

REPUBLICATION ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEINEMENT SUPERIEURS ET DE RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERCITE DE BLIDA 1

FACULTE DES SCIENCE DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DE BIOTECHNOLOGIE

Thème

**Activité antagoniste de deux champignons endophyte à l'égard
de la mineuse de tomate.**

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de master 2

Option : Biologie des Interactions Plante Microorganisme

Présenté par :

BENDEBBAH Rachida

BENSSACI Bouchra

Soutenu devant le jury :

| | | | |
|--------------------|------------|---------|--------------------|
| KRIMI Z. | Professeur | U.S.D.B | Présidente. |
| MOHAMED MAHMOUD F. | M.M.A | U.S.D.B | Promotrice. |
| BERRAF A. | M.C.A | U.S.D.B | Examinatrice. |
| TAFIFET L. | M.A.B | U.S.D.B | Examinatrice. |
| TOUDJI F. | Doctorante | | Invitée d'honneur. |

ANNEE UNIVERSITAIRE 2015/2016.

REMERCIEMENT

Avant tout nous remercions Dieu de nous avoir donné la force, Le courage et la volonté pour réaliser ce travail.

*Nous adressons nos salutations préférés et notre profond respect au **Pr KRIMI Z.** qui nous a fait l'honneur de présider le jury. Nous remercions de nous avoir accepté dans son laboratoire et en ayant mis à notre disposition tous les moyens nécessaires pour la réalisation de ce travail.*

*Nous remercions notre promotrice Madame **MOHAMED MAHMOUD Fadhéla** enseignante à l'université **SAAD DAHLEB** de Blida qui est à l'origine de ce sujet. Pour son encadrement, son aide précieuse, et ses conseils qui ont été essentiels pour l'aboutissement de ce modeste travail.*

*Nous remercions Madame **TOUJL.F.** Pour son aide précieuse, et ses conseils qui ont été essentiels pour l'aboutissement de ce modeste travail.*

*Nous exprimons nos remerciements aux examinatrices Madame **TAFIFET** et Madame **BERRAF** qui ont assisté à notre soutenance pour valoriser ce travail*

*Nous remercions Madame **TAFIFET** et Madame **SALMA** ingénieure de laboratoire phytopathologie pour son aident et encouragement.*

*Aux mes meilleurs copines **KIRAD Sarah**, **Dahmen Salma**, **MIRAD Hadjer**, **BENTOUIL Wissem**, qui ont été avec nous toujours le long du chemin.*

*Nous remercions également toute notre promotion 5^{ème} année **biologie des interactions plante microorganisme** .à tous ceux qui ont contribués a notre formation de près ou de loin pendant ces dernières années, aux enseignants, responsables et au personnel du département de biotechnologie de la faculté des sciences naturelle et vie (SNV).*

Antagonist activity of two endophytic fungi against the tomato leaf miner

Abstract

Fungal endophytes are among the most commonly used agents for combater against these quarantine pests. The microbial antagonism study *Clonostachys* spp. and *Beauveria bassiana* against the larvae of *T. absoluta* was performed first *in vitro* to see whether these strains have a fungicidal effect or not and by the use of three concentrations of suspensions thereof (4×10^7 spores / ml, 4×10^6 spores / ml, 4×10^5 spores / ml.). In the second step, the more concentrated dose D1 (4×10^7 spores / ml) was sprayed on the larvae of *T. absoluta* deposited on the tomato seedling leaves in order to test the effectiveness of these fungal applications on the rate of infestation of the leaves relative to the control and the relative chemical pesticide (Pro Act).

The results of both tests *in vitro* and *in situ* showed that the two endophytic fungi are significant entomopathogenes and effective against the tomato pest *Tuta absoluta*.

Key works: Tomato, *Tuta absoluta*, endophytic fungi, *Clonostachys* spp., *beauveria bassiana*,.

Activité antagoniste de deux champignons endophyte à l'égard de la mineuse de la tomate.

Résumé

Les champignons endophytes sont parmi les agents les plus utilisés pour lutter contre ces ravageurs de quarantaine. L'étude d'antagonisme microbien de *Clonostachys* spp et *Beauveria* bassiana contre les larves de *Tuta absoluta* a été réalisée d'abord *in vitro* pour évaluer leurs effet fongicide par l'utilisation de trois suspensions à différentes concentrations (4×10^7 spores / ml, 4×10^6 spores / ml, 4×10^5 spores / ml.). En deuxième étape, la pulvérisation de la dose la plus concentrée D1 (4×10^7 spores / ml) sur les larves de *T. absoluta* déposées au préalable sur les feuilles des plantules de tomate afin de tester l'efficacité de ces applications fongiques sur le taux d'infestation des feuilles par rapport au témoin et par rapport à un insecticide chimique (Pro Act).

Les résultats des deux tests *in vitro* et *in situ* ont montré que les deux champignons endophytes sont entomopathogènes significative ($P=0.00$) et efficaces contre les larves du ravageur de quarantaine *Tuta absoluta*.

Mots clés : Tomate, *Tuta absoluta*, champignons endophytes, *Clonostachys* spp., *beauveria* bassiana.

Liste des tableaux :

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : Evolution trimestrielle (2009-2012) de la tomate en Algérie..... | 3 |
| Tableau 2 : Principaux maladies de la tomate..... | 4 |
| Tableau 3 : Morphologie des phases de développements de <i>Tuta absoluta</i> | 8 |
| Tableau 4 : Origine des champignons endophytes utilisés..... | 22 |
| Tableau 5 : Concentration des suspensions de deux champignons utilisés..... | 25 |

Liste des figures :

| | |
|--|----|
| Figure 1: Répartition Géographique de la <i>Tuta absoluta</i> | 6 |
| Figure 2 : Cycle biologique de <i>Tuta absoluta</i> | 7 |
| Figure 3: Dégâts de <i>Tuta absoluta</i> sur les feuilles de tomate..... | 9 |
| Figure 4: Dégâts de la mineuse sur les fruits de la tomate..... | 10 |
| Figure 5 : Les filets insect-proof..... | 11 |
| Figure 6: Les piègeages à phéromones..... | 11 |
| Figure 7: <i>Beauveria bassina</i> sous microscope..... | 16 |
| Figure 8 : Observation ultra structurale de <i>Clonostachys spp</i> | 19 |
| Figure 9: Infection de nématode par le champignon <i>Clonostachys spp</i> | 20 |
| Figure 10 : Champignons endophytes utilisés..... | 22 |
| Figure 11 : Les larves de <i>Tuta absoluta</i> collectées à partir des feuilles de tomate infectées..... | 23 |
| Figure 12: Préparation des suspensions fongiques..... | 26 |
| Figure 13: Suspensions de <i>Beauveria bassina</i> et de <i>Clonostachys spp</i> | 26 |
| Figure 14 : Inoculation des larves de <i>Tuta absoluta</i> | 27 |
| Figure 15: Boîtes de Pétri contenant des larves de <i>Tuta absoluta</i> inoculées par des suspensions fongiques de <i>Beauveria bassiana</i> et <i>Clonostachys spp</i> | 28 |
| Figure 16 : Dispositif des plants de tomate avant l'infestation de <i>Tuata absoluta</i> et inoculation de suspensions fongiques..... | 29 |
| Figure 17: Pulvérisation des plants par les suspensions fongiques de <i>Beauveria bassiana</i> et de <i>Clonostachys spp</i> | 30 |
| Figure 18: Infestation des plants de tomate par les larves de <i>Tuta absoluta</i> | 31 |
| Figure 19 : Pulvérisation des plants de tomate par les suspensions fongique, l'eau distillée stérile, et l'insecticide..... | 32 |

| | |
|---|----|
| Figure 20 : Larves tuées de <i>Tuta absoluta</i> après 24 heures de pulvérisation par <i>Beauveria bassiana</i> | 34 |
| Figure 21 : Les larves de <i>Tuta absoluta</i> présentant l'aspect d'une momie après pulvérisation par la suspension fongique de la souche <i>Clonostachys</i> spp..... | 35 |
| Figure 22 : Effet comparative des taux de mortalité des larves de <i>Tuta absoluta</i> sous l'effet d'antagonisme de <i>B. bassiana</i> et <i>Clonostachys</i> spp., après 24 heures de pulvérisation..... | 35 |
| Figure 23 : Effet comparative des taux de mortalité des larves de <i>Tuta absoluta</i> sous l'effet d'antagonisme de <i>B. bassiana</i> et <i>Clonostachys</i> spp., après 48 heures de pulvérisation..... | 36 |
| Figure 24 : Effet comparative des taux de mortalité des larves de <i>Tuta absoluta</i> sous l'effet d'antagonisme de <i>B. bassiana</i> et <i>Clonostachys</i> spp., après 72 heures de pulvérisation..... | 36 |
| Figure 25 : Transformation des larves de <i>Tuta absoluta</i> en Chrysalide après une semaine d'infestation..... | 37 |
| Figure 26 : Transformation des larves de <i>Tuta absoluta</i> en papillons après une semaine d'infestation..... | 37 |
| Figure 27 : Les larves de <i>Tuta absoluta</i> présentant l'aspect d'une momie après pulvérisation par la suspension fongique de la souche par <i>Beauveria bassiana</i> | 38 |
| Figure 28 : Larves de <i>Tuta absoluta</i> pulvériser par <i>Clonostachyse</i> spp..... | 39 |
| Figure 29 : Transformation des larves de <i>Tuta absoluta</i> en Chrysalide après une semaine de pulvérisation..... | 39 |
| Figure 30 : Transformation des larves de <i>Tuta absoluta</i> en papillons après 10 jours de pulvérisation. | 40 |
| Figure 31 : Apparition des symptômes de la mineuse causés par <i>Tuta absoluta</i> après 24 heures de dépôt des larves..... | 41 |
| Figure 32 : Etude comparative de nombre de feuilles infectés 24 heures après le dépôt des larves du <i>Tuta absoluta</i> sur des plants de tomate..... | 42 |

| | |
|---|----|
| Figure 33 : Etude comparative des nombres de feuilles infectés 24h après la deuxième pulvérisation des plants de tomate avec les différents traitements..... | 42 |
| Figure 34 : Etude comparative des nombres de feuilles infectés 48 h après la deuxième pulvérisation des plants de tomate avec les différents traitements..... | 43 |
| Figure 35 : Etude comparative des nombres de feuilles infectés 72 h après la deuxième pulvérisation des plants de tomate avec les différents traitements..... | 43 |
| Figure 36 : Plants de tomate pulvérisés avec les différents suspensions fongiques <i>Clonostachys</i> spp., <i>Beauveria bassiana</i> ainsi que l'eau distillée stérile seulement..... | 44 |
| Figure 37 : Formation de la poudre blanche sur les larves des plantes pulvérisées avec <i>Clonostachys</i> spp. (Des larves momies)..... | 45 |
| Figure 38 : Formation de la poudre blanche sur les larves des plantes pulvérisées avec <i>Beauveria bassiana</i> . (Des larves momies)..... | 45 |
| Figure 39 : Production de protéase par la souche fongique <i>Clonostachys</i> spp..... | 46 |

Table de matière :

| | |
|---------------------------|----------|
| Introduction | 1 |
|---------------------------|----------|

Chapitre I : Synthèse bibliographique

| | |
|--|----|
| 1. Généralité sur la culture de la tomate | 3 |
| 2. Principales maladies de la tomate | 4 |
| 3. Principaux ravageurs de la tomate | 5 |
| 4. Méthodes de lutte contre <i>Tuta absoluta</i> | 10 |

Chapitre I : Matériel et méthodes :

I. Matériel :

| | |
|------------------------------|----|
| I.1- Isolats fongiques | 22 |
| I.2- Matériel animal | 23 |
| I.3- Matériel végétal | 24 |
| I.4- Le sol | 24 |

II. Méthodes :

| | |
|---|----|
| II.1- Etude de l'antagonisme <i>in vitro</i> | 24 |
| II.2- Etude de l'effet d'antagonisme <i>in situ</i> | 28 |
| des suspensions fongiques | 31 |
| III- Teste de production <i>in vitro</i> d'une enzyme par <i>Clonostachys spp.</i> | 34 |
| III.1-Production de Protéase | 32 |
| IV- Analyses statistiques | 32 |

Chapitre III

III- Résultats et interprétations :

| | |
|---|----|
| I- Etude de l'antagonisme <i>in vitro</i> | 33 |
| II- Etude d'antagonisme <i>in situ</i> | 40 |
| III- Test de production <i>in vitro</i> d'une enzyme par <i>Clonostachys spp.</i> | |

Chapitre IV :Discussion47

Conclusion52

Table de matière :

Résumé

Abstract

ملخص

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction1

Chapitre I

Partie bibliographique

| | |
|--|----|
| 1. Généralité sur la culture de la tomate | 3 |
| 1.1. Intérêt économique de la tomate | 3 |
| 2. Principales maladies de la tomate | 4 |
| 3. Principaux ravageurs de la tomate | 5 |
| 3.1. Les aleurodes | 5 |
| 3.2. Les acariens | 5 |
| 3.3. 3.3. Les pucerons | 5 |
| 3.4. Mouches Mineuses | 5 |
| 3.5. <i>Tuta absoluta</i> | 5 |
| 3.5.1. Distribution dans le monde | 6 |
| 3.5.2. Distribution en Algérie | 7 |
| 3.5.3. Plantes hôtes | 7 |
| 3.5.4. Cycle biologique | 7 |
| 3.5.5. Morphologie de <i>Tuta absoluta</i> | 8 |
| 3.5.6. Dégâts et symptômes du <i>Tuta absoluta</i> | 9 |
| 4. Méthodes de lutte contre <i>Tuta absoluta</i> | 10 |
| 4.1. Les méthodes prophylactiques | 10 |

| | | |
|----------|-------------------------------------|----|
| 4.2. | Lutte biotechnologique | 11 |
| 4.3. | Lutte chimique | 11 |
| 4.4. | Lutte biologique | 12 |
| 4.4.1. | PGPB ou bactéries bénéfiques | 13 |
| 4.4.2. | PGPF ou champignons bénéfique | 13 |
| 4.4.3. | Champignons entomopathogènes | 14 |
| 4.4.3.1. | <i>Beauveria bassiana</i> | 16 |
| 4.4.3.2. | <i>Clonostachys</i> spp. | 19 |
| 4.5. | Lutte intégrée..... | 21 |

Chapitre II

Matériel et méthodes :

I. Matériel :

| | | |
|------|-------------------------|----|
| I.1- | Isolats fongiques | 22 |
| I.2- | Matériel animal | 23 |
| I.3- | Matériel végétal | 24 |
| I.4- | Le sol | 24 |

II. Méthodes :

| | | |
|---------|--|----|
| II.1- | Etude de l'antagonisme <i>in vitro</i> | 24 |
| II.1.1- | Purification des souches fongiques | 24 |
| II.1.2- | Désinfection des semences | 24 |
| II.1.3- | Préparation de suspensions fongiques | 25 |
| II.1.4- | Inoculation des larves de <i>Tuta absoluta</i> par les Champignons testés..... | 26 |
| II.2- | Etude de l'effet d'antagonisme <i>in situ</i> | 28 |
| II.2.1- | Mise en place de la culture sous serre | 28 |
| II.2.2- | Dispositif expérimental de l'essai sous serre | 29 |
| II.2.3- | Pulvérisation des suspensions fongiques | 30 |
| II.2.4- | Infestation des plants par les larves de <i>Tuta absoluta</i> et re-pulvérisation des suspensions fongiques | 31 |
| III- | Teste de production <i>in vitro</i> d'une enzyme par <i>Clonostachys</i> spp..... | 34 |

| | |
|---|----|
| III.1-Production de Protéase | 32 |
| IV- Analyses statistiques | 32 |
| Chapitre III | |
| III- Résultats et interprétations : | |
| I- Etude de l'antagonisme <i>in vitro</i> | 33 |
| II- Etude d'antagonisme <i>in situ</i> | 40 |
| II.1. Infestation des larves par <i>Tuta absoluta</i> | |
| III- Test de production <i>in vitro</i> d'une enzyme par <i>Clonostachys spp.</i> | |
| III.1. Production de protéase | 46 |
| Chapitre IV | |
| IV- Discussion | 47 |
| Conclusion | 52 |
| Référence bibliographique | |
| Annexes | |

Introduction

Introduction :

La tomate (*Lycopersicon esculentum*) appartient à la famille des solanacées, considérée comme fruit ou légume, est l'un des produits agricoles le plus consommé dans le monde. Elle constitue une source non négligeable de minéraux, vitamines et certains composés naturels secondaires ayant un potentiel antioxydant important (Zidani, 2009). La production mondiale de la tomate a été estimée à 159 millions de tonnes en 2011 (FAO, 2013).

Selon Guenaoui (2008), 1/3 de la production agricole mondiale est perdue d'une année à une autre suite aux attaques de ravageurs ou dû à des maladies causées par les champignons, les bactéries et les virus.

Selon Trottin-Caudal et al. (1995), les principaux ravageurs sous serre sont les aleurodes, les pucerons, les mineuses, les acariens, et les thrips. Parmi ces derniers un ravageur redoutable est observé ces dernières années, où il a causé des pertes considérables aussi bien sous serre qu'en plein champ ; qui est *Tuta absoluta* agent de la mineuse de la tomate, est classé comme ravageur de quarantaine.

Il a été détecté pour la première fois en Amérique du sud en 1935, son invasion n'a depuis cessé de progresser (Lacordaire et Feuvrier, 2010). En Algérie sa première apparition fut à Mostaganem au mois de mars 2008, ensuite elle s'est propagée dans le reste du pays (Guenaoui, 2008). *T. absoluta* est un macrolépidoptère de la famille des Gelichiidae. Ces chenilles mineuses peuvent provoquer des pertes en production atteignant les 100% au niveau des cultures plus particulièrement les solanacées (Desneux et al., 2010).

La lutte contre *T. absoluta* est fondée essentiellement sur des mesures prophylactiques; la détection précoce par les pièges à phéromone sexuelle et l'utilisation de la lutte chimiques (Collavino et Gimenez, 2008).

Selon Siquiera et al. (2000), l'insecte présente une grande résistance à certains insecticides chimiques. En raison des aspects négatifs de l'utilisation des insecticides. Plusieurs travaux ont été effectués pour la mise au point d'autres moyens de luttés.

La lutte biologique par l'utilisation des prédateurs et des parasitoïdes des larves a été testée avec plus ou moins de succès (Miranda et al., 1998; Marchiori et al., 2004; Medeiros et

Introduction

al., 2006). La sensibilité des larves aux nématodes a été également étudiée par Batalla-Carrera et *al.* (2010).

Les micro-organismes peuvent également être utilisés dans la lutte biologique ; parmi eux certains font partie des champignons entomopathogènes et qui sont des parasites naturels de ces insectes comme le cas de l'endophyte *Beauveria bassiana*. Ce champignon est connu pour les infections qu'il cause chez certains insectes nuisibles (Snodgrass et Elzen, 1994 ; Steinkraus et Tugwell, 1997). Un autre genre de champignons entomopathogènes qui est l'endophyte *Clonostachys* spp. très étudié contre les champignons pathogènes telluriques, les nématodes, et réagit très souvent par le phénomène de mycoparasitisme indirecte (Zhao et *al.*, 2005 ; Li et *al.*, 2006). Dans ce contexte et dans le cadre de l'élaboration d'une stratégie de lutte biologique efficace contre *Tuta absoluta* l'agent de la mineuse de la tomate, notre étude est basée sur l'utilisation de deux souches fongiques *Beauveria bassiana* et *Clonostachys* spp. contre les larves de cet insecte.

Cette étude comprend deux parties, la première réalisée au niveau de laboratoire (*in vitro*), qui s'intéresse à l'évaluation de taux de mortalité des larves de *Tuta absoluta* sous l'effet de différentes doses des deux champignons endophytes cités précédemment. La deuxième effectuée sous serre (*in situ*) pour l'étude de l'efficacité de l'application de ces applications fongiques (biofongicides) préparés par les suspensions fongiques de *Beauveria bassiana* et *Clonostachys* spp. et un insecticide chimique.

1. Généralité sur la culture de la tomate :

La tomate (*Lycopersicon esculentum*) appartenant à la famille des solanacées, est une plante herbacée annuelle originaire des Andes et d'Amérique, très cultivée pour son fruit consommé à l'état frais ou transformé (Chaux et Foury, 1994). C'est le légume le plus reconnu pour son intérêt commercial (Ferrero, 2009). Cette spéculacion est cultivée aussi bien en plein champs que sous serres, occupant ainsi une place importante dans l'économie agricole mondiale (Naika et al., 2005). La tomate s'adapte à une grande variation de conditions climatiques, allant du climat tempéré au climat tropical chaud et humide (Naika et al., 2005) ; et une hygrométrie relativement ambiante de 60% à 65% (Laumonier, 1979).

1.1. Intérêt économique de la tomate :

La tomate est largement répandue dans le monde, y compris en Algérie. Elle a une place stratégique dans l'économie mondiale et nationale. La culture de la tomate représente 90% de la production mondiale obtenue dans l'hémisphère nord (bassin méditerranéen, Californie et Chine). En 2011, environ 159 millions de tonnes de tomates ont été produites dans le monde (FAOSTAT, 2013).

En Algérie, la tomate occupe une place importante dans l'économie du pays enregistrant des accroissements notables en superficies et en production. C'est un légume de base pour la population algérienne et elle prend la deuxième place sur le marché maraicher après la pomme de terre (Tableau1).

Tableau 1: Evolution trimestrielle (2009-2012) de la tomate en Algérie (M.A.D.R.P 2012).

| Année | 2009 | 2010 | 2011 | 2012 | 2012 |
|--------------------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Production de tomate (quintal) | 3 808 100 | 7 600 370 | 7 043 739 | 6 005 050 | 8 544 695 |

La tomate est une plante peut être affectée par plusieurs maladies cryptogamiques, bactériennes ou virales, par la concurrence de mauvaises herbes et par des accidents de végétation ou des agressions abiotiques, dont l'importance varie selon le type de culture et les conditions climatiques (Chibane, 1999).

2. Principales maladies de la tomate :

La culture de tomate peut être affectée par plusieurs maladies cryptogamiques, bactériennes, virales (Tableau 2).

Tableau 2 : Principaux maladies de la tomate.

| Maladies (agent causals) | Symptômes et dégâts |
|--|--|
| Maladies cryptogamiques | |
| Botrytis (<i>Botrytis cinerea</i>) | - Apparition des taches spectrales, c'est à dire des auréoles pâles avec un petit point brun noir en leur centre (Choux et Foury1994). |
| Oïdium (<i>Oidiumneo lycopersici</i>) | -Les feuilles et les tiges sont poudrées de blanc, les folioles finissent par se déformer et sécher, les jeunes pousses s'étiolent (Trottin-caudal et <i>al.</i> 2003). |
| Mildiou (<i>Phytophthora infestants</i>) | -Apparition des taches jaunâtres qui brunissent rapidement (Naika et <i>al.</i> , 2005). |
| Alternariose (<i>Alternaria solani</i>) | - Des taches noirâtres sur feuille. - Des nécrosent sur fruit (Naika et <i>al.</i> , 2005). |
| Maladies bactériennes | |
| Chancre bactérien (<i>Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis.</i>) | - Flétrissement unilatéral sur feuilles. -Des coupes longitudinales sur tige et pétioles montrent des stries brunâtres (Strider., 1969). |
| Maladie virales | |
| Viroses (TYLCV) | - Ralentissement de la croissance; Jaunissement des folioles ; Fruit petites et nombreux (Naika et <i>al.</i> , 2005). |
| Viroses (TMV) | -Diverses anomalies de coloration peuvent apparaître sur les folioles et les feuilles : un éclaircissement des nervures, une marbrure, une mosaïque plus ou moins contrastée, en plages vertes, jaunes, voire blanches (Blancard 2010). |

3. Principaux ravageurs de la tomate :

3.1. Les aleurodes :

Ces insectes sont des ravageurs de première importance (Barber et *al.*, 1997). Les dégâts directs se produisent suite au prélèvement de la sève et la production de miellat qui favorise le développement de la fumagine. L'activité photosynthétique se trouve alors perturbée. La mouche est reconnue comme ravageur vecteur de virus (TYLCV) (Van Larbeke et *al.*, 1974, Flavieret *al.*, 1997).

3.2. Les acariens :

Les acariens sont connus sous le nom d'araignées rouges ou jaunes (Tétranyques), causent surtout des dégâts sur feuilles, provoquant des décolorations. Une attaque sévère provoque la chute des feuilles (N'djamena, 1995).

3.3. Les pucerons :

Les pucerons produisent également un miellat sur lequel se développent des champignons noirs ou fumagines. De plus, ils sont capables de transmettre des virus aux plantes (Bouchet et *al.*, 1999).

3.4. Mouches Mineuses :

Les dégâts causés par la mouche mineuse sont de deux ordres soit directs sont occasionnés par la pourriture des larves à l'intérieur des feuilles et par les piqûres nutritionnelles des adultes, soit indirects sont représentés par la possibilité de transmission de virus par les adultes de *Liriomyza* (Medeiros et *al.*, 2006).

3.5. *Tuta absoluta* :

Tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae) communément appelée mineuse de la tomate est un insecte oligophage, décrit pour la première fois en 1917 par Myrick qui lui donna le nom de *phthorimaea absoluta*. L'insecte fut classé plus tard dans le genre *Scorobialpuloi* (Ferreira, 2008 ; Guenaoui, 2008). Ce ravageur s'attaque exclusivement aux solanacées (Lietti et *al.*, 2005).

Tuta absoluta est considéré comme l'un des ravageurs les plus importants de la tomate (Bogoni et *al.*, 2003 ; Pires, 2008), constitue un facteur limitant du développement de la

culture pouvant causer entre 70% et 100% de pertes de production (Paratissoli et Parra, 2000 ; Borgoni et *al.*, 2003 ; Oliviera et *al.*, 2007 ; Urbaneja et *al.*, 2008 ; Guenaoui et Ghelamallah, 2008).

3.5.1. Distribution dans le monde :

Selon Urbanja et *al.*, (2007) *T. absoluta* est un ravageur originaire d'Amérique du Sud depuis 1964, cet insecte a été signalé en Argentine, Bolivie, Brésil, Chili, Colombie, Paraguay et Venezuela. Il a été signalé pour la première fois en Espagne en 2006. En 2007, *T. absoluta* a été détecté dans plusieurs sites le long de la côte méditerranéenne dans la province de Valencia, Maroc, Algérie et en Corse (Oepp, 2008).



Figure 1 : Répartition Géographique de la *Tuta absoluta* FAO 2009.

■ Présence de *Tuta absoluta*.

3.5.2. Distribution en Algérie :

Elle a été signalée pour la première fois en mars 2008 dans les régions maraichères de Mostaganem. Il s'agit d'un macrolépidoptère, *Tuta absoluta* (Meyrik). Cette mineuse a été observée sur les cultures de tomate sous abris et en plein champ, puis elle s'est propagée dans

les régions côtières d'Oran, Tipaza, Biskra et Jijel. Ce ravageur a été la cause de la destruction spectaculaire des cultures de tomate qui peuvent atteindre 100% (Baba –Aissa., 2011).

3.5.3. Plantes hôtes :

Selon Urbanja et al., (2007) *Tuta absoluta* se développe principalement sur la tomate (*Lycopersicon esculentum*) mais aussi sur les espèces de solanacées telles que la pomme de terre (*Solanum tuberosum*) (Pereya et Sanchez, 2006), l'aubergine (*Solanum melongena*) (Estay, 2000), des solanacées adventices, et le poivron (Guenaoui, 2008).

3.5.4. Cycle biologique de *Tuta absoluta* :

Le cycle biologique dure de 76,3 jours (à 14°C) à 23,8 jours (à 27,1°C). Il peut y avoir jusqu'à 10 ou 12 générations par an. Chaque femelle peut pondre isolementde 40 à plus de 200 œufs de préférence à la face inférieure des feuilles ou au niveau des jeunes tiges tendres et des sépales des fruits immatures. Après l'éclosion, les jeunes larves pénètrent dans les feuilles, les tiges ou les fruits quel que soit le stade de développement du plant de tomate. Les larves creusent des galeries dans lesquelles elles se développent. Une fois le développement larvaire est achevé (4 stades successifs), les larves se transforment en nymphe soit dans les galeries, soit à la surface des plantes hôtes ou bien dans le sol. Cet insecte passe l'hiver au stade œuf (Margarida, 2008). (Figure 2)

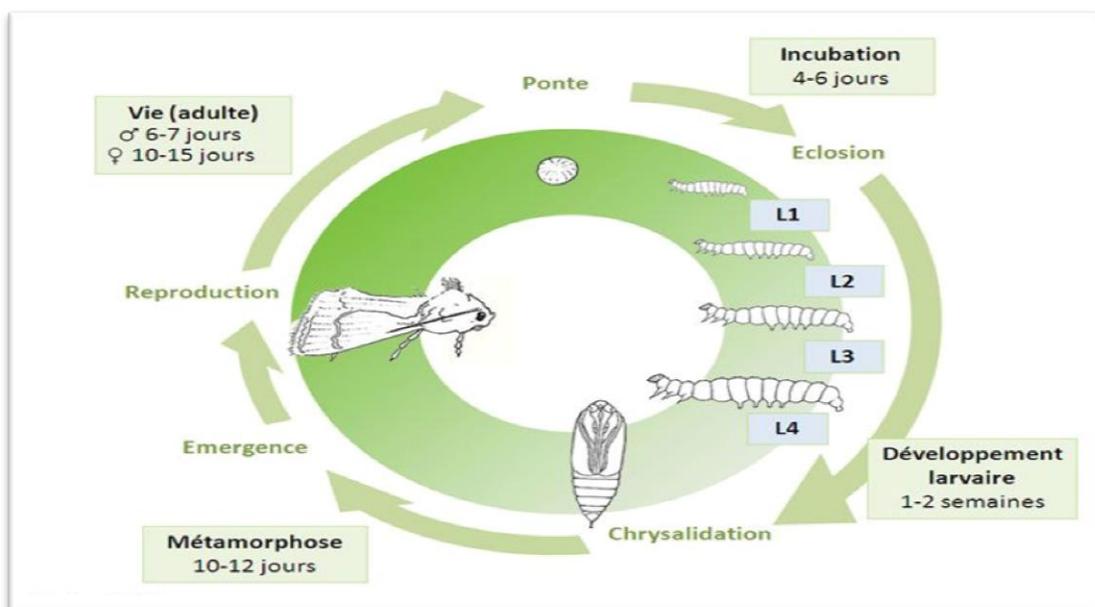


Figure 2: Cycle biologique de *Tuta absoluta* (Moussa, 2010).

3.5.5. Morphologie de *Tuta absoluta* :Tableau 3: Morphologie des phases de développements de *Tuta absoluta*.

| Les phases de développements | Les morphologies | Photos correspondants : INPV 2008 | |
|------------------------------|---|--|---|
| Œufs | Forme cylindrique, sont de petites tailles (0,4 mm de long, 0,22 mm de large) de couleur crème à jaunâtre (Margarida, 2008 : Korycinska et Moran, 2009). |  |  |
| Larves | les jeunes chenilles présente une bande noire derrière la tête (Ramel, 2010) sont au départ de couleur crème (1er stade) puis deviennent verdâtres et rose clair (2nd-4ème stade) .Le stade L3 mesure 4,5-4,6 mm long et le stade L4 (dernier stade) mesure 7,3-7,7mm. la durée des stades larvaires varie de 12 à 15 jours selon la température (Marcano, 2007). |  |  |
| Chrysalide | Forme cylindrique, de couleur verte au début, elle vire au brun foncé à l'approche de l'émergence (Estay,2002).lamétamorphose dure de 9 à 11 jours (Magarida, 2008) |  |  |
| Adulte | Mesurent 6-7mm de long et environ 10mm d'envergure. Ils sont gris argenté avec des tâches noires sur les ailes antérieures. Les antennes sont filiformes mesurant 5/6eme des ailes (Silva, 2008 ; Mallia, 2009). |  | |

3.5.6. Dégâts et symptômes du *Tuta absoluta* :

Toutes les parties aériennes de la plante (feuilles, tiges, et fruits) peuvent être infectés par *Tuta absoluta*, avec la présence de tous les stades du ravageur tout au long de la saison (Torres et *al.*, 2002). *Tuta absoluta* peut vivre à l'air libre, ce qui leur permet d'attaquer plusieurs fois une même feuille (provoquant plusieurs plaques minées), les attaques affectent aussi la capacité photosynthétique de la plante et diminuent le rendement (Desneux, et *al.*, 2010), Sur les feuilles, les larves s'alimentent du mésophyle en laissant l'épiderme intact, provoquant des mines qui vont rapidement se nécroser (Figure 3, A).

Des orifices de pénétration des larves dans les tissus sont bien marqués sur les fruits, la mineuse forme des galeries à l'intérieur des fruits qui sont rapidement infectés par des pathogènes secondaires les rendant impropres à la consommation (Figure 4, B).



Figure 3: Dégâts de *Tuta absoluta* sur les feuilles de tomate (Moussa, 2010).



Figure 4: Dégâts de la mineuse sur les fruits de la tomate (Moussa, 2010).

4. Méthodes de lutte contre *Tuta absoluta* :

Plusieurs méthodes sont appliquées pour lutter contre ce ravageur afin de réduire son impact sur les productions de tomate. Un aperçu sur ces techniques permet de constater qu'il n'y a pas de méthode miracle (Pereira, 2008 ; Silva, 2008). Les différentes approches sont souvent complémentaires.

4.1. Les méthodes prophylactiques :

En Algérie, l'Institut National de la protection des végétaux (INPV) a adressé aux agricultures en 2008, une liste de précaution à prendre :

- Utilisation des plants indemnes, éliminer systématiquement les plants atteints.
- Elimination des organes atteints en les mettant dans des sacs noirs et en les exposants au soleil.
- Entretien cultural par désherbage, à l'intérieur et aux alentours des serres cultivées, pour éliminer les refuges naturels recherchés par les insectes ravageurs.
- Installation d'un filet Insect-proof, c'est la méthode la plus sûre, elle permet d'empêcher toute infiltration d'insectes dangereux nocifs aux cultures.



Figure 5 : Les filets d'insect-proof.

4.2. Lutte biotechnologique :

C'est la mise en place de piégeages massifs, par l'utilisation des pièges à phéromone sexuelles. L'objectif est de capturer le maximum de papillons mâles de la mineuse et de les éliminer du circuit de multiplication et de reproduction. Cette technique a donné des résultats significatifs au niveau national et a permis de réduire considérablement les infestations causées par ce ravageur (Snoussi, 2010).



Figure 6 : Les pièges à phéromones.

4.3. Lutte chimique :

La lutte chimique contre *Tuta absoluta* représente un risque de développement d'une résistance ; il serait facile de générer une population résistante à partir de quelques individus résistants. En plus les insecticides efficaces sont peu nombreux ce qui amplifie la fréquence de leur utilisation et donc, l'augmentation de la pression de sélection et le risque d'apparition de la résistance. C'est ainsi que les populations de *T. absoluta* résistantes à divers insecticides se sont développées dans les autres régions du monde. Pour prévenir l'apparition de la résistance à la mineuse, il est nécessaire d'utiliser des insecticides disponibles d'une manière raisonnable. En plus, il est nécessaire d'intégrer à l'usage des insecticides toutes les méthodes de lutte disponibles tout en les combinant en une stratégie de lutte intégrée (Guenauoui, 2008).

4.4. Lutte biologique :

Cette méthode consiste à utiliser différents organismes vivants, appelés auxiliaires, ou de leurs produits, pour prévenir ou réduire les dégâts causés par les bio-agresseurs. Il s'agit d'utiliser la biodiversité et les ennemis naturels des espèces nuisibles (Femandes, 2005).

Certaines espèces de *Trichogramma* peuvent être de bons auxiliaires de lutte biologique contre la mineuse de la tomate, à condition d'appuyer leur action par d'autres mesures de lutte (Wang et al., 1998).

Selon Torres et al. (2002), des lâchers d'un autre prédateur naturel *Podisus nigrispinus* auraient des résultats positifs sur la maîtrise de *T. absoluta*.

En Espagne et en France : Pour faire face à l'attaque de *T. absoluta*, ils ont déployé des prédateurs de la mineuse de la tomate comme *Machrolophus*, une punaise qui se nourrit abondamment des œufs du papillon. La punaise fait a donné de bon résultats mais son temps d'installation est assez long (trois mois).

Les plantes peuvent aussi interagir avec divers micro-organismes bénéfiques, ces interactions peuvent améliorer la croissance des plantes et aident la plante à résister à des conditions de stress biotique et abiotique. Généralement ces microorganisme appelée **PGPB** (Plant Growth Promoting Bacteria) ainsi que divers champignons, nommés **PGPF** (Plant Growth-Promoting Fungi) (Lugtenberg et Kamilova 2009) et des champignons entomopathogènes.

4.4.1. PGPB ou bactéries bénéfiques :

Les bactéries bénéfiques sont utilisées pour protéger la plante contre les infections par les agents pathogènes (Schroth et Hancock, 1981 ; Van Loon et Bakker, 2005). Certaines de ces bactéries peuvent de plus stimuler directement la croissance de leur hôte végétale et sont d'un grand intérêt pour l'agriculture (Glick, 1995 ; Welbaum et *al.*, 2004). Ces microorganismes bénéfiques ou PGPB pour (Plant Growth-Promoting Bactéria) (Bashan et de-Bashan, 2005) provient de différentes niches écologiques telles que la rhizosphère. Elles sont de ce fait des rhizobactéries et ont ainsi été appelées PGPR pour (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria). Les PGPR peuvent présenter des activités antagonistes, induire une résistance systémique chez la plante, produire des composés stimulant la croissance des plantes, accélérer l'émergence des graines, induire une floraison précoce, augmenter la récolte de leur hôte végétale, voire même conférer au sol des propriétés minimisant les dégâts sur les plantes (Vessey, 2003 ; Welbaum et *al.*, 2004).

4.4.2. PGPF ou champignons bénéfique :

Les champignons rhizosphérique bénéfique appelés PGPF (Plant Growth Promoting Fungi) (Bent, 2006) sont également utilisés pour le bio contrôle des maladies des plantes grâce à leur capacité de stimuler les défenses des plantes, et présenter une activité antagoniste vis-à-vis des agents phytopathogènes (Whipps, 2001).

Les PGPF peuvent être isolés à partir de plante ligneux (Arnolt et *al.*, 2003) comme ils peuvent être présents chez des plantes herbacées (Sinclair et Cerkauskas, 1996 ; Saikkonen et *al.*, 1998). Et sont même quelque fois à l'origine de symbiose remarquables comme le cas des mycorhizes (Selosse et *al.*, 2004).

Divers mécanisme d'action sont impliqués dans la protection et la stimulation de croissance de la plante lors de l'association bénéfique entre une plante et un PGPF. Ces microorganismes peuvent agir également par une interaction directe avec l'agent pathogène, ce qui protège la plante indirectement. Ceci peut se réaliser par le biais d'un mycoparasitisme et / ou d'un phénomène de compétition pour l'espace et les nutriments (Whipps, 2001 ; Mauchlin et *al.*, 2002 ; Howell, 2003).

4.43. Champignons entomopathogènes :

Le règne des Fungi contient un large (nombre) de taxons avec environ 1,5 millions d'espèces, dont environ 110.000 espèces ont été identifiées et environ 700 espèces de 90 genres ont été décrites comme des agents pathogènes d'insectes et agents pathogènes des plantes (Roberts et Humber, 1981). Les espèces fongiques qui infectent les acariens et les insectes sont connues comme entomopathogènes. Les champignons entomopathogènes démontrent un potentiel de contrôle considérable spécialement lorsqu'ils sont incorporés à des programmes de lutte intégrée (Lacey et Goettel 1995 ; Goettel et *al.*, 2005). Parmi ces entomopathogènes on a les champignons endophytes.

La définition la plus utilisée pour décrire les endophytes est celle de Petrini (1991) qui définit les endophytes comme étant tous les microorganismes vivant dans les organes végétaux interne à un certain moment de leurs vie et peuvent coloniser les tissus végétaux internes sans causer de dommage apparents chez l'hôte (Hyde et Soyong, 2008).

Ces endophytes peuvent croître de façon intra et/ou intercellulaires (Pimentel et *al.*, 2011) dans les tissus internes des plantes sous la couche des cellules épidermiques (Moricca et Ragazzi, 2008), sans causer aucun symptôme apparent chez l'hôte (Vega et *al.*, 2008). Ils sont présents et ont été isolés de toutes les plantes déjà étudiées (Hyde et Soyong, 2008), leurs façons de croître dans les tissus de plantes a induit que leurs relations avec l'hôte était de l'ordre du mutualisme et de la symbiose mais leur biodiversité suggère qu'ils peuvent être également des saprophytes ou des pathogènes (Strobel et *al.*, 2004).

Dans les dernières décennies, les recherches se sont intéressées aux endophytes qu'on considérés maintenant comme des sources différents de composés d'intérêt médical, pharmaceutique, et agronomique tels les composés antimicrobiens, antioxydants, anticancéreux, insecticides... (Maheshwari, 2006).

L'évidence de l'association des microorganismes avec les plantes est confirmée par leur présence dans les tissus fossilisés des tiges et feuilles. En effet, les associations endophytes-plante hôte ont pu évoluer depuis que les plantes sont apparues sur terre (Andrzej, 2002 in Zhang et *al.*, 2006 ; Strobel, 2003). L'ubiquité des mycoendophytes chez les plantes et au sein de leur tissus démontrent que les champignons ont été associés avec les plantes depuis la première colonisation de la terre (Heckman et *al.*, 2001 ; Berbee, 2001) et que les plantes semblent en partager avec eux une longue et intime histoire.

Les endophytes possèdent deux modes de reproduction :

- a- **Mode de reproduction à croissance végétative des hyphes** qui est complètement interne (Selosse et Schardl, 2007); ainsi les hyphes du champignon sont transmis de la plante infectée vers la descendance via les graines (Saikkonen et *al.*, 2004). Ceci est communément appelé **transmission verticale** (Saikkonen et *al.*, 2004). C'est le principal mode de transmission des champignons endophytes (Saikkonen et *al.*, 2010).

- b- **Mode de reproduction par les spores** : Selon Clay, 1986, ce groupe de champignons se transmet **horizontalement** (Saikkonen et *al.*, 2004a), c'est-à-dire le champignon peut être transmis soit par spores **sexuées ou asexuées** (Saikkonen et *al.*, 2004b) pour infecter d'autres plantes (Arnold et *al.*, 2003; Gallery et *al.*, 2007). En général, la transmission horizontale des endophytes est associée aux tissus photosynthétiques de la plante (feuille) (Saikkonen et *al.*, 1998 in Higgins et *al.*, 2007).

Les endophytes possèdent différents modes de vie, donnant différentes interactions qui sont variables d'un endophyte à un autre et d'un hôte à un autre (Zabalgoeazcoa, 2008). La nature de l'interaction entre hôte et endophyte change aussi selon la façon de transmission de ce dernier, elle sera une interaction mutualiste si la transmission est verticale par croissance dans les graines et sera plus **hostile** si le champignon est transmis horizontalement par les spores (Saikkonen et *al.*, 1998), à cause de l'arrêt de production de semences de l'hôte provoqué par l'endophyte antagoniste (Schardl et *al.*, 2004).

Les champignons endophytes reçoivent la nutrition, la protection, et la possibilité de se propager grâce à leurs hôtes (Clay et Schardl, 2002); et en retour la plante hôte bénéficie aussi de certains avantages procurés par l'endophyte. Les endophytes synthétisent des agents bioactifs pouvant être utilisés par les plantes quant à la défense contre les agents pathogènes. Plusieurs études ont prouvées que les endophytes jouent un rôle primordial dans la protection de la plante hôte contre les prédateurs et les agents pathogènes (Azevedo et *al.*, 2000). Les endophytes sont un groupe diversifié d'organismes formant des associations de manière presque omniprésente dans tout le règne végétal. Les champignons hyphomycètes, environ 500 espèces (Starnes et *al.* 1993) parmi lesquels, les genres *Beauveria*, *Clonostachys*, *Metarhizium*, *Tolypocladium*, *Verticillium* et *Paecilomyces* sont les plus utilisés en lutte biologique (Kamp et Bidochka, 2002). Chacun de ces genres est défini par ces caractéristiques

de conidiogénèse. La couleur des spores est une première indication sur l'identité du champignon.

4.4.3.1. *Beauveria bassiana*:

Le champignon *Beauveria bassiana* est un mycète filamenteux naturel initialement décrit par Jean Beauverie en 1911 sous le nom de *Beauveria* sp. Le genre a été établi par Veullemin (1912) et appartient à la classe des ascomycètes et à l'ordre des hyphomycètes (Subramanian, 1983) famille Cordycipitaceae. (Subramanian, 1983). Cette espèce fait partie du règne des *Mycota*, *Beauveria* d'origine tellurique entomopathogène facultative, que l'on trouve également sous forme de saprophyte et d'endophyte. Le champignon *B. bassiana* naturellement présent dans l'environnement ubiquitaire et pathogène pour de nombreux ordres d'insectes. *B. bassiana* se multiplie par reproduction asexuée et produit des spores de couleur blanchâtre à jaunâtre qui sont soutenues par de longs filaments en zigzag nommés hyphes transparents de diamètre variant entre 2 et 25 µm. Elles sont produites sur des épis courts donnant un aspect épineux aux cellules conidiogènes. (Weiser, 1972 ; Lipa, 1975).



Figure 7: *Beauveria bassiana* sous microscope (Barron, George 2013).

- **Distribution de *Beauveria bassiana* dans le monde :**

Beauveria autant dans les régions tropicales que tempérées, la distribution de *B. bassiana* est mondiale, sa présence ayant été rapportée au Canada, aux États-Unis, en Turquie, en Côte d'Ivoire, en Afrique de l'Ouest équatorial, en Afrique central, en Afrique du Sud, aux Bahamas, au Népal, dans l'est de la Sibérie, en Nouvelle Zélande et au Japon (Zimmermann 2007). Le type d'habitat de *B. bassiana* varie des sols alpins, aux tourbières, aux sols dominés par la savane, aux forêts, aux sols cultivés, aux dunes et aux sols désertiques. Il est également présent en eau courante (Zimmermann 2007). Son pouvoir entomopathogène a été relevé sur plus de 200 espèces d'insectes, dans neuf ordres différents, principalement chez les Lépidoptères et les Coléoptères (Feng et al. 1994).

- **Mode d'action :**

Généralement, les champignons endophytes (entomopathogènes) tuent ou réduisent la vigueur des hôtes qu'ils infectent. Ces ennemis naturels sont plus efficaces lorsque l'insecte ciblé est préalablement affaibli par un autre facteur comme un stress nutritif. Compte tenu de leur mode de transmission et de leurs besoins abiotique, ils sont généralement très efficaces lorsque la densité des populations d'insectes ciblés est très élevée. Les insectes susceptibles aux champignons meurent généralement dans un délai de 3 à 10 jours. Quand le champignon entre dans un stade hyphes colonise les organes internes puis sporule à la surface de l'insecte le cycle infectieux est généralement le même pour tous les hyphomycètes. Le processus de pénétration est l'étape la plus importante de la pathogénèse (Ferron et al. 1993).

Le champignon *B. bassiana* infecte ses hôtes principalement à travers la cuticule de l'insecte, selon sept étapes distinctes: **1)** l'adhésion des spores à la cuticule, **2)** la germination, **3)** la différenciation, **4)** la pénétration à travers la cuticule, **5)** la neutralisation de la réponse de l'hôte et des réactions de défense immunitaire, **6)** la prolifération à l'intérieur de l'hôte par la formation de blastospores ou de mycélium et **7)** la croissance saprophyte hors du cadavre de l'hôte et la production de nouvelles conidies (Inglis et al. 2001).

Le succès de l'infection dépend d'une variété de facteurs tels la nature et la physiologie de l'hôte, c'est-à-dire l'âge, le stade de développement de l'insecte au moment de l'infection, ses mécanismes spécifiques de défenses, sa nutrition ainsi que l'exposition aux lésions causées

par des agents non microbiens (i.e. prédateurs et parasites), chimiques ou mécaniques. (i.e. ses mécanismes de défense), la physiologie du champignon (i.e. sa capacité, par exemple, à produire des enzymes et des toxines) et l'environnement (Inglis et *al.* 2001).

- **Les métabolites produits par *Beauveria bassiana* :**

L'espèce *B. bassiana* produit des composés toxiques non enzymatiques tels que la beauvericine, des beauverolides et des bassianolides qui lui permettent de surmonter les mécanismes de défense de l'hôte (Inglis et *al.* 2001). Après la mort de l'insecte, *Beauveria bassiana* produit un antibiotique, pigmentée rouge l'oosporin, qui lui permet de surmonter la compétition des bactéries saprophytes dans le tube intestinal de l'insecte (Inglis et *al.*, 2001).

- **Importance de *B. bassiana* :**

Par son mode d'infestation (ingestion ou simple contact avec l'hôte), *B. bassiana* est un agent de lutte très intéressant (De kouassi, 2001). Ce champignon à l'avantage de ne pas faire partie des agents pathogènes dangereux pour l'homme et pour les animaux à sang chaud (Tong-kwee et *al.*, 1989; Laird et *al.*, 1990).

Plusieurs études ont démontré que le champignon *Beauveria bassiana* peut être utilisé contre différents insectes ravageurs appartenant à divers ordres, notamment **les coléoptères** (Todorova et *al.*, 1996; Todorova et *al.*, 2002a; Dowd et Vega, 2003; Cornia et Beatriz, 2004; Liu et Bauer, 2006; Liu Bauer, 2008a), **les homoptères** (Todorova et *al.*, 2002a; Feng et *al.*, 2004; Dara et *al.*, 2007; Liu et *al.*, 2008b), **les lépidoptères** (Todorova et *al.*, 2002a; Tabela et Pringle, 2003; EI-Sinary et Rizk, 2007; Nguyen et *al.*, 2007) et **les hémiptères** (Luz et *al.*, 1989; Liu et *al.*, 2003a; Kouassi et *al.*, 2002; Jarrod et Robert, 2005; McGuire et Leland, 2006; Sabbahi et *al.*, 2008a). Jusqu'à ce jour, les résultats obtenus concernant la réduction des populations de doryphore de la pomme de terre, *Leptinotarsa decemlineata*, montrent tout le potentiel de ce champignon comme une alternative aux pesticides chimiques pour les producteurs agricoles (Talaie et *al.*, 2006). Dernièrement, des études ont démontré que *Beauveria bassiana* est un agent de lutte contre les principaux ravageurs des fraiseraies au Québec, dont la punaise terne (Sabbahi et *al.*, 2008a,b). D'autres travaux de recherche montrent l'efficacité de *Beauveria bassiana* contre le charançon rouge du palmier dattier (Besse et Panchaud., 2014).

4.4.3.2. *Clonostachys* spp. :

Clonostachys spp. est un champignon commun du sol reconnu comme un saprophyte avec une haute capacité de compétition. Il est rencontré régulièrement sur une gamme très large d'habitats et d'hôte (John et al, 1997).

Clonostachys spp. a été signalé fréquemment sur les racines des plantes, sur les animaux et insectes morts, et sur les nématodes (Schroers et al, 1999). D'après ces auteurs *Clonostachys* spp., appartient à la classe des Ascomycètes, l'ordre des Hypocreales et la famille Bionectriaceae (Figure 8).

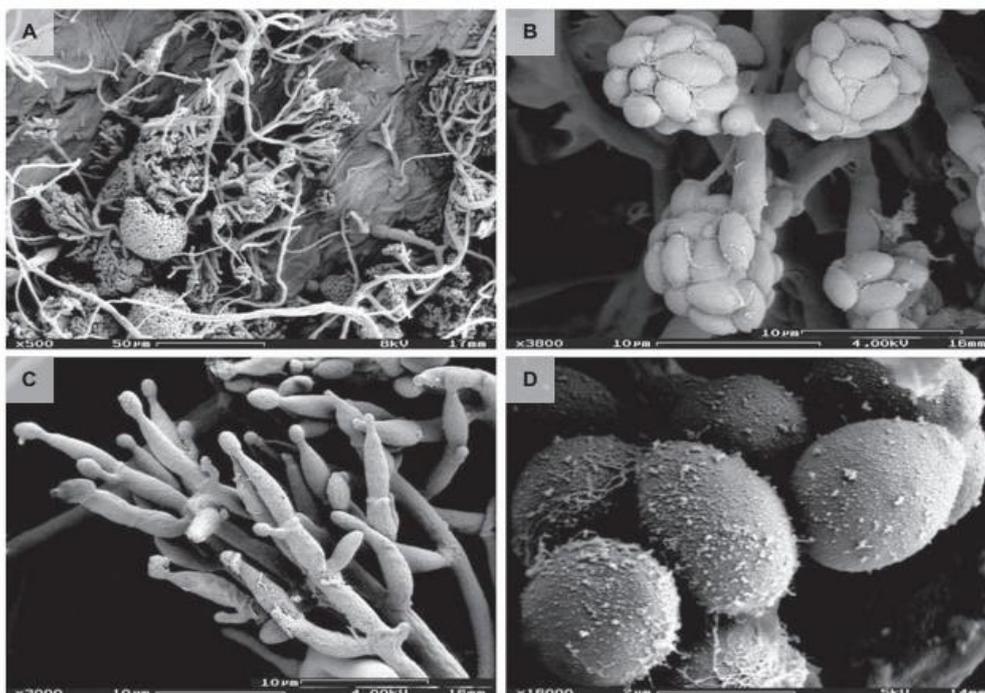


Figure 8 : Observation ultra structurale de *Clonostachys* spp.

A et B– série des conidies. C– phialides. D – conidies.

Les espèces de *Clonostachys* ont été également signalées comme des agents impliquant le phénomène de mycoparasitisme contre les champignons pathogènes, il y a des preuves d'inhibition de pathogène avec contact direct des hyphes sans pénétration, qui peut être considéré comme un effet de mycoparasitisme indirect.

- **Mode d'action de *Clonostachys* spp. :**

Le champignon nématophage *Clonostachys* spp, également est un champignon mycoparasite, peut produire un grand nombre de spores adhésives qui adhèrent à la transmission des nématodes et infecte ou tue l'hôte (Chen, 1997).

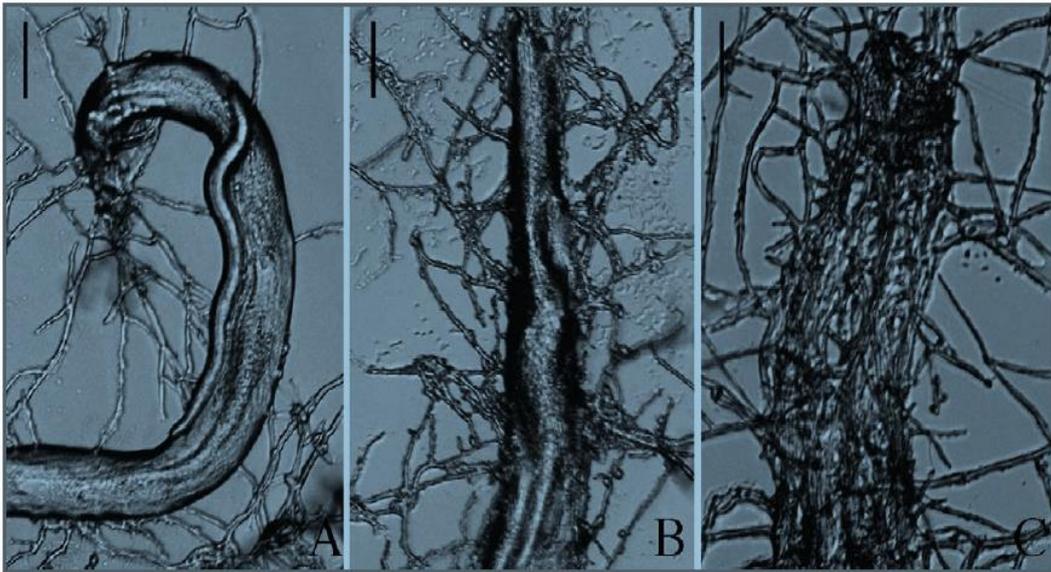


Figure 9 : Infection de nématode par le champignon *Clonostachys* spp.

A : Mycéliums et nématode. B : pénétration de mycélium dans la cuticule de nématode.

C : destruction de nématode.

- **Les métabolites produits par *Clonostachys* spp:**

L'espèce *Clonostachys* spp. produit des composés toxiques enzymatiques tels que les protéases extracellulaires qui peuvent être une enzyme clé dans le processus d'infection par les nématodes (Segers et al., 1994; Tunlid et al., 1994; Bonants et al., 1995, Åhman et al., 2002; Zhao et al., 2004).

- **Importance de *Clonostachys* spp :**

De nombreux isolats de *Clonostachys* spp. sont des antagonistes très efficaces contre plusieurs champignons pathogènes des plantes, comme par exemple *Botrytis cinerea* qui cause des symptômes des taches spectrales, c'est à dire des auréoles pâles avec un petit point brun noir en leur centre de fruit (Choux et Foury 1994) sur la fraise, la framboise, et la tomate (Sutton et al, 1997).

Des études réalisées sur *Botrytis cineria* montre que *Clonostachys roseum* à une pénétration directe par les pointes des hyphes sans formation d'appressorium et qu'à chaque pénétration des sites nécessitent que les hyphes de *clonostachys roseum* produisent une force mécanique pour surmonter la barrière de la paroi cellulaire au cours de processus d'infection

(Li et *al.*, 2004). Récemment, *Clonostachys* également été rapporté comme un agent potentiel pour la lutte biologique contre les nématodes (Zhao et *al.*, 2005; Li et *al.*, 2006).

4.5. Lutte intégrée :

L'efficacité des stratégies de lutte pour éradiquer *Tuta absoluta* est en cours de développement dans le monde. Afin de réduire le nombre de traitements insecticides par saison au strict nécessaire, il est recommandé d'intégrer diverses méthodes de lutte qui sont :

Piégeage massif, avant la plantation, pour capturer le maximum de male de *T. absoluta*. ces pièges seront disposés à raison de 30 pièges par hectare, de façon régulière dans les parcelles en renforçant les bordures et les passages centraux.

-Traitement avec les pesticides sélectifs si la présence du ravageur est observée.

Recommandation de réalisation des traitements en combinant les biopesticides avec des insecticides chimique de synthèse pour réduire les méfaits.

-Elimination des résidus de la culture immédiatement après la récolte.

-Associer l'utilisation d'entomophages en fonction de leur disponibilité et de leur efficacité

Matériel et Méthodes :

Le présent travail mis en évidence une stratégie de lutte biologique basée sur l'utilisation de deux champignons endophytes (*Beauveria bassiana*, et *Clonostachys* spp.) contre *Tuta absoluta* l'agent causale de la mineuse de la tomate.

I- Matériel :**I.1- Isolats fongiques :**

Les deux champignons utilisés dans la présente étude appartiennent à la collection du laboratoire de phytopathologie (Département de Biotechnologie Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université de Blida 1). Les champignons endophytes ont été isolés à partir des racines de palmier dattier d'Alicante Espagne (Tableau 4) (Figure 10).

Tableau 4 : Origine des champignons endophytes utilisés.

| Souches fongiques | Nom scientifique | Plante d'origine | Source |
|-------------------|---------------------------|------------------|--|
| Sn182 | <i>Beauveria bassiana</i> | Palmier dattier | Collection du laboratoire de phytopathologie |
| G133 | <i>Clonostachys</i> spp. | | |



Figure 10 : Champignons endophytes utilisés. A : *Beauveria bassiana*, B : *Clonostachys* spp.

I.2- Matériel animal :

Les larves ont été collectées à partir des feuilles de tomate minées ramassés à partir de plusieurs variétés de tomate cultivées sous serre au niveau de l'Institut Technique des Cultures Maraichères et Industriels (ITCMI) (Staouali). Pour leurs utilisations ultérieures, les larves ont été déposées dans des boîtes de Pétri en verre stérile contenant des feuilles de tomate (Figure 11).



Figure 11: Les larves de *Tuta absoluta* collectées à partir des feuilles de tomate infectées.

I.3- Matériel végétal :

Dans le but d'évaluer l'efficacité des deux champignons endophytes (*Beauveria bassiana* et *Clonostachys* spp.), nous avons utilisé la variété de tomate Ebia F1 (variété hybride). Les Semences de tomate utilisées sont fournies par une pépinière privée située à Staouali.

I.4- Le sol :

Le substrat utilisé dans cette expérimentation est constitué d'un mélange de 2/3 de sable et 1/3 de tourbe stérilisé dans le but de diminuer au maximum la microflore tellurique. La stérilisation du substrat a été réalisée selon Rapilly (1968), qui consiste à stériliser le sol à deux reprises ; avec un intervalle de 24 heures ; dans le four Pasteur pendant une heure à 250°C.

II- Méthodes :**II.1- Etude de l'antagonisme *in vitro* :****II.1.1- Purification des souches fongiques (*Beauveria bassiana* et *Clonostachys* spp) :**

La purification des souches a été effectuée par prélèvement d'un fragment d'un hyphes terminal et le réensemencer au centre d'un milieu de culture gélosé à base de pomme de terre (PDA, Potato Dextrose Agar) (Johnston et Both ,1982). Après l'ensemencement, les boîtes ont été incubées à 25°C pendant 6 jours.

II.1.2- Désinfection des semences :

Les semences de tomate ont été désinfectées dans une solution constituée d'eau distillée stérile et d'environ 2 à 3 gouttes d'eau de javel à 12° pendant 20 min, la désinfection est suivie de

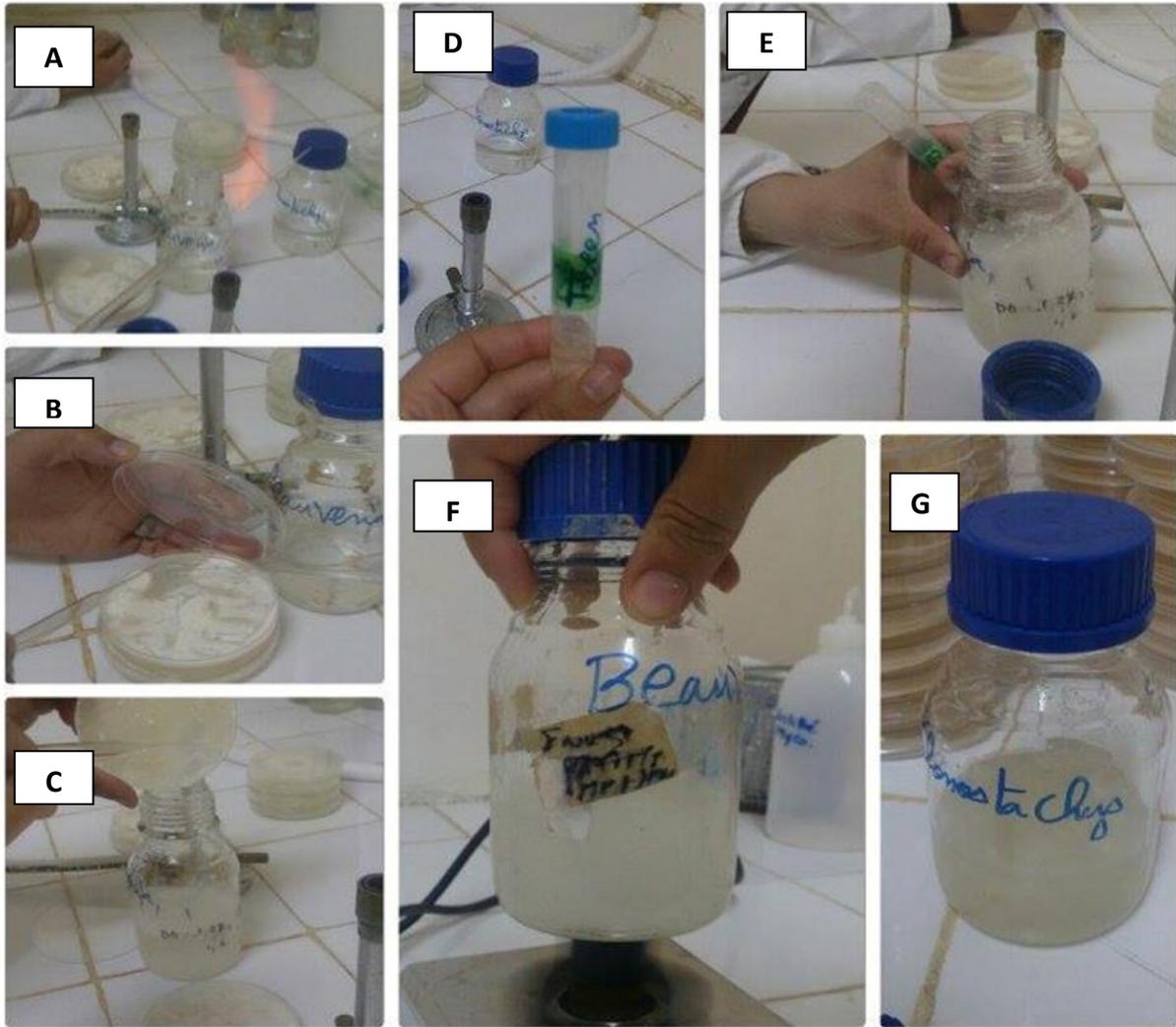
3 rinçages successifs à l'eau distillée stérile. Les graines sont séchées sur papier filtre stérile (Macia-Vicente, 2008).

II.1.3- Préparation de suspensions fongiques :

Lors de cette expérience les solutions-mères des suspensions fongiques destinées à l'infection des larves de *Tuta absoluta* ont été obtenues selon la méthode décrite par (Badaoui et al., 2011) en raclant avec un étaloire la surface des cultures de deux à quatre boîtes de Pétri (Figure 12. A et B), puis le prélèvement a été versé dans 100 ml d'eau distillée stérile contenant deux gouttes de Tween 20 (Figure 12.C, D, et E). Le mélange est ensuite soumis pendant une dizaine de minutes à l'action d'un agitateur magnétique afin de détacher les conidiospores de leur substrat (Figure 12.F et G). La concentration de chaque solution est déterminée par dénombrement des spores à l'aide de la cellule de Malassez,. Les différentes doses utilisées sont obtenues par des dilutions de 1/10 successives de la solution mère (D1= 4×10^7 spores/ml- D2= 4×10^6 spores/ml, D3= 4×10^5 spores/ml) (Tableau 5).

Tableau 5 : Concentration des suspensions de deux champignons utilisés.

| Champignons utilisés | Volume des suspensions | Concentrations des suspensions utilisées (nombre de spores/ ml). | |
|---------------------------|------------------------|--|---------------------|
| <i>Beauveria bassiana</i> | 100 spores / ml | D1 | D1= 4×10^7 |
| | | D2 | D2= 4×10^6 |
| <i>Clonostachys</i> spp. | | D3 | D3= 4×10^5 |



II.1.4- Inoculation des larves de *Tuta absoluta* par les champignons testés:

La méthode adoptée est celle de <<leaf-dipbioassay>> ; décrite par Caill et *al.* (1996).

Dix larves de *Tuta absoluta* sont déposées délicatement dans chaque boîte de Pétri contenant du papier filtre utilisé pour absorber l'excès de la suspension (Figure 14. A, et B). Pour alimenter les larves, nous avons entreposé dans chaque boîte des jeunes feuilles de tomate.

Les différentes doses des traitements fongiques de *Beauveria bassiana* et de *Clonostachys* spp ont été pulvérisées sur les larves de *Tuta absoluta* (Figure 14. C et D). Le même nombre de larves a été placé dans une boîte témoin pulvérisée par l'eau distillée stérile. Trois répétitions ont été réalisées pour chaque dose ainsi que pour le témoin (Figure 15).

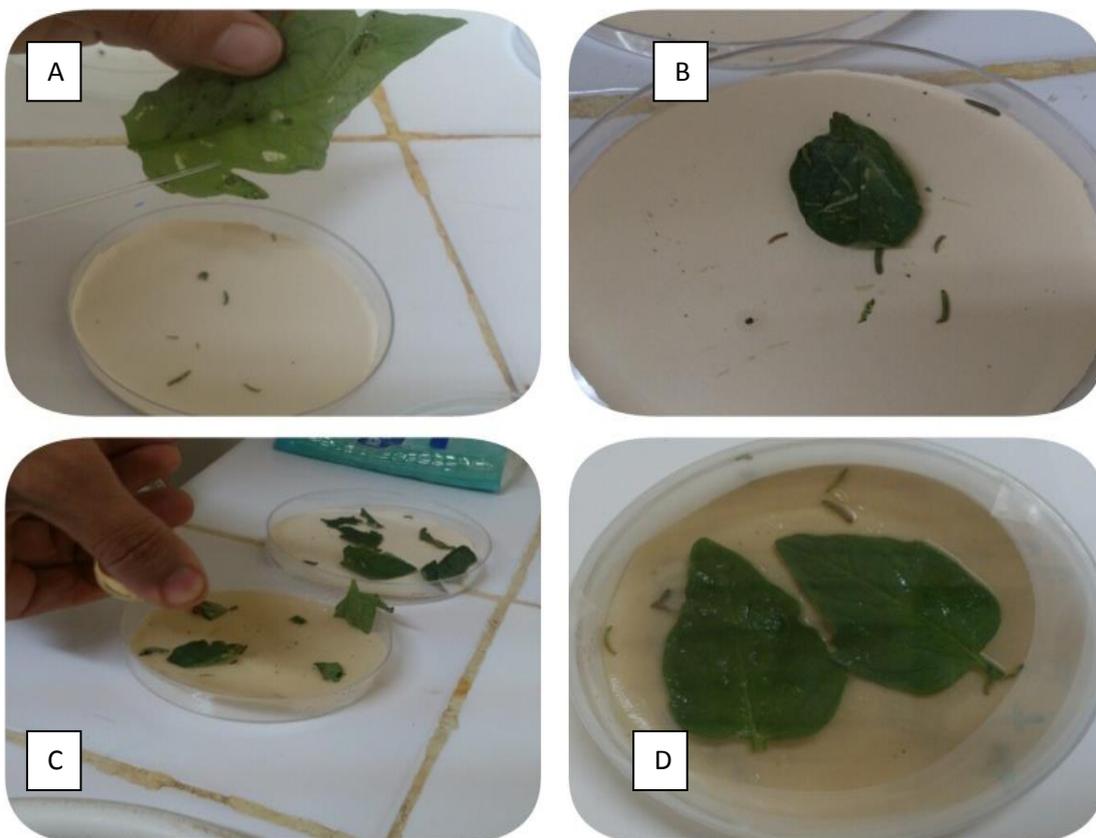


Figure 14 : Inoculation des larves de *Tuta absoluta*.

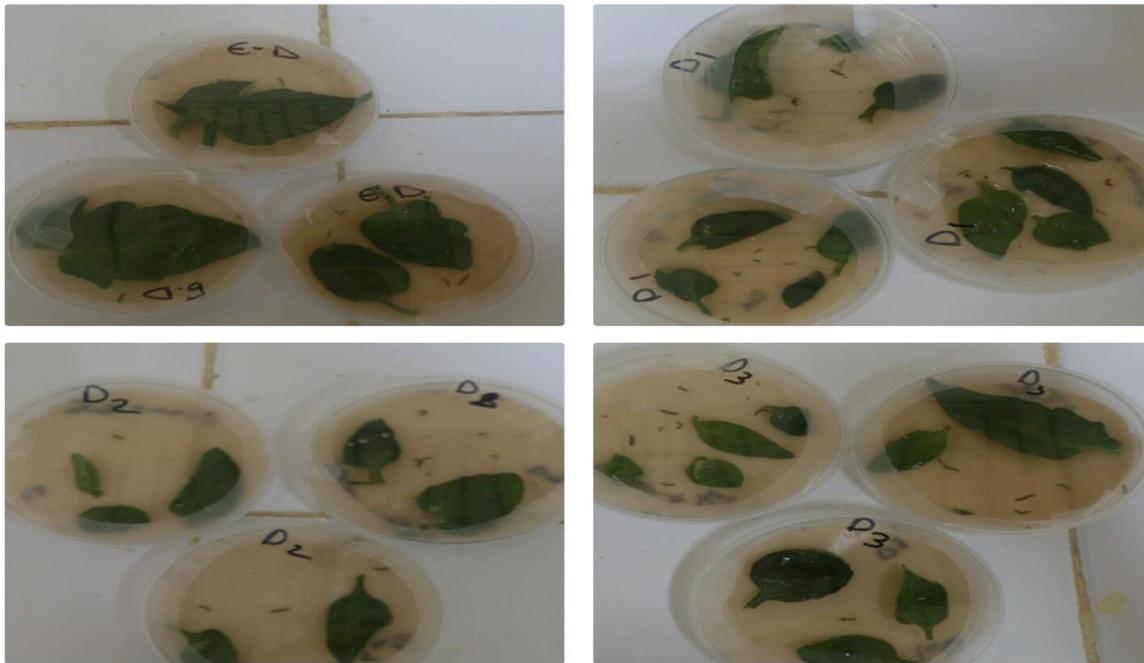


Figure 15: Boîtes de Pétri contenant des larves de *Tuta absoluta* inoculées par des suspensions fongiques de *Beauveria bassiana* et *Clonostachys* spp.

II.2- Etude de l'effet d'antagonisme *in situ* :

II.2.1- Mise en place de la culture sous serre :

Les semences germées sont transplantées dans des pots contenant le substrat stérile à raison de 400 g par pots. Ces pots sont ensuite maintenus sous serre avec une température ambiante de 25 à 30 °C. Les pots sont disposés sur une paillasse métallique distante de sol par 1 m pour éviter tout type de contamination issue du sol, cette paillasse est menée d'une mini serre pour mieux protéger les plants.

II.2.2-Dispositif expérimental de l'essai sous serre :

Le dispositif expérimental de l'essai sous serre a été fait selon un bloc aléatoire complet. Le dispositif est constitué de sept traitements dont le nombre de répétitions pour chaque traitement est de 20 (140 plantes au total) (Figure 16).

T1 : Témoin négatif (sans suspension fongique et sans *Tuta absoluta*).

T2 : Plants de tomate+ *Beauveria bassiana*.

T3 : Plants de tomate+ *Clonostachys* spp.

T4 : Plants de tomate+ *Tuta absoluta*+ pulvérisation avec l'eau distillée.

T5 : Plants de tomate+ *Tuta absoluta*+ pulvérisation avec l'insecticide (Pro Act).

T6 : Plants de tomate+ *Tuta absoluta*+ pulvérisation avec *Beauveria bassiana*.

T7 : Plants de tomate +*Tuta absoluta*+ pulvérisation avec *Clonostachy* spp.



Figure 16: Dispositif des plants de tomate avant l'infestation par les larves de *Tuata absoluta* et l'inoculation de suspensions fongiques.

II.2.3- Pulvérisation des suspensions fongiques :

Après la préparation des suspensions fongiques de *Beauveria bassiana* et de *Clonostachys* spp. à une concentration de 4×10^7 conidies on suivant les mêmes étapes de la réalisation des suspensions pour le test *in vitro*. Les plants de tomate ont été pulvérisés par l'eau distillé stérile et les suspensions de *Beauveria*, et de *Clonostachys* ainsi que l'insecticide **Pro Act** (2 goutte / litre) une semaine avant l'infestation par les larves de *Tuta absoluta* (Figure 17).



Figure 17 : Pulvérisation des plants par les suspensions fongiques de *Beauveria bassiana* et de *Clonostachys* spp.

II.2.4- Infestation des plants par les larves de *Tuta absoluta* et re-pulvérisation des suspensions fongiques :

Sur les jeunes feuilles de tomate de chaque plant quatre larves de différents stades larvaires (Figure 18) ont été déposées. Les plants qui contiennent les larves de la *Tuta absoluta* ont été recouverts par des sachets en plastique pour éviter la dissémination des larves (Figure 19).Après 24 heures de dépôt des larves, nous avons re-pulvérisés les plants avec les suspensions fongiques utilisés, l'eau distillée stérile ainsi que l'insecticide chimique (Figure19).



Figure18 : Infestation des plants de tomate par les larves de *Tuta absoluta*.



Figure 19 : re-pulvérisation des plants de tomate par les suspensions fongiques, l'eau distillée stérile, et l'insecticide.

III- Test de production *in vitro* de Protéase (enzyme indiquant la virulence chez *Clonostachys* spp) :

L'activité protéolytique a été déterminée en utilisant du lait écrémé agar (Sunish Kumar et *al.*, 2005) (Annexe A). On dépose un disque mycélien sur ce milieu; en raison de trois (3) répétitions par boîte et une boîte sans champignon sert comme témoin. Après 2 jours d'incubation à 28°C, une zone claire autour de la colonie indique une activité protéolytique positive (Smibert et Krieg 1994).

IV- Analyses statistiques :

Les résultats obtenus aux cours des deux essais (*in vitro* et *in situ*) sont analysés statistiquement avec le model G.L.M (General Linear Models) (2012) du logiciel SYSTAT pour le taux de mortalité des larves *in vitro* et le nombre des feuilles infectées par *Tuta absoluta* *in situ*.

Les essais d'antagonismes *in vitro* et *in situ* de l'utilisation de *Beauveria bassiana* et *Clonostachys* spp. contre les larves de *Tuta absoluta* ont montré un effet significatif quelque soit l'antagoniste testé .

I- Etude de l'antagonisme *in vitro* :

Dans cette étude une augmentation de la mortalité des larves de *T. absoluta* a été observée en fonction du temps et les concentrations des suspensions fongiques appliquées. Le taux de mortalité des larves infestées par les deux souches fongiques *Clonostachys* spp., et *Beauveria bassiana* à différentes doses : D1=4 x10⁷ spores / ml, D2 = 4 x10⁶ spores / ml, D3= 4 x10⁵ spores / ml, témoin négatif D0= 0 spores / ml ; a été évalué après 24 heures de pulvérisation (Figure 22).

Le taux de mortalité des larves de *T. absoluta* été plus important avec la pulvérisation de la suspension mère de *Clonostachys* spp. (D1), et atteint les 90%, alors qu'il été moins important pour les suspensions à faibles concentrations où il atteint les 35% pour la solution D2 et 30% pour la solution D3. Par contre, le taux de mortalité des larves été plus élevé avec l'inoculation de la suspension mère de *Beauveria bassiana* (D1), et atteint 80 %, alors qu'il a été moins élevé avec la pulvérisation des suspensions diluées D2 et D3 où il a atteint les 40% (Figure 20,21 et 22). Pour le témoin (Boites pulvérisées seulement avec l'eau distillée stérile), nous avons enregistré une faible mortalité larvaire qui été de 10%.

Après 48 heures, pour les larves pulvérisées avec la solution mère de *Clonostachys* spp. , nous n'avons remarqué aucun changement dans le taux de mortalité des larves comparé au premier jour où nous avons enregistré 90%, tandisque pour les solutions à faible concentration nous avons remarqué une augmentation dans le taux de mortalité où on a enregistré 70% pour la solution D2 et 60% pour la solution D3. Pour la solution mère de *Beauveria bassiana*, le taux de mortalité enregistré atteint son maximum pour la forte concentration D1 où nous avons enregistré 100% de mortalité. Dans le cas des solutions à faible concentration , le taux de mortalité a augmenté, 65% de mortalité pour la solution D2 et 50% de mortalité pour la solution D3. Une faible augmentation dans le taux de mortalité a été constatée pour les larves pulvérisées avec l'eau distillée stérile (Figure 23).

Après 72 heures qui ont suivi la pulvérisation, avec ou de la solution D1 de *Clonostachys* spp., a complètement tué les larves (100% de mortalité). Le taux de mortalité

des larves a augmenté avec la concentration D2 de *Clonostachys* spp., atteignant les de 80% et un taux de 70% avec la concentration D3. Un taux de mortalité de 100% a été enregistré avec a solution D2 de *beauveria bassiana* par contre un taux de 55% seulement a été atteint pour la concentration D3. Pour le témoin nous avons remarqué une légère augmentation (20 %) dans le taux de mortalité larvaire après 3 jours de la pulvérisation (Figure 24).

L'effet antagoniste des deux champignons endophytes *Clonostachys* spp. et *beauveria bassiana* par rapports à l'eau distillée stérile été hautement significatif ($P = 0.000$) sur la variabilité du taux de mortalité des larves de *Tuta absoluta* après trois jours qui ont suivi la pulvérisation (Annex B).

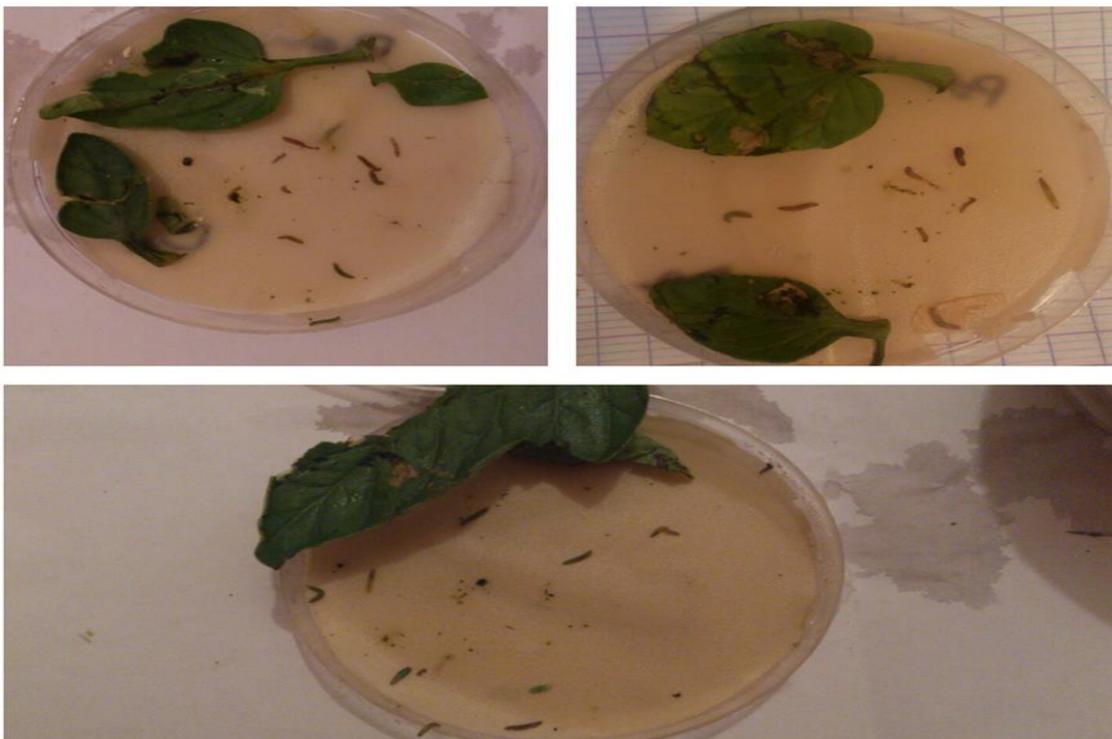


Figure 20 : Larves tuées de *Tuta absoluta* 24 heures après l'application des suspensions de *Beauveria bassina*.



Figure 21 : Larves de *Tuta absoluta* pulvériser par les suspensions de *Clonostachys* spp.

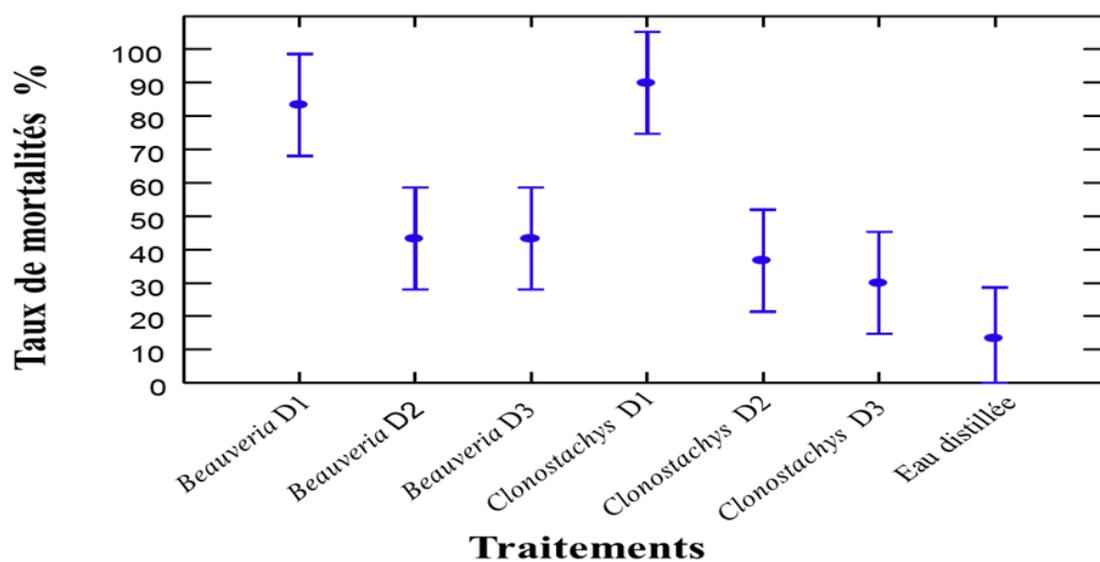


Figure 22 : Effet comparative des taux de mortalité des larves de *Tuta absoluta* 24 heures après l'application des suspensions de *B. bassiana* et *Clonostachys* spp.

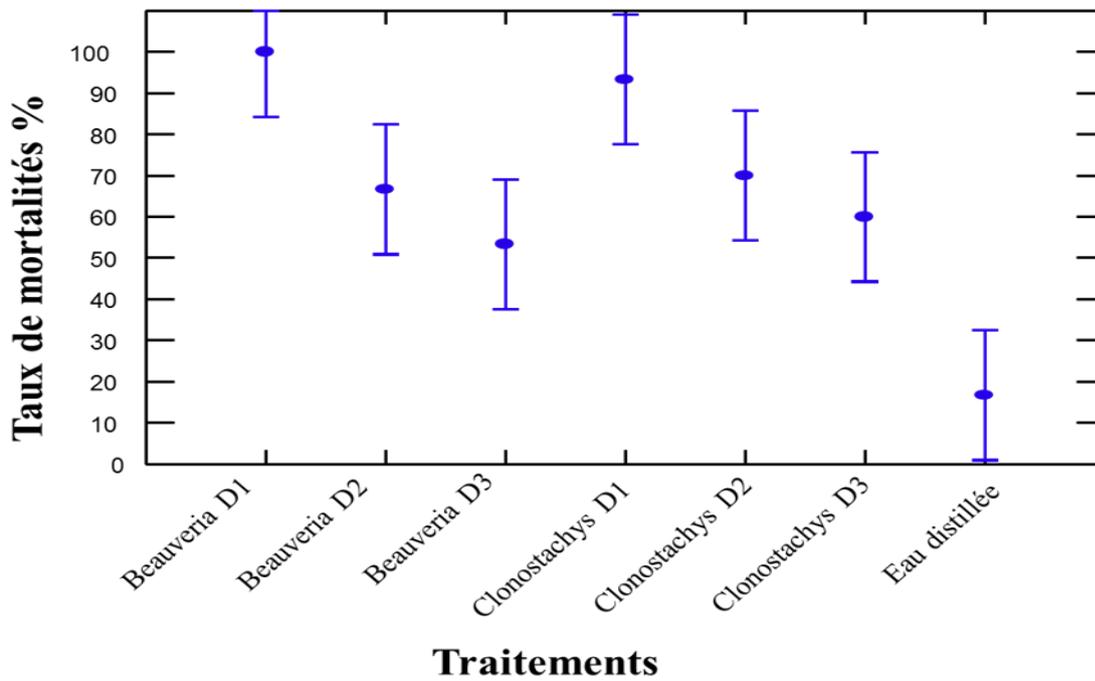


Figure 23 : Effet comparative des taux de mortalité des larves de *Tuta absoluta* 48 heures après l’application des suspensions de *B. bassiana* et *Clonostachys* spp.

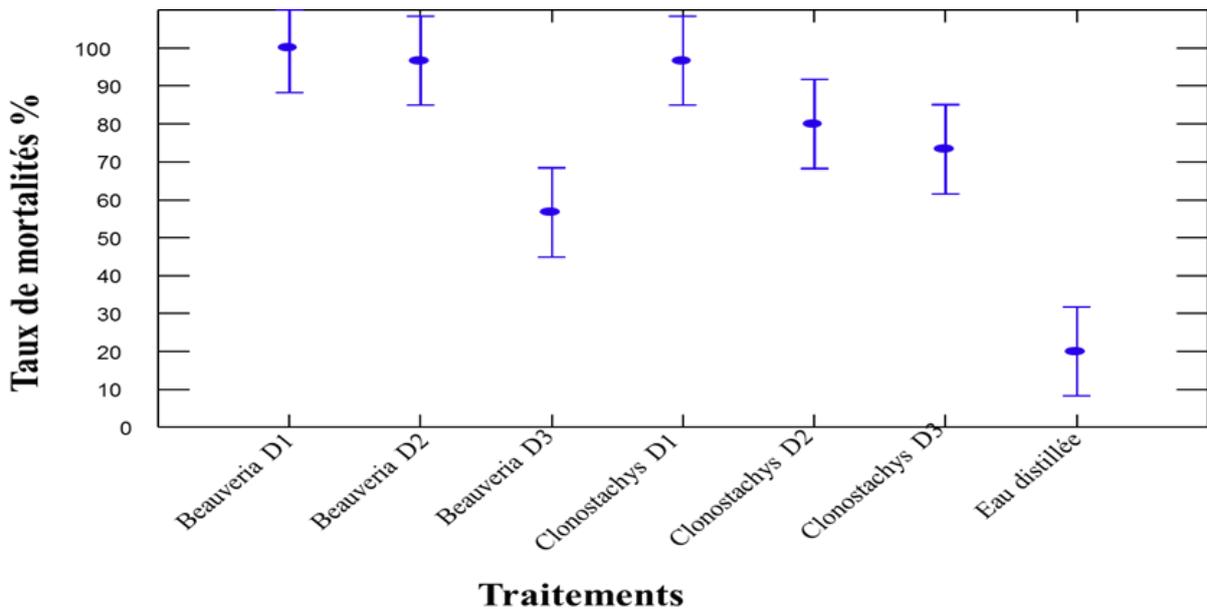


Figure 24 : Effet comparative des taux de mortalité des larves de *Tuta absoluta* 72 heures après l’application des suspensions de *B. bassiana* et *Clonostachys* spp.

Une semaine après la pulvérisation, les larves non tuées se transforment en nymphe dans les boites de Pétri pulvérisées avec la suspension fongique de *B. bassiana* avec la concentrations D2 et D3 (Figure 25). Ces nymphes évoluent par la suite en adultes (papillons) (Figure 26). Après 15 jours, une couche blanche sur les larves a été observée, les larves ont été recouvertes par les spores de champignon donnant ainsi l'aspect d'une momie (Figure 27).



Figure 25: Transformation des larves de *Tuta absoluta* en Chrysalide après une semaine d'infestation.



Figure 26 : Transformation des larves de *Tuta absoluta* en papillons après une semaine d'infestation.



Figure 27 : Les larves de *Tuta absoluta* présentant l'aspect d'une momie (Muscardine blanche) après pulvérisation de la suspension fongique de *Beauveria bassiana*.

D'après les résultats obtenus, on peut constater que le champignon *Clonostachys* spp. montre une efficacité relativement progressive en fonction du temps surtout pour D2 et D3 alors que pour la forte concentration D1 une mortalité totale des larves été observée après 3 jours d'infestation (Figure 21).

Les larves ont été recouvertes par le mycélium et les spores du *Clonostachys* spp., après 20 jours d'inoculation ce qui a donné un aspect d'une momie (Muscardine blanche) (Figure 28). Les doses D2 et D3 ont une faible efficacité, les larves qui n'ont pas été tuées ont été évoluées en chrysalide (Figure 29) et adultes (Figure 30).



Figure 28 : Les larves de *Tuta absolutap* resenant l'aspect d'une momie (Muscardine blanche) après pulvérisation par la suspension de *Clonostachys* spp.



Figure 29 : Transformation des larves de *Tuta absoluta* en Chrysalide après une semaine d'application des suspensions de *Clonostachys* spp.



Figure 30 : Transformation des larves de *Tuta absoluta* en papillons après 10 jours d'application des suspensions de *Clonostachys* spp.

Les résultats obtenus indiquent que la concentration la plus élevée est D1 pour les deux champignons qui atteignent la cible et tue plus efficacement comparé aux suspensions à faible concentration (D2 et D3), ce qui signifie des taux de mortalités élevés.

I. Etude d'antagonisme *in situ* :

II.1. Infestation des larves par *Tuta absoluta* :

Nous avons remarqué après 24 heures de dépôt des larves du *Tuta absoluta* sur les feuilles de la tomate, l'apparition des symptômes au niveau des jeunes feuilles qui ont été pulvérisées une semaine avant avec les différentes suspensions de *Clonostachys* spp., *B.bassiana* et l'eau distillée stérile, mais pour les plantes traitées avec l'insecticide nous avons enregistré une faible apparition des symptômes (Figure 31, 32).



Figure 31 : Apparition des symptômes de la mineuse causés par *Tuta absoluta* après 24 heures de dépôt des larves sur les feuilles des plantules de tomate.

Après 24 heures qui ont suivi la deuxième pulvérisation des différentes préparations fongiques ou chimiques, nous avons remarqué une augmentation du nombre de feuilles infectées (minées) notamment pour l'eau distillée stérile et la suspension de *Clonostachys* spp ou la moyenne des feuilles infectées est supérieure à trois (Figure 33).

Nous avons remarqué après 48 heures de pulvérisation des suspensions fongiques ainsi que l'insecticide, que le nombre des feuilles infectées demeure constant contrairement à l'eau distillée stérile, ou le nombre a subi une augmentation progressive de la moyenne des feuilles infectées jusqu'à Cinque (Figure 34).

Après 72 heures qui suivent la deuxième pulvérisation nous avons remarqué que la moyenne des feuilles pulvérisées avec l'eau distillée stérile a atteint son maximum de huit et demi et le nombre des feuilles traitées avec la préparation de *B.bassiana* et l'insecticide chimique reste toujours constant. Pour la préparation fongique de *Clonostachys* spp. la moyenne des feuilles infectées augmente jusqu'à quatre et demi (Figure 35).

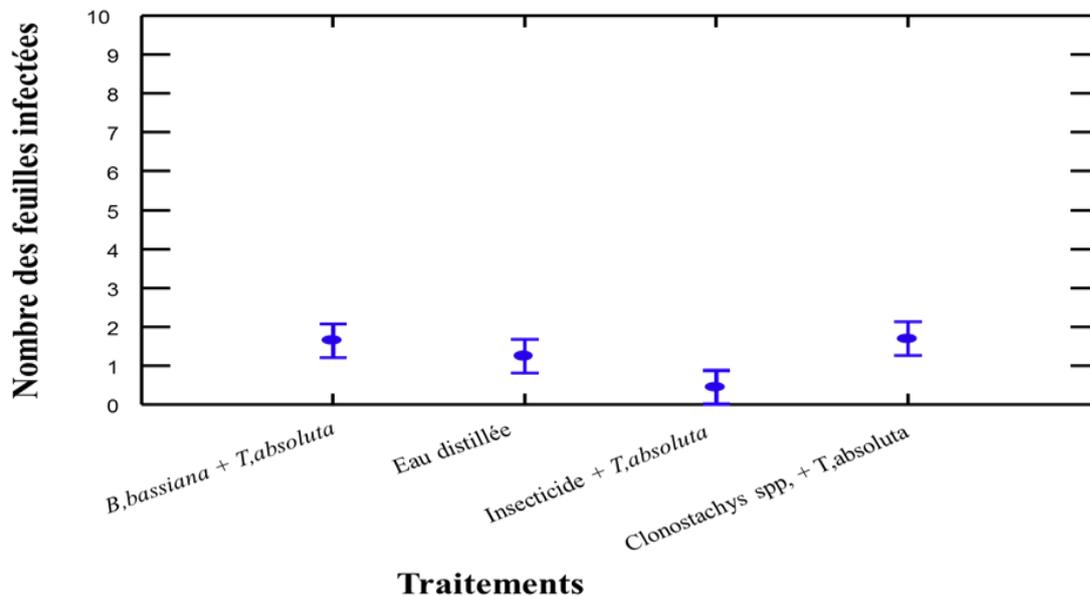


Figure 32 : Etude comparative de nombre de feuilles infectées 24 heures après le dépôt des larves du *Tuta absoluta* sur les plants de tomate.

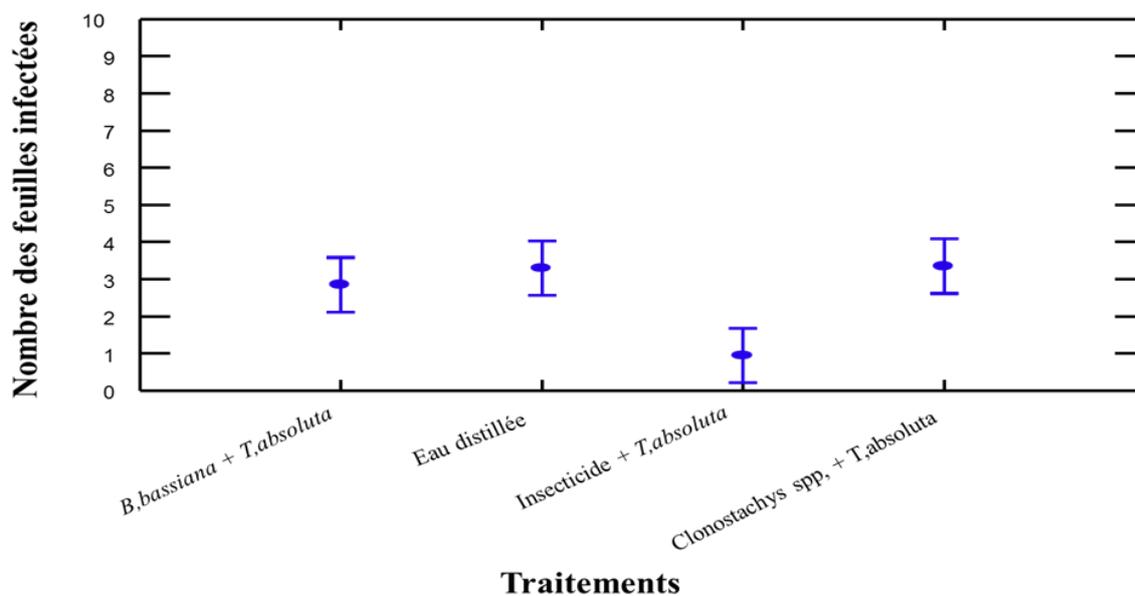


Figure 33 : Etude comparative de nombre de feuilles infectés 24 heures après la deuxième pulvérisation des différents traitements.

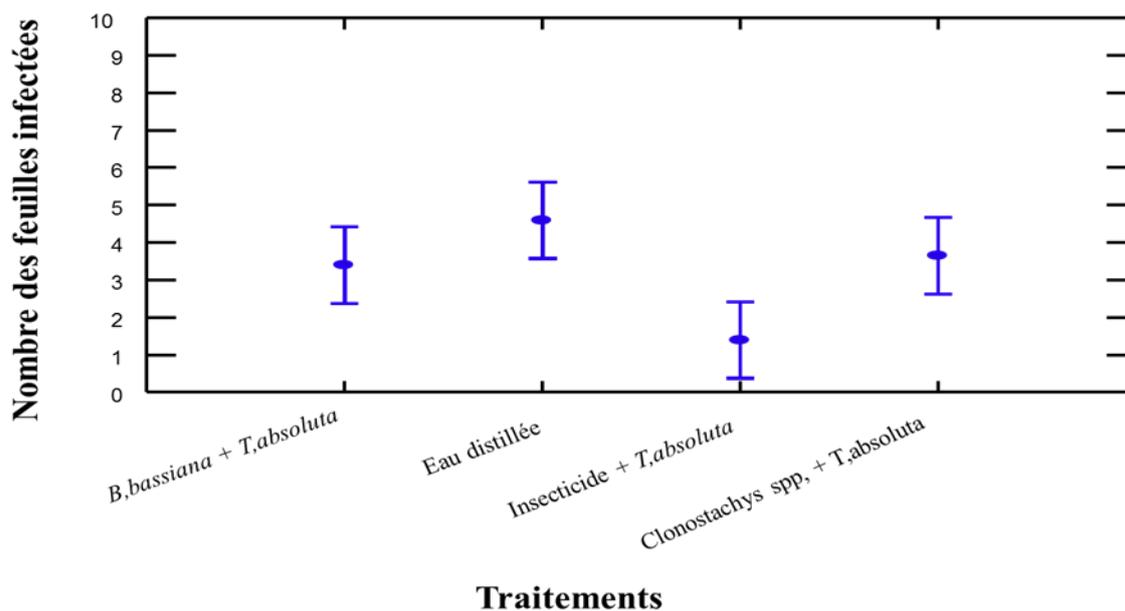


Figure 34 : Etude comparative de nombre de feuilles infectés 48 heures après la deuxième pulvérisation des différents traitements.

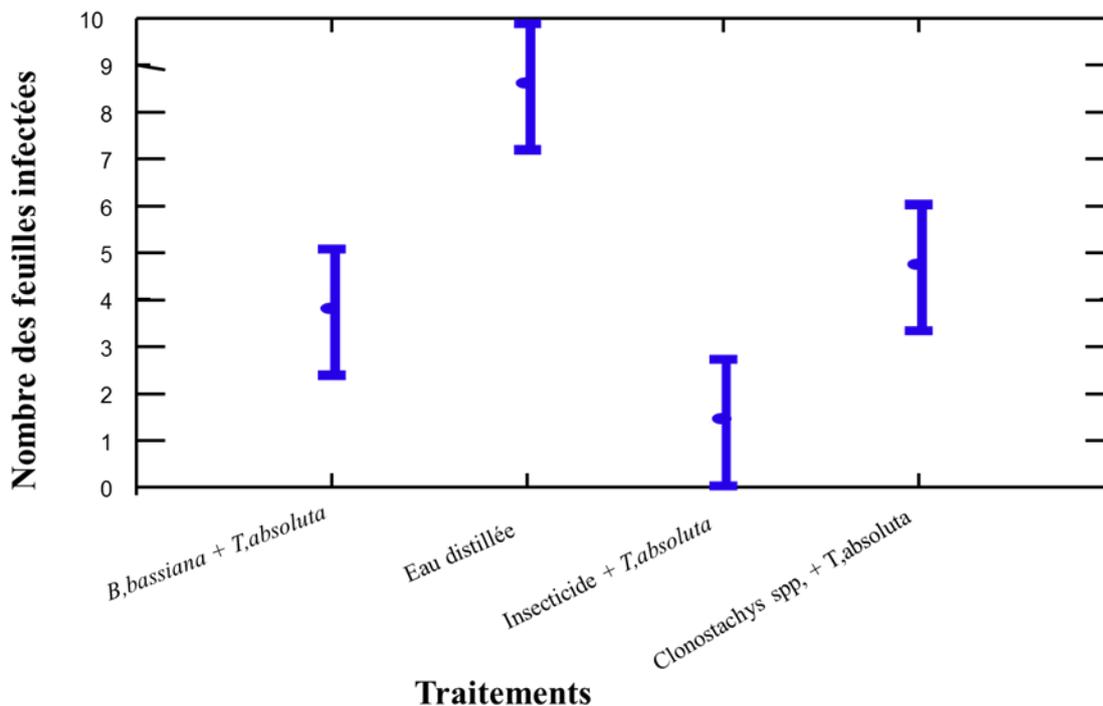


Figure 35 : Etude comparative des nombres de feuilles infectés 72 h après la deuxième pulvérisation des plants de tomate avec les différents traitements.

Pour les trois traitements non inoculés avec les larves de *Tuta absoluta* et pulvérisés avec les différentes suspensions de *Clonostachys* spp., et *Beauveria bassiana* ainsi qu'avec l'eau distillée stérile nous avons remarqué que les plantes ont été saines ne présentant aucun symptôme de maladies. (Figure 36).



Figure 36 : Plants de tomate pulvérisés avec les différentes suspensions fongiques *Clonostachys* spp., *Beauveria bassiana* ainsi que l'eau distillée stérile seulement.

Les larves déposées sur les feuilles des plants de tomate et pulvérisées avec les suspensions de *Clonostachys* spp ; et *Beauveria bassiana* ont été recouvertes après six jours d'application des préparations par une poudre blanche, c'est le mycélium et les spores des champignons testés (Figure 37, 38).

Les résultats obtenus de l'étude comparative des nombres de feuilles infectées après trois jours de suivi montrent que le champignon *B. bassiana* est plus efficace que *Clonostachys* spp.

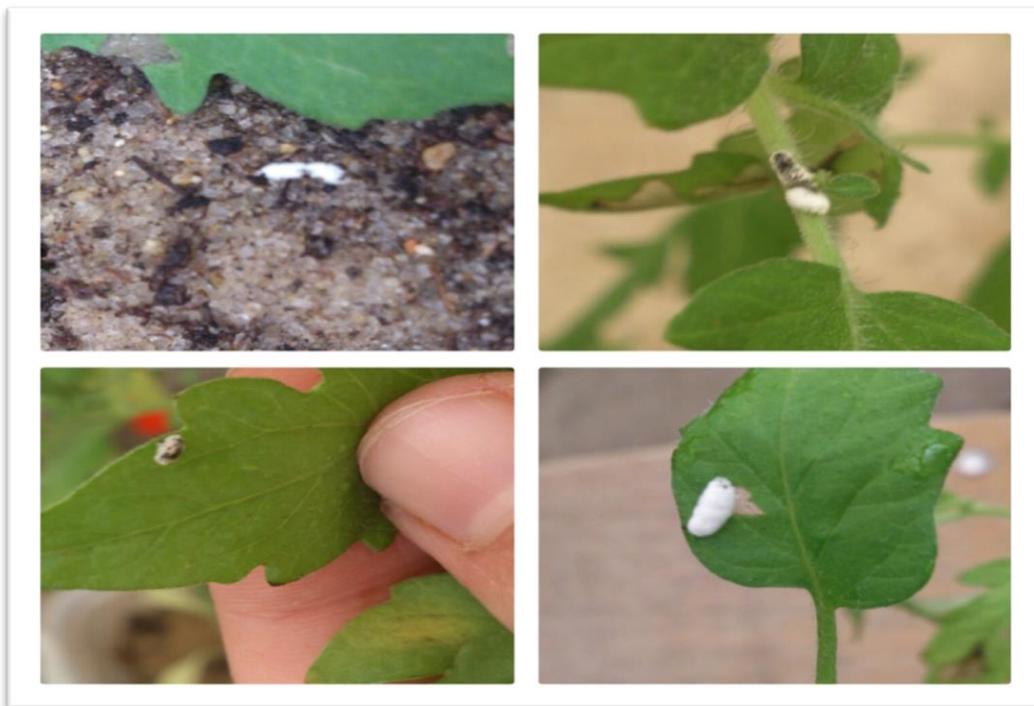


Figure 37 : Formation de la poudre blanche sur les larves des plantes de tomate pulvérisées avec *Clonostachys* spp. (larves momies ou Muscardine blanche).



Figure 38 : Formation de la poudre blanche sur les larves des plantes pulvérisées avec *Beauveria bassiana* (larves momies ou Muscardine blanche).

III- Test de production *invitro* d'une enzyme par *Clonostachys* spp :

Production de protéase :

D'après les résultats obtenus par rapport à la formation d'un halo clair tout autour de fragment fongique disposé au milieu de la boîte Pétri, ce qui signifie qu'il y'a eu production de protéase chez la souche fongique G133 de *Clonostachys* spp. (Figure 38).

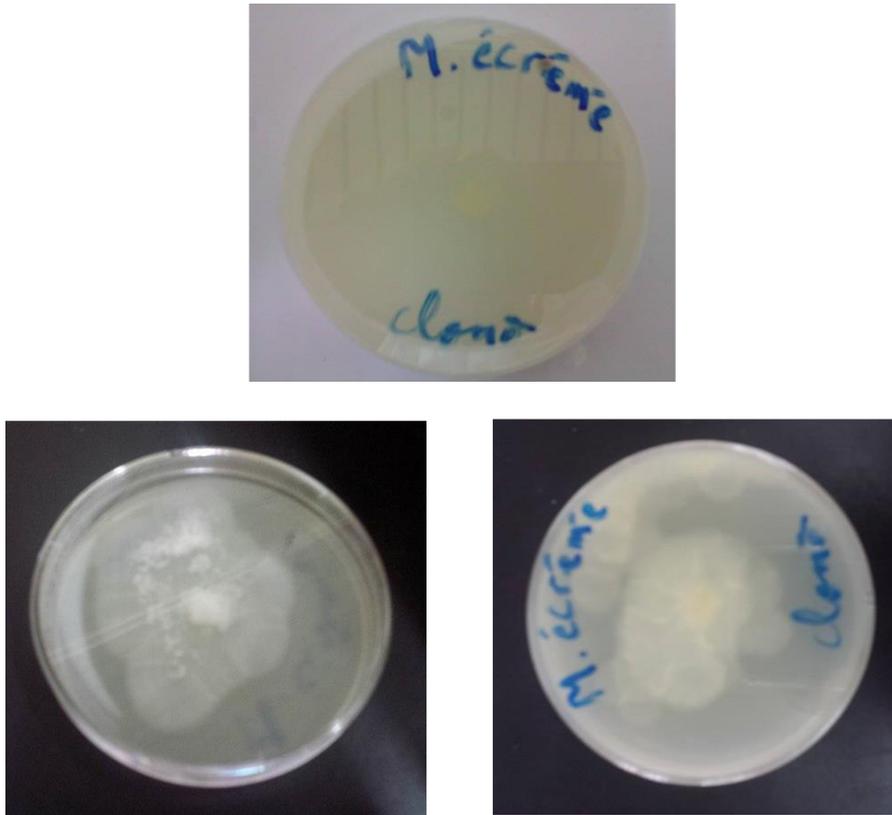


Figure 39 :Production de protéase par la souche fongique *Clonostachys* spp.

Les ravageurs et les organismes phytopathogènes sont responsables de nombreux dégâts et maladies infectant les cultures maraîchères et les arbres fruitiers et forestiers. L'utilisation des pesticides chimiques contre ces organismes a entraîné de multiples conséquences sur l'environnement. Les produits naturels issus des champignons et plus spécialement les endophytes représentent une importante source pour lutter contre les ravageurs des cultures. Les endophytes plus spécialement les champignons sont considérés comme des alternatives prometteurs pour remplacer les fertilisants chimiques et les pesticides dans les systèmes d'agriculture durable et biologique.

Différents moyens de protection contre *Tuta absoluta* ont été rapportés (Desneux et al., 2010). En matière de protection biologique, plusieurs auxiliaires sont signalés en conditions de laboratoire, en serres expérimentales et serres de production : cas des Punaises prédateurs d'œufs et de jeunes larves de *T. absoluta* (Arno et al., 2009 ; Urbaneja et al., 2009 ; Gabarra et Arno, 2010). De même, plusieurs espèces de *Trichogrammes*, parasites d'œufs de *T. absoluta*, sont citées en Amérique du Sud, *T. achaeae* en Espagne (Cabello et al., 2009) ainsi qu'en France (Kabiri et al., 2010).

En Algérie (Ben yahia et al., 2015) a montré que *Thymus capitatus* est un agent de lutte contre *Tuta absoluta*. Citons aussi tous les travaux concernant les formulations à base de champignons entomopathogènes telles que *Beauveria bassiana* et celles à base de bactéries cas de *Bacillus thuringiensis* (Desneux et al., 2010). En Algérie, il n'y a pas beaucoup d'étude sur *Beauveria bassiana* et *Clonostachys* spp.

La présente étude a pour objectif la recherche d'un biopesticide à l'état brut à base de champignons endophytes (*Beauveria bassiana* et *Clonostachys* spp.) contre les larves de *T. absoluta*. L'évaluation de cette étude de l'activité antagoniste est réalisée *in vitro* et *in situ*. L'étude *in vitro* des deux champignons endophytes (entomopathogènes d'après la littérature) *Beauveria bassiana* et *Clonostachys* spp. est testée avec trois concentrations (D1= 4×10^7 spores/ml, D2= 4×10^6 spores/ml et D3= 4×10^5 spores/ml) contre les larves de différents stades de *Tuta absoluta*. Les résultats obtenus ont montré un effet significatif des suspensions fongiques sur la mortalité des larves quel que soit les concentrations utilisées. Ces mêmes résultats ont été constatés par d'autres auteurs (Teresinha et al., 2001; Torres Gregorio et al.,

2009; Pires et *al.*,2010) et permettent ainsi de conclure que les isolats étudiés ont une action pathogène sur les larves de la mineuse de la tomate.

La pathogénicité de *Beauveria bassiana* contre *Tuta absoluta* a été démontrée par Badaoui et *al.*,(2011). Des études ont aussi démontré sa pathogénicité contre certaines espèces appartenant à la famille des curculionidés tels que le charançon de la jacinthe d'eau, *Neochetina bruchihustache* (Chikiwenhere et Vestegard, 2001) le charançon de maïs, *Sitophilus zeamais* Mots. (Adane et *al.*, 1996) et le charançons de la racine d'orangé, *Diaperpes abbreviatus*. (Quintela et McCoy, 1998) .Cependant il existe d'autre études sur la punaise terne (Snodgrass et Elzen, 1994 ;Steinkarous et Tugwell, 1997 ; Leland et McGuire, 2006 ; Kouassi , 2004). D'autres études ont démontré que *Beauveria bassiana* pouvait engendrer une maladie ou tuer les acariens varroa (Chandler et *al.*, 2000 ; 2001; Peng et *al.* 2002; Shaw et *al.* 2002).

Les observations in vitro de l'état des larves, nous renseigne sur le taux de mortalité des populations infestées à différentes doses: D1= 4×10^7 spores/ml - D2= 4×10^6 spores/ml, et D3= 4×10^5 spores/ml, ainsi que le témoin D0= 0spores/ml. On remarque que pour la dose D1, 100 % de mortalité des individus a été observée après 48 heures alors que pour la dose D2, le maximum de mortalité (100 %) est visible au 4^{ème} jour après la pulvérisation des champignons. Après trois jours de contact à faible concentration (D3) de *Beauveria bassiana* 87 % des larves meurent. Après quelques jours les cadavres des larves sont momifiés par un fin duvet blanc (sarcadina), dans lequel le champignon accru très rapidement pour donner des masses filamenteuses denses. En parallèle plus de 80% des larves ont évolué au stade chrysalide pour le témoin, conséquence d'une faible mortalité. Les même résultats sont obtenue par Badaoui et *al.*,(2011).

Un taux de mortalité de 100% a été enregistré 48 heures après la pulvérisation par *Beauveria bassiana*. Ceci laisse suggérer que ce champignon pourrait être utilisé en matière de lutte biologique contre *la Tuta asoluta*. L'utilisation des suspensions fongiques en matière de lutte contre les insectes a été proposée par de nombreux auteurs parmi eux Shukla et

al.(1977). Les mêmes résultats sont obtenues en Irak par Ali et *al.*,(2012) qui ont montré que *Beauveria bassiana* est plus efficace que *Bacillus thuringiensis* .

Selon les résultats de Hamel et Samet ., 2010. *Beauveria bassiana* est un champignon très efficace dans le biocontrôle des champignons phytopathogènes étudiés (*F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f.sp. *albedinis* et *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*). Bing et Lewis, (1991) et Renwick et *al.*, (1991) ont montré que *Beauveria bassiana* est classé parmi les 1800 microorganismes efficaces dans le bio contrôle de piétin échaudage de blé causé par le Ggt et prouvé efficace dans les études *in vitro* à l'encontre de *Fusarium oxysporum* (Reisenzien et Tiefen brunner. 1997 ; Bark et *al.* ., 1996.). *Botrytis cinerea* (Bark et *al.* ., 1996) . et *Rhizoctonia solani* (Lee et *al.*, 1999). L'activité antagoniste de ces endophytes a été également étudiée à l'égard de *Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum* agent causal de flétrissement du coton.

Beauveria bassiana produit des métabolites très toxique avec plusieurs propriétés comme antibactériennes, antifongique, cytotoxine, tel que la beauvericin et basinoloïde et insecticide produit lors de la dégradation de la cuticule d'insectes hôtes et l'infection de l'agent pathogène ciblé ces métabolites sont impliqués dans l'infection des insectes hôtes comprennent les chitines et d'autre produits (Genthnez et *al.* ., 1994 ; Grove et Pople., 1980).

Les études réalisées sur la pathogénicité de *Clonostachys* spp. contre les insectes sont très limitées. Par conséquent, il est impossible de comparer les résultats de cette étude avec d'autres études, en particulier pour les larves de *Tuta absoluta*. En fait, cette étude est la première qui montre que *Clonostachys* spp. a provoqué la mortalité des larves de *Tuta absoluta*.

Clonostachys spp a été testé avec succès comme agent de lutte biologique contre divers pathogènes des plantes fongiques, y compris *S. sclerotiorum* (Ervio et *al.*, 1994), *Verticillium* (Keinath et *al.*, 1991), et plusieurs espèces de *Botrytis* (James et Sutton, 1996). Hamel et ., Samet .,(2010) ont motré que *Clonostachys* spp. est un antagoniste très efficace contre trois agents phytopathogènes telluriques (*F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *F. oxysporum* f.sp. *albedinis* et *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*), et son effet été remarquable par l'application du phénomène de mycoparasitisme.

D'après la littérature, *Clonostachys* spp. Est un champignon nématophage qui joue un rôle important dans la réduction des populations de nématodes par leurs comportements antagonistes. Un taux de mortalité marqué a été enregistré par le champignon *Clonostachys* spp. à forte concentration après 24 heures qui ont suivi la pulvérisation donc on peut le considéré comme un agent de lutte biologique efficace contre les larves de *Tuta absoluta*. Après 20 jours de l'application *in vitro* des suspensions fongiques ; on a remarqué que les larves morte de *Tuta absoluta* sont recouvertes par une couche mycélienne blanche de champignons *Clonostachys* spp.

Dong et al.,(2004) ont rapporté que certaines toxines extrait à partir du filtrat de *Clonostachys* spp. ont montré une fortes activités nématocides contre des nématodes pathogènes, parmi ces toxines citons l'enzyme sérine-protéase. Certaines études suggèrent la sérine-protéase extracellulaire comme un facteur de virulence impliqué dans la pénétration des champignons dans les nématodes (Li J et al, 2006; Tunlid et Jansson, 1991). Dans notre travail, la production de sérine-protéase a été confirmée par le test qualitatif de production réalisé *in vitro*. Donc nos résultats se concordent avec les précédents travaux qui montrent que cette enzyme est responsable dans la pénétration du champignon à travers la cuticule des larves.

Les résultats obtenus *in vitro* indiquent que les concentrations les plus élevées pour les deux traitements D1 de *Beauveria* et *Clonostachys* montrent une réaction plus rapide comparé à l'état dilué. Les résultats montrent ainsi que l'effet de l'application de *Beauveria bassiana* sur les larves de *Tuta absoluta* et plus efficace par apport à l'application de *Clonostachys* spp.

Dans cette présente étude, nous avons aussi testé les deux champignons endophytes *in planta* contre les larves de *Tuta absoluta* avec une concentration de D1= 4×10^7 spores/ml). Les résultats de notre expérience ont montré une forte mortalité des larves et une diminution des feuilles infestées pour les plants contenant les deux champignons *Beauveria bassiana* et *Clonostachys* spp après trois jours suivants l'application. Tant dit que les plants pulvérisés part l'insecticide donnent un résultat positif après un jour de l'application. Pour les traitements (Tomate+ *Beauveria bassiana* et Tomate+ *Clonostachys* spp.) les résultats montrent que ces souches fongiques n'ont aucun effet négatif sur les plantules de la tomate ; ce qui a été confirmé par Zimmermann (2007), expliquant que les champignons

entomopathogènes n'ont aucune activité phytotoxique, De plus, les résultats ont montré que, le contact des gouttelettes de la solution fongique sur les larves de *Tuta absoluta* après sept jours qui suit la pulvérisation, les cadavres sont couverts par un feutrage mycélien blanc cotonneux, nommé sarcadina ou la momie.

Il existe de nombreuses contraintes biotiques et abiotiques quant aux capacités des champignons d'infecter leur hôtes dans les conditions *in planta* parmi celles-ci se trouvent des antagonistes microbiens, la température, et l'humidité (Ingilis et al., 2001). L'utilisation des champignons entomopathogène comme agent de contrôle microbiens dépendra de l'inoculum approprié, formulé de manière optimale et appliqué au moment opportun à un hôte susceptible (Burgues, 1998).

L'étude a montré que les deux isolats fongiques *Clonostachys* spp. et *Beauveria bassiana* testés *in vitro* et *in situ* ont provoqués une mortalité importante des larves de *Tuta absoluta* par rapport au témoin (l'eau distillée stérile). Cependant, il y avait des variations dans le taux de mortalité entre les concentrations des isolats fongiques ; dont on peut constater que le champignon endophyte *Beauveria bassiana* est plus efficace par rapport à *Clonostachys* spp. *Beauveria bassiana* est un excellent agent biologique contre *T. absoluta* (Todorova 1998 ; Faria et Wraight, 1990). Les résultats restent très satisfaisants et significatifs, malgré que l'insecticide chimique été plus efficace que les suspensions fongiques utilisées sur le plan pratique. D'après les résultats obtenus nos souches endophytes des racines de palmier dattier, sont considérées comme des entomopathogènes efficaces quel que soit leurs conditions d'utilisations (*in vitro* ou *in situ*) et que les résultats *in vitro* ont été complétés par l'étude *in situ*.

Conclusion :

Les champignons endophytes sont d'excellentes sources de nouveaux produits naturels bioactifs avec un potentiel d'exploitation dans le domaine médical, agricole et industriel. Les effets bénéfiques de ces endophytes ne se limitent pas à la promotion de la croissance des plantes, mais aussi réagissent comme agent de protection des végétaux contre les microorganismes phytopathogènes et les ravageurs.

Tuta absoluta est considérée comme l'un des principaux ravageurs de la tomate en Amérique du Sud et dans les pays du bassin Méditerranéen (Espagne, et Maroc), elle fut signalée pour la première fois en Algérie au printemps 2008 où elle continue à ce jour ses dégâts sur les cultures de tomate sous abris et en plein champ, et considéré comme un insecte de quarantaine. La recherche d'une méthode efficace contre ce dernier est devenue une nécessité.

Dans ce contexte, ce présent travail a été effectué sur la base de l'utilisation de deux champignons endophytes (*Beauveria bassiana* et *Clonostachys* spp.) pour tester leurs efficacité contre les larves de ce ravageur.

- L'évaluation de l'antagonisme *in vitro* de la pulvérisation de trois doses (D1= 4×10^7 spores / ml, D2= 4×10^6 spores / ml, et D3= 4×10^5 spores / ml) des suspensions fongiques des souches précédemment citées montre une efficacité remarquable varie en fonction de la souche testée, la dose appliquée et le temps consacré.

- L'analyse de la variance a montré des résultats hautement significatifs des taux de mortalité des larves pour les deux champignons *Beauveria bassiana* et *Clonostachys* spp. par rapport au témoin (larves pulvérisées avec l'eau distillé stérile). Le taux de mortalité à atteint les 100 % avec la dose D1 après 24 heures pour *Beauveria bassiana* et après 72 pour *Clonostachys* spp. Pour les doses D2 et D3, ont été également efficace ; malgré qu'ils sont dilués ; où le taux de mortalité des larves dépasse 50%.

-Le pourcentage de mortalité des larves traitées est supérieur à celui des larves témoins quel que soit les concentrations utilisées.

-Après 15 jours les cadavres des larves sont momifiés par un fin duvet blanc (sarcadina), ce qui signifie que les deux champignons ont développés très rapidement leurs mycélium, ont fructifiés et ont donnés des spores. Pour le témoin, à cause de la faible

mortalité, plus de 80% des larves ont été évoluées au stade chrysalide, et d'autres en stade adulte.

- Les Applications des deux isolats testés dans l'essai *in situ* montrent que l'apparition des symptômes au niveau des jeunes feuilles est observée après 24 heures de dépôt des larves du *Tuta absoluta* et une semaine après la pulvérisation des préparations.

-Une augmentation du nombre de feuilles infectées (minées) est constatée surtout pour l'eau distillée stérile et la suspension de *Clonostachys* spp. où la moyenne des feuilles infectées est supérieure à trois, après 24 heures qui suit la deuxième pulvérisation des différentes préparations fongiques ou chimiques.

-le nombre des feuilles infectées reste constant après 48 heures de pulvérisation des suspensions fongiques ainsi que l'insecticide contrairement à l'eau distillée stérile, où le nombre a subi une augmentation progressive de la moyenne des feuilles infectées jusqu'à Cinq.

-La moyenne des feuilles pulvérisées avec l'eau distillée stérile a atteint son maximum de huit et demi après 72 heures qui suit la deuxième pulvérisation, alors que, le nombre des feuilles traitées avec la préparation de *B. bassiana* et l'insecticide chimique reste toujours constant. Contrairement aux feuilles traitées par *Clonostachys* spp. la moyenne a augmenté jusqu'à quatre et demi.

- Après six jours de pulvérisations, les larves mortes infectées par *Clonostachys* spp. et *Beauveria bassiana* ont été recouvertes par une poudre blanche (des larves momies ou sarcadina).

-Les plantes traitées qu'avec les suspensions de *Clonostachys* spp. et *Beauveria bassiana* ainsi que l'eau distillée stérile ne présentent aucun symptômes de maladies.

Les tests réalisés afin d'évaluer l'efficacité des deux souches endophytes contre le ravageur de la tomate ont confirmés qu'elles possèdent un pouvoir de lutte biologique très marqué.

Les résultats obtenus dans ce présent travail, sont très intéressants de fait que les deux champignons endophytes *Beauveria bassiana* et *Clonostachys* spp., obtenues d'une autre culture (palmier dattier d'alicante Espagne), plus qu'elles sont des agents de biostimulation de la croissance d'orge et de blé, sont des champignons entomopathogènes très efficaces *in*

vitro et *in situ* contre le ravageur de quarantaine *Tuta absoluta* agent de la mineuse de la tomate.

Perspectives : il serait intéressant de:

- Tester ces champignons endophytes sous serre pour confirmer leurs efficacités sur les larves de *Tuta absoluta*.
- Tester contre les œufs.
- Utiliser ces souches contre d'autres ravageurs.
- Extraire les métabolites incriminés dans la pénétration et la mortalité des larves.

Références bibliographiques

- **Adane K , Moore D, Archer SA, 1996.** Preliminary studies one the use of *Beauveria bassina* to control *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) in the laboratory. *J. Stor. Prod .Res.* 32, 105-113.
- **Åhman, J., Johansson, T., Olsson, M., Punt, P.J., Van den Hondel, C.A.M.J.J. and Tunlid, A. (2002).** Improving the pathogenicity of a nematode-trapping fungus by genetic engineering of a subtilisin with nematotoxic activity. *Applied and Environmental Microbiology* 68: 3408-3415.
- **Ali K., Saadi .M., sabah L., khodeir. 2012.** contrôle biologique de la teigne de la tomate sud-américaine *Tuta absoluta* (lépidoptères: Gelechiidae) (Meyrick, 1917) en laboratoire.
- **Arno´, R. Sorribas, M. Prat, M. Montse, C. Pozo, D. Rodriguez, A. Garreta, A. Go´mez, R. Gabarra, 2009:** *Tuta absoluta*, a new pest in IPM tomatoes in the northeast of Spain. *IOBC/WPRS Bull* 49: 203–208 [7] Z.R. Barrientos, Norero H.J.S.A Apablaza, et P.P. Estay, 1998:Threshold temperature and thermal constant for development of the south American tomato, *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Gelechiidae), *Ciencia investigation Agraria*.
- **Arnold A. E., Mejia L. C., Kylo D., Rojas E. I., Maynard Z., Robbins N. and Herre E. A.** Fungal endophytes limit pathogen damage in a tropical tree. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2003; **100**: 15649-15654.
- **Azevedo J.L., Maccheroni J.W., Pereira J.O., Araujo W. L. 2000.** Endophytic microorganismes : a review on insect control and recent advences on tropical plants. *Electr. J. Biotechnol.* Vol (3) : 40-65.
- **Badaoui Mahdjouba Ikram, Berkani Abdallah et Lotmani Brahim, 2011:** Les entomopathogènes autochtones, nouvel espoirdans le contrôle biologique de *Tuta absoluta* Meyrick 1917 (Lepidoptera: Gelechiidae) en Algérie . *Entomologie faunistique – Faunistic Entomology* 2011 (2010) **63** (3), 165-169.
- **Barber C.E., Tang J.L., Feng J.X., Pan M.Q. Et Wilson T.J., 1997-** A novel regulatory system requied for pathogenicity of *Xanthomonas Compestris* is mediated by a small diffusible signale molecule. *Mol. Microbiol.* 24, pp : 555-566.

Références bibliographiques

- **Bark, Y.G., Lee. D.G., Kim, Y.H., Kang, S.C., (1996).** « Antibiotic properties of an entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, on *Fusarium oxysporum* and *Botrytis cineria* ». Korean J.Plant pathol. 12, 245-250.
- **Bashan, Y. and de-Bashan, L.E. (2005).** « Plant growth-promoting bacteria. In Encyclopedia of soils in the Environment » (Hillel D., ed), Elsevier, Oxford, United Kingdom, pp.103-115.
- **Beauverie, J. 1911.** Notes sur les Muscardines. Sur une muscardine du ver à soie, non produite par le *Botrytis bassiana*. Étude du *Botrytis effusa* sp. nov. Rapp. Comm. administrative du lab. d'études de lasoie, Lyon, 14: 5-31.
- **Ben yahia Née Bouayad Alam S.2015.** Activités antimicrobiennes et insecticides de *Thymus capitatus*, *Daucus crinitus* et *Tetraclinis articulata* sur la mineuse *Tuta absoluta* (Meyrick) et la microflore pathogène de la tomate *Lycopersicum esculentum*
- **Bent, E. (2006).** « Inducer systemic resistance mediated by plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR) and fungus (PGPF). In : Multigenic and Inducer Systemic Resistance in Plants » (Tuzun S. and Bent E., eds), Springer Science + Business Media, New York, United States of America, pp. 225-258.
- **Berbee M.L., 2001.** The phylogeny of plant and animal pathogens in the Ascomycota. *Physiological and Molecular Plant Pathology*. Vol (59): 165-187 .
- **Bing, L.A., Lewis, L.C. (1992).** « Endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin in corn : the influence of the plant growth stage and *Ostrinia nubilalis* » (Hubner). *Biocontrol science and Technology* 2 : 39-47.
- **Blancard D., 2010.** Identifier les maladies diagnostic guide anomalie, altération des fruits. Ed. INRA. Paris. Pp45-56.
- **Bonants PJM, Fitters PFL, Thijs H, Belder ED, Waalwijk C, Willem J, et al. 1995.** A basic serine protease from *paecilomyces lilacinus* with biological activity against *Meloidogyne hapla* eggs. *Microbiology*;141 :775-84.
- **Borgoni (P.C.), 2003** – leaf mesophil consumption by *Tuta asoluta* (Meyrick), (Lepidoptera : Glichiiidae) in three cultivars of *lycopercicum esculentum* Mill. *Ciencia rural*, Santa maria : V23 n°1 jan Fév : 7-11.
- **Bouchet P.H., Guignard J.L. et Villard J., 1999.** Les champignons, Mycologie fondamentale et appliquée. Ed. Masson, Paris. 194 p.

Références bibliographiques

- **Burgues DH, 1998.** Formulation og mycoinsecticides. In: Formulation of microbial biopesticides: beneficial microorganisms, nematodes and seed treatments. Bueges HD (ed .), Kluwer Academic Publishers,Dordrecht, pp. 31-185.
- **Cabello, J.R. Gallego, E. Vila, A. Soler, M. delPino, A. Carnero, E. Herna´ndez-´rez, A. Polaszek,2009:** Biological control of the South American tomatopinworm. *Tuta absoluta* (Lep.: Gelechiidae), with releases *Trichogramma achaeae* (Hym.: Trichogrammatidae) in tomato greenhouses of Spain. IOBC/WPRS Bull 49:225–230.
- **Cakmakci, R., Donmez, F., Aydin, A. and Sahin, F. 2006.** Growth promotion of plants by plant growth-promoting rhizobacteria under greenhouse and two different field soil conditions. *Soil Biol. Biochem.* 38(6):1482-1487.
- **Chaux C et Foury C. L., 1994-** Cultures légumières et maraichères. légumineuses potagères, légumes fruit. Tec et Doc Lavoisier, Paris, 563 p.
- **Chen, S. (1997).** Infection of Heterodera glycines by Hirsutella rhossiliensis in a Minnesota soybean field. *Journal of Nematology* 29: 573-578.
- **CHIBANE A., 1999-** Tomate sous serre. Fiche Technique. Bulletin mensuel d’information et de liaison du P.N.T.T.A. N° 57, juin 1999, Edit. M.A.D.R.P.M/D.E.R.D. Maroc, 4 p.
- **Chikiwenhere GP, Vestegard S, 2001.** Potential effects of *Beauveria bassina* (Balsmo) Vuillemin on *Neochetina bruchi* Hustache (Coleoptera Curulionidae), a biological control agent of water hyacinth. *Biol. Contr.* 21, 105-110.
- **Clay K. and Schardl C.** Evolutionary origins and ecological consequences of endophyte symbiosis with grasses. *American Naturalist* 2002; **160 Suppl 4:** S99-S127.
- **Cornia, M.B. et Beatriz, M.D. 2004.** Pathogenicity of hyphomycètes fungi against *Cyclocephala signaticollis*. *Bio-Control* 00: 1-8, 2004. Kluwer Academie PubJishers. Printed in the Netherlands.
- **Dara,S.K., Mcguire, M.R., Kaya, H.K. 2007.** Isolation and evaluation of beauveria bassiana (deuteromycotina: hyphomycetes) for the suppression of glassy-winged sharpshooter, homalodisca coagula ta (homoptera: cicadellidae). *Journal of Entomological Science.* 42: 56-65.
- **Desneux, E. Wajnberg, A.G.Wyckhuysk, G.Burgio, S. Arpaia, C. A. Narvaez-Vasquez, J.G. Lez- Cabrera, D. C. Ruescas, E. Tabone, J. Frandon, J. Pizzol, C.Poncet, T. Cabello et A. Urbaneja, 2010:** Biological invasion of European tomato crops by *Tuta*

Références bibliographiques

absoluta :ecology, geographic expansion and prospects for biological control. *J. Pest. Sci.*, 83 :197-215.

- **Dong JY, Zhao ZX, Cai L, Liu SQ, Zhang HR, Duan M, et al. 2004.** Nematicidal effect of freshwater fungal cultures against the pine-wood nematode *bursaphelenchus xylophilus*. *Fungal Divers* ; 15 :125-35.
- **Dowd, P.F et Vega, F.E. 2003.** Autodissemination of *Beauveria bassiana* by Sap Beetles (Coleoptera: Nitidulidae) to Overwintering Sites. *Biocontrol Science and Technology*. 13: 65- 75.
- **Ervio, L.R, Halkilahti, A.M., Pohjakallio, O., 1994.** The survival in soil of *Sclerotinia* species and their ability to form mycelia. *Adv. Front. Plant Sci.* 8, 121–133.
- **Estay (P.P), 2000-** Insectos, acaros y enfermedades asociadas al tomate en Chile Santiago, INIA centro regional de inverrstigacion, la platina : 111p
- **FAO., 2008** – L’actualité agricole en méditerranée. Ed. CIHEM ,33 P.
- **Faostat, 2013-** Donnée de la base statistique de l’organisation des Nation Unies pour l’Alimentation et l’Agriculture sur site : [http : apps.fao.org](http://apps.fao.org).
- **Faria M, Wraight SP, 2001.** Biological control of *Bemissia* with fengi. *Crop protect.* 20, 767-778.
- **Feng, M.G, Chen, 8 et Ying, S.H. 2004.** Trials of *Beauveria bassiana*, *Paecilomyces fumosoroseus* and imidacloprid for management of *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae) on greenhouse grown lettuce. *Biocontrol Science and Technology*. 14:531-541.
- **Ferreira Raphal de paula Duarte, 2008** – Major densida de tricomas glandulares em foliolos de tomateiro esta relacionada a major resistencia a traça. Projeto orientado apresentado ao departamenato agricultura de l’universiade Fedral de larvas como parte des exigencias do curso de Agronomia, para aobtenco do titulo de Engenheiro agronomo : Orientador Prof. Wilson Roberto Maluf larvas Minas Gerais-Brasil2008. 26p.
- **Ferrero M., 2009-** Etude de la variabilité des comportements alimentaires du prédateur et conséquences pour la lutte biologique. Thèse doctorat. Montpellier SupAgro., 228 p.
- **Flavier A.B., Clough S.j., Schell M.A. et Denny T.P., 1997-** Identification of 3-hydroxypalmitic acid methyl ester as a novel autoregulator controlling virulence in *Ralstonia Solanasearum*. *Mol. Microbil.* 26, pp : 251-259.

Références bibliographiques

- **Gabarra, J. Arno´, 2010** : Resultados de las experiencias de control biológico de la polilla del tomate en cultivo de invernadero y aire libre en Cataluña. *Phytoma España* 217:65–68.
- **Gallery R. E., Dalling J. W. and Arnold A. E.** Diversity, host affinity, and distribution of seed-infecting fungi: a case study with *Cecropia*. *Ecology* 2007; **88**: 582-588.
- **Ghelamallah (A), 2008-** Contribution à l'étude bioécologique de la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* (Lepidoptera).
- **Glick, B. (1995).** « the enhancement of plant growth by free-living bacteria ». *Canadian Journal of Microbiology* 41 : 109-117.
- **Guenauoui (Y.), Ghelamallah (A.), 2008-** *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera) (Gelechiidae) nouveau ravageur de la tomate en Algérie premiers données sur sa biologie en fonction de la température AFPP-8^{ème} conférence Internationale sur les ravageurs en agriculture, Montpellier Sup agro, France, 22-23 octobre 2008. ISBN 2-905550-17-1 . 645-651P.
- **Guenauoui (Y.), 2008-** nouveau ravageur de la tomate en Algérie, *Phytoma* : N°617 juillet- aout 2008. 18-19p.
- **Guenauoui (Y.), 2010-** *tetranychus evansi* (Baker et Pritchard) (Acari : Tetranychidae) acarien invasif) signalé sur culture de tomate à Mostaganem dans le nord-ouest de l'Algérie EPPO + Bulletin Volume 40, Issue 2, DOI : 10.1111/j.1365-2338.2010.193-195p.[http://www.plagas-agricolas.info/ve/fichas/.php?hospedro=303 plaga=225](http://www.plagas-agricolas.info/ve/fichas/.php?hospedro=303%20plaga=225) (juin 2008) .
- **GUENAOUI Y and GHELAMALLAH A., 2011.** La mineuse de la tomate. University of Mostaganem. pp 02-08.
- **Guenauoui Y. et Ghelamallah A., 2008-** *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae) nouveau ravageur de la tomate en Algérie première données sur sa biologie en fonction de la température conference proceeding.
- **Hamel et Samet, 2011** : évaluation du pouvoir antagoniste in vitro de quelques souches endophytes vis-à-vis des champignons d'origine tellurique.
- **Higgins K L ., Arnold AE., Miadlikowska J. Sarvate S.D., Lutzoni F . 2007.** Phylogenetic relationships, host affinity and geographic structure of boreal and arctic endophytes from three major plant lineages. *Mol. Phyl. and Evol.* Vol (42) : 543-555.
- **Howell, C.R. (2003).** « Mechanisms employed by *trichoderma* species in the biological control of plant diseases : the history and evolution of current concepts ». *Plant Disease* 87 : 4-10.

Références bibliographiques

- **Hyde K. D. and Soyton K.** The fungal endophyte dilemma. *Fungal Diversity* 2008; **33**: 163-173.
- **I.N.P.V., 2008-** Nouveau prédateur de la tomate : Etat des lieux et programme d'action. Note de l'institut National de la protection des végétaux. Ministère de l'Agriculture, Algérie, Juillet.
- **Inglis, G.D., Goettel, M.S., Butt, T.M., H. 2001.** . Use of Hyphomycete fungi for managing insect pests. In ; fungi as biocontrol agent: progress, problems and potential. Butt TM, Jackson CW, Magan N (eds.), CABI Publishing, Wallingford, Uk, pp. 23-69.
- **Inglis, G.D., Goettel, M.S., Butt, T.M., Strasser, H. 2001.** Use of Hyphomycetous fungi for managing insect pests. In: Butt, T.M., Jackson, C. et Magan, N. (eds), Fungi as biocontrol agents. CABI Publishing. Oxon. 390 pages.
- **James, T.D.W., Sutton, J.C., 1996.** Biological control of Botrytis leaf blight of onion by *Gliocladium roseum* applied as sprays and with fabric applications. *Eur. J. Plant Pathol.* 102, 265–275.
- **Jarrold, E.L. et Robert W.B. 2005.** Coating *Beauveria bassiana** with lignin for protection from solar radiation and effects on pathogenicity to *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae). *Biocontrol Science and Technology*, 15: 309-320.
- **John, C. S., Li, D. W., Peng, G., Yu, H. And Zhang, P., 1997.** *Gliocladium roseum*: a Versatile adversary of *Botrytis cinerea* in crops in *Plant Disease*, 81: 13 p
- **Keinath, A.P, Fravel, D.R., Papavizas, G.C., 1991.** Potential of *Gliocladium roseum* for biocontrol of *Verticillium dahliae*. *Phytopathology* 81, 644–648.
- **Kouassi M, 2004.** Utilisation d'isolats du micro-champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* (deuteromycets : Moniliales) pour le contrôle efficace de la punaise terne, of *lygus lineolaris* (Palisot de beauvois) (Himiptère : Miridae) en culture de laitue et de céleri. Thèse du doctorat en sciences de l'environnement, UQAM ,QC , Canada, 2009 p.
- **Kouassi M, Coderre D, Todorova S, 2003.** Effect of Plant Type on the Persistence of *Beauveria bassiana*. *Biocontrol Sei. Technol*, 13: 415-427.
- **Kouassi, M., Coderre, D et Todorova, S.1. 2002.** Relative Performance of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina: Moniliae) and the insecticide cygon (Dimethoate) in field control of the tarnished plant bug *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera: Miridae). *J Entomol Sei*, 38:359-367
- **Lacey, L.A., Frutos, R., Kaya, H.K. and Vails P.2001.** Insect pathogens as biological control agents: Do they have a future? *Biological Control* 21:230-248.

Références bibliographiques

- **Laird, M., Lacey, L.A. and Davidson, E.W. 1990.** Safety of microbial insecticides. *CRC Press Inc., Baton Rouge.* pp. 55-63.
- **Laumonier, R.1979.** culture légumière et maraichère. Tome III. Ed. Bailliere et fils. Paris. 305p.
- **Lee, S.M., Yeo, W.H., Jee, H.J., Shin, S.C., Moon, Y.S., (1999).** « Effect of entomopathogenic Fungi on growth of cucumber and *Rhizoctonia solani* ». Forestry Research Institute., *J. Forestry Sci.* 62, 118-125.
- **Li, G. Q., Huang, H. C., Acharya, S. N. & Erickson, R. S. (2004).** *Plant Dis.* 88, 1246–1251.
- **Li, J., Yang, J. K., Huang, X. W. & Zhang, K. Q. (2006).** *Process Biochem.* 41, 925–929.
- **Lietti (M.M.), Botto (E.) et Alzogary (R.A.), 2005-** insecticide Resistance in Argentine populations of tuta absoluta (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae), *Neotropical Entomology* 34 (1) : 113-119.
- **Liland EJ , McGuire, MR , 2006.** Effects of different *Beauveria bassiana* isolates on field population of *lygus linolaris* in pigweed (*amaranthus spp.*) boil. *Contr.* 39,272-281.
- **Liland EJ , McGuire, MR, Grace GA, Jaronski ST , Ulloa M, Park YH, Plattner RD, 2005.** Strain selection of a fungal entomopathogen, *Beauveria bassiana*, for control of plant bugs (*lygus sp*) (Heteroptera : Miridae). *Biol. Contr.* 35 , 104-114.
- **Liu, H et Bauer, L.S. 2006.** Susceptibility of *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *J. Econo. Entomol.* 99: 1096-1103.
- **Liu, H et Bauer, L.S. 2008a.** Microbial control of emerald ash borer, *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) with *Beauveria bassiana* strain GHA: Greenhouse and field trials~ *Biological control.* 45: 124-132.
- **Liu, H., Skinner, M. et Parker, B.L. 2003b.** Bioassay method for assessing the virulence of *Beauveria bassiana* against tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hem, Miridae). *App!. Entomol.* 127: 299-304.
- **Liu, H., Skinner, M., Brownbridge, M. et Parker, L.B. 2003a.** Characterization of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates for management of tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). *1. Inv. Pathol.* 82: 139

Références bibliographiques

- **Liu, T., Wang, T., Duan, Y.X et Wang, X. 2008b.** Nematicidal activity of culture filtrate of *Beauveria bassiana* against *Me/oidogyne hapla*. World. 1. Microbiol. Biotechnol. 24: 113-1/8.
- **Lugtenberg B, and Kamilova F. 2009.** Plante-growth-promoting rhizobacteria. Annu. Rev. Microbiol. 63, 541-556.
- **Luz, c., Tigano , M.S., Silva, 1.0., Cordeiro, C.M. et Salah, M.A. 1989.** Selection of *B. bassiana* and *Metarhizium anÎ50pliae* Isolates to Control *Triatoma infestans*. Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 93: 839-846.
- **Macia-Vicente Jose G., Hans-Borje Jansson, Kurt Mendgen, Luis V. Lopez-Liorca, 2008.** Colonisation of barley roots by endophytic fungi and their reduction of take-all caused by *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*. Can.J.Microbial.54 : pp.600-609.
- **Maheshwari R. What is an endophytic fungus? Current Science 2006; 90:** 1039.
- **Marcano R., 2008.** Minador Pequeno de la hoja del tomate ; Palomilla pequena, Minador del tomate *Tuta absoluta* (Meyrick) 1917. Plagas Agrícolas de Venezuela. In.
- **Maria Margarida Vieira., 2008.** Mineira do tomateiro. Une nova ameaça a produção de tomate. V Seminario International do tomate de Industria, Mora, 23 de Fevereiro de 2008 in eppo.org/EPPORreporting/2008/Rsf-0801.Pdf (juin 2008).
- **Matsuura T, Mizuno A, Tsukamoto T, Shimizu Y, Saito N, Sato S, Kikuchi S, Uzuki T, Azegami K & Sawada H 2011.** *Erwinia uzenensis* sp. nov., a novel pathogen that affects European pear trees (*Pyrus communis* L.). International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology 62, 1799–1803. doi: 10.1099/ijms.1090.032011.032010.
- **Mauchline T.H., Kerry B.R. and Hirsch P.R. (2002)** « Quantification in soil and the rhizosphere of the nematophagous fungus *Verticillium chlamydosporium* by competitive PCR and comparison with selective plating ». Applied and Environmental Microbiology 68 : 1846-1853.
- **McCay, A., Quintela, E.D. et Faria, M. 1990.** Environmental Persistence of Entomopathogenic Fungi. In, New direction in biological control. R.R. Baker and P.E. Dunn (eds), A.R. Liss, New York, p. 139-159.
- **McCoy CW, 1990.** Entomogenous fungi as microbial pesticides. In: biological control. Baker RR, Dunn PE, Liss AR (eds.), New York, USA, pp.139-159.
- **McGuire, M.R., Leland, IE. 2006.** Field trials of *Beauveria bassiana* against *Lygus* spp. in California and Mississippi. National Cotton Council Beltwide Cotton Conference. p. 1389-1392.

Références bibliographiques

- **Ministère de L'agriculture et du Développement Rural Direction** des statistiques agricoles et des systèmes d'information. Evaluation trimestrielle de la mise en œuvre du renouveau agricole Réunion des cadres des 5-6 janvier 2013). Bilan final de la Campagne agricole 2012.
- **Moricca S. and Ragazzi A.** Fungal endophytes in Mediterranean oak forests: a lesson from *Discula quercina*. *Phytopathology* 2008; **98**: 380-386.
- **Mouassa Mahmat Saleh Z., 2010.** Tuta absoluta ou le "désastre absolu": perspectives dévolution à l'échelle géographique et stratégies de lutte. Rpport de stage, AGROCAMPUC OUEST, ANGERS, 58p
- **Mugnai, L., Bridge, P.D. and Evans, H.C. 1989.** A chemotaxonomic evaluation of the genus *Beauveria*. *Myc. Res.* 92: 199 - 209
- **N'djamena K., 1995.** Tomate : Ravageurs et maladie. Edit CLM. 745P.
- **Naika S., De Jeud J.V.L., De Jeffau M., Hilmi M. et Vandam B., 2005.** La culture de tomate, production, transformation et commercialisation. Ed. Wageningen, Pays-Bas. 105p.
- **Nguyen, N., Christian, B., Hans-Michael, P. et Gisbert. Z. 2007.** Laboratory investigations on the potential of entomopathogenic fungi for biocontrol of *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and pupae. *BiocontroJ Science and Technology.* 17 : 853-864.
- **OEPP ,2008-**Premier signalement de *Tuta absoluta* en Espagne. Ravageurs et maladies. Services d'information n°1, 1, rue le notre 75016 paris 25 p.
- **OEPP ,2008-**Premier signalement de *Tuta absoluta* en Maroc. Ravageurs et maladies. Services d'information n°7, 1, rue le notre 75016 paris 28 p.
- **OEPP ,2008-**Premier signalement de *Tuta absoluta* in Alegria. Ravageurs et maladies. Services d'information n°7, 1, rue le notre 75016 paris.
- **OEPP/EPPO Bulttin N°01 Paris ,2008-01-01.** Premier signalement de *Tuta absoluta* (Lepidoptera : Glichiiidae en Espagne. Liste A1 de l'OEPP in archives. Eppo.org / EPPOR eporting/2008/Rsf-0801.pdf (juin 200 8).
- **Oliveira (C.R.F.), Cysneiros (M.C.H.) et Hatano Eduardo, 2007-** Occurrence of pyemotes sp. On *Tuta absoluta* (Meyrick) : Brazillian Archives of biology and Technology. ISSN1516-8913. Vol 50 n°6 : 929-932.
- **Pareyra (P.C.) et Sanchez (N.E.), 2006-** Effet of two solanceous plants on developemental and population parameters of the Tomato Leaf Miner, *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera : Gelechiidae) : Neotropical Entomology 35 (5) : 671 – 676 .

Références bibliographiques

- **Pereira (G.V.N.), 2005**-Selecao para alto de Acilacuceres em genotipos de tomateiro e sua relacao com a resistencia ao acaro vermelho (*Tetranychus evansi*) e a traça (*Tuta absoluta*) tese apresentada a Universidade Federal de Lavras como Genetica e Melhoramentosn de Plantas, para a obtencao do tiltulo de <<Doutor>>.82.
- **Petrini O. 1991.** Fungal endophytes of tree leaves. In Andrews J. et Hirano Ecology of leaves. Springer Verlag. pp 197-197.
- **Pimentel M. R., Molina G., Dionisio A. P., Marostica Junior M. R. and Pastore G. M.** The use of endophytes to obtain bioactive compounds and their application in biotransformation process. *Biotechnol Res Int* 2011; doi:10.4061/2011/576286
- **Pires (D.S.L.M.), 2008** – Eddect of the fungi *Metarhizium* (METSCH) SOROK. And *Beauveria bassina* (BALS) VUILL on *Tuta absoluta* (Meyrick) and their compatibility with insecticides : These apresentada ao programa de Pos-graduacao em Entomologia Agricola, de Universidade Federal Rural de pernambuco, como parte dos requisito para obtencao de grau de Doutor EM Entomologia Agricola. Recife – Pe e Fevereiro, 72p.
- **Quintela ED, McCoy CW, 1998.** Conidial attachment of *Metarhizium anisopliae* and *beauveria bassina* to larval cuticule of *Diaprepes abbreviates* (Coleoptera: Curculinidae) treated with imidacloprid. *J. Inverteber.Pathol.* 72 , 220-230 .
- **Ramel, 2010** – *Tuta absouta* Meyrick (1917) . Element de reconnaissance. INPV Montpellier. Station d'entomologie 2p .
- **Reisenzein, H., Tiefenbrunner, W., (1997).** Growth inhibiting effect of différent isolates of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Bals) Vuill. To the plant parasitic fungi of the genera *Fusarium*, *Armillaria*, and *Rosellinia* *Pflanzenschutzbericht* 57, 15-24.
- **Renwick, A., Campbell, R. et Coe. S., (1991).** Assessment of in vivo screening system for potential biocontrol agents of *Gaeumannomyces graminis*. *Plant Pathol.* 40. 524-532.
- **Sabbahi, R; Merzollki, A et Guertin, C. 2008b.** Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* L., in strawberries. *1 App!*. *EntamaI.* 2: J24-J 34.
- **Sabbahi, R; Merzouki, A et Gllertin, e. 2008a.** Efficacy of *Reauveria bassiana* against the strawberry pests, *Lygus lineolaris*, *Anthonomus signatus* and *Otiiorhynchus ovatus*. *J. Appl. Entomol.* In presse.

Références bibliographiques

- **Saikkone, K., Faeth S.H, Helander, M. and Sullivan T.J. (1998)** « Fungal endophytes : A continuum of interactions with host plants ». *Annual Review of Ecology and Systematics* 29 : 319-343.
- **Saikkonen K., Faeth S. H., Helander M. and Sullivan T. J.** Fungal endophytes: A continuum of interactions with host plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 1998; **29**: 319-343.
- **Saikkonen K., Helander M. and Faeth S. H.** Fungal endophytes: hich- hikers of the green world. In: Gillings M. and Holmes A. J.(eds). *Plant microbiology*. Garland Science 2004a; pp. 81-101.
- **Saikkonen K., Wali P. R. and Helander M.** Genetic compatibility determines endophyte-grass combinations. *PLoS One* 2010; **5**(6): e11395.
doi:10.1371/journal.pone.0011395.
- **Saikkonen K., Wali P., Helander M. and Faeth S. H.** Evolution of endophyte-plant symbioses. *Trends in Plant Science* 2004b; **9**: 275-280.
- **Schardl C. L., Leuchtman A. and Spiering M. J.** Symbioses of grasses with seedborne fungal endophytes. *Annual Review of Plant Biology* 2004; **55**: 315-340.
- **Schroers, H-J., Samuels, G. J., Seifert, A. K., Gams, W., 1999.** Classification of the mycoparasite *Gliocladium roseum* in *Clonostachys* as *C. Rosea*, its relationship to *Bionectria ochroleuca*, and notes on other *Gliocladium*-like fungi. *Mycologia*. 91: 365 - 385.
- **Schroth, M.N. and Hancock, J.G. (1981)** « Selected topics in biological control ». *Annual Review in Microbiology* 35 : 453-476.
- **Segers R, Butt TM, Kerry BR, Peberdy JF. 1994.** The nematophagous fungus *verticilium chlamydosporium* Goddard produces a chymoelastase-like protease which hydrolyses host nematode proteins in situ. *Microbiology* ; 140 :2715-23.
- **Selosse M. A. and Schardl C. L.** Fungal endophytes of grasses: hybrids rescued by vertical transmission? An evolutionary perspective. *New Phytologist* 2007; **173**: 452-458.
- **Selosse, M.A., Baudoin, E. and Vandenkoorhuyse, P. (2004)** « Symbiotic microorganisms, akey for ecological success and protection of plants. *Comptes Rendus de Biologie* » 327 : 639-648.
- **Sheng li, Z., LI, Z., (2010),** « antagonism of *Beauveria bassiana* against Two *Fusarium* spp. Pathogenic to Cotton » Anhui Provincia Key Laboratory of Microbial Control, Anhui Agriculture university, Heifei 230036, China.

Références bibliographiques

- **Silva (S.S.), 2008-** Fatores biologia reproductiva que influenciam o manejo comportamental de *Tuta absoluta* (Meyrick) ; 2008, Reproductive biology factors influencing the behavioural management of *Tuta absoluta* ; dissertacao apresentada ao programa de posGraduacao em Entomologia agricola da universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisistes para obtencao do garau de mestre em Entomologia Agricola : RECIFE-PE fevereiro-2008.75p.
- **Sinclair, J.B. and Cerkauska, R.F. (1996)** « latent infection vs endophytic colonization by fungi. In *Endophytic Fungi in Grasses and Woody Plants. Systematics, Ecology and evolution* » (Redlin S.C and Carris L.M., eds). APS press, Saint Paul, United States of America, pp. 3-29.
- **SNOUSSI S. A., 2010-** Etude de base sur la tomate en Algérie. Rapport de mission Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient. Rome, 52 p.
- **Sondgrass GL, Elzen GW, 1994.** Efficacy of Naturalis-L adultes and nympe of the tarnished plant bug in cotton. Proceeding / Beltwide cotton Conférences, Memphis, USA. 2, 1103-1104.
- **Steinkrauss DC, Tugwell NP, 1997.** *Beauveria Bassiana* (Deuteromycotina: Moniliales) effects on *lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae). J. Entomol. Sci. 32, 79-90.
- **Strider, D.L. 1969.** Bacterial canker of tomato caused by *Corynebacterium michiganense*: a literature review and bibliography. Technical Bulletin North Carolina Agricultural Experiment Station, No. 193.
- **Strobel G. A.** Microbial gifts from rain forests. *Can J Plant Phenol* 2002a; **24**: 14-20.
- **Strobel G. A.** Rainforest endophytes and bioactive products. *Critical Reviews in Biotechnology* 2002b; **22**: 315-333.
- **Strobel G. A., Hess W. M. and Li J.-Y.** *Pestalotiopsis guepinii*, a taxol-producing endophyte of the wollemi pine, *Wollemia nobilis*. *Australian Journal of Botany* 1997; **45**: 1073-1082.
- **Strobel G. A., Yang X., Sears J., Kramer R., Sidhu R. S. and Hess W. M.** Taxol from *Pestalotiopsis microspora*, an endophytic fungus of *Taxus wallichiana*. *Microbiology* 1993; **142**: 435-440.
- **Strobel G. and Daisy B.** Bioprospecting for microbial endophytes and their natural products. *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 2003; **67**: 491-502.
- **Strobel G., Daisy B., Castillo U. and Harper J.** Natural products from endophytic microorganisms. *Journal of Natural Products* 2004; **67**: 257-268.

Références bibliographiques

- **Sutton, J.C., Li, D.W., Gang, P., Hai, Y. and Zhang, P. 1997.** Gliocladium roseum a versatile adversary of a Botrytis cinerea in crops. Plant Disease, 81, 316-328.
- **Tadela, T. et Pringle, K.L. 2003.** Food consumption by *Cllilo par/el/us* (Lepidoptera: Peralidae) larvae infected with *Beauveria bassiana* and *Metharizium anisopliae* and effects of feeding natural versus artificial diets on mortality and mycosis. 1. Inv. Pathol. 84: 220-225.
- **Talaei, H.R; Kharazi, P.A; Goettel, M. et Mozaffari, I 2006.** Variation in virulence of *Beauveria bassiana* isolates and its relatedness to some morphological characteristics. Biocontrol. Sei. Technol, 525-534.
- **Todorova, S.J., Côté IC., Martel, P. et Coderre, D. 1994.** Heterogeneity of two *Beauveria bassiana* strains revealed by biochemical tests, protein profiles and bioassays on *Leptinotarsa decemlineata* (Col: Coccinellidae) larvae. Entomophaga. 39: 159-169.
- **Todorova, S.I. 1998.** Caratérisation et utilisation de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin dans les programmes de lutte biologique. Thèse de Doctorat. Université du Québec à Montréal.
- **Todorova, S.I., Cloutier, C., Côté, Ie. et Coderre, D. 2002a.** Pathogenicity of six isolates of *Beauveria bassiana* (balsamo) vuillemin (Deuteromycotina, hyphomycetes) to *Perillus bioculatus* (Hem: Pentatomidae). I Appl. Ent. 126: 182-185.
- **Todorova, S.I., Coderre, D., Côté, IC. et Vincent, e. 2002b.** Screening of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) isolates against *Choristoneura rrosaceana* (Lepidoptera : Tortricidae). Cand. Entomol. 134 : 77-84.
- **Todorova, S.I., Côté, IC. et Coderre, D. 1996.** Evaluation of the effects two *Beauvveria bassiana* (Balsamo) vuillemin srtains on the development of *Coleomegilla macuiatae ieIlgi* Timberlal{e (col, Coccinellidae). I Appi. Ent. 120: 159-163.
- **Tong-kwee, L., Muhamad, R., Fee Gait, C. andLan Chiew, C.1989.** Studies on *Beauveria bassiana* isolated from the cocoa mirid,*Helopeltis theobromae*. Crop Protection 8:358-362.
- **Torres J.B., Evangelista J.R., Barras R. et Guedes R.N.C., 2002.** Dispersal of *Podiusnigrispinus* (Het.,Pentatomidae) nymphs preying stiation level. Journa Appl. Ent, 126, 326-332.

Références bibliographiques

- **Trottin-Caudal Y., Fournier C., Leyre J.M., Decognet V., Romiti C., Pinot P.C. et Bardin M., 2003.** Efficiency of plant extract from *reynoutrica sachalinensis*.
- **Tunlid A, Jansson S. 1991.** Proteases and their involvement in the infection and immobilization of nematodes by the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora*. *Appl Environ Microbiol* ; 57 : 2868-72.
- **Tunlid A, Rosen S, EK B, Rask L 1994.** Purification and characterisation of an extracellular serine protease from nematode-trapping fungus *arthrobotrys oligospora*. *Microbiology*;140 :1687-95.
- **Urbaneja, H. Monto'n, O. Molla, 2009:** Suitability of the tomato borer *Tuta absoluta* as prey for *Macrolophus caliginosus* and *Nesidiocoris tenuis*. *J Appl Entomol* 133:292–296.
- **Urbanja A., Verccher R., Navarro V., Gracia Mari F., Porcuna JL. , la polilla del tomate, *Tuta absoluta*. Phytoma, Espanano. 194,16-23.**
- **Van Larebeke N., Engler G., Holsters M., Van Den Elsacker S., Zaenenb I., Schilperrort R.A., Schell J., 1974-** Large plasmid in *agrobacterium tumefaciens* essential for grown gall-inducing ability. *Nature* 252, pp : 169-170.
- **Van Look, L.C. (2007).** Plant responses to plant growth promoting rhizobacteria. *European journal of Plant Pathology*, in press.
- **Vega F. E., Posada F., Aime M. C., Ripoll M. P., Infante F. and Rehner S. A.** Entomopathogenic fungal endophytes. *Biological Control* 2008; **46**: 72-82.
- **Vessey J.K. (2003).** «Plant growth-promoting rhizobacteria as biofertilizers ». *Plant and soil* 255 : 571-586.
- **Wang K .G., Ferguson A. et Shipp J.L., 1998.** Incidence of tomato pinworm *keiferia Lycopersicollor walsingham* (*Lepidoptera Géléchiidae*) on green house tomato in southern Ontario and its control using mating description. Pp 122-136.
- **Welbaum, G., Sturz A.V., Dong, Z. and Nowak, J. (2004).** « Fertilizing soil microorganisms to improve productivity og agro ecosystems ». *Critical Review in Plant Science* 23 : 175-193.
- **Whipps, J.M. 2001.** Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 52:487-511.
- **Wipps, J.M. (2001).** « Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere ». *Journal of Experimantal Botany* 52 : 487-511.
- **Zabalgoeazcoa I.** Fungal endophytes and their interaction with plant pathogens. *Spanish Journal of Agricultural Research* 2008; **6**: 138-146.

Références bibliographiques

- **Zhang H. W., Song Y. C. and Tan R. X.** Biology and chemistry of endophytes. *Natural Product Reports* 2006; **23**: 753-771.
- **Zhao, M. L., Huang, J. S., Mo, M. H. & Zhang, K. Q. (2005).** Fungal Divers. 19, 217–234.
- **Zimmermann, G. 2007.** Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*, *Biocontrol Science and Technology* 17: 1-44.

Annexes A :

Composition des milieux de culture utilisés pour un litre de milieu :

Milieu de culture PDA (Jonsthor et Booth, 1983).

Pomme de terre 200 g

Dextrose 15 g

Agar 20 g

PH= 6.5

Milieu de culture de lait écrémé (Sunish Kumar et *al.*, 2005).

Caseine 5g

Extrait de levure 2.5g

Glucose 1g

Agar 20g

Solution de 7% de lait écrémé

PH= 7.5

Annexes B :

Résultats des analyses statistiques :

Tableau 1 : modèle G.L.M appliqué aux essais de traitement sur les populations de *Tuta absoluta*.

| Source | Somme des carrés | DDL | Moyen des écarts | F-ratio | P |
|-------------|------------------|-----|------------------|---------|-------|
| Traitements | 148.697 | 6 | 24.783 | 17.157 | 0.000 |
| Erreur | 21.667 | 15 | 1.444 | - | - |

Tableau 2 : modèle G.L.M appliqué aux essais de traitement sur les populations de *Tuta absoluta*.

| source | Somme des carrés | DDL | Moyen des écarts | F-ratio | P |
|-------------|------------------|-----|------------------|---------|-------|
| Traitements | 147.318 | 6 | 24.553 | 15.346 | 0.000 |
| Erreur | 24.000 | 15 | 1.4600 | - | - |

Tableau 3 : modèle G.L.M appliqué aux essais de traitement sur les populations de *Tuta absoluta*.

| source | Somme des carrés | DDL | Moyen des écarts | F-ratio | P |
|-------------|------------------|-----|------------------|---------|-------|
| Traitements | 157.106 | 6 | 26.184 | 33.666 | 0.000 |
| Erreur | 11.667 | 15 | 0.778 | - | - |