

RÉSUMÉ

« ÉTUDE SUR LES FACTEURS DETERMINANT L'EFFICACITÉ DE LA CHAMPIGNON ENTOMOPATHOGÈNE *BEAUVERIA BRONGNIARTII* DANS LA LUTTE CONTRE LES RAVAGEURS ÉDAPHIQUES »

élaboré par drd. GONȚEA (FĂTU) ANA-CRISTINA
sous la direction du PhD univ. prof. IOAN ROȘCA

Mots-clés: *Beauveria brongniartii*, *Melolontha melolontha*, entomopathogène, bioinsecticide, pépinière

Les scarabéidés (Coleoptera: Scarabeidae) sont considérés comme des ravageurs très importants, pour les cultures agricoles, horticoles et forestières dans la Roumanie. Leurs larves vivent dans le sol et les adultes sur les arbres. Les larves attaquent les racines des plantes, causant des pertes substantielles, qualitatives et quantitatives. Dans les pépinières et les plantations forestières, les parasites rhyzophages sont le principal facteur de stress biotique. *Melolontha melolontha* L. et d'autres cailles (*Polyphylla fullo*, *Anoxia pilosa*, *A. orientalis*, *Anomala dubia*, *A. solida*, *Amphimallon solstitiale*, *A. caucasicum*, *Rhizotrogus aestivus*, *R. aequinoctialis*, *Anisoplia* sp.) enregistrent une multiplication de masse et causent des dommages importants dans les pépinières forestières. Du scarabée, les espèces les plus fréquentes pouvant endommager les cultures de pépinières sont les guimauves, qui, dans l'intervalle 2012-2013 étaient au stade d'éruption dans la plupart des régions du pays. Les plus nuisibles sont les larves (vers blancs) au dernier stade larvaire. Limiter l'utilisation d'insecticides chimiques dans la lutte contre cette catégorie de parasites a nécessité une attention particulière aux mesures de contrôle alternatives. Parmi ceux-ci, l'utilisation de l'entomopathogène *Beauveria brongniartii* (Sacc.) Petch (Hypocreales: Clavicipitaceae) présente un intérêt réel et s'avère être l'agent de contrôle biologique le plus efficace contre le Hanneton commun.

La thèse de doctorat intitulée "Étude sur les facteurs qui déterminent l'efficacité du champignon entomopathogène *Beauveria brongniartii* dans la lutte contre les ravageurs edafiques" présente une série de recherches qui suivent les étapes du développement d'un bioinsecticide. La première étape a consisté à collecter et à isoler des agents pathogènes fongiques provenant de foyers

naturels de larves de *M. melolontha*, provenant de pépinières forestières fortement infestées. L'identification morphologique des isolats fongiques a été suivie par leur caractérisation génétique basée sur des marqueurs moléculaires distincts (ITS, EF-1 α , 18s et 28s). Une souche de *B. brongniartii* d'une collection internationale de micro-organismes a également été utilisée. Des analyses de séquençage phylogénétique et de reconstruction ont été effectuées en comparant d'autres souches présentes dans la base de données. Les résultats ont mis en évidence un fort degré de coïncidence des isolats roumains au niveau infraspécifique, formant une sous-classe compacte de *Beauveria brongniartii*.

On a étudié l'effet de la température et de l'humidité relative sur la germination des conidies de *Bacillus*, les facteurs les plus importants pour l'initiation du processus infectieux. La germination a été examinée à des températures comprises entre 4 et 33 °C sur un milieu de culture solide. L'effet de l'humidité relative a été testé avec des solutions saturées. Les résultats ont montré que la germination eut lieu à des températures comprises entre 15,5 et 25 °C. Aucune souche fongique des trois souches testées (ICDPP # 2, ICDPP # 3 et ICDPP # 4) n'a géminé à basse température (4 ° et 10 °C). Une souche (ICDPP # 3) a germé à des températures plus élevées (30 et 33 °C). L'incubation des conidies à un faible taux d'humidité relative (29% UR) a inhibé leur germination dans les souches testées. Les résultats ont montré que l'humidité relative avec des valeurs comprises entre 52,6% et 100% n'est pas un facteur limitatif pour la germination des conidies.

Dans l'étape suivante, les trois souches de *B. brongniartii* ont été testées *in vivo* sur des larves de *M. melolontha*, *A. villosa* et *A. solstitialis* afin de sélectionner une souche virulente à utiliser dans des investigations ultérieures. L'évaluation de la pathogénicité de *B. brongniartii* a été réalisée en parallèle avec un isolat natif de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. Les larves du troisième âge ont été traitées par immersion dans des suspensions de conidies avec un titre de 1×10^7 conidies / mL. Les résultats ont montré que le taux de mortalité le plus élevé était dû à une infection par *B. brongniartii* (100% pour les larves de *M. melolontha* et 60% pour les larves de *A. villosa*) après 60 jours d'incubation. *M. anisopliae* a déterminé un faible taux de mortalité (inférieur à 35%) pour les trois espèces d'insectes testées. Les souches de *B. brongniartii* présentaient le même degré de virulence que les larves de *M. melolontha*.

L'étape du processus biotechnologique de la souche de *B. brongniartii* pour obtenir des bioproduits granulaires a visé de sélectionner le milieu de culture pour garantir l'obtention d'un inoculum fongique quantitativement et qualitativement. En utilisant la souche ICDPP # 2, l'influence de la composition de quatre milieux de culture liquides (Catroux, Paris, Goral et Kondryatiev) sur la production de propagules, la biomasse mycélienne et la forme et la taille des propagules fongiques

ont été évaluées. Sur le milieu Catroux, la plus forte concentration de propagules ($5,7 \pm 4,4 \times 10^9$ propagules / mL) a été obtenue au bout de 96 heures et la plus grande quantité de biomasse de micellium ($9,41 \pm 3,53$ mg / mL) a été obtenue au bout de 120 heures d'incubation dans des conditions d'agitation (150 tr / min) à 25 ° C. Il a également été vérifié si le pouvoir pathogène de la biopréparation insecticide était influencé par la composition du milieu de culture dans lequel les propagules propagées se sont ensuite formées comme inoculum du produit final. À cette fin, les larves de *M. melolontha* ont été traitées avec des suspensions de conidies (1×10^7 conidies / mL) obtenues à partir de la biopréparation insecticide. L'évaluation de la mortalité larvaire sur 52 jours a montré qu'il n'y avait pas de différence statistiquement significative dans la durée de survie moyenne (log-rank 0,39); la durée de survie la plus courte (27 jours) a été enregistrée à la suite d'un traitement par biopréparation inoculée avec la culture fongique obtenue sur un milieu de Catroux.

Sur la base de ses propriétés biotechnologiques et pathogéniques, la souche de *B. brongniatii* ICDPP # 2 a été sélectionnée pour une application sur le terrain sous la forme d'une biopréparation fongique formulée sur une pyrale du maïs colonisée par le mycélium sporulé (BioMelCon) pour lutter contre les larves du sol, ou sous forme de suspension conidiale pour application foliaire sur les adultes de *M. melolontha*, en pépinière et en forêt.

Les essais ont été effectués au sol au cours des années 2010-2013, dans les pépinières Botoșani, Neamț et Suceava, dans diverses conditions du site, qui ont montré un niveau d'infection naturelle par Hanneton très élevé ($> 1,3L_3$ / m.p.). Les traitements ont été appliqués à deux années consécutives avec des doses allant de 100 à 200 kg / ha, les surfaces traitées, l'accumulation de concentrations de 2 à 5×10^{15} conidies / ha. Les traitements effectués sur les larves de *M. melolontha* pour les coléoptères ont diminué la densité de la population de 66,7 à 100%. Les taux de mortalité causée par des champignons ont tendance à augmenter avec l'augmentation de la dose administrée de bio-produit dans le sol. Les résultats de l'effet des traitements appliqués au sol pendant deux années consécutives ont constamment démontré une corrélation positive entre la dose de bio-produits et la mortalité des larves induites par celle-ci. Ainsi, la dose cumulée au cours des deux années (200 kg / ha) causé de 43,8% à 100% à une dose de 300 kg / ha 50 à 69,7% et à la dose de 40 kg / ha la mortalité était comprise entre 75% et 100%. Les résultats des observations expérimentales dans les domaines de densité populationnelle du Hanneton et le niveau de la colonisation fongique du sol, avant et après le traitement ont confirmé que la réduction de la population des insectes est due au traitement par *B. brongniartii*.

La présence du vol au printemps 2012 dans certaines régions du nord de la Moldavie a permis l'expérimentation de méthodes de lutte contre les adultes, notamment en traitant le substrat

d'alimentation représentés par les plantes-hôte, ainsi qu'en appliquant directement des conidies de *B. brongniartii* sur des adultes capturés dans des pièges lumineux; la procédure de baignade des adultes de *M. melolontha* suivie de leur libération dans le champ a été appliquée. Le but de cette étude était d'évaluer la possibilité d'utiliser les adultes comme vecteur d'entomopathogène dans les zones de reproduction d'organismes nuisibles. L'effet de l'application directe de la biopréation sur les adultes s'est manifesté après un an avec une efficacité de 100%. Dans le cas de traitements foliaires dans des pépinières infectées par des adultes de *M. melolontha*, pendant l'automne de la même année, une efficacité de 100% a été accomplie en mesurant la densité larvaire dans le sol.

L'effet du traitement par *B. brongniartii* sur le mésofaune édaphique dans les deux ans a également été évalué. Les résultats de l'analyse quantitative de la faune édaphique ont montré que la densité de microarthropodes édaphiques était environ 2 fois plus faible un an après le traitement, par rapport au témoin, dans les pépinières testées; au bout de deux ans, il y avait une nette reprise de la population. Du point de vue qualitatif, à la fois les échantillons de contrôle et ceux des périmètres traité, la dominance numérique des acariens vis-à-vis des insectes a été observée, allant de 61,77 à 99,48% de la mésofaune totale. Les insectes étaient principalement représentés par les collemboles (plus de 70%), qui manquaient cependant dans les terrains analysés un an après l'application des traitements, alors que le restant avait des densités très faibles, dans l'ensemble de la mésofaune, avec des valeurs en pourcentage faibles. seulement 0,78-3,73%. L'absence de collemboles dans les variantes de traitement appliquées en 2012 a montré qu'ils faisaient partie des groupes affectés, l'effet étant maximum un an après le traitement biologique, comme dans le cas d'autres groupes de microarthropodes, par exemple les oribatides. Il a également été constaté que, au cours de la deuxième année d'application, les paramètres structurels des cénozes d'oribatides avaient tendance à revenir à des valeurs comparables à celles du contrôle, de sorte que l'impact des traitements n'était pas grave et durable.

Les résultats de l'analyse des principaux indicateurs de qualité et de fertilité des ressources du sol sur lesquelles les expériences ont été localisées ont révélé que les traitements bioinsecticides entraînaient une légère augmentation du contenu en humus et de la saturation de base par rapport à la variante de contrôle. Une augmentation du métabolisme de la microflore a également été observée. Un bioinsecticide à base de *B. brongniartii* a eu un effet positif sur les indicateurs biologiques: respiration du sol, activité de la déshydrogénase et sur l'indicateur synthétique biologique dans les pépinières testées. Les effets positifs les plus significatifs ont été observés dans la période qui a immédiatement suivi l'application du bioinsecticide.