06	3,33	36,66	40	50	60	66,66
07	6,66	43,33	50	66,66	73,33	76,66
08	6,66	46,66	56,66	76,66	83,33	83,33
09	13,33	56,66	70	83,33	90	100
10	13,33	56,66	73,33	86,66	100	100

Tableau 2: Pourcentage moyen de mortalité des larves de *Geotrogus deserticola* traitées par *Aspergillus terreus* dans le sol

Doses (Spores/ml)	D0 :	D1(10 ⁴)	D2(10 ⁵)	D3(10 ⁶)	D4(10 ⁷)	D5(10 ⁸)
Temps (Jours)	Témoin					
01	0	0	0	0	0	0
02	0	0	0	0	0	0
03	0	3,33	6,660	3,33	6,66	6,66
04	0	10	16,66	16,66	20	16,66
05	0	16,66	23,33	30	30	33,33
06	3,33	26,66	33,33	43,33	46,66	56,33
07	6,66	36,66	43,33	56,66	60	73,33
08	6,66	43,33	56,66	63,33	73,33	83,33
09	13,33	50	60	70	80	90
10	13,33	53,33	66,66	73,33	93,33	100

Tableau 3 : Pourcentage moyen de mortalité des larves de *Geotrogus deserticola* traitées par *Metarhizium acridum* hors sol

Doses (Spores/ml)	D0 :	D1(10 ⁴)	D2(10 ⁵)	D3(10 ⁶)	D4(10 ⁷)	D5(10 ⁸)
Temps (Jours)	Témoin					
01	00	00	00	00	6,66	13,33
02	00	6,66	6,66	16,66	23,33	30
03	00	23,33	26,66	33,33	43,33	46,66
04	00	30	40	43,33	63,33	63,33
05	00	43,33	53,33	56,66	73,33	76,66
06	3,33	50	70	73,33	80	90
07	6,66	66,66	76,66	80	83,33	100
08	13,33	76,66	83,33	90	90	100
09	13,33	83,33	96,66	96,66	100	100
10	16,66	86,66	100	100	100	100

Tableau 4 : Pourcentage moyen de mortalité des larves de *Geotrogus deserticola* traitées par *Aspergillus terreus* hors sol

Doses (Spores/ml)	D0 :	D1(10 ⁴)	D2(10 ⁵)	D3(10 ⁶)	D4(10 ⁷)	D5(10 ⁸)
Temps (Jours)	Témoin					
01	00	00	00	00	00	3,33
02	00	3,33	03,33	6,66	10	13,33
03	00	10	10	16,66	23,33	23,33
04	00	16,66	26,66	26,66	30	33,33
05	00	26,66	36,66	36,66	43,33	50
06	3,33	33,33	46,66	50	56,66	63,33
07	6,66	43,33	56,66	66,66	73,33	80
08	13,33	50	63,33	73,33	83,33	93,33
09	13,33	66,66	76,66	80	96,66	100
10	16,66	76,66	83,33	93,33	100	100

Annexe 3

Tableau 1: Classement des moyennes pour le facteur1 (Dose) Met (Dans le sol).

Doses	Moyennes	Groupes
D5	52	A
D4	49,33	B
D3	44,33	C
D2	33,66	D
D1	29	E
D0	4,33	F

Tableau 2: Classement des moyennes pour le facteur2 (Temps) Met (Dans le sol).

Temps(Jours)	Moyennes	Groupes
10J	71,66	A
09J	68,88	B
08J	58,88	C
07J	52,77	D
06J	42,77	E
05J	31,11	F
04J	17,22	G
03J	10	H
02J	1,11	I
01J	0	J

Tableau 3 : Classement des moyennes pour le facteur1 (Dose) Asp (Dans le sol).

Doses	Moyennes	Groupes
D5	46	A
D4	41	B
D3	35,66	C
D2	30,66	D
D1	24	E
D0	4,33	F

Tableau 4 : Classement des moyennes pour le facteur2 (Temps) Asp (Dans le sol).

Temps(Jours)	Moyennes	Groupes
10J	66,66	A
09J	60,55	B
08J	54,44	C
07J	46,11	D
06J	35	E
05J	22,22	F
04J	13,33	G
03J	4,44	H
02J	0	I
01J	0	I

Tableau 5 : Classement des moyennes pour le facteur1 (Dose) met (hors sol).

Doses	Moyennes	Groupes
D5	72	A
D4	66,33	B
D3	59	C
D2	55,33	D
D1	46,66	E
D0	5,33	F

Tableau 6 : Classement des moyennes pour le facteur2 (Temps) met (hors sol).

Temps(Jours)	Moyennes	Groupes
10J	83,88	A
09J	81,66	B
08J	75,55	C
07J	68,88	D
06J	61,11	E
05J	50,55	F
04J	40	G
03J	28,88	H
02J	13,88	I
01J	3,33	J

Tableau 7 : Classement des moyennes pour le facteur1 (Dose) ASP (hors sol).

Doses	Moyennes	Groupes
D5	56	A
D4	51,66	B
D3	45,66	C
D2	40,33	D
D1	32,66	E
D0	5,33	F

Tableau 8 : Classement des moyennes pour le facteur2 (Temps) ASP (hors sol).

Temps(Jours)	Moyennes	Groupes
10J	78,33	A
09J	72,22	B
08J	62,77	C
07J	54,44	D
06J	42,22	E
05J	33,33	F
04J	22,22	G
03J	13,88	H
02J	6,11	I
01J	0,55	J

Annexe 4

Tableau 1: Logarithmes décimaux des doses et Probits des taux de mortalité au 6^{ème} jour (Met) (dans le sol).

Temps (Jour)	Log temps	D1 (10 ⁴ spore/ml)		D1 (10 ⁵ spore/ml)		D1 (10 ⁶ spore/ml)		D1 (10 ⁷ spore/ml)		D1 (10 ⁸ spore/ml)	
		MC%	Prob								
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0,30	-	-	-	-	-	-	3,33	3,12	3,33	3,12
3	0,48	6,67	3,45	6,67	3,45	16,67	4,01	13,33	3,87	16,67	4,01
4	0,60	13,33	3,87	13,33	3,87	23,33	4,26	26,67	4,36	26,67	4,36
5	0,70	30,00	4,48	26,67	4,36	40,00	4,75	43,33	4,82	46,67	4,9
6	0,78	36,67	4,64	40,00	4,75	50,00	5,00	60,00	5,25	66,67	5,41
7	0,85	43,33	4,82	50,00	5,00	66,67	5,41	73,33	5,61	76,67	5,71
8	0,90	46,67	4,90	56,67	5,15	76,67	5,71	83,33	5,95	83,33	5,95
9	0,95	56,67	5,15	70,00	5,52	83,33	5,95	90,00	6,28	100,00	8,09
10	1,00	56,67	5,15	73,33	5,61	86,67	6,08	100,00	8,09	100,00	8,09

Tableau 2: Logarithmes décimaux des doses et Probits des taux de mortalité au 6^{ème} jour (Asp) (dans le sol).

Temps (Jour)	Log temps	D1 (10 ⁴ spore/ml)		D1 (10 ⁵ spore/ml)		D1 (10 ⁶ spore/ml)		D1 (10 ⁷ spore/ml)		D1 (10 ⁸ spore/ml)	
		MC%	Prob								
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2	0,30	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
3	0,48	3,33	3,12	6,67	3,45	3,33	3,12	6,67	3,45	6,67	3,45
4	0,60	10,00	3,72	16,67	4,01	16,67	4,01	20,00	4,16	16,67	4,01
5	0,70	16,67	4,01	23,33	4,26	30,00	4,48	30,00	4,48	33,33	4,56
6	0,78	26,67	4,36	33,33	4,56	43,33	4,82	46,67	4,90	56,67	5,15
7	0,85	36,67	4,64	43,33	4,82	56,67	5,15	60,00	5,25	73,33	5,61
8	0,90	43,33	4,82	56,67	5,15	63,33	5,33	73,33	5,61	83,33	5,95
9	0,95	50,00	5,00	60,00	5,25	70,00	5,52	80,00	5,84	90,00	6,28
10	1,00	53,33	5,08	66,67	5,41	73,33	5,61	93,33	6,48	100,00	8,09

Tableau 3: Logarithmes décimaux des doses et Probits des taux de mortalité au 4^{ème} jour (Met) (hors sol).

Temps (Jour)	Log temps	D1 (10 ⁴ spore/ml)		D1 (10 ⁵ spore/ml)		D1 (10 ⁶ spore/ml)		D1 (10 ⁷ spore/ml)		D1 (10 ⁸ spore/ml)	
		MC%	Prob								
1	-	-	-	-	-	-	-	6,67	3,45	13,33	3,87
2	0,30	6,67	3,45	6,67	3,45	16,67	4,01	23,33	4,26	30,00	4,48
3	0,48	23,33	4,26	26,67	4,36	33,33	4,56	43,33	4,82	46,67	4,90
4	0,60	30,00	4,48	40,00	4,75	43,33	4,82	63,33	5,33	63,33	5,33
5	0,70	43,33	4,82	53,33	5,08	56,67	5,15	73,33	5,61	76,67	5,71
6	0,78	50,00	5,00	70,00	5,52	73,33	5,61	80,00	5,84	90,00	6,28
7	0,85	66,67	5,41	76,67	5,71	80,00	5,84	83,33	5,95	100,00	8,09
8	0,90	76,67	5,71	83,33	5,95	90,00	6,28	90,00	6,28	100,00	8,09
9	0,95	83,33	5,95	96,67	6,75	96,67	6,75	100,00	8,09	100,00	8,09
10	1,00	86,67	6,08	100,00	8,09	100,00	8,09	100,00	8,09	100,00	8,09

Tableau 4: Logarithmes décimaux des doses et Probits des taux de mortalité au 5^{ème} jour (Asp) (hors sol).

Temps (Jour)	Log temps	D1 (10 ⁴ spore/ml)		D1 (10 ⁵ spore/ml)		D1 (10 ⁶ spore/ml)		D1 (10 ⁷ spore/ml)		D1 (10 ⁸ spore/ml)	
		MC%	Prob								
1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3,33	3,12
2	0,30	3,33	3,12	3,33	3,12	6,67	3,45	10,00	3,72	13,33	3,87
3	0,48	10,00	3,72	10,00	3,72	16,67	4,01	23,33	4,26	23,33	4,26
4	0,60	16,67	4,01	26,67	4,36	26,67	4,36	30,00	4,48	33,33	4,56
5	0,70	26,67	4,36	36,67	4,64	43,33	4,82	43,33	4,82	50,00	5,00
6	0,78	33,33	4,56	46,67	4,90	50,00	5,00	56,67	5,15	63,33	5,33
7	0,85	43,33	4,82	56,67	5,15	66,67	5,41	73,33	5,61	80,00	5,84
8	0,90	50,00	5,00	63,33	5,33	73,33	5,61	83,33	5,95	93,33	6,48
9	0,95	66,67	5,41	76,67	5,71	80,00	5,84	96,67	6,75	100,00	8,09
10	1,00	76,67	5,71	83,33	5,95	93,33	6,48	100,00	8,09	100,00	8,09