

Lutte biologique contre la bruche en milieu tropical et tempéré selon deux modèles d'études, *Bruchus rufimanus* Boheman 1833 et *Callosobruchus maculatus* (Fabricius 1775) (COLEOPTERA, Chrysomelidae)

Auteur : Rodrigue Lugendo, Adrien

Promoteur(s) : Francis, Frédéric

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master de spécialisation en production intégrée et préservation des ressources naturelles en milieu urbain et péri-urbain

Année académique : 2021-2022

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/16322>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

Lutte biologique contre la bruche en milieu tropical et tempéré selon deux modèles d'études, *Bruchus rufimanus* Boheman 1833 et *Callosobruchus maculatus* (Fabricius 1775) (COLEOPTERA, Chrysomelidae)

RODRIGUE LUGENDO ADRIEN

**TRAVAIL DE FIN D'ETUDES PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU
DIPLOME DE MASTER DE SPECIALISATION EN PRODUCTION INTEGREE
ET PRESERVATION DES RESSOURCES NATURELLES EN MILIEU URBAIN ET
PERI-URBAIN**

ANNEE ACADEMIQUE 2021-2022

PROMOTEUR : PR. FREDERIC FRANCIS

ENCADRANT : ARNAUD SEGERS

"Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de Gembloux Agro-Bio Tech."

"Le présent document n'engage que son auteur."

Lutte biologique contre la bruche en milieu tropical et tempéré selon deux modèles d'études, *Bruchus rufimanus* Boheman 1833 et *Callosobruchus maculatus* (Fabricius 1775) (COLEOPTERA, Chrysomelidae)

RODRIGUE LUGENDO ADRIEN

**TRAVAIL DE FIN D'ETUDES PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU
DIPLOME DE MASTER DE SPECIALISATION EN PRODUCTION INTEGREE
ET PRESERVATION DES RESSOURCES NATURELLES EN MILIEU URBAIN
ET PERI-URBAIN**

ANNEE ACADEMIQUE 2021-2022

PROMOTEUR : PR. FREDERIC FRANCIS

ENCADRANT : ARNAUD SEGERS

Dédicace

A mon regretté Papa Lugendo Itabo Dismas parti si tôt de ce monde et à ma Maman Machozi Kachelewa Godelive,

A ma chère et tendre épouse Wabiwa Floride et à mes enfants Mkongwa Lugendo Uriel, Lutonde Lugendo Leslie,

A toute ma famille, amis et connaissances,

Je dédie ce travail

Remerciements

L'élaboration du présent travail est l'œuvre des efforts combinés de différentes personnes à qui l'obligation nous reviens d'exprimer notre reconnaissance.

Nous adressons en premier lieu nos très sincères remerciements au bon Dieu pour nous avoir ouvert cette opportunité de recherche, donné la santé et la force d'aboutir à son terme ainsi qu'au Professeur Frédéric Francis et à Mr Arnaud Segers promoteur et encadrant de ce travail d'avoir accepté malgré leurs multiples tâches et devoirs, d'encadrer cette recherche avec toute attention et ouverture d'esprit en disponibilisant tout le nécessaire pour son aboutissement.

Nous exprimons nos sentiments de gratitude à l'Université de Liège pour nous avoir accordé cette opportunité de bourse d'étude de master et contribué énormément à notre formation, au Professeur Haissam Jijakli, coordonnateur du master PPRN pour avoir usé de son temps pour nous contacter et nous informer de notre sélection ainsi qu'à Mme Lindsay Lebeau pour nous avoir guidé sans relâche du début à la fin du processus de notre voyage,

A notre institution d'attache, l'Institut Supérieur Pédagogique Bukavu (ISP/Bukavu) d'avoir accepté de nous détacher momentanément de notre charge d'enseignement afin de nous permettre d'accéder à cette formation et de renforcer nos connaissances et compétences,

A toute l'équipe du laboratoire d'entomologie fonctionnelle et évolutive de la faculté de Gembloux Agro-biotech particulièrement au Dr Ibtissem Ben Fekir pour toute forme d'accompagnement nous apporté durant cette recherche,

Au Dr Gaston Amzati Sefu pour sa contribution apporté au présent travail,

A toute ma famille, amis et connaissances pour toute forme de soutien nous apporté durant cette formation ainsi qu'à toute personne ayant d'une manière ou d'une autre apporté sa contribution pour la réalisation de ce travail et dont le nom ne figure sur la présente page.

Résumé

Les bruches constituent une sérieuse menace de légumineuses à graines à l'échelle mondiale. Dans le but de contribuer à la mise en place d'une lutte biologique efficace contre *B. rufimanus* (bruche de la féverole) en milieu tempéré et *C. maculatus* (bruche du niébé) en milieu tropical compte tenu des externalités négatives de la lutte chimique, la présente étude a porté sur des investigations visant à effectuer un état de lieux sur la diversité d'espèces de bruches et de parasitoïdes associées aux cultures de féverole en région Wallonne, caractériser les impacts causés par *B. rufimanus* aux graines de féverole collectées dans 8 sites de production en Wallonie (Ciney, Battice, Verdenne, Assesse, Isnes, Bierwart, Rebecq, Beho), évaluer l'effet variétal sur les dégâts causés par *B. rufimanus* aux graines de 24 variétés de féverole provenant d'un site d'essai du Cépiscop de Gembloux de 2021 et évaluer la pathogénicité de souches GHA de *B. bassiana*, USDA 4556 et V275 de *M. brunneum* sur le contrôle biologique de 2 espèces de bruches en étude au laboratoire. Les résultats d'identifications de 534 spécimens collectés après émergences en 2021 sur graines de féverole échantillonnées dans les 8 sites de production confirment *B. rufimanus* comme principale espèce de bruche associée aux cultures de féverole en région Wallonne (avec 531 spécimens identifiés) aux cotés de 3 autres espèces identifiées s'agissant de *Gastrophysa viridula*, *Psylliodes chrysocephala* et *Rhinoncus bruchoides*. Il ressort des résultats obtenus que le site de culture de la féverole et la variété ont un effet très significatif sur les infestations causées aux graines par *B. rufimanus*. Les graines collectées à Ciney ont été les plus infestées ($35,0 \pm 6,0\%$) contrairement à celles prélevées à Battice ($4,0 \pm 3,6\%$). Les variétés Axel et Irena ont été les plus impactées par *B. rufimanus* ($48,5 \pm 9,1\%$; $40,0 \pm 7,1\%$) contrairement à Nanaux et Tiffany ($10,0 \pm 8,1\%$; $10,5 \pm 3,0\%$). Les tests de pathogénicité effectués durant 10 jours d'essai au laboratoire confirment une efficacité élevée de la souche GHA de *B. bassiana* par rapport aux souches USDA 4556 et V275 de *M. brunneum* sur les 2 espèces de bruches en étude. Des mortalités évaluées à 96,6%, 88,3% ; 86,6% ont été obtenues au 10^e jour d'essai respectivement par les souches GHA; USDA 4556 et V275 sur *B. rufimanus*. Par ailleurs, sur *C. maculatus* ; un taux de mortalité de 100% d'adultes traités était obtenu au 7^e jour d'essai avec la souche GHA contre 98,3% ; 88,3% de mortalités observées au 10^e jour par USDA 4556 et V275. Les mortalités de *C. maculatus* sur semences du niébé traitées aux suspensions fongiques étaient de 100% au 9^e jour pour la souche GHA contre 91,6% et 86,6% pour USDA 4556 et V275 au 10^e jour. Les TL50 observés étaient de 4 ; 6 et 7 jours sur *B. rufimanus* et de 5 ; 6 et 6 à 7 jours sur *C. maculatus* respectivement pour les souches GHA, USDA 4556 et V275. Les 3 souches testées ont significativement réduit la fécondité de *C. maculatus*.

Mots-clés : Bruches, *Bruchus rufimanus*, *Callosobruchus maculatus*, lutte biologique

Abstract

Bruchids are a serious threat to seed legumes worldwide. In order to contribute to the implementation of an efficient biological control against *B. rufimanus* (faba bean bruchid) in temperate environment and *C. maculatus* (cowpea bruchid) in tropical environment taking into account the negative externalities of chemical control, the present study focused on investigations aiming at carrying out an inventory of the diversity of bruchid species and parasitoids associated with faba bean crops in the Walloon region, characterizing the impacts caused by *B. rufimanus* on faba bean seeds collected in 8 production sites in Wallonia (Ciney, Battice, Verdenne, Assesse, Isnes, Bierwart, Rebecq, Beho), to evaluate the varietal effect on the damage caused by *B. rufimanus* on the seeds of 24 faba bean varieties from a Cépico test site in Gembloux in 2021 and to evaluate the pathogenicity of *B. bassiana* GHA, USDA 4556 and *M. brunneum* V275 strains on the biological control of 2 bruchid species under study in the laboratory. The identification results of 534 specimens collected after emergence in 2021 on faba bean seeds sampled in the 8 production sites confirm *B. rufimanus* as the main bruchid species associated with faba bean crops in the Walloon region (with 531 specimens identified) alongside 3 other identified species, namely *Gastraphysa viridula*, *Psylliodes chrysocephala* and *Rhinoncus bruchoides*. The results obtained show that the cultivation site of the bean and the variety have a very significant effect on the infestation of the seeds by *B. rufimanus*. Seeds collected in Ciney were the most infested ($35.0 \pm 6.0\%$), while those collected in Battice were the least infested ($4.0 \pm 3.6\%$). The varieties Axel and Irena were the most affected by *B. rufimanus* ($48.5 \pm 9.1\%$; $40.0 \pm 7.1\%$) in contrast to Nanaux and Tiffany ($10.0 \pm 8.1\%$; $10.5 \pm 3.0\%$). Pathogenicity tests carried out during a 10 days laboratory trial confirmed the high efficacy of *B. bassiana* strain GHA compared to *M. brunneum* strains USDA 4556 and V275 on the two bruchid species under study. Mortalities evaluated at 96.6%, 88.3% and 86.6% were obtained on the 10th day of the test by the GHA, USDA 4556 and V275 strains respectively on *B. rufimanus*. On the other hand, on *C. maculatus*; a 100% mortality rate of treated adults was obtained on day 7 of the test with the GHA strain against 98.3%; 88.3% mortality observed on day 10 by USDA 4556 and V275. Mortalities of *C. maculatus* on cowpea seeds treated with fungal suspensions were 100% on day 9 for strain GHA compared to 91.6% and 86.6% for USDA 4556 and V275 on day 10. The TL50s observed were 4; 6 and 7 days for *B. rufimanus* and 5; 6 and 6 to 7 days for *C. maculatus* for the GHA, USDA 4556 and V275 strains respectively. All 3 strains tested significantly reduced the fecundity of *C. maculatus*.

Keywords: Bruchus, *Bruchus rufimanus*, *Callosobruchus maculatus*, biological control

Abréviations

%	: Pourcentage
°C	: Température en degré Celsius
B.b (GHA)	: Souche commerciale GHA de <i>Beauveria bassiana</i>
Cepicop	: Centre pilote Wallon Céréales et Oléo-protéagineux
gr	: Gramme
INRAE	: Institut nationale de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement
Jr	: Jour
L.Cyh	: Lambda-cyhalothrine
Masse tot.	: Masse totale
ml	: Millilitre
Mme	: Madame
Mr	: Monsieur
Nbre	: Nombre
OS	: Objectif spécifique
PMG	: Poids de mille graines
PPRN	: Production intégrée et préservation des ressources naturelles en milieu urbain et péri-urbain
Réf.	: Référence
SD	: Standard déviation ou écart-type
SDA	: Sabouraud Dextrose Agar
SDB	: Sabouraud Dextrose Broth
T0	: Témoin ou contrôle
TL50	: Temps létal 50%
USDA 4556	: Souche USDA 4556 de <i>Metarhizium brunneum</i>
V275	: Souche V275 de <i>Metarhizium brunneum</i>

Table des matières

Dédicace	I
Remerciements	II
Résumé	III
Abstract	IV
Abréviations	V
Table des matières	VI
Liste de Figures	IX
Liste de Tableaux	XI
Liste des Annexes.....	XII
1. Introduction	1
1.1. Les légumineuses, intérêts et inconvénients en milieu tropical et tempéré.....	1
1.2. Les bruches, principaux ravageurs des graines de légumineuses.....	4
1.2.1. Taxonomie.....	4
1.2.2. Caractéristiques morphologiques	4
2. Cas d'études : <i>Bruchus rufimanus</i> et <i>Callosobruchus maculatus</i>	6
2.1. Modèle d'étude tempéré : <i>Bruchus rufimanus</i>	6
2.1.1. Origine, Taxonomie et distribution	6
2.1.2. Plantes hôtes	6
2.1.3. Biologie et cycle de développement au sein de cultures	6
2.1.4. Caractéristiques morphologiques	8
2.2. Modèle d'étude tropical : <i>Callosobruchus maculatus</i>	9
2.2.1. Origine, Taxonomie et distribution	9
2.2.2. Plantes hôtes	9
2.2.3. Biologie et cycle de développement.....	9
2.2.4. Caractéristiques morphologiques	10
2.3. La lutte biologique et lutte contre les bruches en milieux tempérés et tropicaux	11
2.3.1. La lutte biologique.....	11
2.3.2. Lutte contre les bruches en milieu tropical et tempéré.....	12

3.	Objectifs de la recherche	19
4.	Matériel et méthodes	20
4.1.	Evaluation de la diversité d'espèces de bruches et de parasitoïdes associées aux cultures de féverole en Région wallonne (OS 1.1).....	20
4.2.	Caractérisations des taux d'infestations des graines de la féverole collectées dans les différentes régions bioclimatiques de la Wallonie (OS 2.2).....	22
4.3.	Caractérisation de l'effet variétal sur les dégâts causés aux graines par <i>Bruchus rufimanus</i> (OS 2.3)	23
4.4.	Tests entomopathogènes sur <i>Bruchus rufimanus</i> et <i>Callosobruchus maculatus</i> (OS 2.1 et 2.2).....	24
4.4.1.	Elevages de <i>Bruchus rufimanus</i> et <i>Callosobruchus maculatus</i>	24
4.4.2.	Souches de champignons entomopathogènes.....	25
4.4.3.	Préparation des suspensions de conidies	26
4.4.4.	Test de viabilité de spores de champignons entomopathogènes	26
4.5.	Dispositifs expérimentaux des tests in vitro de pathogénicité.....	28
4.5.1.	Représentations schématiques de dispositifs expérimentaux de tests entomopathogènes effectués au laboratoire	31
4.6.	Analyses statistiques.....	33
5.	Résultats	34
5.1.	Diversité d'espèces de bruches et de parasitoïdes associées aux cultures de féverole en région Wallonne	34
5.2.	Impacts causés aux graines de féverole par <i>Bruchus rufimanus</i> dans différents sites d'échantillonnage de la Wallonie	36
5.3.	Effet variétal sur les dommages causés aux graines par <i>Bruchus rufimanus</i>	39
5.4.	Pathogénicité de souches de champignons entomopathogènes testées sur la bruche tempérée <i>Bruchus rufimanus</i> et la bruche tropicale <i>Callosobruchus maculatus</i>	41
5.4.1.	Efficacité des souches GHA, USDA 4556 et V275 sur la mortalité d'adultes de <i>Bruchus rufimanus</i>	41
5.4.2.	Efficacité des souches GHA, USDA 4556 et V275 sur la mortalité d'adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i>	42
5.4.3.	Efficacité de souches GHA, USDA 4556 et V275 sur la fécondité de <i>Callosobruchus maculatus</i>	43

5.4.4. Efficacité des souches GHA, USDA 4556 et V275 appliquées aux semences (graines) du niébé sur la mortalité d'adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i> , la ponte au 5 ^e jour et la conservation de graines pendant 25 jours.	44
6. Discussion.....	48
6.1. Diversité d'espèces de bruches et de parasitoïdes associées aux cultures de féverole en région Wallonne	48
6.2. Impacts causés aux graines de la féverole collectées dans différentes régions bioclimatiques de la Wallonie par <i>Bruchus rufimanus</i>	49
6.3. Effet variétal sur les dommages causés aux graines par <i>Bruchus rufimanus</i>	49
6.4. Efficacité des souches GHA, USDA 4556 et V275 sur les adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i> et de <i>Bruchus rufimanus</i>	50
7. Conclusion et Perspectives	55
8. Références bibliographiques	57
9. Annexes	68

Liste de Figures

Figure 1: Face dorsale (côté gauche) et de profil (côté droit) type de Bruchinae	4
Figure 2: Cycle de développement de <i>Bruchus rufimanus</i>	7
Figure 3: Présentation morphologique de <i>Bruchus rufimanus</i> et dimorphisme sexuel	8
Figure 4 :Vue dorsale du mâle (a) et de la femelle (b) de <i>Callosobruchus maculatus</i> . illustration de la coloration de la plaque abdominale postérieure (pygidium) spécifique au sexe	10
Figure 5: Localisation de huit sites d'échantillonnage dans différentes régions bioclimatiques de la région Wallonne: 1=Rebecq, 2=Isnes ,3= Bierwart, 4=Assesse,5=Ciney, 6=Verdenne, 7=Battice,8=Beho	20
Figure 6: Illustration de la mise en collection de spécimens de bruches (b,c,d) et de parasitoïdes (e,f) collectés après émergences sur les échantillons de graines de féverole prélevées dans 8 sites de production de la Wallonie et conservées à l'éthanol 70% (a) au laboratoire	21
Figure 7: Détermination de taux d'infestations (b) causés par <i>Bruchus rufimanus</i> aux graines de la féverole sur les échantillons de graines (a) collectés dans 8 sites de production de la Wallonie	22
Figure 8: Détermination de taux d'infestations (a) causés aux graines de 24 variétés de féverole (b) par <i>Bruchus rufimanus</i> au laboratoire	23
Figure 9: Collecte d'individus de <i>Bruchus rufimanus</i> sur graines après émergences (a) et leur mise en diapause reproductive au frigo (b) et élevage de <i>Callosobruchus maculatus</i> en cages (c) et en boîtes plastiques (d,e) au laboratoire	24
Figure 10: Germination de la souche GHA de <i>Beauveria bassiana</i> sur boites de pétri après repiquage au laboratoire	25
Figure 11: Germination de souches USDA 4556 (a) et V275 (b) de <i>Metarizhium brunneum</i> sur boites de pétri après repiquage au laboratoire	26
Figure 12: Prélèvement de portions du SDA pour détermination de la viabilité de spores (a) et illustration de spores en germination (b)	27
Figure 13: Vaporisation manuelle des suspensions de conidies de souches de champignons entomopathogènes testées sur les individus de 2 espèces bruches en étude (a,b), traitements de graines aux suspensions fongiques (c) et disposition d'individus traités de <i>Bruchus rufimanus</i> (d) et de <i>Callosobruchus maculatus</i> (e) en boites d'essai au laboratoire	30

Figure 14: Disposition de différents traitements (a), d'adultes traités de <i>Bruchus rufimanus</i> (b) et de <i>Callosobruchus maculatus</i> (c) et ceux de <i>Callosobruchus maculatus</i> sur graines traitées aux suspensions conidiennes (d) au sein des boites d'essai au cours d'expérimentations	32
Figure 15: Taux d'infestations moyens en (%) enregistrés sur graines de féverole (B) en fonction des sites d'échantillonnage localisés dans différentes régions bioclimatiques de la région Wallonne (A).....	36
Figure 16: Taux d'infestations moyens en (%) enregistrés sur graines de 11 variétés de féverole d'Hiver.	39
Figure 17: Taux d'infestations moyens en (%) enregistrés sur graines de 13 variétés de féverole de printemps.	40
Figure 18: Evolution des courbes de survie d'adultes de <i>Bruchus rufimanus</i> traités au cours de 10 jours d'essai en fonction de traitements appliqués.	41
Figure 19: Evolution des courbes de survie d'adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i> traités au cours de 10 jours d'essai en fonction de traitements appliqués.	42
Figure 20: Efficacité de souches de champignons entomopathogènes testées sur la ponte de femelles de <i>Callosobruchus maculatus</i> pendant 10 jours d'essai.	43
Figure 21: Evolution des courbes de survie d'adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i> placés sur graines traitées aux suspensions fongiques pendant 10 jours d'essai.	44
Figure 22: Efficacité des traitements appliquées sur graines du niébé sur la ponte de <i>Callosobruchus maculatus</i> au 5e jour d'essai.	45
Figure 23: Taux d'infestations moyens en (%) enregistrés sur graines du niébé traitées après 25 jours de conservation en fonction de traitements appliqués.	46

Liste de Tableaux

Tableau 1: Comparaison des méthodes de lutte utilisées contre <i>Bruchus rufimanus</i> en milieu tempéré et <i>Callosobruchus maculatus</i> en milieu tropical	12
Tableau 2: Espèces identifiées dans les 8 sites d'échantillonnage de la Région wallonne	34
Tableau 3: Caractéristiques des échantillons de graines de féveroles collectés sur huit sites de culture en Région wallonne.....	38

Liste des Annexes

Annexe 1 : Cadavres de <i>Bruchus rufimanus</i> et <i>Callosobruchus maculatus</i> en incubation sur boites de pétri.....	68
Annexe 2 : Détermination de la concentration de suspensions fongiques et de la viabilité de spores de souches testées et suivi des bruches mortes par traitements fongiques placées en incubation sur boites de pétri.....	68
Annexe 3 : Développement de l'infection causée par la souche GHA de <i>Beauveria bassiana</i> sur les cadavres de <i>Bruchus rufimanus</i> et de <i>Callosobruchus maculatus</i> du 1 ^{er} au 10e jour d'incubation des cadavres.....	69
Annexe 4 : Développement de l'infection causée par la souche USDA 4556 de <i>Metarhizium brunneum</i> sur les cadavres de <i>Bruchus rufimanus</i> et de <i>Callosobruchus maculatus</i> du 1 ^{er} au 10e jour d'incubation des cadavres.....	70
Annexe 5 : Développement de l'infection causée par la souche V275 de <i>M. brunneum</i> sur les cadavres de <i>Bruchus rufimanus</i> et de <i>Callosobruchus maculatus</i> du 1 ^{er} au 10e jour d'incubation des cadavres.....	71
Annexe 6 : Tableau récapitulatif des résultats du modèle de Poisson des taux d'infestations de graines de féverole par <i>Bruchus rufimanus</i> collectées dans 8 sites d'échantillonnage en Région wallonne	72
Annexe 7 : Tableau récapitulatif des résultats du modèle de Poisson des taux d'infestations des 11 variétés de féverole d'hiver analysées au laboratoire.....	72
Annexe 8 : Tableau récapitulatif des résultats du modèle de Poisson de taux d'infestations de 13 variétés de féverole de printemps analysées au laboratoire.....	73
Annexe 9 : Tableau récapitulatif des résultats du modèle de Poisson sur la ponte d'adultes de <i>Callosobruchus maculatus</i> placées sur graines du niébé traitées au 5 ^e jour d'essai.....	73
Annexe 10 : Tableau récapitulatif des résultats du modèle de Poisson sur le nombre d'œufs par graine enregistré tous les 3 jours durant 10 jours d'essai auprès d'adultes traités de <i>Callosobruchus maculatus</i>	74
Annexe 11 : Tableau récapitulatif des résultats du modèle de Poisson de taux d'infestations de graines par <i>Callosobruchus maculatus</i> enregistrés sur graines du niébé traitées après 25 jours de conservation.....	74
Annexe 12 : Dispositif expérimental de l'essai de 24 variétés de féverole analysées au laboratoire.....	74

1. Introduction

1.1. Les légumineuses, intérêts et inconvénients en milieu tropical et tempéré

Les légumineuses à graines font partie des cultures d'intérêts majeurs à l'échelle mondiale grâce à leurs services rendus à multiples échelles. Premièrement, grâce à leurs immenses contributions à l'alimentation humaine (FAO,2016), à l'amélioration de la productivité des sols et des rendements des cultures (Huignard *et al.*, 2011; Rachwa-Rosiak *et al.*, 2015), ainsi qu'aux revenus importants procurés aux producteurs en milieu tropical et tempéré par les produits récoltés (Huignard *et al.*, 2011).

De plus, leur teneur accrue en protéine, en sels minéraux et leur bonne digestibilité (Pointereau, 2001) leur confèrent le statut d'un fourrage de haute valeur alimentaire et très apprécié en milieu tropical et tempéré (Roberge & Hainnaux, 1975) permettant aux fermiers d'accroître leurs productions animales, d'obtenir des produits (viande, lait...) de haute qualité (Baumont *et al.*, 2016) et d'assurer une production régulière et à long terme (Baumont & Niderkorn, 2011).

Du point de vue écologique et environnemental, l'introduction des légumineuses dans les rotations contribue à la réduction de la pollution atmosphérique par la réduction partielle des quantités de fertilisants chimiques apportées aux cultures (Köpke & Nemecek, 2010). Leur apport en azote au sol est estimée entre 75 à 150 Kg/ha (Huignard *et al.*, 2011). Elles contribuent également à la protection des sols contre les érosions hydriques (Roberge & Hainnaux, 1975) et constituent des potentiels supports de la biodiversité (Thiebeau *et al.*, 2015).

Parmi elles figurent la féverole (*Vicia faba* L., Fabaceae) cultivée en région tempérée, au Maghreb et en moyen orient comme fourrage et denrée humaine (Roubinet, 2016; Titouhi *et al.*, 2017) et le niébé (*Vigna inguiculata* (L.)Walp., Fabaceae), une culture tropicale essentielle pour la sécurité alimentaire des populations africaines avec près de 200 millions de personnes tributaires de cette source de protéines végétales (Bello *et al.*, 2019; Walp *et al.*, 2011).

Cependant, les légumineuses à graines sont soumises à des fortes pressions parasitaires (A. Delobel *et al.*,1993) au champ et durant le stockage des graines dues principalement aux Coléoptères de la sous famille des Bruchinae (Chrysomelidae), communément appelés « bruches » (Huignard *et al.*, 2011). Ces ravageurs impactent quantitativement et

qualitativement la production (Dibangou *et al.*, 2021; Huignard *et al.*, 2011). Selon Johnson & Kingsolver (1981), 80 pourcents de Coléoptères issus de la famille de Bruchinae sont associées aux légumineuses comme hôtes préférentiels.

En fonction du comportement de ponte de femelles et de la nature de leurs dégâts, l'on distingue deux principaux groupes fonctionnels chez les bruches. Le premier rassemble les espèces généralement univoltines s'attaquant aux légumineuses en pleine culture. Les femelles pondent sur les premières gousses produites et les larves se développent dans les graines en formation jusqu'au stade adulte, cas de *Bruchus rufimanus* Boheman 1833 communément appelé bruche de la fève (György & Stojanova, 2014; Segers *et al.*, 2021). Le second groupe réunit les espèces habituellement polyvoltines dont les femelles pondent sur les graines ou sur les gousses sèches en cultures ou au sein des dispositifs de stockage, cas de *Callosobruchus maculatus* (Fabricius 1775) connue sous l'appellation de la bruche du niébé (Bouchikhi-Tani Zoheir *et al.*, 2011; Huignard *et al.*, 2011; Seidenglanz & Huñady, 2016).

Néanmoins, la lutte contre *B. rufimanus* et *C. maculatus* par les producteurs repose principalement sur le recours aux insecticides synthétiques spécialement les pyréthrinoïdes et les néonicotinoïdes sur féverole en milieu tempéré (Ward, 2018) et la pulvérisation des insecticides fumigènes sur graines sèches du niébé entreposées en milieu tropical (Omoigui *et al.*, 2009) avec plusieurs répercussions négatives sur le plan sanitaire, environnementale et écologique (Yu, 1992, Roubos *et al.*, 2014; Zongo *et al.*, 2015).

De plus, en région tropicale, la fumigation des graines sèche du niébé fait face à plusieurs contraintes d'ordre logistique notamment un accès réduit des producteurs aux produits et équipements de pulvérisation et de protection de qualité suite à leurs chertés, le manque de formation d'agriculteurs sur la manipulation de produits et des équipements ainsi que la méconnaissance par la majorité de producteurs des produits agréés au niveau local (Zongo *et al.*, 2015). Face à ces multiples défis, la plupart des producteurs recourent aux pratiques traditionnelles pour pallier les dommages causés par les bruches aux graines telles que l'incorporation du sable, de la cendre ou d'extrait poudreux de plantes aromatiques locales au stock de graines, le séchage répété de graines, le stockage hermétique (Viaud, 1983) dont la performance reste très limitée et adaptée aux productions à petite échelle (Huignard *et al.*, 2011).

Compte tenu des externalités négatives résultant de la lutte chimique, la réflexion sur des méthodes alternatives de lutte s'avère très cruciale (Wahid H.Dakhel *et al.*, 2019). Parmi

celles-ci la lutte biologique constitue une alternative à multiples avantages, notamment grâce à son caractère écologique, l'absence d'impact sanitaire et environnemental, sa flexibilité vis-à-vis des cultures et sa plus-value vis-à-vis de produits récoltés (Lambert, 2010). Parmi les agents de lutte biologique, les champignons entomopathogènes constituent des sérieux prétendants compte tenu de leurs performances vis-à-vis d'une multiplicité de ravageurs de cultures (P.Grison, 1961; Zimmermann, 2007) parmi lesquels figurent les bruches de légumineuses.

1.2. Les bruches, principaux ravageurs des graines de légumineuses

1.2.1. Taxonomie

La première recherche solide sur la classification des bruches résulte de la création d'une clé d'identification morphologique des adultes au nord du Mexique et est l'œuvre de Bridwell (Bridwell, 1946; Southgate, 1979). Selon la classification taxonomique moderne, les bruches sont des coléoptères classées au sein de la sous-famille de Bruchinae, famille de Chrysomelidae (Coleoptera : Chrysomelidae : Bruchinae) (Borowiec, 1988; KERGOAT, 2004; Lawrence & Newton, 1982; Lecointre & Visset, 2001; Mann & Crowson, 2007; Ron Beenen, 2010). En termes de diversité ; les bruches représentent un groupe minoritaire de 1700 espèces au sein des 135 000 espèces de coléoptères reconnues en tant que bioagresseurs de cultures (Lawrence & Newton, 1982). Elles sont caractérisées par une grande plasticité écologique qui explique leurs présences sur l'ensemble des continents excepté l'antarctique et plus marquées en zones chaudes (KERGOAT, 2004).

1.2.2. Caractéristiques morphologiques

Les principaux éléments caractéristiques des Coléoptères Bruchinae sont entre autre leur petite stature d'une dimension moyenne de 4mm pour la plupart d'espèces (d'autres allant jusqu'à 25 mm), leurs corps trapus à colorations sans éclat et généralement brunâtre, revêtus d'ailes dures ou élytres (sauf le dernier segment abdominal appelé pygidium) et des poils au niveau de leurs pattes ; l'apparence des 3 premiers tarsomères et du tarsomère final et la présence d'une tête étendue et plus ou moins pointu en position courbé sur l'axe du corps (opisthognate) excepté chez les Rhaebinae (KERGOAT, 2004).

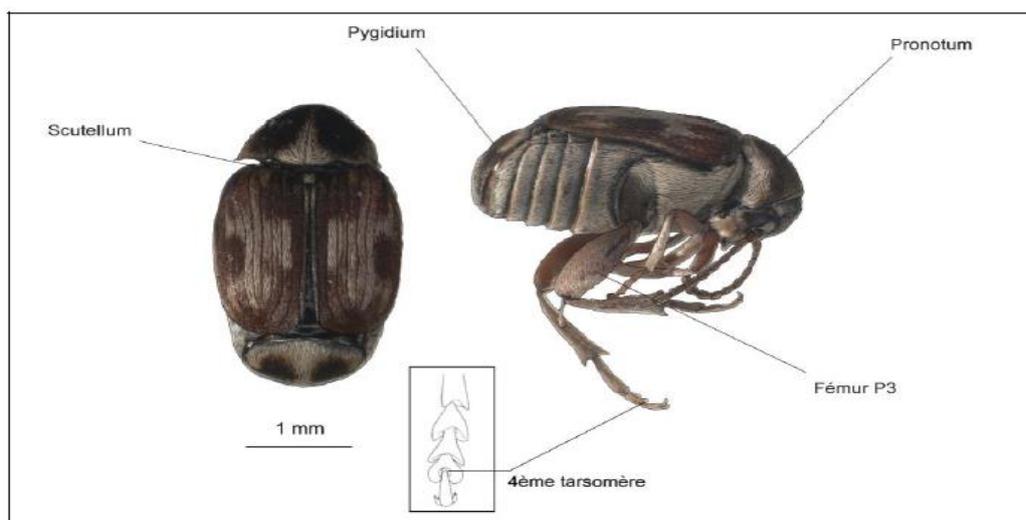


Figure 1: Face dorsale (côté gauche) et de profil (côté droit) type de Bruchinae (KERGOAT, 2004).

Les bruches sont connus à travers le monde comme potentiels ravageurs des graines de légumineuses (Dan *et al.*, 2018; Delobel *et al.*, 2013; Reid & Beatson, 2013; Soares *et al.*, 2015) suite à leurs particularités d'insectes séminivores c'est-à-dire se développant dans les graines en s'en servant comme support pour leurs croissances (Huignard *et al.*, 2011) du stade larvaire jusqu'à l'émergence d'adultes (KERGOAT, 2004).

Economiquement parlant, 30 espèces de Bruchinae issus des genres *Acanthoscelides*, *Bruchus*, *Callosobruchus*, *Caryedon* et *Zabrotes* sont pointées comme responsables des pertes majeures (Kingslover, 2004 ; Segers *et al.*, 2021 ; Kanyinda *et al.*, 2018; Munyuli, 2009; Viteri Jumbo *et al.*, 2014). Ces pertes résultent de l'altération des graines entreposées par leurs perforations conduisant ainsi à la perte de la valeur commerciale de la production (Ward, 2018). Selon Ron Beenen (2010), sept de 14 espèces exotiques de bruches recensées en Europe sont réputées économiquement dangereuses sur graines entreposées de légumineuses s'agissant de de *A. obtectus*, *A. pallidipennis*, *B. pisorum*, *B. rufimanus*, *C. chinensis*, *C. maculatus*, *C. phaseoli* et *Zabrotes subfasciatus*. La majorité de ces espèces ont la capacité d'infester les graines de légumineuses entreposées jusqu'à l'épuisement total des stock (Borowiec L., 1988).

2. Cas d'études : *Bruchus rufimanus* et *Callosobruchus maculatus*

2.1. Modèle d'étude tempéré : *Bruchus rufimanus*

2.1.1. Origine, Taxonomie et distribution

A l'heure actuelle *B. rufimanus* semble avoir une origine inconnue. Différentes études lient son évolution à celle de sa plante hôte *Vicia faba* L. (Ward, 2018). Communément appelée bruche ou charançon de la fève, *B. rufimanus* est un coléoptère issu du genre *Bruchus*, de la sous-famille de Bruchinae et de la famille de Chrysomelidae et connu comme ravageur de la féverole à l'échelle mondiale (Roubinet, 2016; Szafirowska, 2012; Titouhi *et al.*, 2017). L'espèce possède une aire de distribution très large qui couvre toutes les régions productrices de *V. faba* à l'échelle mondiale et particulièrement l'Europe, l'Asie du Sud, l'Amérique du Nord (Roubinet, 2016; Ward, 2018) et l'Afrique précisément dans la région Maghrébine (Huignard *et al.*, 2011).

2.1.2. Plantes hôtes

B. rufimanus a pour hôte phare la féverole (*V. faba*) (Roubinet, 2016; Segers *et al.*, 2022). Cependant, on l'associe également aux diverses espèces appartenant au genre *Vicia* ainsi qu'au pois (*Pisum sativum* L.) (Decelle, 1989).

2.1.3. Biologie et cycle de développement au sein des cultures

Le cycle biologique de *B. rufimanus* est directement lié au cycle de la féverole au champ (Medjdoub-Bensaad *et al.*, 2015). Sa reproduction est liée à la phase végétative et de fructification de la féverole et se déroule en plein culture lorsque les conditions du milieu deviennent favorables. Les pontes s'effectuent sur les gousses en déploiement. Le développement larvaire se poursuit ensuite à l'intérieur des graines en pleine formation jusqu'à l'émergence d'adultes à la récolte. L'espèce possède également la capacité d'émerger au sein des stocks infestés par les œufs sous forme d'insecte adulte (KERGOAT, 2004; Roubinet, 2016). L'on dénombre quatre stades larvaires chez l'espèce (Khelfane-Goucem & Medjdoub-Bensaad, 2016). Pendant l'hiver, les espèces adultes se réfugient dans divers endroits proche du champ (résidus cultureux, écorces d'arbres...) et entrent en diapause reproductive (Roubinet, 2016). Au retour des conditions climatiques favorables au printemps (température allant à 15°C), celles-ci débutent l'envahissement des cultures au champ (Medjdoub-Bensaad *et al.*, 2015; Segers *et al.*, 2021), d'abord par l'intrusion des mâles adultes à la floraison jusqu'à la phase de végétation, puis par celle d'adultes femelles après

floraison, les deux se servant du pollen et du nectar floral comme ressource alimentaire et qui leur permettent de murir sexuellement (Birgit Pölitz, 2019; Segers *et al.*, 2021). Aussitôt présent dans les cultures, les conditions favorables du milieu et la floraison de la féverole vont induire la levée de la diapause sexuelle et permettre l'accouplement. La température idéale pour l'activité et la reproduction des bruchinae se situe entre 20 et 25°C. La durée d'accouplement varie entre 2 à 3 semaines (Roubinet, 2016). Au terme de la floraison, les mâles sortent du champ, et les femelles y demeurent et débutent leurs pontes sur les gousses nouvellement déployées durant toute la phase de leurs formations et celle de graines. La ponte s'étale sur 6 semaines et sa durée varie entre 1 à 2 minutes. Les œufs obtenus ont généralement une dimension inférieure à 2 mm de diamètre, et ont une coloration blanc-jaunâtre (Medjdoub-Bensaad *et al.*, 2015; Roubinet, 2016). Selon Huignard *et al.* (2011), la capacité de ponte de la femelle est estimée entre 50 et 100 œufs. L'éclosion des œufs donnant naissance aux larves a lieu 10 jours après ponte (Roubinet, 2016).

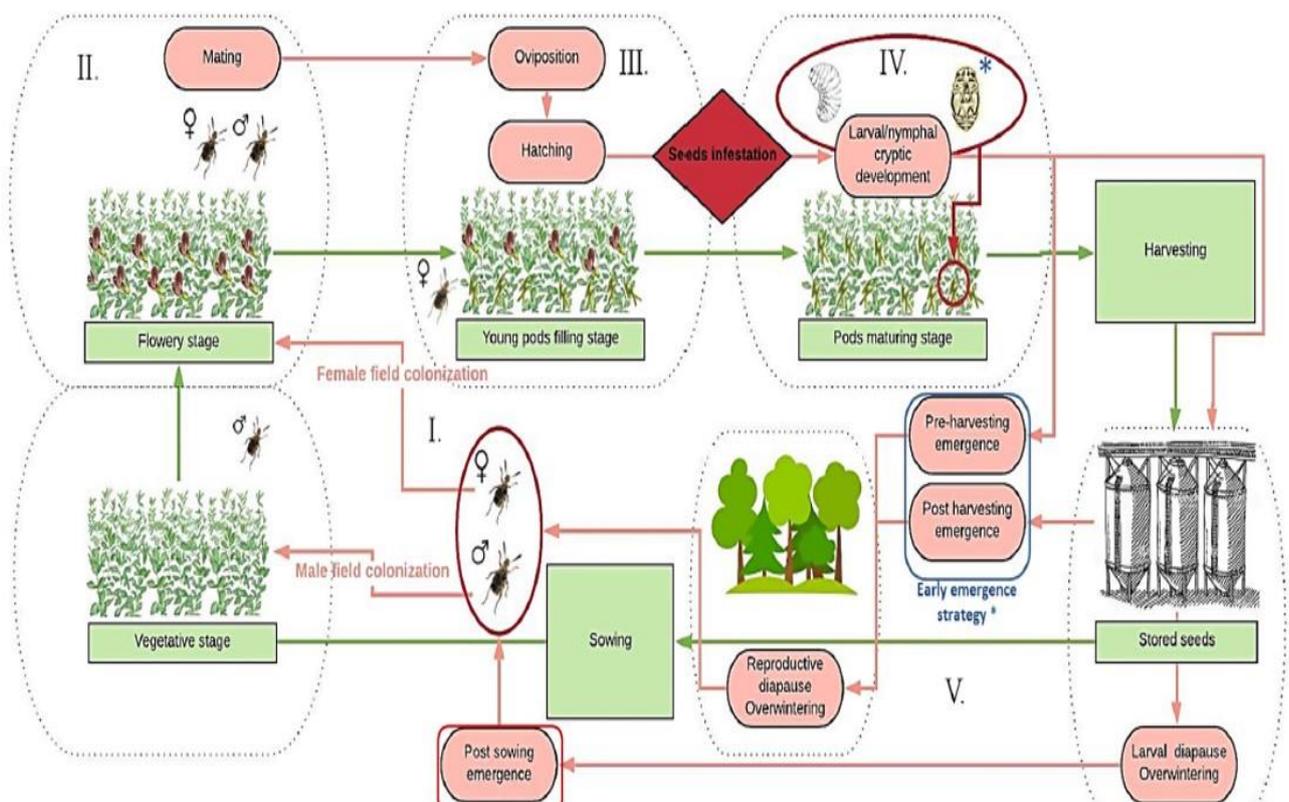


Figure 2: Cycle de développement de *Bruchus rufimanus* (Segers *et al.* 2021).

2.1.4. Caractéristiques morphologiques

Morphologiquement, les adultes de *B. rufimanus* se distinguent d'autres espèces par leurs tailles variant entre 3 à 5 mm. L'espèce est caractérisée par un dimorphisme sexuel (présence des mâles et femelles) (Roubinet, 2016; Ward, 2018), une coloration foncée, brune à noire, la présence à la surface des élytres des taches blanches parfois grises dues à la présence d'une pilosité blanche, les pattes antérieures et segments d'antennes de couleur rouge, une tête et le pronotum de couleur variant entre jaune et brune, présence d'antennes inclinées au niveau du cinquième segment dont le segment terminal est oval (Ward, 2018).

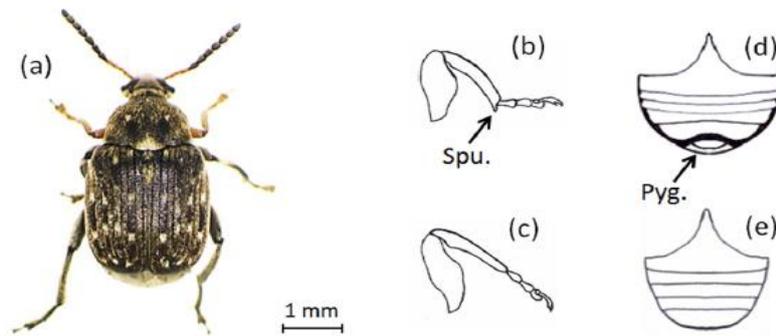


Figure 3: Présentation morphologique de *Bruchus rufimanus* et dimorphisme sexuel : (a) Adulte ; (b) Patte médiane de mâles présentant des éperons (Spu.); (c) patte médiane de femelles sans éperons; (d) Face ventrale de l'abdomen des mâles en retrait par le pygidium (Pyg.); (e) face ventral de l'abdomen des femelles sans échancrure (Segers *et al.*, 2021).

2.2. Modèle d'étude tropical : *Callosobruchus maculatus*

2.2.1. Origine, Taxonomie et distribution

C. maculatus est un coléoptère issu du genre *Callosobruchus* appartenant à la sous-famille de Bruchinae, famille de Chrysomelidae. Originnaire du milieu tropical, son aire de distribution s'étend de la région tropicale où sa présence est très marquée (Huignard *et al.*, 2011) en région subtropicale (Beck & Blumer, 2014). L'espèce abonde dans toute la région intertropicale et particulièrement en Afrique, au Moyen-Orient, au Mexique, en Amérique Latine et en Australie (Viaud, 1983).

2.2.2. Plantes hôtes

C. maculatus a pour plante hôte de prédilection *Vigna inguiculata* (L.)Walp. Fabaceae ou niébé pour laquelle il infeste les gousses matures au champ, les graines en stock et constitue le ravageur le plus nuisible en terme de perte engendrée en région tropicale (Bello *et al.*, 2019; Darfour *et al.*, 2012; Huignard *et al.*, 2011; Seri-Kouassi *et al.*, 2004; Walp *et al.*, 2011). Cependant, sa présence est parfois signalée sur d'autres fabaceae à l'occurrence du Soja (*Glycine max*), du pois d'Angole (*Cajanus cajan*), du pois chiche (*Cicer arietinum*), du pois antaqua (*Lablab purpureus*), du petit pois (*Pisum sativum*), et de la lentille de terre (*Macrostyloma geocarpum*)(Huignard *et al.*, 2011).

2.2.3. Biologie et cycle de développement

A l'instar d'autres espèces de Bruchinae, le cycle biologique de *C. maculatus* est également lié à son hôte (*Vigna inguiculata*) et démarre au stade de murissement des gousses au champ puis s'étale sur graines sèches entreposées. Mais les graines sèches stockées constituent leurs cibles préférentielles (Beck & Blumer, 2014). L'accouplement débute par la quête de la femelle par le mâle au champ ou sur graines sèche en stock puis se réalise. Par la suite, l'oviposition s'effectue soit au champ à la surface des gousses du niébé matures et prêtes à être récoltées ou sur graines sèches en conservation (Huignard *et al.*, 2011). Les œufs pondus mesurent environ 0,75 mm de long et sont oviforme ou fusiforme, à aspect éclatant et fixés à la surface des gousses (Beck & Blumer, 2014). La taille de ponte varie entre 10 à 100 œufs par gousse mature ou graine sèche infestée. Les œufs éclosent une semaine après leurs pontes (Viaud, 1983). Après éclosion ; la larve perce le tégument de la graine sèche et s'installe dans l'endosperme et s'en sert pour sa nutrition en créant des petites galeries rondes variant entre 1 à 2 mm. Au sein de la graine, elle subit 2 mues pour atteindre le stade larvaire secondaire, puis évolue vers le stade nymphal qui évoluera jusqu'au stade adulte (Beck & Blumer, 2014).

Les larves utilisent uniquement les graines sèches du niébé comme support de croissance et principale ressource alimentaire (Beck & Blumer, 2014). Le développement larvaire prend environ 20 jours et la durée totale du cycle varie entre 30 à 35 jours en graines en stockage (Viaud, 1983). La durée de vie d'adultes varie entre 10 à 14 jours dans le stock, période au cours de laquelle ceux-ci ont la capacité de se maintenir en vie sans aucune ressource alimentaire ni hydrique (Beck & Blumer, 2014).

2.2.4. Caractéristiques morphologiques

Du point de vue morphologique, la couleur de la plaque enveloppant le bout de l'abdomen permet de différencier les espèces adultes mâles et femelles de *C. maculatus*. Elles sont étendues, de coloration foncée et situées sur les 2 côtés de la plaque chez les espèces femelles et plus petite et dépourvues de stries ou rayures chez les mâles (Beck & Blumer, 2014). Les mâles sont souvent de couleur brune et femelles noire chez certaines espèces, et tous de coloration brunâtre chez d'autres. En terme de taille, habituellement les mâles sont plus petits que les femelles (Beck & Blumer, 2014; Lawrence & Newton, 1982). Par rapport à l'aptitude au vol, deux groupes morphologiques sont observés chez *C. maculatus*. Le premier regroupe les espèces dépourvues d'aptitude de vol et la seconde celles pouvant voler. Ceux ne pouvant pas voler se reconnaissent par leur coloration brun rougeâtre et la présence de deux plages noirâtres sur le pygidium, ceux volant par leurs colorations brun noir à gris noir avec un pygidium tacheté (Huignard *et al.*, 2011).

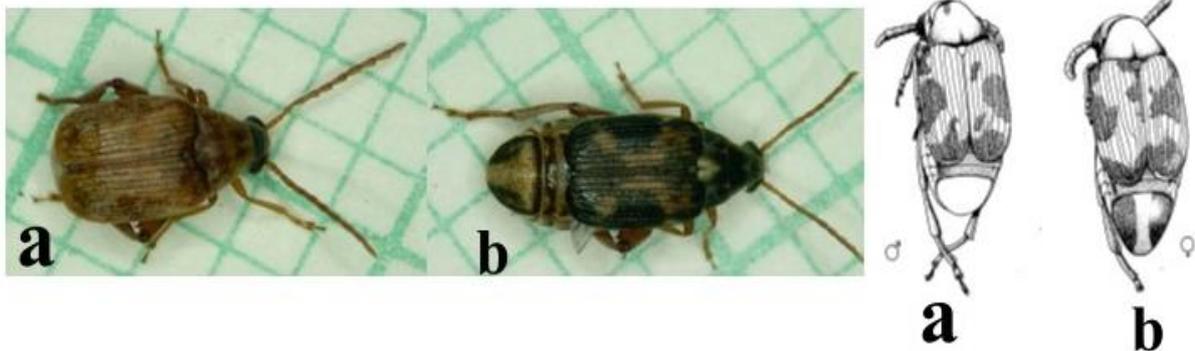


Figure 4 : Vue dorsale du mâle (a) et de la femelle (b) de *Callosobruchus maculatus*. illustration de la coloration de la plaque abdominale postérieure (pygidium) spécifique au sexe (Beck & Blumer, 2014).

2.3. La lutte biologique et lutte contre les bruches en milieux tempérés et tropicaux

2.3.1. La lutte biologique

a. Définition et fondement de la lutte biologique

La lutte biologique désigne un moyen de lutte visant à réduire à un seuil acceptable la densité de population de ravageurs de culture en s'appuyant sur l'utilisation des organismes vivants communément appelés agents de lutte biologique (Crump et al., 1999; Paul DeBach & Rosen, 1991). Ces derniers comprennent les prédateurs, parasitoïdes et les agents pathogènes (les champignons, bactéries, nématodes...) (Lambert, 2010; Omkar & Kumar, 2016). Ce moyen de lutte a pour fondement majeur la mise en profit par l'homme de la relation naturelle existant entre un ravageur de culture et un organisme vivant ayant la capacité de l'éliminer dans un bref délai (P. Jourdeuil et al., 1991).

b. Approches de mise en œuvre de la lutte biologique

La mise en place de la lutte biologique s'effectue selon différentes approches :

➤ La stratégie ou approche classique :

Il s'agit d'une approche consistant à introduire volontairement dans un milieu les ennemis naturels beaucoup plus d'origine exotique en vue de réguler à long terme la population de bioagresseurs de cultures (Naranjo et al., 2015). Selon Omkar & Kumar (2016), cette approche repose sur l'idée selon laquelle, dans un nouvel environnement, une espèce exotique devient nuisible et échappe au contrôle de ses agresseurs naturels de son environnement originel.

➤ Stratégie d'inoculation ou biocontrôle inoculatif

Eilenberg et al., (2000) et Crump et al., (1999) définissent cette approche comme une méthode basée sur une libération volontaire d'organismes vivants (prédateurs, parasitoïdes) dans un environnement sous prétexte que ces derniers se multiplieront et contrôleront les bioagresseurs durant un long moment et non de manière continue.

➤ Stratégie inondative ou biocontrôle inondatif :

Il s'agit d'une stratégie consistant à multiplier en masse plusieurs agents de contrôle biologique (prédateurs, parasitoïdes) et à les lâcher dans un environnement dans le but de réduire immédiatement les populations de ravageurs de culture (Omkar & Kumar, 2016).

➤ **Lutte biologique de conservation ou approche augmentative :**

Elle est définie comme étant une approche consistant à modifier l’environnement dans le but de sauvegarder , maintenir et renforcer les organismes de lutte biologique (ennemis naturels) afin d’éradiquer les populations de ravageurs (P. DeBach, 1974; Paul DeBach & Rosen, 1991).

2.3.2. Lutte contre les bruches en milieu tropical et tempéré

Différentes méthodes de lutte sont utilisées contre *B. rufimanus* en milieu tempéré et *C. maculatus* en milieu tropical.

Tableau 1: Comparaison des méthodes de lutte utilisées contre *Bruchus rufimanus* en milieu tempéré et *Callosobruchus maculatus* en milieu tropical

Méthodes de Lutte	<i>B. rufimanus</i> (en milieu tempéré)	<i>C. maculatus</i> (en milieu tropical)
Lutte conventionnelle Ou chimique	Pulvérisation au champ des insecticides à l’instar des (du): - Pyréthrinoïdes et néonicotinoïdes (Ward, 2018) - Lambda-Cyhalothrine, zêta cyperméthrine et la deltaméthrine (Segers <i>et al.</i> , 2021)	Fumigation de graines sèches du niébé en stock par usage du (des) : - Dichlovos (DDVP), - Méthyle de Primophos, - Gaz de phosphine - Phosphure d’aluminium (Omoigui <i>et al.</i> , 2009). - Pyréthrinoïdes, organochlorés Organophosphorés (Zongo <i>et al.</i> , 2015)
Lutte Culturelle, Mécanique et Physique	- Assainissement du champ - Décalage des dates de semis ou Semis tardif - Désherbage mécanique - Elimination des plants et gousses infestées par les larves, piégeage - Variétés tolérantes ou résistantes (Roubinet, 2016; Szafirowska, 2012, 2014)	- Associations niébé – céréale ou niébé – autre légumineuse (Viaud, 1983) - Elimination des adventices , Rotations culturales ,Variétés résistantes, - Extirpation de plantes et gousses infestées, - Labour superficiel (Omoigui <i>et al.</i> , 2009)

<p>Lutte biologique</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Utilisation des Parasites et parasitoïdes larvaires (Ahmed, 1996; De Luca, 1965) - Champignons entomopathogènes : <i>B. bassiana</i> commercial (Roubinet, 2016; Sabbour <i>et al.</i>, 2012) 	<p style="text-align: center;">-</p>
<p>Lutte biochimique et Sémiochimique</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Huiles essentielles Végétales (Roubinet, 2016; Titouhi <i>et al.</i>, 2017) - Pièges attractifs à base de composés volatils floraux au champ (Bruce <i>et al.</i>, 2011; Roubinet, 2016) 	<ul style="list-style-type: none"> - Poudres et huiles essentiels des Plantes aromatiques tropicales (Huignard <i>et al.</i>, 2011; Kalamo <i>et al.</i>, 2021; Kayombo Mbumba <i>et al.</i>, 2015; Kéïta <i>et al.</i>, 2000) <p style="text-align: center;">-</p>
<p>Méthodes traditionnelles de Lutte</p>	<p style="text-align: center;">-</p>	<ul style="list-style-type: none"> - Stockage hermétique des graines - Stockage de graines avec particules de sable, d'argile, de cendre, du sel, chaux éteinte (Viaud, 1983) - Séchage solaire, Fumage, conservation de graines sous forme de gousses sèches (KPATINVOH <i>et al.</i>, 2016; Omoigui <i>et al.</i>, 2009)

2.3.2.1. Lutte conventionnelle ou chimique

La lutte chimique demeure le principal moyen utilisé par les producteurs pour lutter contre les bruches en milieu tempérée et tropical. En milieu tempéré, les insecticides couramment utilisés contre *B. rufimanus* sont principalement les pyréthrinoïdes et les néonicotinoïdes en mi floraison et au début de la fructification de la culture de féverole pour anticiper les pontes de *B. rufimanus* (Ward, 2018). Mais il en résulte des sérieux problèmes notamment d'élimination des pollinisateurs suite à la coïncidence du moment de traitement indiqué et la phase de la floraison (Roubinet, 2016). A ceci s'ajoute des retombées environnementales et sanitaires néfastes (Roubos *et al.*, 2014). d'où, l'interdiction de plusieurs produits chimiques sur le territoire européen, limitant le choix de producteurs à quelques matières actives agréées telles que la lambda cyhalothrine, la zêta cyperméthrine et la deltaméthrine (Segers *et al.*, 2021). Par ailleurs, en milieu tropical, la lutte chimique contre *C. maculatus* consiste à l'application sur graines sèches des insecticides fumigènes à base du Dichlovos (DDVP) combiné au méthyle de Primophos ou associé au gaz de phosphine ou au phosphore d'aluminium (Phostoxin, Cyclotoxin...) en cas d'un long stockage (Omoigui *et al.*, 2009). Des produits tels que les pyréthrinoïdes, les organochlorés et organophosphorés sont également utilisés mais dont la majorité sont non homologués et sources d'intoxications alimentaires (Zongo *et al.*, 2015).

2.3.2.2. Lutte Culturelle , Mécanique et Physique

❖ Lutte culturelle

Elle repose principalement sur différentes pratiques culturelles utilisées par les producteurs pour lutter contre les bruches. Sur culture de féverole en milieu tempéré, ces pratiques sont basées sur les méthodes culturelles préventives qui comprennent l'assainissement du champ et le décalage des dates de semis ou semis tardif pour éliminer les sources d'infestations et atténuer les risques sur la parcelle pour la culture à venir (Roubinet, 2016; Szafirowska, 2012). Selon Szafirowska (2014), un semis tardif de plus de 10 jours réduit significativement les dommages induits par *B. rufimanus* à la culture en affectant l'alimentation du ravageur et en diminuant sa présence dans les cultures. L'utilisation des variétés tolérantes aux attaques de *B. rufimanus* figure parmi les méthodes utilisées (Segers *et al.*, 2022; Seidenglanz & Huňady, 2016). Cependant, ces variétés demeurent encore trop peu connues sur le continent européen (Roubinet, 2016; Segers *et al.*, 2022). En milieu tropical, pour amoindrir les infestations de *C. maculatus* sur le niébé au champ, les méthodes telles que l'association de *V. inguiculata* avec une autre légumineuse (*Arachis hypogea*) ou une céréale (*Sorghum bicolor*),

le recours aux cultivars résistants (Ali Doumma *et al.*, 2006; Nwanze *et al.*, 1975; Viaud, 1983), l'élimination des adventices; la rotation de culture, le recours aux semences indemnes de maladies et le labour superficiel sont utilisées par les producteurs (Omoigui *et al.*, 2009).

❖ **Lutte Mécanique et Physique**

Des pratiques telles que le désherbage mécanique associé à un labour profond visant à enfouir les résidus de cultures, le fauchage des abords du champ dans le but d'éliminer les foyers d'infestations de *B. rufimanus*, l'élimination des plants et gousses infestées par les œufs et larves du ravageur (Szafirowska, 2012 ; Seidenglanz & Huňady, 2016) et l'utilisation des pièges à cône appâtés avec un mélange de composants volatils floraux pour la capture et l'élimination de *B. rufimanus* (Bruce *et al.*, 2011) sont utilisées sur culture de féverole en milieu tempéré. Sur culture du niébé en milieu tropical, des méthodes telles que l'extirpation et l'élimination au champ gousses matures infestées par les pontes de *C. maculatus* (Viaud, 1983) et l'assainissement des magasins de stockage de graines du niébé pour réduire le risque d'infestations de stocks par les adultes de *C. maculatus* sont appliquées par les producteurs (Omoigui *et al.*, 2009).

2.3.2.3. Lutte biologique

La lutte biologique contre *B. rufimanus* et *C. maculatus* a fait l'objet des différentes études en vue d'identifier les agents de lutte biologique capables de réguler les populations de 2 ravageurs.

❖ **Ennemis naturels de *Bruchus rufimanus* et *Callosobruchus maculatus***

Les recherches menées par Ahmed (1996) et De Luca (1965) ont permis de mettre en évidence le statut de certains hyménoptères comme parasites larvaires de *B. rufimanus* en pleine culture de la féverole s'agissant d'espèces telles que *Anisopteromalus calandrae* How (Ahmed, 1996), huit espèces issues de Braconidae (*Chremylus rubiginosus* Hall., *Triaspis gibberosus* Szep., *T. luteipes* Thorns., *T. pallidipes* Nees, *T. primus* Brethes, *T. similis* Szep., *T. stictostiba*, *T. thoracicus* Curt), une espèce d'Eurytomidae (*Eurytoma watchli* Mayr.), cinq Pteromalidae (*Dinannus acutus* Thorns, *D. Zaticeps* Ashm., *D. magnus* Rohwer, *Larrophagus distinguendus* Frst., *Pteromalus micans* Nees) et une espèce issue de Trichogrammatidae (*Uscana semijiimipennis* Girault) (De Luca, 1965). D'autres espèces telles que *Chremylus elaphus* Haliday (Braconidae), *Eupelmus microzonus* Foerster et *Eupelmus swezeyi* (deux Eupelmidae), *Zelus renardii* Kolenati (Reduviidae) (Bellifa & Chapelin-Viscardi, 2021), et

Dinarmus basalis (Pteromalidae) (De Luca, 1965) ont été identifiées comme parasitoïdes de *B. rufimanus*. Par ailleurs, les recherches menées par Huis *et al.* (1926) ont identifié l'espèce *Uscana lariophaga* comme parasitoïde d'œufs de *C. maculatus*. Oumarou *et al.* (2010) ont identifié les hyménoptères femelles de *Eupelmus orientalis*, *Eupelmus vuilleti* et *Dinarmus basalis* comme endo-parasitoïdes des larves et œufs de *C. maculatus*. Le parasitoïde *Pteromalus cerealellae* a été également identifié sur les larves de *C. maculatus* au 4^e stade d'évolution (Onagbola & Fadamiro, 2008).

❖ **Utilisation des champignons entomopathogènes contre *Bruchus rufimanus* et *Callosobruchus maculatus***

Bien que l'efficacité de champignons du genre *Beauveria* et *Metarhizium* dans la lutte contre les insectes ravageurs ait été prouvée par différents chercheurs (Djameleddine, 2014; Ondiaka *et al.*, 2008; Quintela & McCoy, 1997; Sabbour *et al.*, 2012) peu d'informations semblent actuellement disponibles sur *B. rufimanus* dans la littérature. Néanmoins, Roubinet (2016), Sabbour *et al.* (2012) et Ward (2018) révèlent la mise en évidence de l'efficacité de *B. bassiana* contre *B. rufimanus* par quelques recherches nouvellement menés au laboratoire en milieu tempéré. Sur *C. maculatus*, Ondiaka *et al.* (2008) atteste une bonne efficacité de *B. bassiana* dans le biocontrôle du ravageur. Bokonon-ganta (2016) et Fernando *et al.* (2012) révèlent un bon comportement de *M. anisopliae* sur la mortalité d'adultes de *C. maculatus* en condition de laboratoire. Les informations relatives à l'efficacité du *Metarhizium brunneum* sur *B. rufimanus* et *C. maculatus* ne sont pas renseignées à travers la littérature. Aussi, l'utilisation de champignons entomopathogènes comme moyen de lutte contre les bruches par les agriculteurs n'est pas très documentée et serait une piste non encore suffisamment exploitée.

2.3.2.4. Lutte Biochimique

Elle repose sur l'utilisation des substances biochimiques telles que les huiles essentielles, les poudres végétales et des pièges à base des composés sémiochimiques pour lutter contre *B. rufimanus* et *C. maculatus*.

❖ **Utilisation des huiles essentielles et poudres végétales**

En milieu tempérée, certaines études menées ont révélé des vertus ovicides et réductrices de la ponte de *B. rufimanus* des huiles essentielles de nigelle et de moutarde sur cultures de féverole infestées (Roubinet, 2016) ainsi que des propriétés toxiques et insecticides de celles

d'Artemisia sp (Titouhi *et al.*, 2017) , *d'Eucalyptus kalatus* (Sarah, 2021) et *d'Origanum glandulosum* (Bouchikhi-Tani Zoheir *et al.*, 2011) sur les adultes de la même espèce. En milieu tropical, Huignard *et al.* (2011) et Viaud (1983) soulèvent l'utilisation par la majorité des producteurs des extraits poudreux et huiles végétales des lamiaceae, myrtaceae et lauraceae pour la conservation des graines sèches du niébé contre les attaques de *C. maculatus*. Différentes études ont mis en évidence des vertus insecticides, ovicides et réductrices de la ponte chez *C. maculatus* des huiles essentielles et poudres aromatisées du basilic (*O.canum et O.gratissimum* (L) (Kéïta *et al.*, 2000; Semacumu Gakuru, 1996; Seri-Kouassi *et al.*, 2004), de la Citronnelle (*Cymbopogon citratus*) ,de *l'Eucalyptus citriodora* (Ketoh *et al.*, 1998; Semacumu Gakuru, 1996), du *Tephrosia vogelii* (Kayombo Mbumba *et al.*, 2015), de *Moringa oleifera* (Kalamo *et al.*, 2021), la poudre de graines de *Pachyrhizus erosus* (Pyalem *et al.*, 2017), de *Piper guineense et Capsicum frutescens* (Semacumu Gakuru, 1996).

❖ Utilisation des pièges à base d'attractifs sémiouchimiques

En milieu tempérée ; la méthode consiste à l'installation au champ des pièges sémiouchimiques développés à partir des composés volatils des fleurs et gousses de féverole pour désorienter et attirer les adultes de *B. rufimanus* en vue de leurs éliminations et éviter l'envahissement des cultures (Roubinet, 2016). Cette pratique serait non encore développée en milieu tropical.

2.3.2.5. Pratiques locales ou traditionnelles de lutte

Différentes pratiques traditionnelles propres au milieu tropical sont également utilisées par les producteurs pour la conservation des graines du niébé contre *C. maculatus*. Elles comprennent le stockage des graines sèches au sein des emballages fermés de manière hermétique bloquant toute pénétration d'oxygène afin de provoquer la mort de bruches par anoxie (Viaud, 1983). Les emballages couramment utilisés sont soit des sacs plastiques, des bocaux capsulés, des sacs de jute, ou en caoutchouc, emballages traditionnels, ou des bidons plastiques (Omoigui *et al.*, 2009). KPATINVOH *et al.* (2016) soulèvent également l'usage des particules fines du sable, de la cendre de bois, de particules d'argile, du sel, de la chaux éteinte en poudre, l'exposition à la fumée, l'exposition au soleil ou la conservation des graines sous formes de gousses sèches comme autres pratiques de conservation utilisées en milieu tropical mais présentant une efficacité limitée et variant en fonction de condition de stockage.

2.3.2.6. Les champignons entomopathogènes

Les champignons entomopathogènes sont connus comme potentiels parasites d'une très grande diversité d'insectes à toutes les phases de leurs évolutions (Araújo & Hughes, 2016) suite à leurs pouvoirs de contamination et de létalités élevés vis-à-vis de ces derniers. Ces propriétés leur confèrent le statut des véritables candidats dans l'approche de lutte biologique contre ravageurs des cultures (Amobonye *et al.*, 2021). Selon Toure (2019), 700 espèces rassemblées à peu près dans 100 ordres sont actuellement répertoriées ; les ordres des Hypocréales et des Entomophtorales étant les plus représentés en termes d'espèces. Leur utilisation est à la fois avantageuse du point de vue écologique, environnemental et économique (P.Grison, 1961). Ils dérivent de divers groupes taxonomiques (Zygomycètes, ascomycètes, basidiomycetes...) parmi lesquels figure celui des Ascomycètes au sein duquel appartiennent *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* et *Metarhizium brunneum* qui jouissent d'une bonne réputation en lutte biologique à travers nombreuses études (Ferron, 1975; Hidalgo *et al.*, 1998; Oudjelida & Oltani, 2010; Quintela & Mccoy, 1997; Roberts & St. Leger, 2004; SABBAHI, 2008). L'action des champignons entomopathogènes sur l'organisme de l'insecte ravageur débute une fois le contact entre les spores et la membrane cuticulaire établi. La contamination de l'organisme de l'insecte se propage par la dégradation des composés chitineux, protéiques et lipidiques constitutifs de l'exocuticule par les enzymes fongiques secrétées (Ferron, 1975). Il s'ensuit une germination et intrusion de spores à travers la cuticule, un envahissement total de l'organisme par le développement du mycélium (Kouadio *et al.*, 2018) et l'épuisement de nutriments de l'hôte conduisant à sa mort. Par la suite, le champignon se maintient en saprophyte jusqu'à l'envahissement total des tissus de l'insecte mort (Ferron, 1975). Une fois contaminé par *B. bassiana*, les capacités reproductrices de l'insecte peuvent être négativement affectées (N'DOYE, 1976). Quant à *Metarhizium*, une fois l'hôte morte, il peut se développer lorsque les conditions d'humidité sont favorables sous formes de conidies de coloration verdâtre (Driver *et al.*, 2000).

Au vu de tout ce qui précède, la lutte biologique contre les bruches en milieu tropical et tempéré n'est pas encore suffisamment développée. Aucune méthode de lutte biologique efficace contre les bruches n'est encore mise en place auprès des producteurs à l'heure actuelle. Pourtant les pertes de production résultant de leurs dégâts s'intensifient, le besoin en légumineuses à graines augmente avec l'explosion démographique mondiale et les répercussions négatives liées à la lutte chimique deviennent de plus en plus intenses. Des études approfondies sur les agents de lutte biologique efficaces contre les bruches tels que

les agents pathogènes s'avèrent donc très cruciales pour la mise en place auprès de producteurs du milieu tropical et tempéré de méthode de lutte biologique efficace et durable contre ces ravageurs.

3. Objectifs de la recherche

D'une manière générale, la présente étude se veut de contribuer à la mise en place de la lutte biologique contre les bruches en milieu tropical et tempéré.

Plus précisément, cette étude poursuit deux axes d'étude subdivisés en différents objectifs spécifiques (OS):

❖ **Premier axe** : Lutte biologique en milieu tempéré contre *B. rufimanus* :

- OS 1.1 : Effectuer un état des lieux sur la diversité d'espèces de bruches et de parasitoïdes associées aux cultures de féveroles en Région wallonne;
- OS 1.2 : Caractériser les impacts causés aux graines récoltées dans les différents sites de production de la féverole de la Wallonie;
- OS 1.3 : Evaluer l'effet variétal sur les dommages causés aux graines.

❖ **Deuxième axe** : Evaluer le potentiel de souches de champignons entomopathogènes en tant que biopesticide contre les bruches en milieu tempéré et en milieu tropical.

- OS 2.1 : Evaluer en laboratoire les effets létaux et sublétaux de trois souches de champignons entomopathogènes sur *C. maculatus* selon deux modes d'application (pulvérisation et traitement de semences) ;
- OS 2.2 : Evaluer en laboratoire les effets létaux de trois souches de champignons entomopathogènes sur *B. rufimanus* émergeant de diapause reproductive selon un mode d'application (vaporisation)

4. Matériel et méthodes

4.1. Evaluation de la diversité d'espèces de bruches et de parasitoïdes associées aux cultures de féverole en Région wallonne (OS 1.1)

La diversité d'espèces de bruches et de parasitoïdes associées aux cultures de féverole en Région wallonne a été évaluée à partir des échantillons de graines de féveroles collectés sur huit sites (Ciney, Battice, Verdenne, Assesse, Isnes, Bierwart, Rebecq, Beho (Figure 5). Ces échantillons de graines, issues d'agriculture biologique ont été disposés dans des pièges d'émergence à une température de $20\pm 2^{\circ}\text{C}$ durant deux mois afin de capturer les bruches et les parasitoïdes en émergence post récolte. Les insectes collectés à l'aspirateur à bouche ont été conservés dans des piluliers à l'éthanol 70% avant d'être mis en collection pour identification.

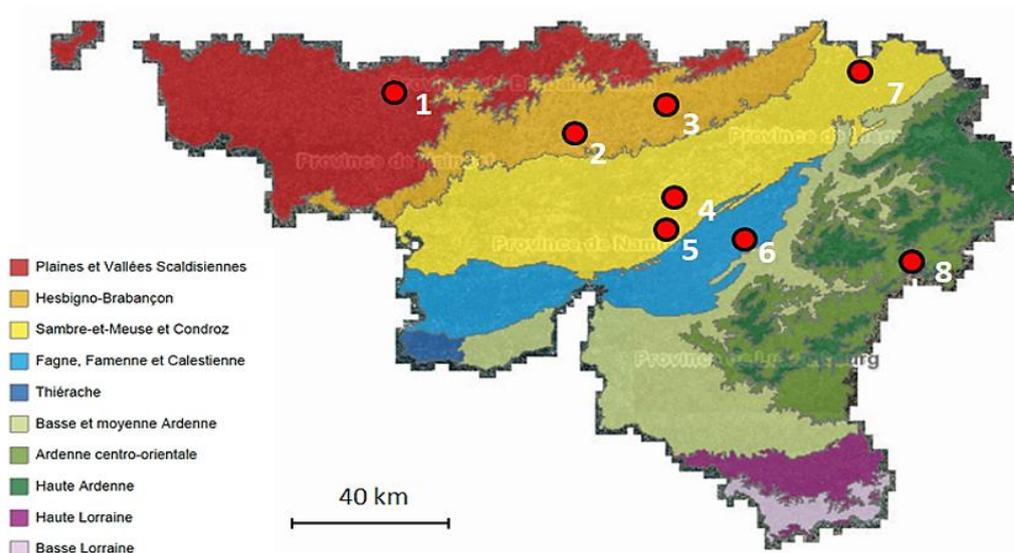


Figure 5: Localisation de huit sites d'échantillonnage dans différentes régions bioclimatiques de la région Wallonne: 1=Rebecq, 2=Isnes, 3= Bierwart, 4=Assesse, 5=Ciney, 6=Verdenne, 7=Battice, 8=Beho (Arnaud Segers,2022).

La mise en collection de spécimens de bruches (Figure 6 : b,c,d) a consisté à épingler ces derniers moyennant une aiguille de taille 000 piquée dans l'élytre droite puis à étaler toutes les pattes. Après étalement, les spécimens ont été laissés sécher à l'air libre durant 2 semaines puis étiquetés. Les spécimens de parasitoïdes étant de petites tailles, ont été conservés dans l'éthanol à 70 % au sein des tubes Eppendorf de 1,5 ml (Figure 6 : e,f). Les spécimens ont

ensuite été identifiés sur base de leurs caractéristiques morphologiques moyennant une clé d'identification taxonomique par deux spécialistes, ceux de bruches par Mr Jean Fagot (entomologiste et collaborateur scientifique de l'Université de Liège) et ceux de parasitoïdes par Mr Jean-Yves Rasplus (entomologiste attaché à l'Institut nationale de recherche pour l'agriculture, l'alimentation et l'environnement INRAE en sigle et au Centre de Biologie pour la Gestion des Populations situé en France).

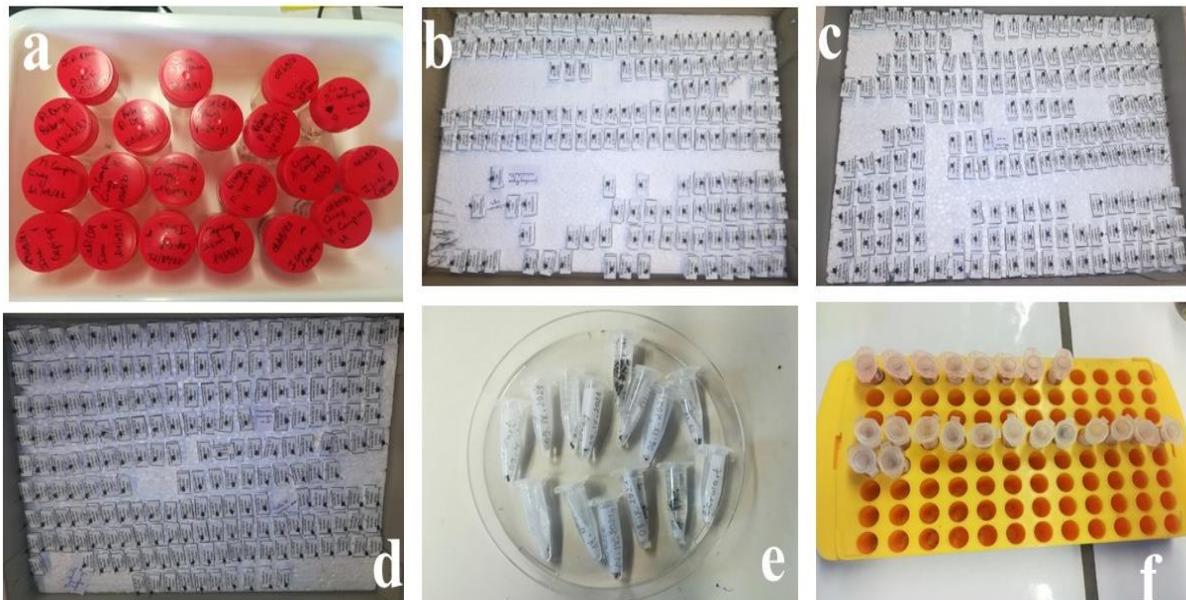


Figure 6: Illustration de la mise en collection de spécimens de bruches (b,c,d) et de parasitoïdes (e,f) collectés après émergences sur les échantillons de graines de féverole prélevés dans 8 sites de production de la Wallonie et conservés à l'éthanol 70% (a) au laboratoire (R.Lugendo, 2022).

4.2. Caractérisations des taux d'infestations des graines de la féverole collectées dans les différentes régions bioclimatiques de la Wallonie (OS 2.2)

Pour caractériser les dommages causés par *B. rufimanus* sur graines collectées dans différents sites d'échantillonnage nous nous sommes servis de la méthode proposée par El-Maziani *et al.* (2016). Un échantillon de 50 graines de féverole a été prélevé de manière aléatoire par comptage manuel à 4 répétitions dans chaque lot d'échantillon provenant de chacun de 8 sites (soit 200 graines/échantillon de chaque site). Ces graines ont ensuite été placées sur boîtes de pétri de 14 cm de diamètre puis analysées par des observations macroscopiques. Les graines intactes ou saines et celles infestées par des larves ou trouées (signe d'émergence d'adulte) ont été dénombrées manuellement et le taux d'infestation de graines de chaque site d'échantillonnage déterminé (Figure 7 : b) selon la formule proposée par (El-Maziani *et al.*, 2016) :

$$\text{Taux d'infestation en (\%)} = \frac{\text{Nbre de graines endommagées} \times 100}{\text{Nbre de graines Total}}$$

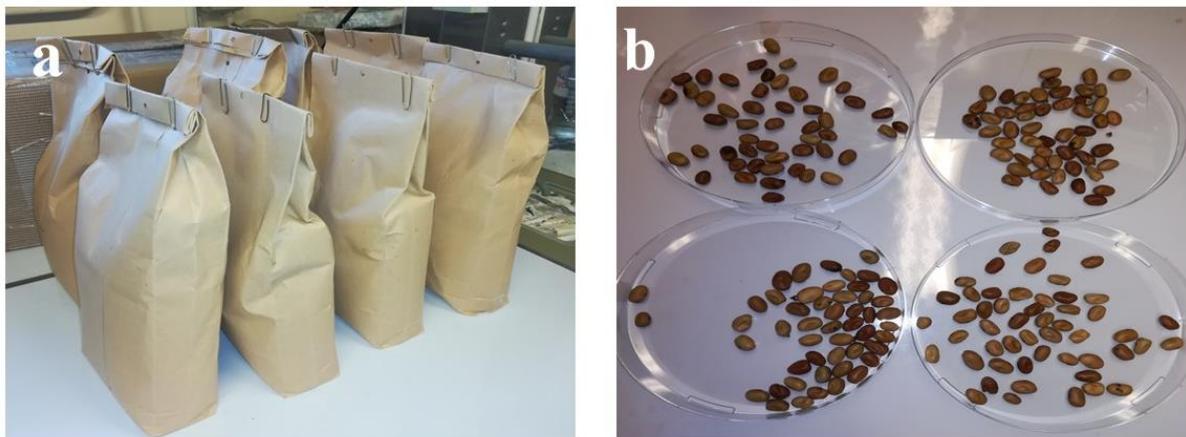


Figure 7: Détermination de taux d'infestations (b) causés par *Bruchus rufimanus* aux graines de la féverole sur les échantillons de graines (a) collectés dans 8 sites de production de la Wallonie (R. Lugendo, 2022).

4.3. Caractérisation de l'effet variétal sur les dégâts causés aux graines par *Bruchus rufimanus* (OS 2.3)

L'effet variétal sur les dommages causés aux graines par *B. rufimanus* a été évalué sur des échantillons de graines de 24 variétés de fèverole issues d'un essai variétal de la saison culturale 2020-2021 réalisé sur le site d'essai du Cepicop à Gembloux. Ces variétés ont été mises en essai selon un dispositif en bloc aléatoire complet à 4 répétitions sur des parcelles de 7m x 2m et étaient constituées de 11 variétés d'Hiver (Diva, Irena, Organdi, Wizard, Hiverna, Vespa, Augusta, Tundra NT, Nebraska NT, Axel et Bering NT) et 13 variétés de printemps (Bioro, Fanfare, (LG) Banquise, Tiffany, Nakka, Victus, LG Cartouche, GL Magnolia, Nanaux, Allison, Dosis, Bolivia NT, LG Viper). La caractérisation de l'effet variétal a consisté à prélever aléatoirement par comptage manuel et à 4 répétitions un échantillon de 50 graines de la fève dans le lot de graine de chaque variété (soit 200 graines/lot), à les placer sur boîte de pétri de 14 cm de diamètre puis à les analyser sur base des observations macroscopiques. Par la suite, les graines saines et celles infestées par les larves ou présentant des trous d'émergences d'adultes de *B. rufimanus* étaient dénombrées et le taux d'infestation de chaque variété déterminé (Figure 8 : a) selon la formule proposée par (El-Maziani *et al.*, 2016) :

$$\text{Taux d'infestation en (\%)} = \frac{\text{Nbre de graines endommagées} \times 100}{\text{Nbre de graines Total}}$$

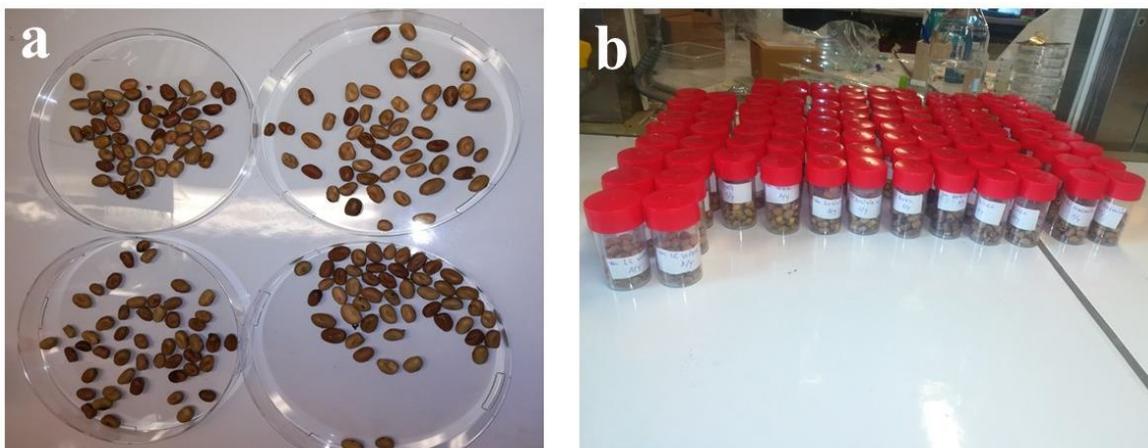


Figure 8: Détermination de taux d'infestations (a) causés aux graines de 24 variétés de fèverole (b) par *Bruchus rufimanus* au laboratoire (R.Lugendo, 2022).

4.4. Tests entomopathogènes sur *Bruchus rufimanus* et *Callosobruchus maculatus* (OS 2.1 et 2.2)

4.4.1. Elevages de *Bruchus rufimanus* et *Callosobruchus maculatus*

Les individus de *B. rufimanus* utilisés pour des tests biologiques dans notre étude étaient collectés après émergences sur des échantillons de graines (Figure 9 : a) récoltés en 2021 à la ferme expérimentale de Gembloux Agro-bio Tech puis placés en conditions de diapause reproductrice à une température de 10°C pour leur utilisation ultérieure.

Par ailleurs, la conduite de l'élevage de *C. maculatus* était réalisée en boîtes plastiques de 10cmx10cm (Figure 9 : d,e) et en cages d'élevage de 30cmx30cm (Figure 9 : c) à une température de 27±2°C et une humidité relative de 60 ± 100%. Celle-ci a consisté à prélever 250 g de graines saines du niébé et à les placer avec les adultes pendant 2 jours pour les pontes. Dans ces conditions, une génération complète est effectuée en environ 21 jours.



Figure 9: Collecte d'individus de *Bruchus rufimanus* sur graines après émergences (a) , leur mise en diapause reproductrice au frigo (b) et élevage de *Callosobruchus maculatus* en cages (c) et en boîtes plastiques (d,e) au laboratoire (R.Lugendo, 2022).

4.4.2. Souches de champignons entomopathogènes

Trois souches de champignons entomopathogènes âgées de 15 jours ont été utilisées comme matériels fongiques dans notre étude : *Beauveria bassiana* (souche GHA) et *Metarhizium brunneum* (souches, USDA 4556 et V275).

4.4.2.1. *Beauveria bassiana* (Bals.-Criv.) Vuill., 1912 (souche GHA)

La présente souche (Figure 10) est formulée dans le produit commercial Botaniguard 22WP ® disponible au laboratoire d'entomologie fonctionnelle et évolutive de la faculté de Gembloux. *B. bassiana* (souche GHA) agit par contact entre les spores et le tégument de l'insecte (Ziani, 2008). Une fois le contact établi, les spores pénètrent à travers la cuticule, germent au sein de l'organisme de l'insecte, l'envahissent et entraînent sa mort suite à l'épuisement de l'hémolymphe (P.Grison, 1961). Son action entraîne une perturbation des fonctions physiologiques de l'insecte (SAGE Pesticides, 2022). Visiblement, le champignon se reconnaît par le développement d'une infection caractérisée par l'apparition à la surface de l'hôte d'une masse mycélienne de coloration blanchâtre à jaunâtre connue sous l'appellation de la muscardine blanche (Ziani, 2008).



Figure 10: Germination de la souche GHA de *Beauveria bassiana* sur boîtes de pétri après repiquage au laboratoire (R.Lugendo, 2022).

4.4.2.2. *Metarhizium brunneum* Petch, 1935 (souche USDA 4556 et souche V275)

Les deux souches de *M. brunneum* (Figure 11) utilisées dans notre étude ont été obtenues de l'université de Swansea (Royaume Uni) et reproduites au laboratoire d'entomologie fonctionnelle et évolutive de la faculté de Gembloux. *M. brunneum* (souches USDA 4556 et V275) a un mode d'action presque similaire à celle de *B. bassiana*. Il agit par simple adhésion des conidies à la surface cuticulaire de l'insecte puis s'ensuivent leur intrusion directe dans

l'organisme à travers la membrane cuticulaire (Jarrold *et al.*, 2007) , leur germination , la colonisation totale de l'organisme de l'hôte et sa mort liée à l'épuisement de nutriments (Patel, 2020). Visiblement, le champignon se reconnaît par son mycélium de coloration vert foncé ou verdâtre à la surface de l'hôte infecté (Driver *et al.*, 2000).

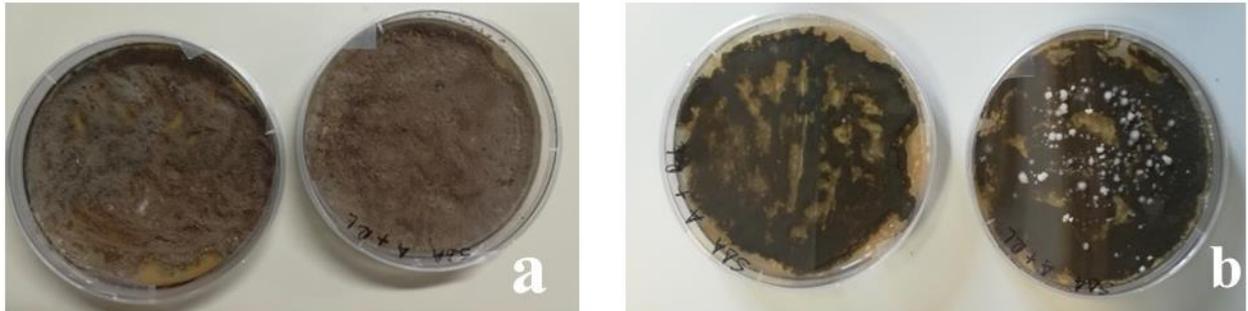


Figure 11: Germination de souches USDA 4556 (a) et V275 (b) de *Metarizhium brunneum* sur boîtes de pétri après repiquage au laboratoire (R.Lugendo, 2022).

4.4.3. Préparation des suspensions de conidies

Chaque souche a été cultivée sur milieu de culture solide à base de Sabouraud Dextrose Agar (SDA) préparé par dissolution d'un mélange de 12g du Sabouraud Dextrose Broth (SDB) et 6 g d'agar bactériologique dans 400 ml d'eau distillée. Ces milieux ont étéensemencés par stricking et étalage de suspensions de conidies. Après repiquage, les milieuxensemencés ont été incubés pendant 15 jours à 25°C. Après incubation, les conidies ont été prélevées des cultures par grattage au racloir et par ajout de 4 ml d'eau distillée stérile et du tween 80 (0,05% v/v). Les solutions obtenues étaient ensuite filtrées sur l'étamine pour la séparation des suspensions de conidies avec les fragments mycéliens. Les suspensions fongiques étaient ensuite diluées 100 fois pour déterminer la concentration de spores à l'hématimètre de Neubauer selon Jaber (2018) et Prado *et al.* (2020). Chaque suspension a ensuite été diluée à une concentration unique de 10^8 conidies/ml.

4.4.4. Test de viabilité de spores de champignons entomopathogènes

Pour évaluer la viabilité de spores des souches de champignons mis en culture avant leur usage, 100 microlitres de suspensions de conidies concentrés à 10^5 conidies/ml ont été inoculés sur milieu de SDA solide et incubés 24 heures à 4°C. Après incubation, le test était réalisé par prélèvement aléatoire de trois morceaux de milieu de 1 cm² découpés au scalpel

stérile (Figure 12 : a). Ces morceaux ont ensuite été observés sous microscope en comptant le nombre de spores en germination (présentant des tubes germinatifs) (Figure 12 : b) et ceux non germants sur 100 spores sélectionnés (Jaber, 2018). Après comptage, le pourcentage moyen de spores germants et non germants étaient déterminés pour chacune de souche de champignon entomopathogène par la formule proposée par Jaber (2018) :

$$P (\%) = \frac{\text{Nombre de spores en germination}}{\text{Nombre de spores en germination} + \text{Nombre de spores non germants}} \times 100$$

Les spores étaient estimés comme ayant germés lorsque le pourcentage moyen de germination obtenu pour chaque souche était supérieur à 90% selon (Jaber, 2018).

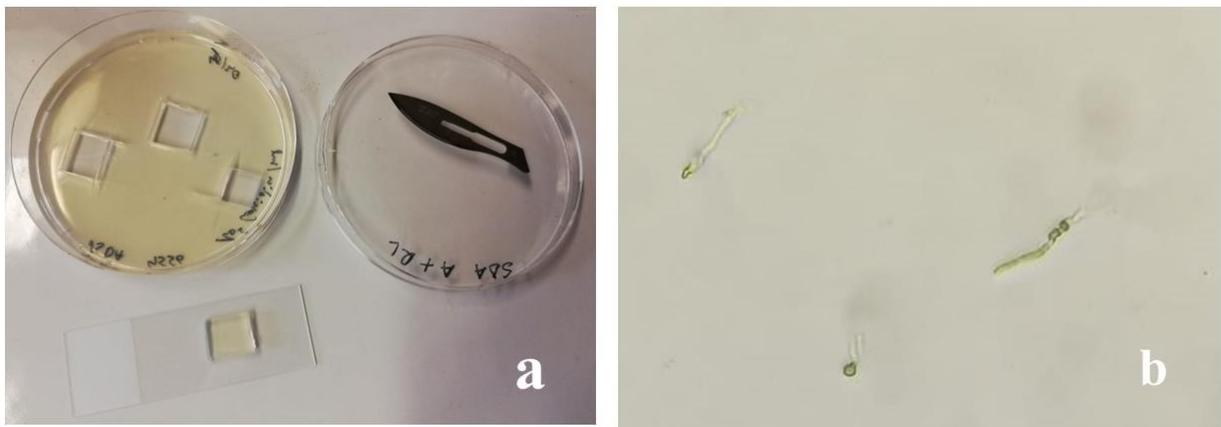


Figure 12: Prélèvement de portions du SDA pour détermination de la viabilité de spores (a) et illustration de spores en germination (b) (R.Lugendo, 2022).

4.5. Dispositifs expérimentaux des tests in vitro de pathogénicité

Trois tests entomopathogènes ont été réalisés durant cette étude. Chaque test présentait les mêmes traitements, respectivement appliqués sur les adultes de *C. maculatus* et de *B. rufimanus*. Comme la maîtrise de la diapause reproductive de *B. rufimanus* en laboratoire est complexe, les effets sub-létaux d'inhibition d'oviposition n'ont pas pu être évalués. Chaque test était constitué de 5 traitements dont 3 traitements fongiques, un traitement chimique au lambda cyhalotrine (400 µl/ml) comme témoin positif et un traitement à l'eau distillée stérile + du Tween 80 (0,05% v/v) comme contrôle ou témoin négatif selon (Djameleddine, 2014) et de 300 bruches adultes.

Le sexage de *C. maculatus* consistait à prélever à l'aspirateur à bouche les bruches adultes en cages d'élevage, à les anesthésier au CO₂ pendant 30 secondes pour les immobiliser, puis à sélectionner séparément au binoculaire les mâles et femelles sur base de leurs caractéristiques morphologiques particulières. La levée de la diapause reproductive chez *B. rufimanus* a consisté à sortir les bruches au frigo et à les placer en conditions ambiantes pendant 10 minutes, puis à les réhydrater et les alimenter par une solution de sucrose à 10%.

La mise en place de 2 premiers tests de pathogénicité de 3 souches de champignons entomopathogènes en étude sur les adultes de *C. maculatus* et de *B. rufimanus* a consisté à prélever 300 bruches adultes sexés de *C. maculatus* (150 mâles et 150 femelles) âgées de 3 jours et 300 adultes non sexés de *B. rufimanus*, à les placer sur papiers filtres sur boîtes de pétri en raison de 20 bruches adultes sexés de *C. maculatus* (10 mâles et 10 femelles) et 20 adultes non sexés de *B. rufimanus* et à les pulvériser (asperger) manuellement à l'aide d'un vaporisateur par 1 ml de suspension de conidies concentrée à 10⁸ conidies/ml de chacune de souches de champignons testées (Figure 13 : a,b). Le même volume était appliqué pour le lambda cyhalotrine et le contrôle. 3 répétitions étaient effectuées pour chaque traitement. Les individus traités étaient ensuite placés en différentes boîtes plastiques transparentes de 10cmx10cm, trouées pour faciliter la pénétration de l'oxygène et désinfectées au départ à l'éthanol 70 % et rincer à l'eau distillée stérile.

Par ailleurs, le 3^e test consistant à évaluer la pathogénicité de 3 souches de champignons entomopathogènes par traitement de semences sur les adultes de *C. maculatus* a été mis en place en prélevant 10 gr de graines saines du niébé, en les nettoyant à l'eau distillée stérile puis en les stérilisant à l'éthanol 70% durant 2 minutes. Le traitement de graines était effectué par immersion ou trempage de celles-ci selon (Jaber & Enkerli, 2016) dans 10 ml de

suspensions conidiennes de chacune de 3 souches testées concentrés à 10^8 conidies/ml en tubes falcons stériles de 50 ml. Le même volume et la même procédure étaient utilisés pour le traitement chimique et le contrôle. Les graines immergées étaient ensuite vortexées pendant 1 minute ; puis séchées sous hotte sur boîtes de pétri pendant 30 minutes (Figure 13 : c) et ensuite placées au sein de boîtes plastiques de 10cmx10cm sur boîtes de pétri. Un total de 300 bruches adultes sexés de *C. maculatus* (soit 150 mâles et 150 femelles) âgés de 3 jours était prélevé de cages d'élevage et placé en raison de 20 bruches adultes sexées (soit 10 mâles et 10 femelles) sur chacun de lot de graines traitées. 3 répétitions étaient également effectuées pour chaque traitement.

Les 3 essais étaient ensuite placés au Phytotron à 23°C à l'obscurité totale pour les individus traités de *C. maculatus* (condition similaire à celle du stockage) et à une photopériode alternée de 12h/12h (condition similaire à celle du milieu ambiant) pour ceux de *B. rufimanus* pour des observations de mortalités toutes les 24 heures (1 jour) selon (Bouchikhi-Tani Zoheir *et al.*, 2011). La durée de suivi de mortalités journalières d'adultes traités de *C. maculatus* et de *B. rufimanus*, de ponte d'adultes traités de *C. maculatus* et des mortalités journalières d'adultes de *C. maculatus* placés sur semences traitées était de 10 jours.

Pour évaluer l'efficacité des différents traitements sur l'évolution de ponte d'adultes traités de *C. maculatus* durant 10 jours d'essai ; 10 grammes de graines saines du niébé étaient prélevés et placés dans chacune de boîtes contenant 20 adultes sexés de *C. maculatus* traités. Ces lots de graines (servant également de ressource alimentaire) étaient retirés des boîtes et renouvelés tous les trois jours (72 heures) puis conservés à -20°C pour comptabiliser les pontes (nombre d'œufs) sur 10 graines sélectionnées aléatoirement à 3 répétitions. Les pontes d'adultes de *C. maculatus* placés sur semences traitées étaient uniquement comptabilisés au 5^e jour d'essai suivant la même procédure. Après la comptabilisation des pontes, les graines du niébé traitées étaient récupérées et conservées sur boîtes de pétri à 30°C et 70% d'humidité relative dans la chambre d'élevage de *C. maculatus* au laboratoire durant 25 jours après lesquels les taux d'infestations de celles-ci étaient déterminés selon la méthode de El-Maziani *et al.* (2016). Les individus traités de *B. rufimanus* étaient alimentés durant le 1^{er} essai par une diète à base d'une solution de miel à 20% en raison de 5ml tous les 3 jours.

Pour confirmer l'infection des champignons entomopathogènes sur les insectes morts après traitements aux suspensions conidiennes de différentes souches en étude, les cadavres étaient récupérés, désinfectés par trempage à éthanol 70% , rincés 3 fois à l'eau distillée stérile puis

placés en incubation à 25°C sur papiers filtres humides pour sporulation. Les cadavres étaient ensuite récupérés puis observés régulièrement au microscope.

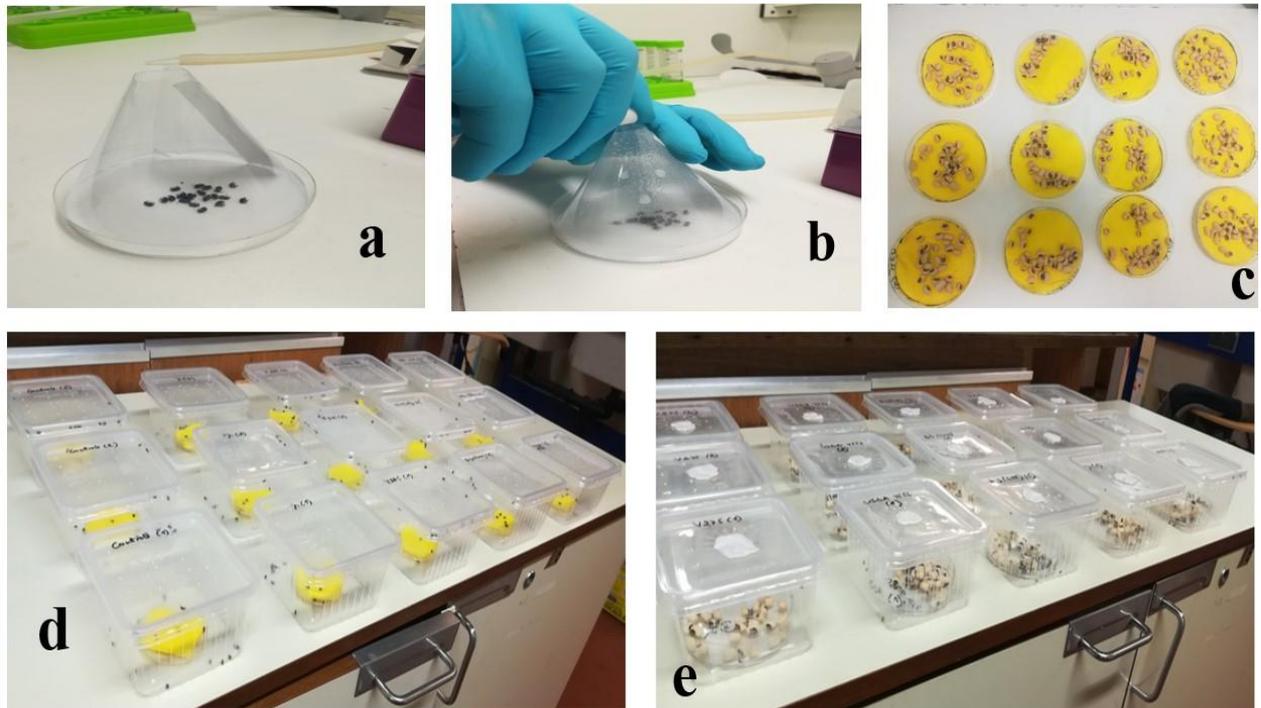
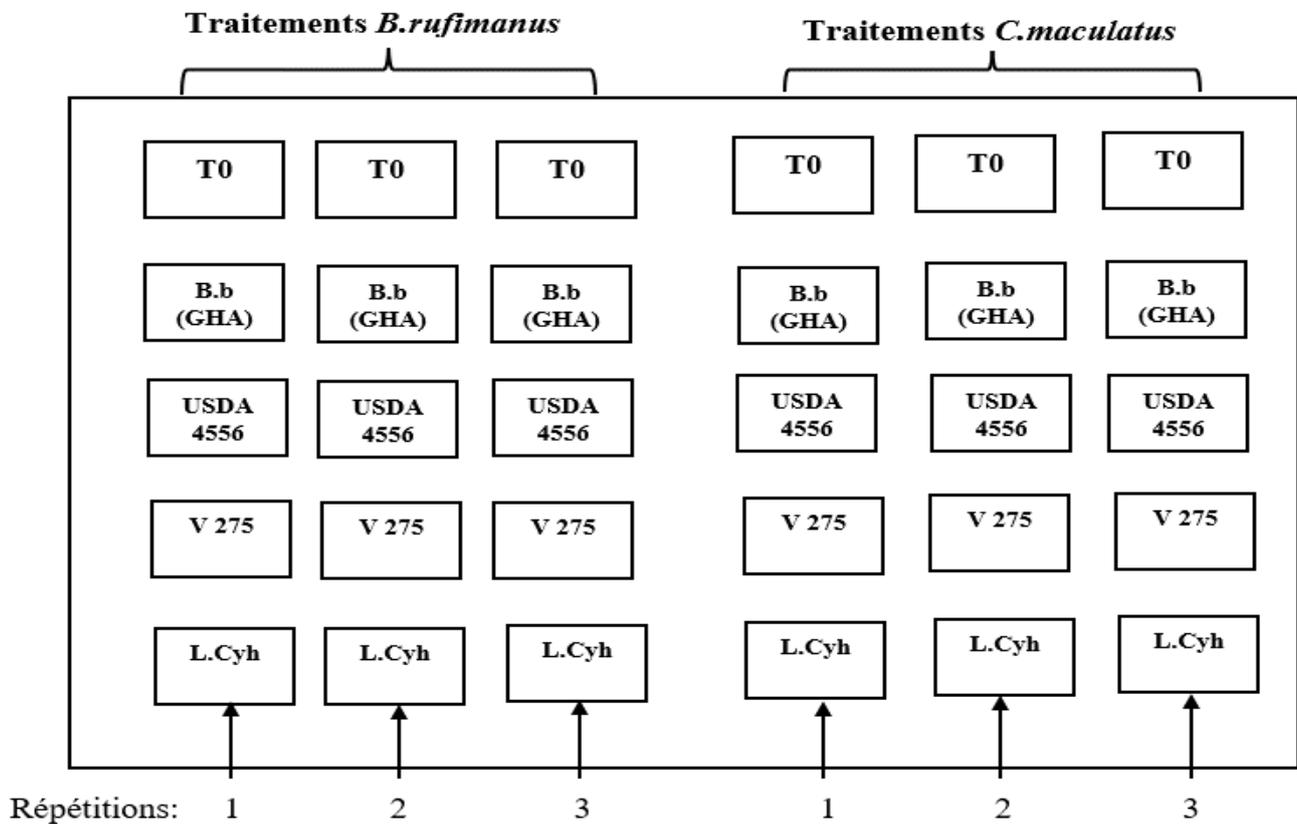


Figure 13: Vaporisation manuelle des suspensions de conidies de souches de champignons entomopathogènes testées sur les individus de 2 espèces bruches en étude (a,b), traitements de graines aux suspensions fongiques (c) et disposition d'individus traités de *Bruchus rufimanus* (d) et de *Callosobruchus maculatus* (e) en boites d'essai au laboratoire (R.Lugendo, 2022).

4.5.1. Représentations schématiques de dispositifs expérimentaux de tests entomopathogènes effectués au laboratoire

a



Avec :

- T0* = Contrôles ou témoins négatifs (eau distillée stérile + Tween 80)
- B.b* (GHA) = Traitements de la souche commerciale GHA de *Beauveria bassiana*
- USDA 4556 = Traitements de la Souche USDA 4556 de *Metarhizium brunneum*
- V275 = Traitements de la Souche V275 de *Metarhizium brunneum*
- L.Cyh = Traitements au Lambda Cyhalotrine (Témoins positifs)

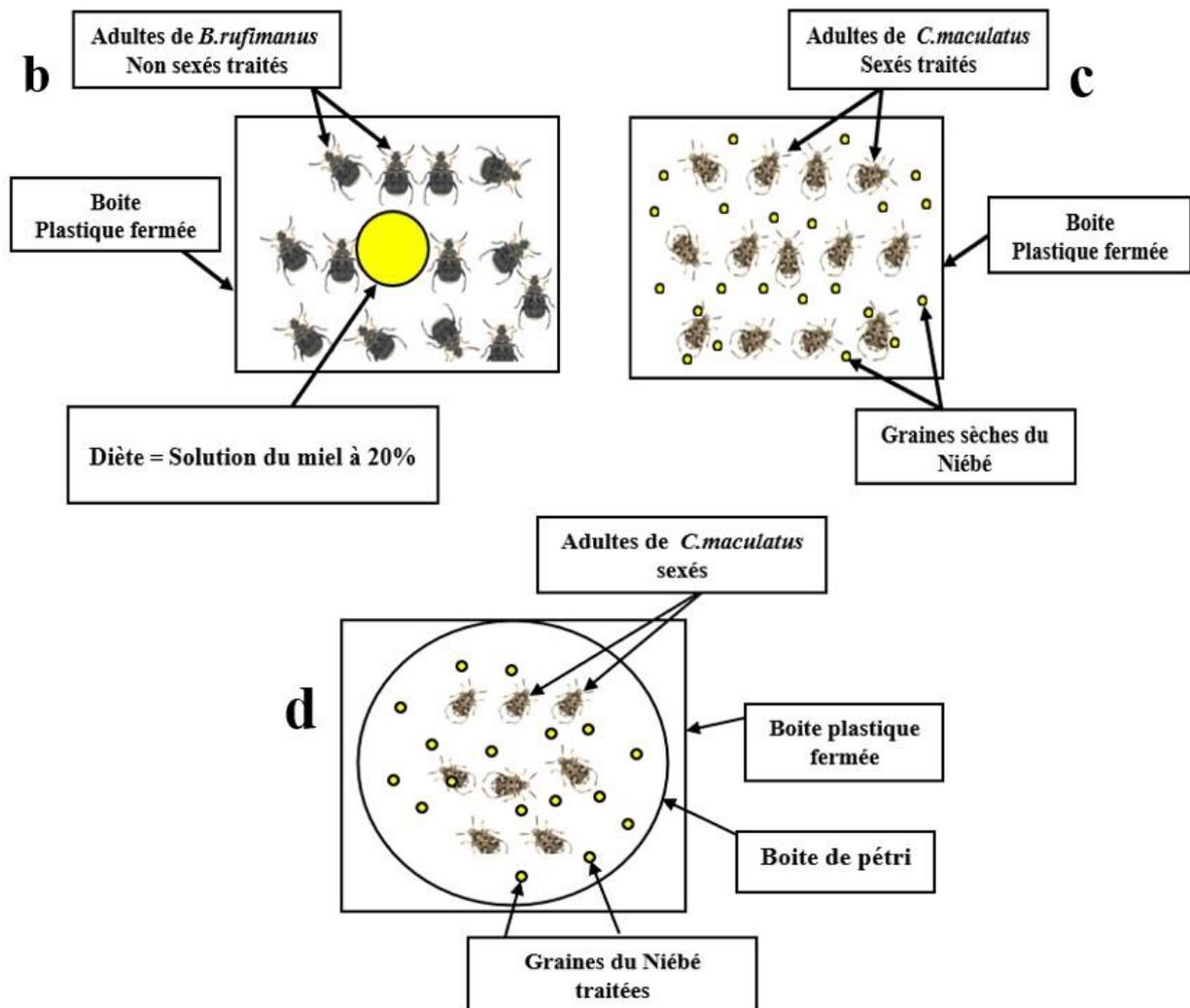


Figure 14: Disposition de différents traitements (a), d'adultes traités de *Bruchus rufimanus* (b) et de *Callosobruchus maculatus* (c) et ceux de *Callosobruchus maculatus* sur graines traitées aux suspensions conidiennes (d) au sein des boites d'essai au cours d'expérimentations (R. Lugendo, 2022).

4.6. Analyses statistiques

Les 3 tests entomopathogènes effectués au laboratoire sur les adultes de *C. maculatus* et de *B. rufimanus* ont été mis en place suivant un dispositif expérimental en bloc complètement randomisé à 1 facteur (facteur traitement) avec 5 niveaux. Les données collectées tout au long de notre étude ont été encodées grâce au logiciel Excel 365. Les analyses statistiques et la conception des graphiques ont été réalisées par le logiciel R studio software version 1.3.9.5.9 ; R version 4.2.0 et Excel 365.

Les données de comptage de graines infestées et saines de féverole et de ponte de *C. maculatus* sur graines du niébé ont été soumises au modèle de poisson au seuil de signification de 5% et intervalles de confiance de 95% afin d'évaluer l'effet du site d'échantillonnage de graine et de la variété de féverole sur les infestations causées aux graines par *B. rufimanus* ainsi que l'effet de différents traitements sur la fécondité de *C. maculatus*. Ces données ont été également soumises aux statistiques descriptives.

Les courbes de survie d'adultes de *B. rufimanus* et *C. maculatus* soumis aux différents traitements ont été établies par la méthode de Kaplan Meier et leur comparaison basée sur le test log-rank en utilisant les packages "survival", "survminer" et dplyr du logiciel R afin d'évaluer les effets létaux de traitements appliqués sur les 2 espèces de bruches en étude.

5. Résultats

5.1. Diversité d'espèces de bruches et de parasitoïdes associées aux cultures de féverole en région Wallonne

a. Espèces de bruches associées aux cultures de féveroles

Tableau 2: Espèces identifiées dans les 8 sites d'échantillonnage de la Région wallonne

<i>Sites de collectes</i>	<i>Familles</i>	<i>Genres</i>	<i>Espèces identifiées</i>	<i>Nombre d'individus</i>	<i>Proportions (%)</i>
<i>Assesse</i>	Chrysomelidae	<i>Bruchus</i>	<i>Bruchus rufimanus</i>	119	99,1
	Curculionidae	<i>Rhinoncus</i>	<i>Rhinoncus bruchoides</i>	1	0,8
	Total			120	100
<i>Beho</i>	Chrysomelidae	<i>Bruchus</i>	<i>Bruchus rufimanus</i>	34	100
	Total			34	
<i>Bierwart</i>	Chrysomelidae	<i>Bruchus</i>	<i>Bruchus rufimanus</i>	83	100
	Total			83	100
<i>Ciney</i>	Chrysomelidae	<i>Bruchus</i>	<i>Bruchus rufimanus</i>	85	100
	Total			85	100
<i>Battice</i>	Chrysomelidae	<i>Bruchus</i>	<i>Bruchus rufimanus</i>	4	80
	Chrysomelidae	<i>Gastrophysa</i>	<i>Gastrophysa viridula</i>	1	20
	Total			5	100
<i>Isnes</i>	Chrysomelidae	<i>Bruchus</i>	<i>Bruchus rufimanus</i>	191	99,4
	Chrysomelidae	<i>Psylliodes</i>	<i>Psylliodes chrysocephala</i>	1	0,5
	Total			192	100
<i>Rebecq</i>	Chrysomelidae	<i>Bruchus</i>	<i>Bruchus rufimanus</i>	12	100
	Total			12	100
<i>Verdenne</i>	Chrysomelidae	<i>Bruchus</i>	<i>Bruchus rufimanus</i>	3	100
	Total			3	100
Total général				534	

Un total de 534 spécimens d'insectes collectés après émergences sur les échantillons de graines de féverole prélevés auprès des agriculteurs dans 8 sites de production de la féverole de la région Wallonne a été identifié à l'espèce par le spécialiste sur base des caractéristiques morphologiques. Les résultats d'identifications ont révélé la présence de 4 espèces différentes

s'agissant de *Bruchus rufimanus*, *Gastrophysa viridula*, *Psylliodes chrysocephala* (3 espèces appartenant à la famille de chrysomelidae) et *Rhinoncus bruchoides* (une espèce issue de la famille de Curculionidae). De ces espèces, *B. rufimanus* a été identifié comme l'espèce la plus abondante avec 531 spécimens de la même espèce identifiés (soit 99,4%) sur un total de 534 spécimens collectés et de surcroît comme principale espèce associée aux cultures de féverole sur l'ensemble des sites échantillonnés en région Wallonne. Les 3 autres espèces identifiées comportaient chacune un seul spécimen identifié correspondant à une proportion de 0,1% par espèce par rapport au nombre total.

En termes de répartition par site, sur 120 ; 192 et 5 spécimens soit 100% de spécimens prélevés sur les échantillons de graines de féverole collectés respectivement à Assesse, à Isnes et à Battice ; 119 ; 191 et 4 spécimens identifiées correspondant à 99,1% ; 99,4% et 80% appartenaient à *B. rufimanus* contre un seul spécimen de *Rhinoncus bruchoides* (soit 0,8%), de *Psylliodes chrysocephala* (soit 0,5%) et de *Gastrophysa viridula* (soit 20%). Par ailleurs, sur 34, 83,85, 12 et 3 spécimens soit 100% de spécimens prélevés sur les échantillons de graines de féverole collectées de manière respective à Beho, Bierwart, Ciney, Rebecq et Verdenne, seule l'espèce *B. rufimanus* a été identifiée.

b. Espèces de parasitoïdes de *Bruchus rufimanus* associés aux cultures de féveroles

Un effectif de 57 spécimens de parasitoïdes a été collecté après émergences sur graines de féverole de 8 sites d'échantillonnés en région Wallonne et envoyé au spécialiste pour identifications à l'espèce. Ces spécimens sont actuellement en cours d'identifications.

5.2. Impacts causés aux graines de féverole par *Bruchus rufimanus* dans différents sites d'échantillonnage de la Wallonie

Les taux d'infestations de graines de féverole par *B. rufimanus* ont été déterminés sur les échantillons prélevés dans 8 sites de culture de la région Wallonne (Figure 15).

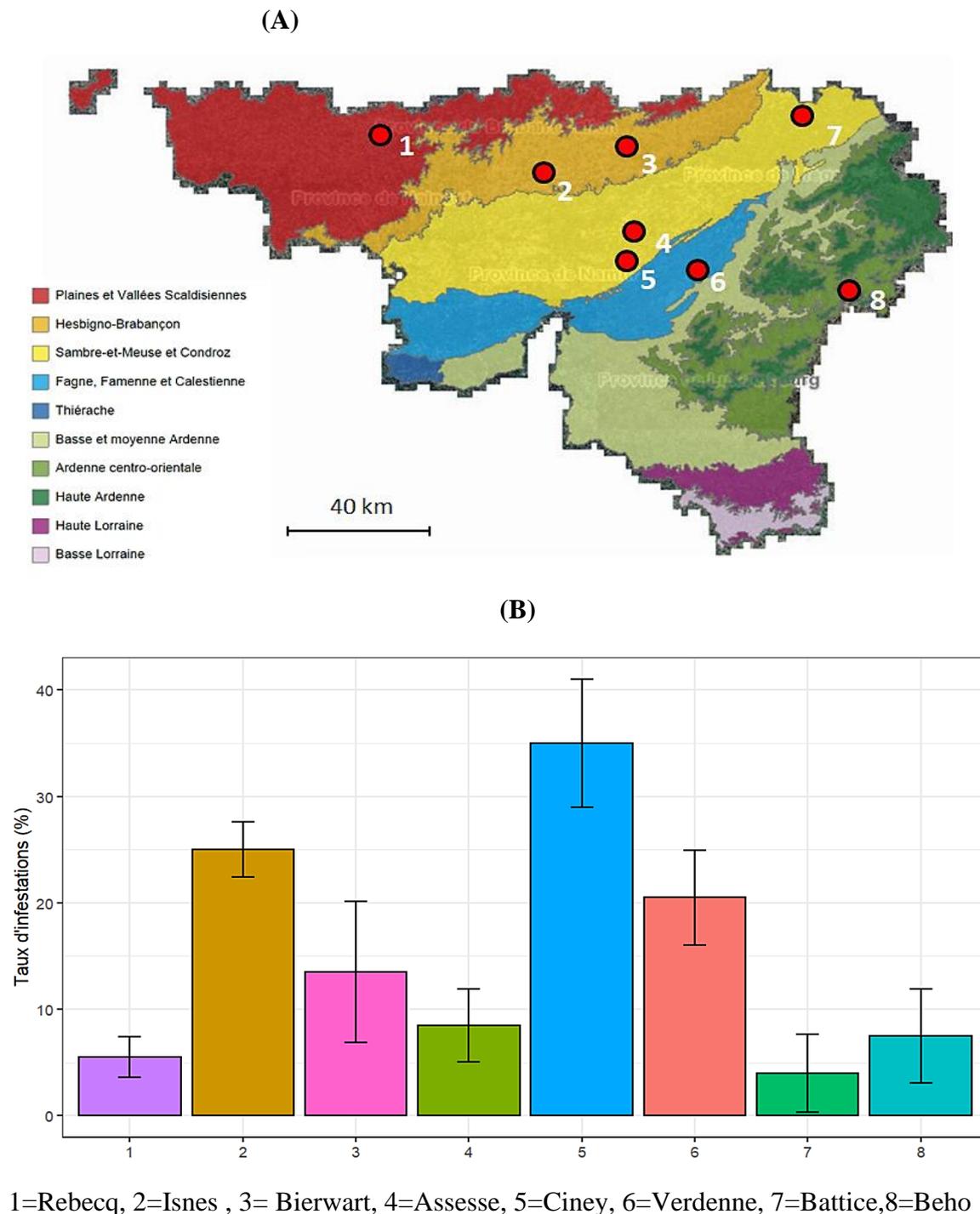


Figure 15: Taux d'infestations moyens en (%) enregistrés sur graines de féverole (B) en fonction des sites d'échantillonnage localisés dans différentes régions bioclimatiques de la région Wallonne (A).

Le modèle de poisson montre une différence très significative ($p < 0,001$) entre les différents sites de culture de la féverole en termes de taux d'infestations de graines par *B. rufimanus* enregistrés sur les échantillons de chacun de site (Annexe 6). Le site d'échantillonnage a eu un effet très significatif sur les dommages causés aux graines par *B. rufimanus*.

Les taux d'infestations enregistrés sur l'ensemble d'échantillons de graines examinés variaient entre 4% et 35%. La proportion de graines infestées par *B. rufimanus* la plus élevée correspondant à $35,0 \pm 6,0$ % a été enregistrée sur l'échantillon de graines collecté à Ciney alors que la plus faible correspondant à $4,0 \pm 3,6$ % de graines infestées a été observée sur les collectes effectuées à Battice.

Tableau 3: Caractéristiques des échantillons de graines de féveroles collectés sur huit sites de culture en Région wallonne.

Lieu	Producteur	Coordonnées GPS - altitude	Réf. n°	Culture	Masse tot échantillon (g)	Masse féverole (g)	% féverole	Humidité (%)	PMG (féverole)	Taux d'infestation moyen ± SD
Isnes	CePICOP	(50°50'34" ; 4°73'19") alt. = 174,75 m	2	Pure	7852	7852	100,00	8,2	385,38	25,0 ± 2,5
Beho	Joseph Neysen	(50°18'86" ; 5°98'41") alt. = 455,11m	8	Association	6218	3798	61,08	9,2	523,7	7,5 ± 4,4
Verdenne	Anne Françoise George	(50°23'52" ; 5°38'85") alt. = 290m	6	Association	7113	3637	51,13	6,8	387,52	20,5 ± 4,4
Battice	Jean Pierre Deru	(50°64'59" ; 5°78'84") alt. = 300m	7	Pure	8510	8510	100,00	5,4	323,42	4,0 ± 3,6
Assesse	Guillaume Fastré	(50°38'09" ; 4°99'73") alt. = 280 m	4	Pure	12114	12114	100,00	11,1	170,42	8,5 ± 3,4
Bierwart	Quentin Flamand	(50°54'78" ; 5°01'35") alt. = 190,7m	3	Association	6435	3535	54,93	7,8	360,58	13,5± 6,6
Ciney	Morgane Campion	(50°29'77" ; 5°10'45") alt. = 275 m	5	Pure	4140	4140	100,00	5,8	300,14	35,0 ± 6,0
Rebecq	Pierre Denys	(50°41'14" ; 4°07'22") alt. = 71,14 m	1	Pure	6339	6339	100,00	6,4	386,118	5,5 ± 1,9

5.3. Effet variétal sur les dommages causés aux graines par *Bruchus rufimanus*

Les taux d'infestations de graines par *B. rufimanus* ont été évalués au laboratoire sur les échantillons de graines de 24 variétés de féverole constituées de 11 variétés d'Hiver et 13 de printemps collectées en 2021 sur le site d'essai de Cepicop à Gembloux en vue d'évaluer l'effet variétal sur les dommages causés aux graines par le ravageur.

Les résultats d'infestations enregistrés sur les 11 variétés de féverole d'Hiver et les 13 de printemps sont présentés par les figures 16 et 17 ci-dessous :

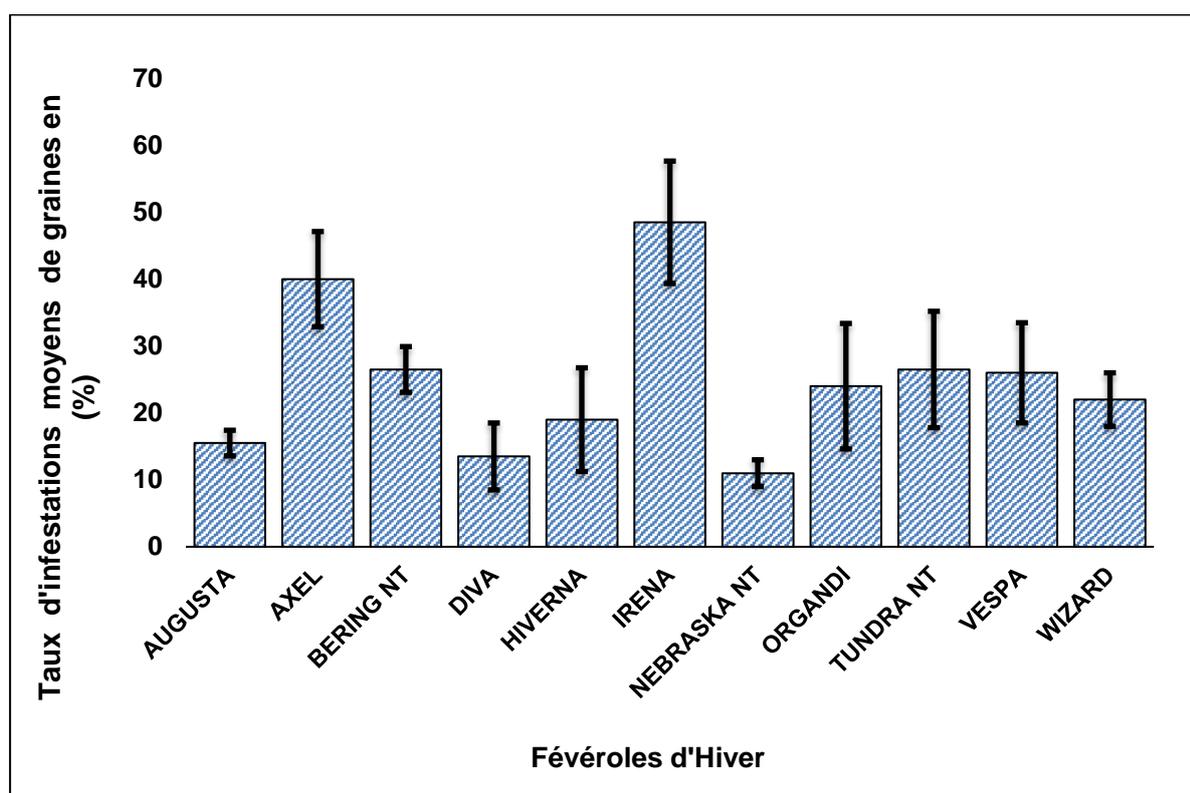


Figure 16: Taux d'infestations moyens en (%) enregistrés sur graines de 11 variétés de féverole d'Hiver.

Des écarts hautement significatifs sont indiqués par le modèle de poisson entre les 11 variétés de féverole d'hiver ($p < 0,001$) et les 13 de printemps ($p < 0,001$) examinées au laboratoire en termes des taux d'infestations de graines par *B. rufimanus* enregistrés (Annexes 7 et 8). La variété a eu un effet très significatif sur les dommages causés aux graines par le ravageur.

Sur les 11 variétés de féverole d'hiver analysées (Figure 16) ; les taux d'infestations de graines enregistrés ont varié entre 11% et 48,5%. Les proportions de graines infestées les plus

élevées correspondant à $48,5 \pm 9,1\%$ et $40,0 \pm 7,1\%$ ont été enregistrées sur les variétés Irena et Axel et la plus faible équivalent à $11 \pm 2\%$ sur la variété Nebraska NT.

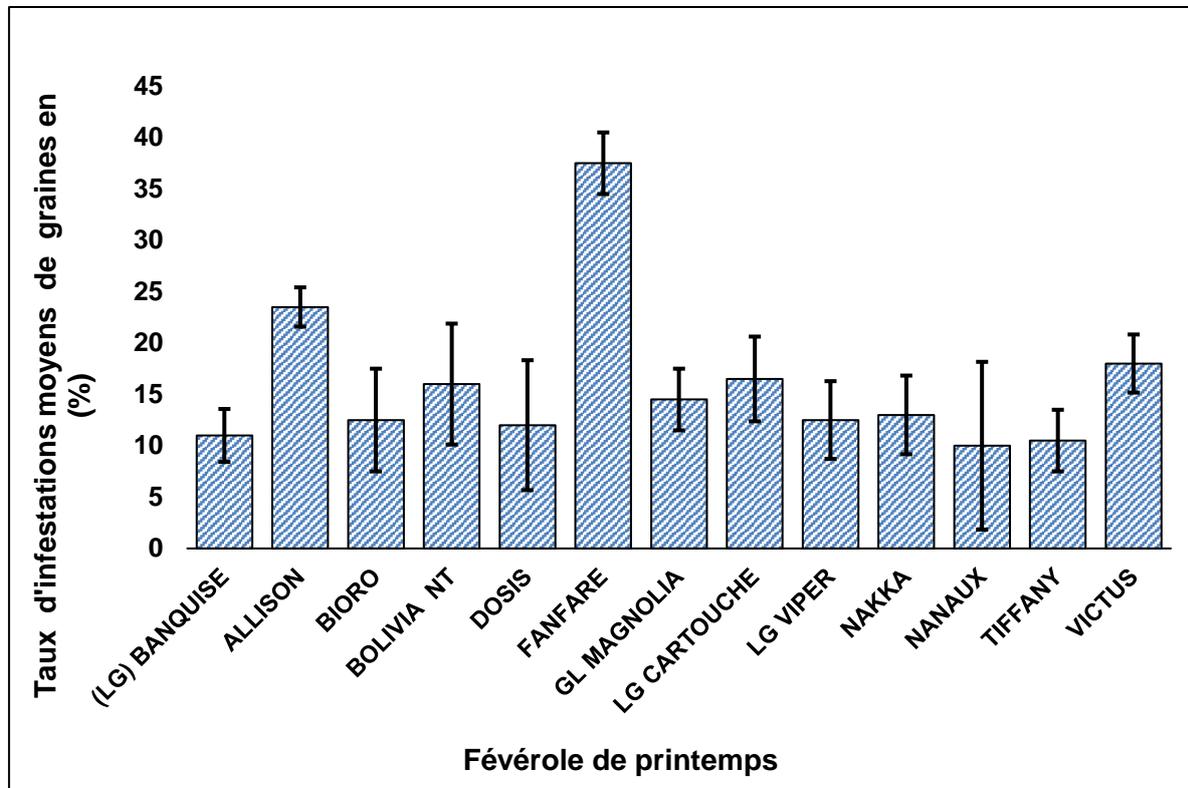


Figure 17: Taux d'infestations moyens en (%) enregistrés sur graines de 13 variétés de féverole de printemps.

S'agissant de 13 variétés de féverole de printemps analysées (Figure 17), les taux d'infestations de graines enregistrés variaient de 10% à 37,5%. La proportion la plus élevée de graines endommagées par *B. rufimanus* soit $37,5 \pm 3,0\%$ a été observée sur la variété Fanfare et la plus basse correspondant à $10,0 \pm 8,1\%$ sur la variété Nanaux.

De manière globale, parmi les 24 variétés de féverole d'hiver et de printemps examinées, les variétés Irena et Axel ($48,5 \pm 9,1\%$; $40,0 \pm 7,1\%$) ont été les plus impactées par les dommages causés aux graines par *B. rufimanus* et les variétés Nanaux et Tiffany ($10,0 \pm 8,1\%$; $10,5 \pm 3,0\%$) les moins impactées.

5.4. Pathogénicité de souches de champignons entomopathogènes testées sur la bruche tempérée *Bruchus rufimanus* et la bruche tropicale *Callosobruchus maculatus*.

La pathogénicité de souches GHA de *B. bassiana*, USDA 4556 et V275 de *M. brunneum* a été évaluée sur les adultes de *B. rufimanus* et *C. maculatus* pendant 10 jours d'essai au laboratoire. Les résultats de tests de viabilité de spores de chacune de 3 souches de champignons entomopathogènes testées ont révélé en moyenne des pourcentages de spores germés supérieur à 90%. Faisant référence à la norme de viabilité de spores selon Jaber (2018), les conidies de souches testées étaient donc viables.

5.4.1. Efficacité des souches GHA, USDA 4556 et V275 sur la mortalité d'adultes de *Bruchus rufimanus*

Les résultats de l'efficacité de 3 souches de champignons entomopathogènes testées sur la mortalité d'adultes traités de *B. rufimanus* au cours de 10 jours d'essai sont illustrés par la figure 18.

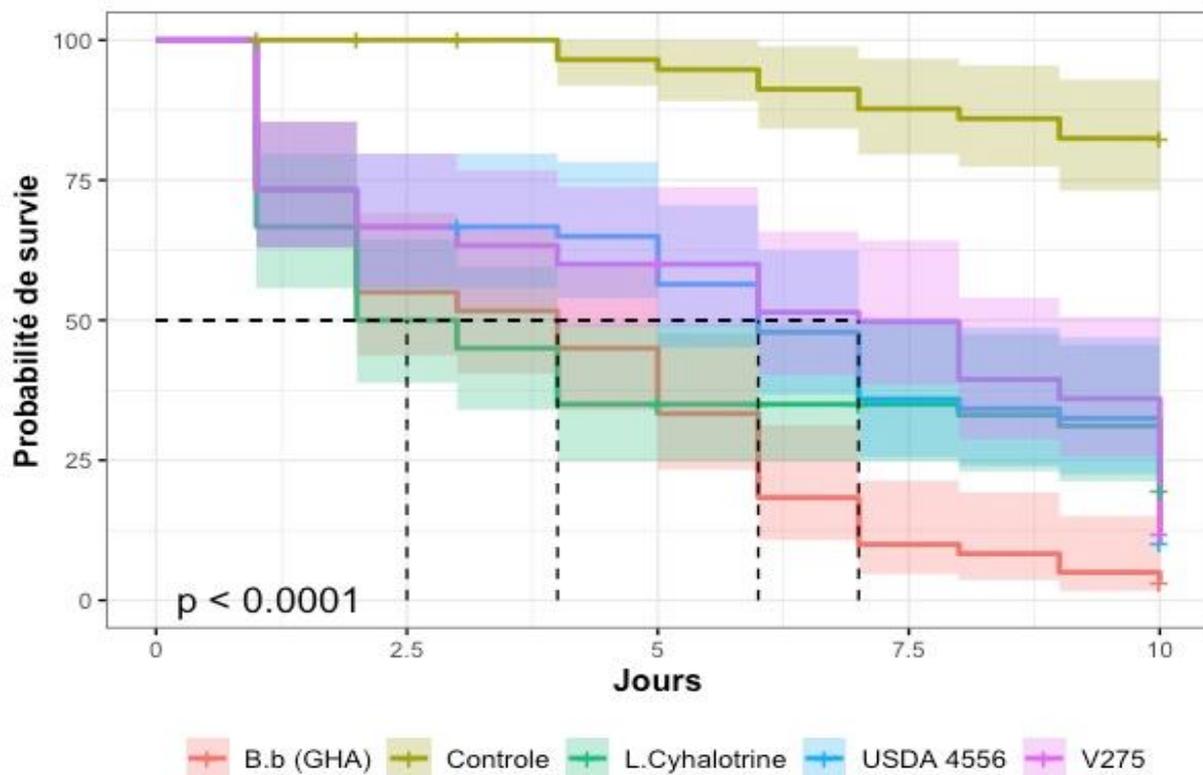


Figure 18: Evolution des courbes de survie d'adultes de *Bruchus rufimanus* traités au cours de 10 jours d'essai en fonction de traitements appliqués.

Il ressort du test log-rank une différence hautement significative ($p < 0,001$) entre les différentes courbes de survie d'adultes traités de *B. rufimanus* en fonction de différents

traitements appliqués (Figure 18). La souche commerciale GHA de *B. bassiana* a causée plus de mortalité d'adultes de *B. rufimanus* comparativement à d'autres traitements. Des taux de mortalités d'adultes correspondant à 96,6% ; 88,3% ; 86,6%, 78,3% et 16,6% ont été respectivement enregistrés au 10^e jour après traitement par les souches GHA; USDA 4556, V275, le lambda cyhalotrine et le contrôle. Par ailleurs, les TL50 observés pour les différents traitements étaient de 4 jours pour la souche GHA, 6 jours pour USDA 4556, 7 jours pour V275 et 2,5 jours pour la lambda cyhalotrine.

5.4.2. Efficacité des souches GHA, USDA 4556 et V275 sur la mortalité d'adultes de *Callosobruchus maculatus*

La performance des 3 souches de champignons entomopathogènes a été également évaluée sur les adultes de *C. maculatus* pendant 10 jours d'essai au laboratoire. Les résultats de l'efficacité des souches testées sur la mortalité d'adultes de *C. maculatus* sont illustrés par figure 19 ci-dessous :

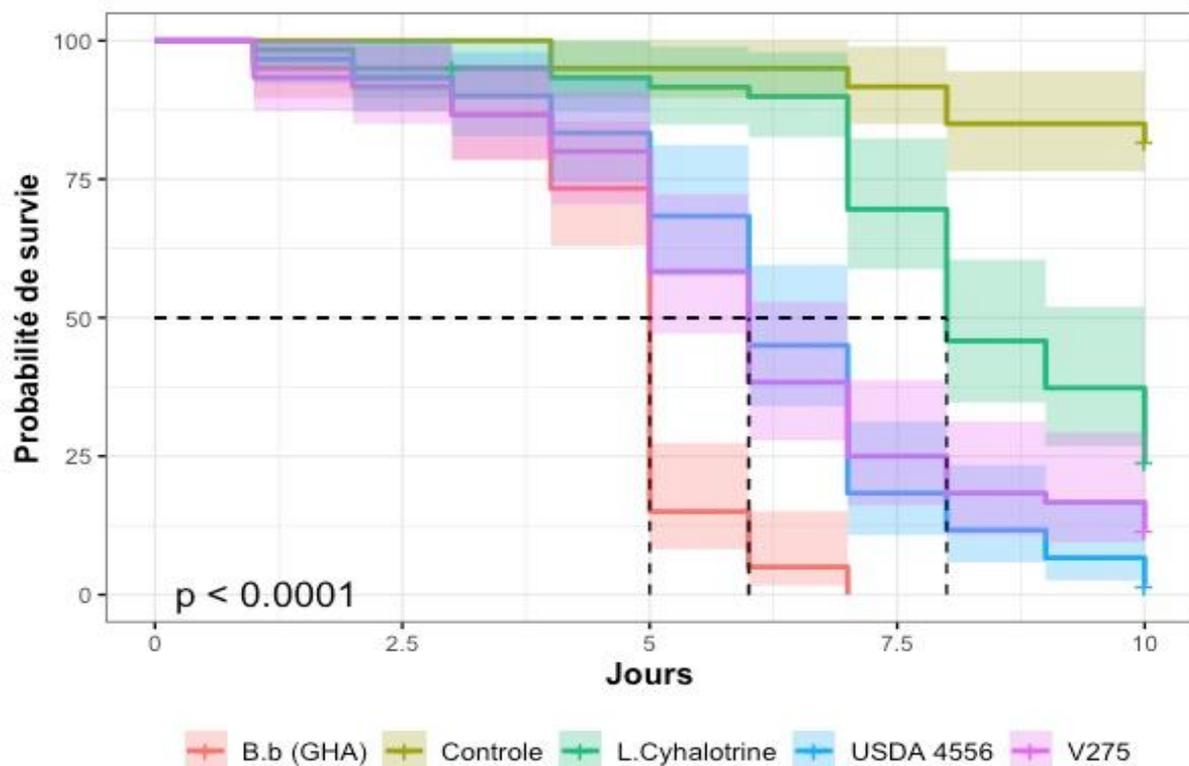


Figure 19: Evolution des courbes de survie d'adultes de *Callosobruchus maculatus* traités au cours de 10 jours d'essai en fonction de traitements appliqués.

Le test log-rank indique une différence très significative ($p < 0,001$) entre les différentes courbes de survie d'adultes de *C. maculatus* soumis aux différents traitements (Figure 18).

Les traitements appliqués ont eu d'effet très significatif sur la mortalité d'adultes de *C. maculatus* observée. La souche commerciale GHA de *B. bassiana* s'est montrée plus efficace comparativement à d'autres traitements en causant une mortalité de 100% d'adultes traités de *C. maculatus* au 7^e jour d'essai. Par ailleurs, des mortalités équivalentes à 98,3% ; 88,3% ; 75% et 18,3% ont été respectivement obtenues avec les souches USDA 4556, V275, le lambda cyhalotrine et le contrôle au 10^e jour après traitement. Les TL50 observés étaient de 5 jours pour la souche GHA, 6 jours pour les souches USDA 4556 et V275 et 8 jours pour la lambda cyhalotrine.

5.4.3. Efficacité de souches GHA, USDA 4556 et V275 sur la fécondité de *Callosobruchus maculatus*

Le potentiel des différentes souches de champignons entomopathogènes en étude a été également évalué sur la ponte de *C. maculatus* tous les 3 jours durant la période d'essai. Les résultats de l'évolution de ponte sont illustrés par la figure 20 ci-dessous :

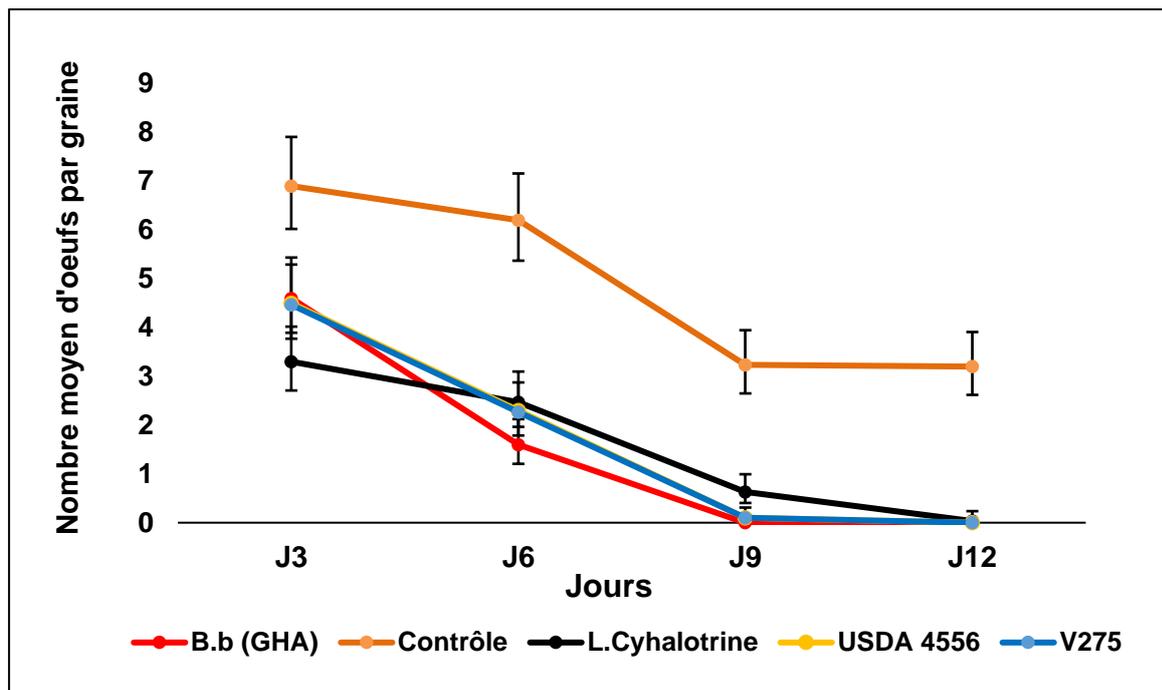


Figure 20: Efficacité de souches de champignons entomopathogènes testées sur la ponte de *Callosobruchus maculatus* pendant 10 jours d'essai.

Le modèle de poisson fait ressortir une différence extrêmement significative entre les différents traitements et le contrôle ($p < 0,001$) en termes de pontes de *C. maculatus* enregistrées tous les 3 jours au cours de la période d'essai (Annexe 10). Une diminution de la capacité de ponte d'individus de *C. maculatus* traités a été observée au fil de jours après

traitement. Aucune ponte de *C. maculatus* (soit $00,0 \pm 00,0$ œuf par graine) n'a été enregistrée sur graines du niébé retirées de boîtes d'insectes traités avec la souche GHA de *B. bassiana* au 9^e jour d'essai. Cependant, des valeurs moyennes de ponte observées au même jour pour USDA 4556, V275, lambda cyhalotrine et le contrôle étaient respectivement de l'ordre de $0,1 \pm 0,4$; $0,1 \pm 0,3$; $0,6 \pm 0,7$ et $3,2 \pm 1,1$ œufs par graine.

5.4.4. Efficacité des souches GHA, USDA 4556 et V275 appliquées aux semences (graines) du niébé sur la mortalité d'adultes de *Callosobruchus maculatus*, la ponte au 5^e jour et la conservation de graines pendant 25 jours.

a. Efficacité des souches GHA, USDA 4556 et V275 appliquées aux semences (graines) du niébé sur la mortalité de *Callosobruchus maculatus*

Les mortalités d'adultes de *C. maculatus* observées sur graines traitées aux suspensions fongiques de 3 souches de champignons entomopathogènes testées sont illustrées par la figure 21 ci-dessous :

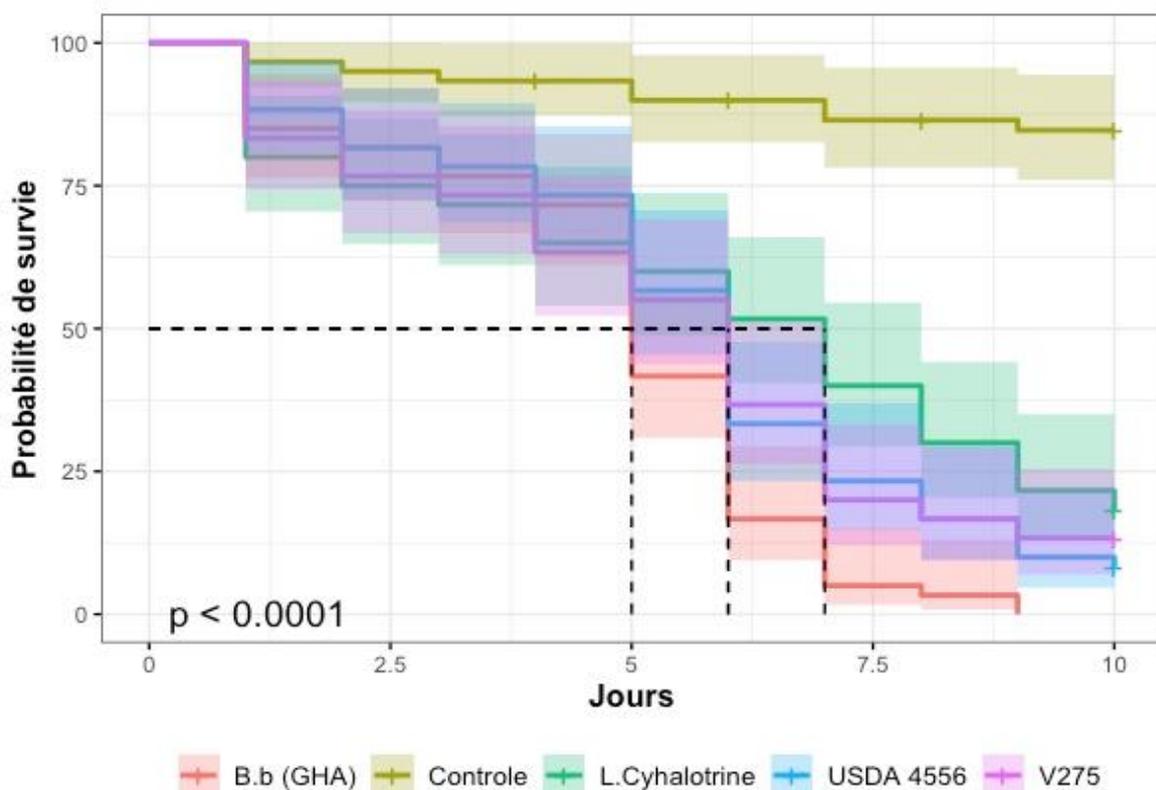


Figure 21: Evolution des courbes de survie d'adultes de *Callosobruchus maculatus* placés sur graines traitées aux suspensions fongiques pendant 10 jours d'essai.

Le résultat du test log-rank montre une différence très significative ($p < 0,001$) entre les différentes courbes de survie d'adultes de *C. maculatus* placés sur les graines du niébé soumises aux différents traitements durant 10 jours d'essai (Figure 21). Les traitements appliqués aux graines ont eu un effet très significatif sur la mortalité de *C. maculatus*. La souche GHA de *B. bassiana* s'est montrée plus virulente comparativement à d'autres traitements appliqués aux graines en causant une mortalité de 100% d'adultes de *C. maculatus* placés sur graines traitées aux suspensions de conidies de celle-ci au 9 jours d'essai. Par contre, des mortalités équivalentes à 91,6% ; 86,6% ; 81,7% et 15% ont été observées au 10^e jour de traitement sur les graines traitées aux suspensions des souches USDA 4556 et V275 de *M. brunneum*, au lambda cyhalotrine et à l'eau distillée stérile + Tween 80 (contrôle). Les TL50 enregistrés sur graines traitées étaient de 5 jours pour la souche GHA, 6 jours pour les souches USDA 4556 et V275 et 7 jours pour la lambda cyhalotrine.

b. Efficacité des souches GHA, USDA 4556 et V275 appliquées aux semences (graines) du niébé sur la ponte de *C. maculatus* au 5^e jour d'essai.

La ponte de *C. maculatus* sur les graines du niébé traitées aux suspensions fongiques a été évaluée au 5^e jour d'essai. Les résultats y relatifs sont ressortis par la figure 22 ci-dessous :

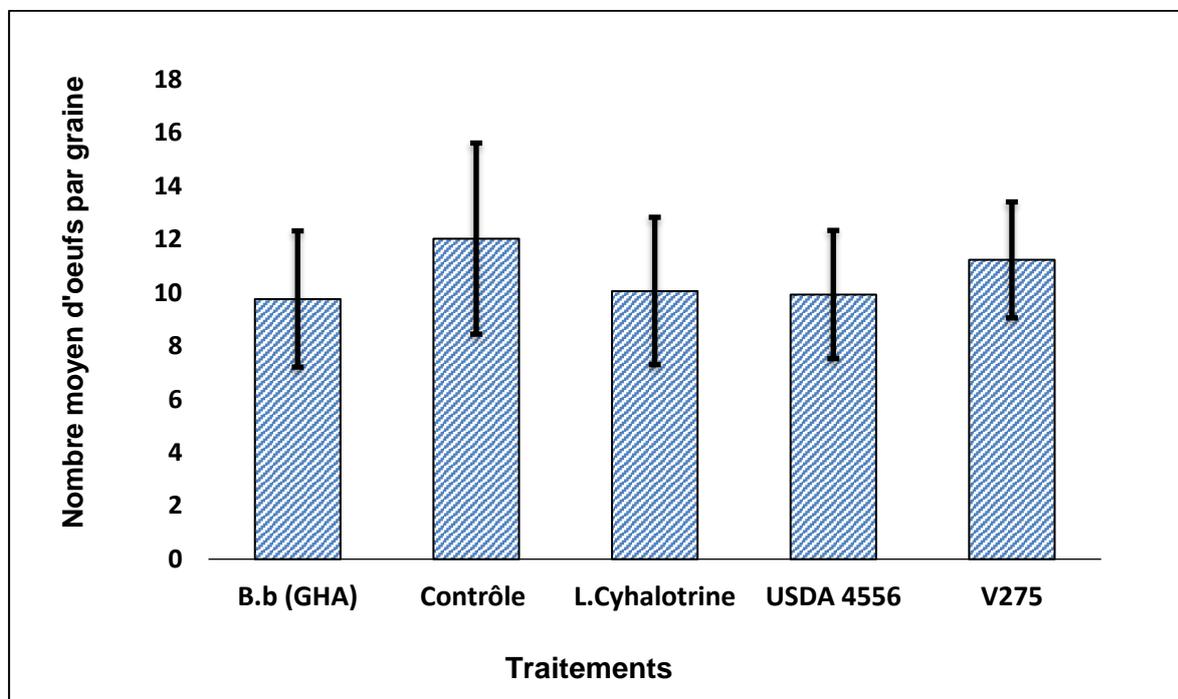


Figure 22: Efficacité de différents traitements appliquées sur graines du niébé sur la ponte de *Callosobruchus maculatus* au 5^e jour d'essai.

Le modèle de poisson montre un écart significatif ($p=0.028$) entre les différents traitements appliqués aux graines en termes de ponte observée (Annexe 9). La ponte de *C. maculatus* au 5^e jour d'essai a été influencée de manière significative par les traitements appliqués aux graines. Les moyennes d'œufs par graine enregistrées au 5^e jour d'essai étaient de l'ordre de $9,7 \pm 2,5$; $9,9 \pm 2,4$; $11,2 \pm 2,1$; $10,0 \pm 2,7$ et $12,0 \pm 3,5$ œufs sur graines traitées respectivement aux suspensions conidiennes de la souche GHA ; USDA4556 ; V275, au lambda cyhalotrine et à l'eau distillée stérile + Tween 80 ou contrôle.

c. Efficacité de souches GHA, USDA 4556 et V275 appliquées aux semences (graines) du niébé sur la conservation de graines après 25 jours contre les infestations causées par *Callosobruchus maculatus*

La performance de souches GHA, USDA 4556 et V275 sur la conservation des graines du niébé traitées aux suspensions conidiennes de chacune d'elle contre les infestations induites par *C. maculatus* était examinée après 25 jours au laboratoire. Les résultats des taux d'infestations enregistrés sur les graines traités sont illustrés par la figure 23 ci-dessous :

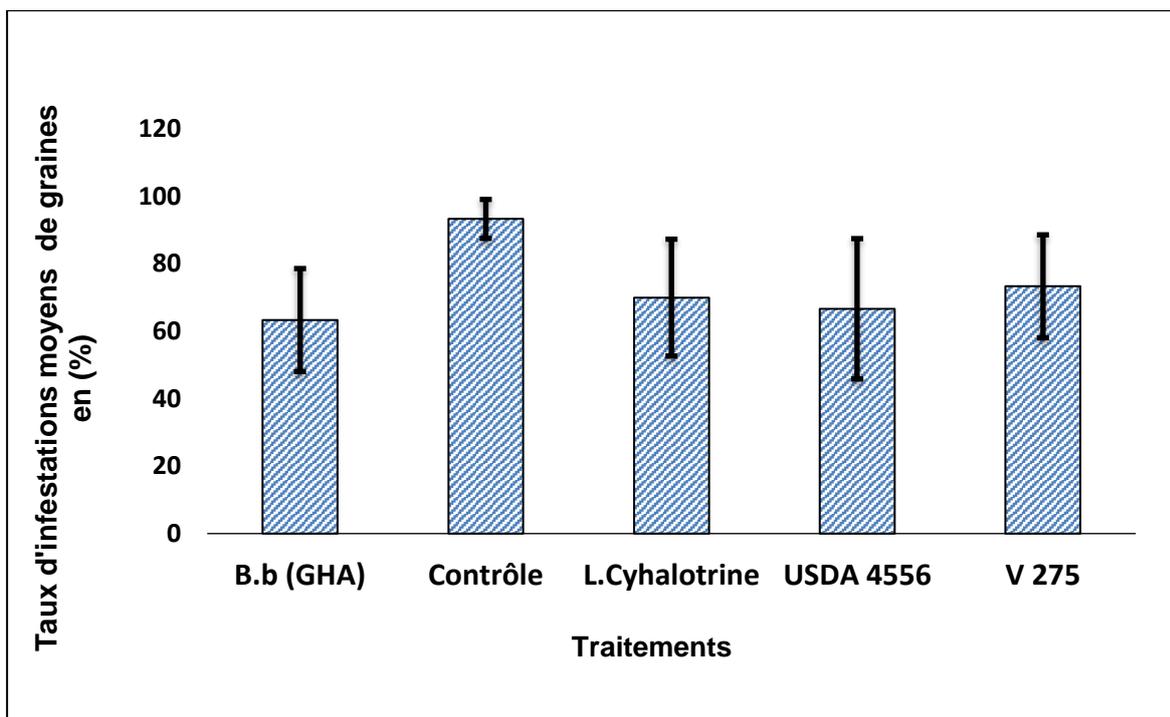


Figure 23: Taux d'infestations moyens en (%) enregistrés sur graines du niébé traitées après 25 jours de conservation au laboratoire en fonction de traitements appliqués.

Aucune différence significative ($p=0,704$) n'a été révélée par le modèle de poisson entre les différents traitements soumis aux graines en termes d'infestations enregistrés après 25 jours

de conservation (Annexe 11). Des taux d'infestations correspondant à $63,3 \pm 15,2\%$; $66,6 \pm 20,8\%$; $73,3 \pm 15,2\%$ de graines infestées par *C. maculatus* ont été respectivement enregistrés sur les graines traitées aux suspensions de conidies de la souche GHA de *B. bassiana* ; de USDA 4556 et de V275 de *M. brunneum* et des valeurs correspondant à $70,0 \pm 17,3\%$ et $93,3 \pm 5,7\%$ celles traitées au lambda cyhalotrine et à l'eau distillée stérile + Tween 80 (contrôle).

6. Discussion

6.1. Diversité d'espèces de bruches et de parasitoïdes associées aux cultures de féverole en région Wallonne

Les résultats d'identifications de 534 spécimens d'insectes collectés sur les échantillons de graines de la féverole prélevés dans 8 sites de culture en région Wallonne ont révélé 4 espèces différentes s'agissant de *Bruchus rufimanus*, *Gastraphysa viridula*, *Psylliodes chrysocephala* et de *Rhinoncus bruchoides* parmi lesquelles *Bruchus rufimanus* a été identifiée comme espèce la plus abondante et principale espèce de bruche associée aux cultures de féverole dans les 8 sites de production échantillonnés.

Ce résultat s'expliquerait d'une part par la large distribution caractérisant l'espèce *B. rufimanus* qui couvre toutes les régions productrices de *Vicia faba* au niveau mondiale et particulièrement sur le continent européen (Roubinet, 2016; Ward, 2018). Selon (Decelle, 1989), l'aire de distribution de *B. rufimanus* s'étend sur toutes les régions productrices de la féverole de la Belgique. La forte abondance de *B. rufimanus* et la faible diversité d'espèce de bruches observées pourrait s'expliquer d'autres part par le décalage phénologique entre les potentielles différentes espèces attachées à la culture de la féverole étant donné que les graines collectées dans les sites d'échantillonnages étaient placées en pièges d'émergences après récolte au champ. Titouhi et al. (2015) rapportent que, les populations de bruche de la féverole sont caractérisées par une dynamique saisonnière. Cette saisonnalité dans l'apparition de l'entomofaune associée à la culture de la féverole aurait influé sur l'absence d'autres espèces vu la grande diversité de Bruchinae connue à l'ère actuel en Belgique, estimée à 19 espèces (natives et exotiques) selon Jean-Yves BAUGNÉE et al.(2021). Néanmoins, nos résultats concordent avec ceux obtenus par Fariza & Salaheddine (2004) qui au cours d'une capture effectuée sur culture de la fève en Tunisie, ont réussi à identifier *B. rufimanus* comme le coléoptère le plus dominant parmi les principaux ravageurs et prédateurs de la féverole recensés. *B. rufimanus* a également été identifié comme principale espèce sur culture de féverole au Maroc par El-Maziani et al.(2016). Cependant, nous n'avons pas pu accéder aux informations précises associant les autres espèces identifiées aux cotés de *B. rufimanus* aux cultures de féverole à travers la littérature. Les résultats d'identifications de 57 spécimens de parasitoïdes par le spécialiste n'ont pas également été rendus disponibles dans le délai prévu, cause pour laquelle leurs véritables identités ne sont pas ici révélées.

6.2. Impacts causés aux graines de la féverole collectées dans différentes régions bioclimatiques de la Wallonie par *Bruchus rufimanus*.

Les taux d'infestations enregistrés sur les échantillons de graines de la féverole collectées dans différents sites de la région Wallonne ont varié de manière très significative ($p < 0,001$) en fonction des sites d'échantillonnage. La localisation de ces différents sites dans différentes régions bioclimatiques de la région Wallonne expliquerait ces différences observées. Ces différences résulteraient de l'influence des facteurs climatiques précisément celle de la température sur l'activité et le cycle de vie de *B. rufimanus*. Selon El-Maziani et al. (2016) et Roubinet (2016), les infestations causées aux graines par *B. rufimanus* varient en fonction des régions et des pays. Ces variations résultent des différences des conditions météorologiques entre différentes régions de culture et de la variété selon Roubinet (2016). Ward (2018) estime également que les conditions climatiques et la croissance des cultures sont les principaux facteurs régulateurs de la dynamique de population chez *B. rufimanus*. Des températures avoisinant 15°C au printemps, sont favorables à l'activité et à la colonisation des cultures par *B. rufimanus* (Medjdoub-Bensaad et al., 2015). Il ressort de nos résultats que les taux d'infestations de graines par *B. rufimanus* enregistrés sur les collectes de différents sites variaient entre 4% et 35%. La valeur la plus élevée observée sur l'ensemble des sites échantillonnés précisément à Ciney était de $35,0 \pm 6,0\%$. Des valeurs d'infestations presque similaires équivalent à 42,26% ; 37% et 35,5% ont également été observées sur graines de la fève par El-Maziani et al. (2016) au Maroc et par Titouhi et al. (2015) sur deux variétés tunisiennes de la fève. Ces valeurs se situent également dans l'intervalle de 3 à 100 % révélé comme gamme d'infestations causé aux graines de la féverole par *B. rufimanus* par Roubinet (2016).

6.3. Effet variétal sur les dommages causés aux graines par *Bruchus rufimanus*

Le résultat d'évaluation des dommages causés par *B. rufimanus* aux graines de 24 variétés de féverole analysées au laboratoire indiquent un effet très significatif ($p < 0,001$) de la variété sur les infestations causées aux graines par la bruche de la féverole. Cet effet variétal serait lié aux différences de sensibilité de variétés analysées vis-à-vis de *B. rufimanus*. Szafirowska (2012) a identifié différentes réponses des variétés de la fève sur l'alimentation de *B. rufimanus*. Selon Segers et al. (2022), la variété est le principal paramètre qui influe sur les infestations de graines de la féverole par *B. rufimanus*. Associer au climat favorable au ravageur, l'effet variétal sur les dommages causés aux graines par *B. rufimanus* devient de

plus en plus intense (Roubinet, 2016; Titouhi et al., 2015). Il découle de nos résultats que les taux d'infestations de graines observés ont varié de 11% à 48,5% sur les variétés de féverole d'hiver et de 10% à 37,5% sur celles du printemps. Les taux d'infestations de graines les plus élevés correspondant à $48,5 \pm 9,1\%$ et $40,0 \pm 7,1\%$ ont été enregistrés sur les variétés Irena et Axel deux variétés d'hiver et les plus faibles équivalents à $10,0 \pm 8,1\%$ et $10,5 \pm 3,0\%$ sur les variétés Nanaux et Tiffany (féveroles de printemps). Des valeurs d'infestations de graines presque similaires équivalent à $46,5 \pm 8,2\%$ et $42,0 \pm 10,20\%$ pour les variétés Irena et Axel correspondant aux taux d'infestations les plus élevés, ont été observées au cours d'un essai variétal de 2019 par Segers et al. (2022). Par ailleurs des proportions de graines infestées légèrement écartées équivalent à $61,0 \pm 3,4\%$ et $52,0 \pm 12,9\%$ pour Irena et Axel étaient enregistrées au cours d'un autre essai de 2020 par le même chercheur.

Il découle de nos résultats que des fortes infestations de graines ont été observées sur les variétés de féverole d'hiver par rapport à celles de printemps. Cette situation se justifierait par le fait qu'au cours des essais variétaux menés sur le site de Cepicop en 2019 et 2020 (lieu de provenance de nos variétés analysées) par Segers et al. (2022), les variétés d'hiver ont été soumises aux fortes pressions parasitaires ayant causé ultérieurement des dommages très considérables aux semences. Cette forte pression parasitaire serait liée à leur floraison précoce ayant conduit à un envahissement anticipé des cultures par les femelles et mâles de *B. rufimanus* ainsi qu'à l'allongement de la période de ponte et d'approvisionnement alimentaire aux ravageurs. Le résultat du suivi des ravageurs effectué sur le site d'essai au cours de ces 2 années par Segers et al. (2022) a révélé que les populations de *B. rufimanus* ont demeuré plus longtemps et en forte densité sur les variétés d'hiver. D'où, la différence observée en termes de dégâts entre les variétés d'hiver et de printemps.

6.4. Efficacité des souches GHA, USDA 4556 et V275 sur les adultes de *Callosobruchus maculatus* et de *Bruchus rufimanus*

a. Efficacité de 3 souches testées sur la mortalité de *Callosobruchus maculatus* et *Bruchus rufimanus*

Des tests entomopathogènes ont été menés au laboratoire pour évaluer l'efficacité des souches GHA de *B. bassiana*, USDA 4556 et V275 de *M. brunneum* sur la mortalité d'adultes de *C. maculatus* et *B. rufimanus* et la fécondité de *C. maculatus* pendant 10 jours d'essai. Les résultats du test log-rank ont indiqué des différences hautement significatives ($p < 0,001$) entre les différentes courbes de survie d'adultes traités de 2 espèces de bruches en

fonction de différents traitements appliqués. La souche GHA de *B. bassiana* a montré une efficacité plus élevée en termes de mortalités d'adultes observées sur les 2 espèces de bruches par rapport aux souches USDA 4556 et V275 de *M. brunneum* et au lambda cyhalotrine.

Sur *C. maculatus*, 100% de mortalité d'adultes était enregistré au 7^e jour d'essai avec la souche GHA contre 98,3% ; 88,3% ; 75 % et 18,3% de mortalités enregistrées au 10^e jour par les souches USDA 4556, V275, le lambda cyhalotrine et le contrôle. Les TL50 observés étaient de 5 jours pour la souche GHA, 6 jours pour USDA 4556 et V275 et 8 jours pour le lambda cyhalotrine. Ce résultat concorde avec l'observation faite par Francisco *et al.* (2012) selon laquelle en conditions de laboratoire, *B. bassiana* était très efficace pour le contrôle de *C. maculatus*. Un résultat similaire correspondant à 100% de mortalité d'individus après 7 jours d'essai a également été observé avec la souche GHA de *B. bassiana* sur le ravageur du maïs stocké *Sitophilus zeamais* par Hidalgo *et al.* (1998). Des TL50 similaires aux notes, variant entre 3,11 à 6,12 jours ont été obtenus sur les adultes de *C. maculatus* traités aux suspensions de *B. bassiana* concentrées à 10⁸ conidies/ml par Cherry *et al.* (2005) et des valeurs comprises entre 4,07 et 5,41 jours à 22°C sur les adultes de *C. maculatus* traités avec *B. bassiana* par Ozdemir *et al.* (2020).

S'agissant de *B. rufimanus*, les taux de mortalités observés étaient respectivement de l'ordre de 96,6% ; 88,3% ; 86,6% ; 78,3% et 16,6% au 10^e jour de traitement avec la souche GHA de *B. bassiana*, USDA 4556 et V275 de *M. brunneum* ; le lambda cyhalotrine et le contrôle. Les TL50 observés étaient de 4 jours pour la souche GHA, 6 jours pour USDA 4556, 7 jours pour V275 et 2,5 jours pour le lambda cyhalotrine. La performance de *B. bassiana* sur *B. rufimanus* est déjà soulevé par Roubinet (2016) et Ward (2018) qui témoignent des résultats concluants observés par le champignon sur *B. rufimanus* à travers quelques essais préliminaires menées en région tempérée. Par ailleurs, les résultats des deux souches de *M. brunneum* se rapprochent de ceux observés sur le charançon du châtaignier *Curculio elephas* par Asan *et al.* (2017) ayant enregistré des mortalités de 86% et 94% avec les souches USDA 4556 et V275.

La grande efficacité de la souche GHA de *B. bassiana* sur les 2 espèces de bruches en essai comparativement à d'autres traitements s'expliquerait par le degré de pathogénicité élevé reconnue à *B. bassiana* vis-à-vis d'une large variété d'insectes bioagresseurs de cultures (Ferron, 1975; Hidalgo *et al.*, 1998; Oudjelida & Oltani, 2010; Roberts & St. Leger, 2004; SABBABI, 2008). Zimmermann (2007) estime que cette efficacité de *B. bassiana* résulte de

son existence sous diverses formes ou isolats et de sa capacité de nuisance très élevée vis-à-vis de 707 espèces d'insectes réparties dans 15 ordres. Elle découle selon Ziani (2008) de sa forte létalité vis-à-vis de tous les stades de développement d'un insecte.

Cette étude constitue également un 1^{er} test réalisé avec les souches USDA 4556 et V275 sur les 2 espèces de bruches. Les résultats obtenus par les 2 souches de *M. brunneum* sont estimés concluants par rapport à ceux du lambda cyhalotrine. Cette situation résulterait du bon comportement de *M. brunneum* évoqué par certains chercheurs vis-à-vis de plusieurs espèces de coléoptères telles que le charançon du châtaignier *Curculio elephas* (Asan et al., 2017), le charançon de la vigne *Otiorhynchus sulcatus* (Fabricius) (Morera-Margarit et al., 2020), le charançon du paturin annuel *Listronotus maculicollis* (Koppenhöfer et al., 2020) etc. Par ailleurs, différentes raisons pourraient justifier la faible efficacité du lambda cyhalotrine observée comparativement aux traitements fongiques vis-à-vis de *C. maculatus* et *B. rufimanus* sur l'ensemble des tests biologiques réalisés. Elle résulterait d'une part de la qualité du produit utilisée ou d'une faible dose de matière active que contiendrait le volume du produit appliqué sur les bruches (soit 1 ml). RECA (2013) rapporte également que la lambda cyhalotrine est plus efficace contre les lépidoptères tels que les chenilles défoliatrices, la noctuelle de la tomate. Ceci pourrait aussi justifier sa faible performance vis-à-vis de 2 coléoptères en étude. Selon également Provost et al. (2022), l'efficacité du lambda cyhalotrine varie en fonction de l'âge de l'insecte. Les individus les plus jeunes sont plus affectés. Ceci justifierait également la faible performance du produit chimique observée.

b. Efficacité des souches GHA, USDA 4556 et V275 sur la ponte de *Callosobruchus maculatus* pendant 10 jours d'essai au laboratoire.

Les résultats obtenus indiquent une différence très significative ($p < 0,001$) entre différents traitements sur l'évolution de ponte de *C. maculatus* au cours de 10 jours d'essai. Une diminution de la capacité de ponte de *C. maculatus* a été observée avec l'augmentation de jours après traitement. La souche GHA de *B. bassiana* (00 ± 00 œuf/graine) a totalement réduit la ponte de *C. maculatus* au 9^e jour d'essai comparativement à d'autres traitement ($0,1 \pm 0,4$; $0,1 \pm 0,3$; $0,6 \pm 0,7$ et $3,2 \pm 1,1$ œufs/graines pour USDA 4556, V275, lambda cyhalotrine et le contrôle). Selon Ferron (1975) et P.Grison (1961), l'infection causée par les champignons entomopathogènes sur les insectes affecte profondément leurs capacités de reproduction. L'efficacité élevée de la souche GHA sur la ponte de *C. maculatus* s'expliquerait par le niveau de létalité élevé de *B. bassiana* vis-à-vis de tous les stades de développement d'un

insecte (Ziani,2008). N'DOYE (1976) affirme que une fois contaminé par *B. bassiana*, les capacités reproductives de l'insecte sont négativement affectées. Cette baisse de fécondité résulte selon Zimmermann (2007) de la perturbation des fonctions physiologiques de l'insecte par l'infection due aux champignons. Quant aux souches USDA 4556 et V275, les réductions de ponte observés sur *C. maculatus* s'expliqueraient par la similarité des modes d'action de *B. bassiana* et de *M. brunneum* sur les insectes (Jarrold et al., 2007).

c. Efficacité des souches GHA, USDA 4556 et V275 appliquées aux graines (semences) du niébé sur la mortalité de *Callosobruchus maculatus*, la ponte au 5^e jour et la conservation de graines durant 25 jours

Les traitements appliqués aux graines du niébé ont eu d'effet très significatif sur la mortalité d'adulte de *C. maculatus* ($p < 0,001$), la ponte au 5^e jour ($p = 0,028$) et non sur la conservation de graines après 25 jours contre les dommages causés par *C. maculatus* ($p = 0,704$). Comparativement à d'autres traitements, la souche GHA de *B. bassiana* a montré plus d'efficacité en termes de mortalités de *C. maculatus* enregistrées sur graines traitées aux suspensions fongiques en causant 100% de mortalité d'adultes au 9^e jour d'essai contre 91,6% ; 86,6% ; 81,7% et 15% de mortalités obtenues au 10^e jour sur graines traitées respectivement aux suspensions de USDA 4556 et V275 de *M. brunneum*, au lambda cyhalotrine et à l'eau distillée stérile + Tween 80 (contrôle). Ce résultat obtenu par la souche GHA pourrait se justifier par l'efficacité très élevée de *B. bassiana* par moindre contact avec l'organisme de l'insecte tel que soulevé par diverses études. Selon Ziani (2008), *B. bassiana* est caractérisé par une forte virulence par simple contact ne nécessitant pas d'être ingéré pour exprimer son efficacité. Ferron (1975) révèle que, l'intrusion du champignon entomopathogène à travers le tégument de l'insecte devient de plus en plus rapide lorsque sa virulence est de plus en plus élevée et plus lente lorsque celle-ci est moindre. Heviefó et al. (2018) soulèvent également que *B. bassiana* est caractérisé par une action infectieuse directe mais également endophyte ce qui lui confère une double efficacité. Par ailleurs, Jaber (2018) rapporte aussi que *M. brunneum* détient également une bonne capacité infectieuse par contact et sa colonisation peut se faire de façon systémique. Ceci pourrait expliquer le bon comportement des souches USDA 4556 et V275 au cours de cet essai.

S'agissant des pontes de *C. maculatus* observées au 5^e jour, les souches GHA et USDA 4556 ont enregistré les plus faibles pontes (soit $9,7 \pm 2,5$; $9,9 \pm 2,4$ œufs/graine) contrairement au lambda cyhalotrine, à la souche V275 et au contrôle ($10,0 \pm 2,7$; $11,2 \pm 2,1$; et $12,0 \pm 3,5$

œufs/graine). Ce résultat paraît logique étant donné que les deux souches se distinguent souvent des autres en termes d'efficacité sur l'ensemble des tests biologiques réalisés dans cette étude. Les résultats obtenus rapportent que les différents traitements appliqués aux graines n'ont pas eu d'effet ($p=0,704$) sur les taux d'infestations causés aux graines par *C. maculatus* après 25 jours de conservation. L'inefficacité de traitements fongiques pourrait résulter de conditions maintenues dans la chambre du laboratoire où étaient conservées les graines traitées (70% d'humidité relative et 30°C). Selon Ferron (1975), l'efficacité de champignons entomopathogènes est principalement fonction des conditions du milieu. La germination, la viabilité et la survie des champignons entomopathogènes est directement affecté par l'humidité relative et la quantité requise pour la germination de la majorité de champignon est de 95% (Hallsworth & Magan, 1999).

7. Conclusion et Perspectives

La présente étude portait sur la lutte biologique contre la bruche en se servant de deux modèles d'études : celui de *B. rufimanus* (une bruche tempérée de la féverole) et de *C. maculatus* (une bruche tropicale du niébé) avec comme objectif général de contribuer à la mise en place de la lutte biologique contre les bruches en milieu tropical et tempéré.

De manière spécifique, l'étude cherchait à effectuer un état des lieux sur la diversité d'espèces de bruches et de parasitoïdes associées aux cultures de féveroles en région Wallonne; caractériser les impacts causés aux graines de la féverole par *B. rufimanus* dans différentes régions de production de la Wallonie; évaluer l'effet variétal sur les dommages causés aux graines par *B. rufimanus* et évaluer la pathogénicité de 3 souches de champignons entomopathogènes (GHA, USDA4556 et V275) sur les adultes de *B. rufimanus* et de *C. maculatus*.

L'état de lieux effectué sur la diversité d'espèces de bruches a permis d'identifier 4 espèces s'agissant de *B. rufimanus*, *G. viridula*, *P. chrysocephala* et *R. bruchoides* parmi lesquelles *B. rufimanus* a été identifié comme principale espèce associée aux cultures de féverole en région Wallonne suite sa forte abondance observée sur l'ensemble de sites échantillonnés.

Les résultats de la caractérisation des impacts causés aux graines de la féverole de 8 sites de culture de la région Wallonne par *B. rufimanus* mettent en évidence une variation de l'intensité des dégâts du ravageur en fonction de différentes régions de production. Les infestations les plus élevées ont été mentionnées sur les collectes effectuées à Ciney et les plus basse sur celles de Battice.

Les résultats obtenus confirment l'effet de la variété sur les infestations causées aux graines par *B. rufimanus* et une différence de sensibilité entre les variétés de féverole d'hiver et de printemps vis-à-vis de ce dernier. Les graines des variétés Axel et Irena ont subis plus d'impact du ravageur contrairement aux variétés Nanaux et Tiffany.

Les résultats des tests entomopathogènes effectués au laboratoire sur les adultes de *C. maculatus* et *B. rufimanus* mettent en évidence une efficacité élevée de la souche commerciale GHA de *B. bassiana* sur le contrôle biologique de 2 espèces de bruches en étude par rapport aux souches USDA 4556 et V275 de *M. brunneum* bien que les résultats obtenus par ces 2 souches soient également concluants.

Nos résultats suggèrent qu'aux côtés de la souche GHA, les 2 souches de *M. brunneum* devraient également être considérées comme des sérieux candidats pour le biocontrôle de

bruches en milieu tropical et tempéré. Vu l'impossibilité d'aborder tous les aspects relatifs à cette étude compte tenu de la contrainte temps, des études ultérieures devraient porter sur l'évaluation de l'efficacité de 3 souches de champignons testées sur la fécondité de *B. rufimanus* et l'identification de parasitoïdes de *B. rufimanus* associés aux cultures de féverole en région Wallonne. Plusieurs autres souches entomopathogènes pourraient être testées sur les 2 espèces de bruches afin de mettre en place une diversité d'agents de lutte biologique efficaces pour le biocontrôle de bruches en milieu tropical et tempéré.

8. Références bibliographiques

- Alex Delobel et Maurice Tran (1993). Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. Institut Français de recherche pour le développement en coopération. *Centre technique de coopération agricole et rurale. Paris 1993. Faune tropicale XXXII.*
- Ahmed, K. S. (1996). Studies on the ectoparasitoid, *Anisopteromalus calandrae* How. (hymenoptera: pteromalidae) as a biocontrol agent against the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Fab.) in Saudi arabia. *Journal of Stored Products Research*, 32(2), 137–140. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(96\)00005-7](https://doi.org/10.1016/0022-474X(96)00005-7)
- Ali Doumma, Abbas Issa Liman, Adam Toudu, I. A. (2006). *Comportement de vingt variétés de niébé (Vigna unguiculata (L.) Walp) vis-à-vis de Bruchidius atrolineatus (Pic) et Callosobruchus maculatus (F.) (Coleoptera : Bruchidae)*. 15, 187–193.*
- Amobonye, A., Bhagwat, P., Singh, S., & Pillai, S. (2021). Enhanced xylanase and endoglucanase production from *Beauveria bassiana* SAN01, an entomopathogenic fungal endophyte. *Fungal Biology*, 125(1), 39–48. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2020.10.003>
- Araújo, J. P. M., & Hughes, D. P. (2016). Diversity of Entomopathogenic Fungi. Which Groups Conquered the Insect Body? *Advances in Genetics*, 94, 1–39. <https://doi.org/10.1016/bs.adgen.2016.01.001>
- Asan, C., Hazir, S., Cimen, H., Ulug, D., Taylor, J., Butt, T., & Karagoz, M. (2017). An innovative strategy for control of the chestnut weevil *Curculio elephas* (Coleoptera: Curculionidae) using *Metarhizium brunneum*. *Crop Protection*, 102, 147–153. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.08.021>
- Baumont, R., & Niderkorn, V. (2011). Transformation des plantes au cours de leur conservation et conséquences sur leur valeur pour les ruminants. *Fourrages*, 205, 35–46.
- Beck, C. W., & Blumer, L. S. (2014). A Handbook on Bean Beetles , *Callosobruchus maculatus*. *Caryologia*.
- Bellifa, M., & Chapelin-Viscardi, J. D. (2021). Synthesis of the interactions between the European species of the genus *Bruchus* (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) and their natural enemies. *Annales de La Societe Entomologique de France*, 57(3), 189–204.

<https://doi.org/10.1080/00379271.2021.1927180>

- Bello, S., Babalakoun, A. O., Zoudjihékpon, J., & Coulibaly, K. A. (2019). Diversité de l'entomofaune du niébé (*Vigna unguiculata* (L.) Walpers) au Nord-Ouest du Bénin. *Journal of Applied Biosciences*, 132(1), 13424. <https://doi.org/10.4314/jab.v132i1.4>
- Birgit Pölit, H.-P. R. (2019). *Studies on the biology and infestation dynamics of the bean beetle (Coleoptera, Bruchidae: Bruchus Rufimanus) in Saxony.* <https://doi.org/10.1007/s10343-019-00459-5>
- Borowiec. (1988). *The Seed-beetles (coleoptera, Bruchidae)from the Middle East.pdf. (s. d.).*
- Bouchikhi-Tani Zoheir, Anouar, K. M., Mourad, B., & Pujade-villar, J. (2011). Lutte contre les trois bruches *Acanthoscelides obtectus* (Say , 1831), *Bruchus rufimanus* Boheman , 1833 et *Callosobruchus maculatus* Chrysomelidae: Bruchinae) par les huiles essentielles extraites d'*Origanum glandulosum* (Lamiacées). *Regiment de La Cosa Natural*, 177–186.
- Bridwell, J. . C. . (1946). The genera of beetles of the family Bruchidae in America north of Mexico. *Journal of the Washington Academy of Sciences* , February 15 , 1946 , Vol . 36 , No. 2 (February 15, 1946), Pp. 52-57, 36(2), 52–57.
- Bruce, T. J., Martin, J. L., Smart, L. E., & Pickett, J. A. (2011). Development of semiochemical attractants for monitoring bean seed beetle, *Bruchus rufimanus*. *Pest Management Science*, 67(10), 1303–1308. <https://doi.org/10.1002/ps.2186>
- Crump, N. S., Cothier, E. J., & Ash, G. J. (1999). Clarifying the nomenclature in microbial weed control. *Biocontrol Science and Technology*, 9(1), 89–97.
- Dan, M., Adamou, M., Ali, D., & Sembène, M. (2018). *Caractérisation morphométrique des populations de Bruchidius atrolineatus Pic (coleoptera-Bruchinae) à travers une analyse factorielle discriminante (AFD).* 25(1), 9324.
- Darfour, B., Ocloo, F., & Wilson, D. (2012). Effects of irradiation on the cowpea weevil (*Callosobruchus maculatus* F.) and moisture sorption isotherm of cowpea seed (*Vigna unguiculata*,L.Walp).*Arthropods*,1(1),24–34.
[http://www.iaees.org/publications/journals/arthropods/articles/2012-1\(1\)/effects-of-irradiation-on-the-cowpea-weevil.pdf](http://www.iaees.org/publications/journals/arthropods/articles/2012-1(1)/effects-of-irradiation-on-the-cowpea-weevil.pdf)

- De Luca, Y. (1965). Catalogue des metazoaires parasites et prédateurs de Bruchides (Coleoptera). *Journal of Stored Products Research*, 1(1), 51–98. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(65\)90007-X](https://doi.org/10.1016/0022-474X(65)90007-X)
- DeBach, P. (1974). *Biological Control by Natural Enemies*. Cambridge University Press, Cambridge, p. 323. 323.
- DeBach, Paul, & Rosen, D. (1991). *Biological control by natural enemies*. CUP Archive.
- Decelle, E. (1989). *Les Bruchidae (Coleoptera) de Belgique*. 2(3), 345–350.
- Delobel, A., Sembène, M., Fédière, G., Roguet, D., Delobel, A., Sembène, M., Fédière, G., & Roguet, D. (2013). *Identity of the groundnut and tamarind seed- beetles (Coleoptera: Bruchidae: Pachymerinae), with the restoration of. 9271(May)*. <https://doi.org/10.1080/00379271.2003.10697375>
- Dibangou, V., Okassa, M. B. M., Mazikou, G. F. M., & Lenga, A. (2021). Molecular characterization of pests (Chrysomelidae: Bruchinae) of beans (*Phaseolus vulgaris*) in the Republic of Congo. *African Zoology*, 56(1), 35–43. <https://doi.org/10.1080/15627020.2020.1848455>
- Djameleddine, L. (2014). *Nature & Technologie Etude de l ' activité insecticide du champignon endophyte Cladosporium sp . isolé du Laurier rose Nerium oleander L .(Apocynaceae , Gentianales) sur la bruche des haricots Acanthoscelides obtectus Say*.
- Driver, F., Milner, R. J., & Trueman, W. H. (2000). A Taxonomic revision of *Metarhizium* based on sequence analysis of ribosomal DNA. *Mycological Research*, 104(2), 134–150.
- El-Maziani, I., Lhaloui, S., El Bouhssini, M., Dahan, R., Lamiri, A., Gaboun, F., & Abbad Andaloussi, F. (2016). Etude des dégâts qualitatifs et quantitatifs dus aux Bruches sur les légumineuses au Maroc. *Revue Marocaine de Protection Des Plantes*, 9, 83–99.
- Ferron, P. (1975). Les champignons entomopathogènes: évolution des recherches au cours des dix dernières années. *El Harrach*, 5, 168–200.
- György, Z., & Stojanova, A. (2014). *Alien seed beetles (Coleoptera: Chrysomelidae: Bruchinae) in Europe*. 3826(May), 401–448.
- Hallsworth, J. E., & Magan, N. (1999). Water and Temperature Relations of Growth of the

- Entomogenous Fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, and *Paecilomyces farinosus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 74(3), 261–266. <https://doi.org/10.1006/jipa.1999.4883>
- Hidalgo, E., Moore, D., & Le Patourel, G. (1998). The effect of different formulations of *Beauveria bassiana* on *Sitophilus zeamais* in stored maize. *Journal of Stored Products Research*, 34(2–3), 171–179. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(97\)00041-6](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(97)00041-6)
- Huignard, J., Glitho, I. A., Monge, J.-P., & Regnault-Roger, C. (2011). Insectes ravageurs des graines de légumineuses: Biologie des Bruchinae et lutte raisonnée en Afrique. *Update Sciences & Technologies*, 145.
- Jaber, L. R. (2018). Seed inoculation with endophytic fungal entomopathogens promotes plant growth and reduces crown and root rot (CRR) caused by *Fusarium culmorum* in wheat. *Planta*, 248(6), 1525–1535. <https://doi.org/10.1007/s00425-018-2991-x>
- Jaber, L. R., & Enkerli, J. (2016). Effect of seed treatment duration on growth and colonization of *Vicia faba* by endophytic *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum*. *Biological Control*, 103, 187–195. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2016.09.008>
- Jarrold, S. L., Moore, D., Potter, U., & Charnley, A. K. (2007). The contribution of surface waxes to pre-penetration growth of an entomopathogenic fungus on host cuticle. *Mycological Research*, 111(2), 240–249. <https://doi.org/10.1016/j.mycres.2006.10.007>
- Kalamo, M. L., Woto, L. E., & Nsumbu, G. L. (2021). *Effet des quelques biopesticides dans la conservation du niébé stocké contre les bruches dans la ville de Kinshasa , République Démocratique du Congo Résumé*. 18(4), 1–10.
- Kanyinda, J.-N. M., Tshimenga, K., & Junias, K. (2018). Evaluation of antifungal activity of *Moringa oleifera* and *Jatropha curcas* extracts as a natural fungicide against adults of *Acanthoscelides Obtectus* SEE PROFILE. *International Journal of Engineering and Applied Sciences (IJEAS)*, 5, 12. www.ijeas.org □
- Kayombo Mbumba, A., Mutombo Tshibamba, M., Mulamba, M., Somue Mulamba, P. A., & Kalambaie Binm Mukanya, M. (2015). Effet de la poudre de *Tephrosia vogelii* dans la conservation des graines de Niébé (*Vigna unguiculata* L. Walp.) en stock contre *Callosobruchus maculatus* F. à Mbujimayi (RD. Congo). *Journal of Animal & Plant*

Sciences, 25(1), 3827–3835. <http://www.m.elewa.org/JAPS>

- Kéïta, S. M., Vincent, C., Schmit, J. P., Ramaswamy, S., & Bélanger, A. (2000). Effect of various essential oils on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Stored Products Research*, 36(4), 355–364. [https://doi.org/10.1016/S0022-474X\(99\)00055-7](https://doi.org/10.1016/S0022-474X(99)00055-7)
- KERGOAT, G. J. (2004). *Le genre Bruchidius (Coleoptera , Bruchidae) : un modèle pour l ' étude des relations évolutives entre les insectes et les plantes.Thèse de Biologie.Ecole Doctorale Diversité du Vivant. December 2004.*
- Ketoh, G. K., Glitho, I. A., Nuto, Y., & Koumaglo, H. K. (1998). Effets de six huiles essentielles sur les oeufs et les larves de *callosobruchus maculatus* F. (coleoptera : bruchidae). *Revue CAMES, October 2015, 16–20.* <http://greenstone.lecames.org/collect/revu/import/A00/A-000-00-016-020.pdf>
- Khelfane-Goucem, K., & Medjdoub-Bensaad, F. (2016). Impact of *Bruchus rufimanus* infestation upon broad bean seeds germination. *Advances in Environmental Biology*, 10(5), 144.
- Köpke, U., & Nemecek, T. (2010). Ecological services of faba bean. *Field Crops Research*, 115(3), 217–233. <https://doi.org/10.1016/j.fcr.2009.10.012>
- Koppenhöfer, A. M., Wu, S., & Kostromytska, O. S. (2020). Microsclerotial Granular Formulation of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium brunneum* and Its Combinations with Hydrogel and Imidacloprid against the Annual Bluegrass Weevil (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology*, 113(3), 1118–1128. <https://doi.org/10.1093/jee/toaa052>
- Kouadio, D. L. M., Aby, N., Abo, K., Kouadjo, C. Z., Kobenan, K., Traore, S., & Gnonhour, P. (2018). Caractérisation D'isolats Locaux De *Metarhizium* Spp, Champignon Entomopathogène De *Cosmopolites sordidus* Germar, Isoles Des Bananeraies En Côte d'Ivoire. *European Scientific Journal, ESJ, 14(21), 73.* <https://doi.org/10.19044/esj.2018.v14n21p73>
- KPATINVOH, B., Euloge, A., DAHOUENON-AHOUSSE, E., KONFO, C. T. R., ATREVY, B., & SOHOUNHLOUE, D. (2016). Problématique de la conservation du niébé (*Vigna unguiculata* (L), Walp) en Afrique de l'Ouest : étude d'impact et approche de solution.

- Journal of Animal & Plant Sciences*, 31(1), 4831–4842. <http://www.m.elewa.org/JAPS>;
- Lambert, N. (2010). Lutte biologique aux ravageurs: applicabilité au Québec. *Centre Universitaire de Formation En Environnement, Université de Sherbrooke*, 9(1), 76–99.
- Lawrence, J. F., & Newton, A. F. (1982). *Evolution and classification of beetles*.
- Lecointre, G., & Visset, D. (2001). *Classification phylogénétique du vivant*. 2001.
- Mann, J. S., & Crowson, R. A. (2007). *The systematic positions of Orsodacne Latr . and Syneta Lac . (Coleoptera Chrysomelidae), in relation to characters of larvae , internal anatomy and tarsal vestiture*. 2933. <https://doi.org/10.1080/00222938100770531>
- Medjdoub-Bensaad, F., Frah, N., & Huignard, J. (2015). Dynamique des populations de la bruche de la fève , *Bruchus rufimanus* (Coleoptera : Chrysomelidae), durant la période d ' activité reproductrice et de diapause. *Nature & Technology*, 13, 12–21.
- Morera-Margarit, P., Karley, A. J., Mitchell, C., Graham, R. I., & Pope, T. W. (2020). Geographic origin may not influence vine weevil *Otiorhynchus sulcatus* (Fabricius) susceptibility to the entomopathogenic fungus *Metarhizium brunneum* (Petch). *Biocontrol Science and Technology*, 1018–1025. <https://doi.org/10.1080/09583157.2020.1788507>
- Munyuli, T. (2009). On-Farm Storages Participatory Evaluation and Validation of the Capability of Native Botanicals for Control of Bean Bruchids (*Acanthoscelides obtectus* L., Coleoptera: Bruchidae) in South-Kivu Province, Eastern of Democratic Republic of Congo. *Tropicultura*, 27(3), 174–183.
- N'DOYE, M. (1976). Influence d'une infection à *Beauveria bassiana* sur les survivants et la descendance de *Chilo suppressalis* (Lép: Pyralidae). *Entomophaga*, 21 (4), 371-376. *Springer*, 13(April), 258–283.
- Naranjo, S. E., Ellsworth, P. C., Frisvold, G. B., & others. (2015). Economic value of biological control in integrated pest management of managed plant systems. *Annual Review of Entomology*, 60(1), 621–645.
- Nwanze, K. F., Horber, E., & Pitts, C. W. (1975). Evidence for Ovipositional Preference of *Callosobruchus maculatus* for Cowpea Varieties 1. *Environmental Entomology*, 4(3), 409–412. <https://doi.org/10.1093/ee/4.3.409>

- Omkar, & Kumar, B. (2016). Biocontrol of Insect Pests. In *Ecofriendly Pest Management for Food Security*. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803265-7.00002-6>
- Omoigui, L. O., Kamara, A. Y., Batiemo, J., Iorlamen, T., Kouyate, Z., Yirzagla, J., Diallo, S., & Garba, U. (2009). Production du niébé en Afrique de l'Ouest : Guide du paysan. *Iita*, January, 20. www.IITA.org
- Onagbola, E. O., & Fadamiro, H. Y. (2008). Morphology and development of *Pteromalus cerealellae* (Ashmead) (Hymenoptera: Pteromalidae) on *Callosobruchus maculatus* (F.) (Coleoptera: Chrysomelidae). *BioControl*, 53(5), 737–750. <https://doi.org/10.1007/s10526-007-9117-x>
- Ondiaka, S., Maniania, N. K., Nyamasyo, G. H. N., & Nderitu, J. H. (2008). Virulence of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* to sweet potato weevil *Cylas puncticollis* and effects on fecundity and egg viability. 153, 41–48. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2008.00236.x>
- Oudjelida, H. B., & Oltani, N. S. (2010). Lutte biologique avec un champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* Metch. à l'égard de *Cydia pomonella* L. *January 2010*, 113–116.
- P.Grison. (1961). *Développement et perspectives de la lutte Biologique. Laboratoire de Lutte Biologique de l'I.N.R.A, La Minière.*
- P.Jourdheuil; P.Grison, & Fraval. (1991). La Lutte Biologique : Un Aperçu Historique. *Courrier de La Cellule Environnement de l'INRA, n° 15, 37–60.*
- Patel, T. K. (2020). *Metarhizium. Beneficial Microbes in Agro-Ecology: Bacteria and Fungi*, 593–610. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-823414-3.00029-0>
- Pointereau, P. (2001). Légumineuses : quels enjeux écologiques ? *Courrier de l'environnement de l'INRA, 44, 69–72.*
- Pyalem, A. K., Kodjo, T. A., Komi, A., Anani, A., & Mawuko, K. (2017). Utilisation de la poudre de graines du *Pachyrhizus erosus* Urban (Fabaceae) pour le contrôle de *Callosobruchus maculatus* Fab. (Coleoptera: Bruchidae), ravageur post-récolte du niébé, *Vigna unguiculata* Walp. (Fabaceae). *Journal of Animal & Plant Sciences*, 35(1), 5590–5603.

- Quintela, E. D., & McCoy, C. W. (1997). Pathogenicity Enhancement of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to First Instars of *Diaprepes abbreviatus* (Coleoptera: Curculionidae) with Sublethal Doses of Imidacloprid. *Environmental Entomology*, 26(5), 1173–1182. <https://doi.org/10.1093/ee/26.5.1173>
- Rachwa-Rosiak, D., Nebesny, E., & Budryn, G. (2015). Chickpeas—Composition, Nutritional Value, Health Benefits, Application to Bread and Snacks: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(8), 1137–1145. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.687418>
- Reid, C. A. M., & Beatson, M. (2013). A new genus and species of *Bruchinae*, with a key to the genera from Australia (Coleoptera: Chrysomelidae). 3599(6), 535–548.
- Roberge, G., & Hainnaux, G. (1975). Quelques aspects agronomiques des plantes fourragères. *Cultures Fourragères Tropicales*, figure 1, 69–92.
- Roberts, D. W., & St. Leger, R. J. (2004). *Metarhizium* spp., cosmopolitan insect-pathogenic fungi: Mycological aspects. *Advances in Applied Microbiology*, 54, 1–70. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(04\)54001-7](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(04)54001-7)
- Ron Beenen, A. R. (2010). *Leaf and Seed Beetles (Coleoptera , Chrysomelidae)*. 4(1), 267–292. <https://doi.org/10.3897/biorisk.4.52>
- Roubinet, E. (2016). Management of the broad bean weevil (*Bruchus rufimanus* Boh.) in faba bean (*Vicia faba* L.). *Epsilon Open Archive*, June, 5–23.
- SABBAHI, R. (2008). *Utilisation du champignon entomopathogène Beauveria bassiana dans une stratégie de gestion phytosanitaire des principaux insectes ravageurs en Fraiseriaies*, Thèse. Université du Québec.
- Sabbour, M., Abd-El-Aziz, S., & Sherief, M. (2012). Efficacy of three entomopathogenic fungi alone or in combination with diatomaceous earth modifications for the control of three pyralid moths in stored grains. *Journal of Plant Protection Research*, 52(3), 359–363. <https://doi.org/10.2478/v10045-012-0059-7>
- SAGE Pesticides. (2022). *Recherche des matières actives - Fiche Matière active - Fenhexamid, CRAAQ (Centre de référence en agriculture et agroalimentaire au Québec)*. 1–6.

- Sarah, B. S. M. (2021). *Action de l'huile essentielle de l'Eucalyptus (Eucalyptus kalatus) sur la longévité des adultes mâles et femelles de la bruche de la fève (Bruchus rufimanus) durant la période de diapause. Mémoire Master. Université Mouloud NAMMERI de TIZI OUZOU.*
- Segers, A., Caparros Megido, R., Lognay, G., & Francis, F. (2021). Overview of *Bruchus rufimanus* Boheman 1833 (Coleoptera: Chrysomelidae): Biology, chemical ecology and semiochemical opportunities in integrated pest management programs. *Crop Protection*, 140(April 2020). <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2020.105411>
- Segers, A., Dumoulin, L., Megido, R. C., Jacquet, N., Cartryse, C., Kamba, P. M., Pierreux, J., Richel, A., Blecker, C., & Francis, F. (2022). Varietal and environmental effects on the production of faba bean (*Vicia faba* L.) seeds for the food industry by confrontation of agricultural and nutritional traits with resistance against *Bruchus* spp. (Coleoptera: Chrysomelidae, Bruchinae). *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 327(June 2021). <https://doi.org/10.1016/j.agee.2021.107831>
- Seidenglanz, M., & Huñady, I. (2016). *Effects of faba bean (Vicia faba) varieties on the development of Bruchus rufimanus.* 2016(1), 22–29. <https://doi.org/10.17221/122/2015-CJGPB>
- Semacumu Gakuru, K. F.-B. (1996). *Effet d'extraits de plantes sur la bruche du Niébé (Callosobruchus maculatus Fab.) et le charançon du riz (Sitophilus oryzae L.). Cahiers Agricultures; 5:39-42.*
- Seri-Kouassi, B. P., Kanko, C., Nondenot Aboua, L. R., Bekon, K. A., Glitho, A. I., Koukoua, G., & N'Guessan, Y. T. (2004). Action des huiles essentielles de deux plantes aromatiques de Côte-d'Ivoire sur *Callosobruchus maculatus* F. du niébé. *Comptes Rendus Chimie*, 7(10–11), 1043–1046. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2003.12.031>
- Soares, M. A., Quintela, E. D., Mascarin, G. M., & Arthurs, S. P. (2015). Effect of temperature on the development and feeding behavior of *Acanthoscelides obtectus* (Chrysomelidae: Bruchinae) on dry bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Journal of Stored Products Research*, 61, 90–96. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2014.12.005>
- Southgate, B. J. (1979). *Biology of the bruchidae.* 6178. *Biology Department, Pest infestation Control Laboratory, Ministry of Agriculture, Fisheries and food, Slough SL3 7 HJ,*

Berks, England.

- Szafirowska, A. (2012). *The role of cultivars and sowing date in control of broad bean weevil (Bruchus rufimanus Boh.) in organic cultivation.* 77(Chodulska 1985), 29–36. <https://doi.org/10.2478/v10032-012-0013-2>
- Szafirowska, A. (2014). *Differences between snap bean cultivars in seed productivity and quality in organic cultivation.* 59(4), 89–93.
- Titouhi, F., Amri, M., Mediouni, J., & Jemâa, B. (2015). Status of coleopteran insects infesting faba bean in Tunisia with emphasis on population dynamics and damage of *Bruchus rufimanus* (Chrysomylidae). *Basic Research Journal of Agricultural Science and Review*, 4(8), 2315–6880.
- Titouhi, F., Amri, M., Messaoud, C., Haouel, S., & Youss, S. (2017). *Protective effects of three Artemisia essential oils against Callosobruchus maculatus and Bruchus rufimanus (Coleoptera : Chrysomelidae) and the extended side-effects on their natural enemies.* 72. <https://doi.org/10.1016/j.jspr.2017.02.007>
- Viaud, P. (1983). La protection des Légumineuses contre les Bruches : *Vigna unguiculata* et *Callosobruchus maculatus* [Col.]. *Bulletin de La Société Entomologique de France*, 88(3), 241–249. <https://doi.org/10.3406/bsef.1983.18306>
- Viteri Jumbo, L. O., Faroni, L. R. A., Oliveira, E. E., Pimentel, M. A., & Silva, G. N. (2014). Potential use of clove and cinnamon essential oils to control the bean weevil, *Acanthoscelides obtectus* Say, in small storage units. *Industrial Crops and Products*, 56, 27–34. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.02.038>
- Walp, L., Hymenoptera, D. R., Doumma, A., Salissou, O., D, S. M. S. R. S., Sanon, A., Ketoh, G. K., Glitho, I. A., Faculté, U. A. M., & Tel, B. P. N. (2011). *Etude de l ' activité reproductrice de Callosobruchus.* 11(2), 1398–1408.
- Ward, R. L. (2018). *The biology and ecology of Bruchus rufimanus (bean seed beetle).Thesis.School of Natural and Environmental Sciences.Newcastle University. August.*
- Ziani, J. (2008). Application De *Beauveria Bassiana* Contre La Punaise Terne *Lygus Lineolaris* (Palisot De Beauvois) (Hémiptères: Miridés) Dans Les Vignobles. *MSc Thesis*, 101.

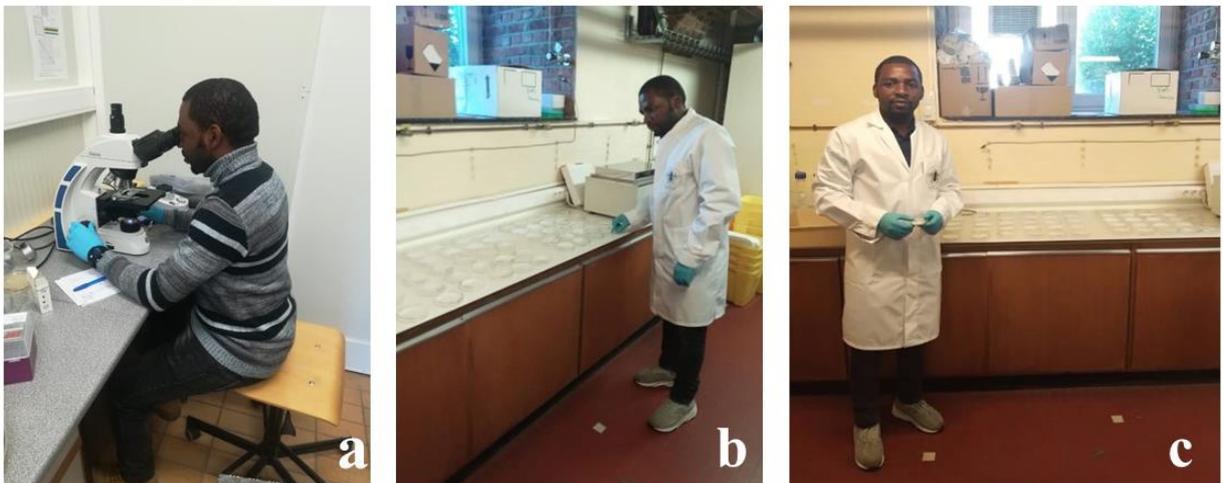
Zimmermann, G. (2007). Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Technology*, 17(6), 553–596. <https://doi.org/10.1080/09583150701309006>

Zongo, S., Z, I., Waongo A., G. O., Doumma A., S. M., & A., S. (2015). Risques Liés à l'utilisation d'insecticides au cours du stockage du niébé (*Vigna Unguiculata* L . Walp .), dans la région centrale du Burkina-Faso. <https://www.researchgate.net/publication/296831078>, 03(01).

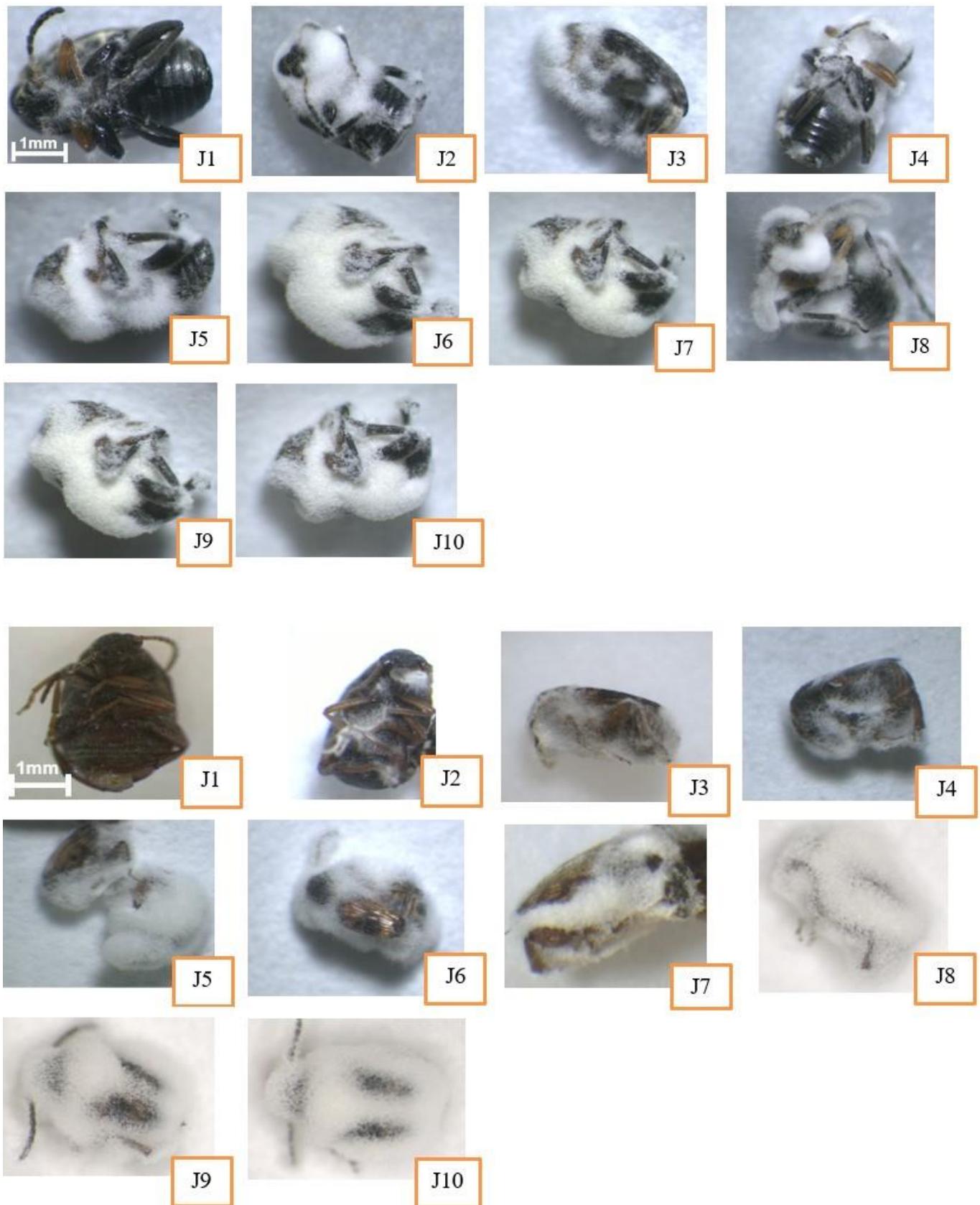
9. Annexes



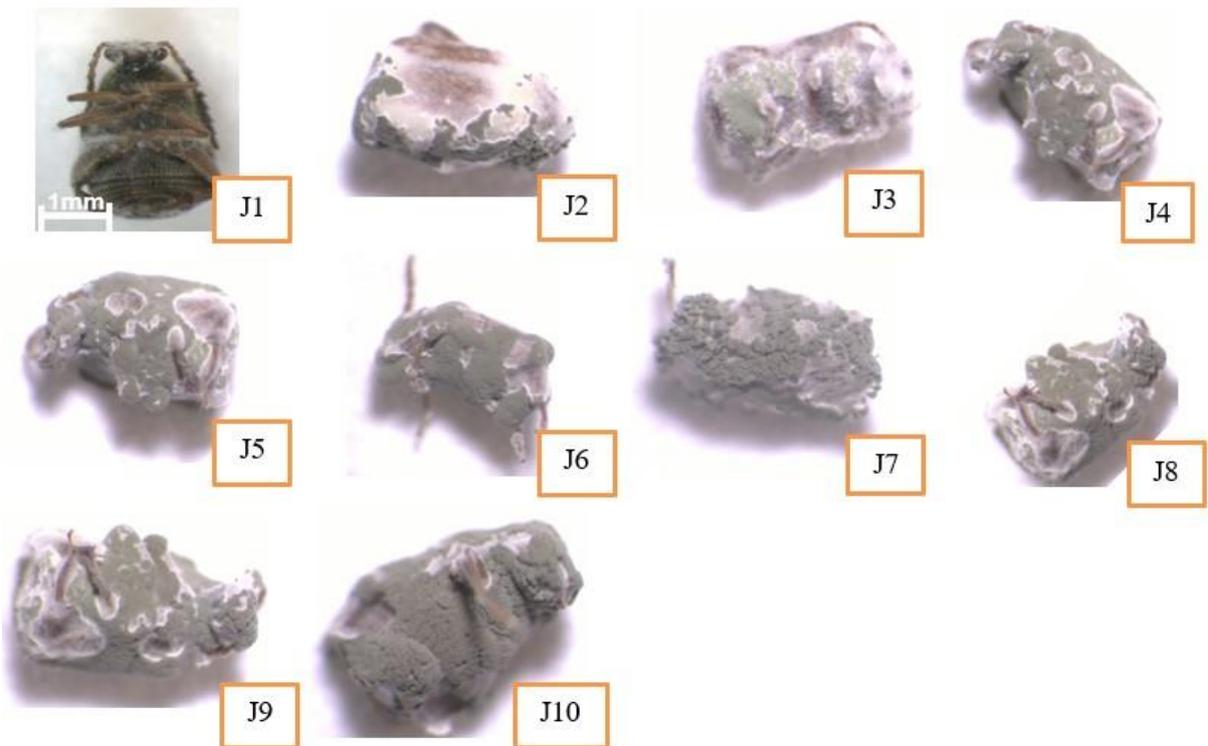
Annexe 1 : Cadavres de *Bruchus rufimanus* et *Callosobruchus maculatus* en incubation sur boîtes de pétri (R.Lugendo, 2022)



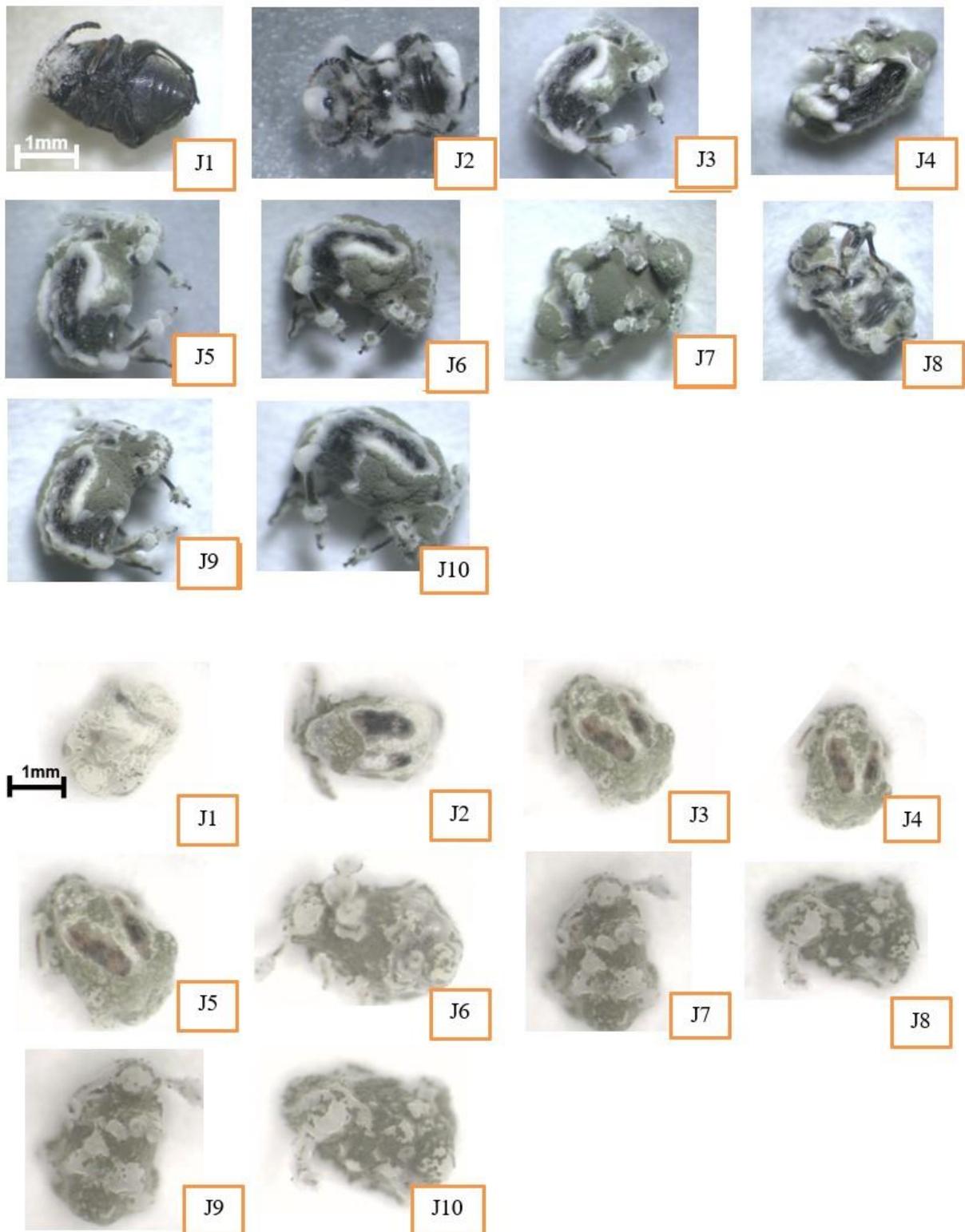
Annexe 2 : Détermination de la concentration de suspensions fongiques et de la viabilité de spores de souches testées (a) et suivi des bruches mortes par traitements fongiques placées en incubation sur boîtes de pétri (R.Lugendo, 2022)



Annexe 3 : Développement de l'infection causée par la souche GHA de *Beauveria bassiana* sur les cadavres de *Bruchus rufimanus* (en haut) et de *Callosobruchus maculatus* (en bas) du 1^{er} au 10^e jour d'incubation des cadavres (R.Lugendo, 2022)



Annexe 4 : Développement de l'infection causée par la souche USDA 4556 de *Metarhizium brunneum* sur les cadavres de *Bruchus rufimanus* (en haut) et de *Callosobruchus maculatus* (en bas) du 1^{er} au 10^e jour d'incubation des cadavres (R.Lugendo, 2022)



Annexe 5 : Développement de l'infection causée par la souche V275 de *M. brunneum* sur les cadavres de *Bruchus rufimanus* (en haut) et de *Callosobruchus maculatus* (en bas) du 1^{er} au 10^e jour d'incubation des cadavres (R.Lugendo, 2022).

Annexe 6 : Tableau récapitulatif des résultats du modèle de Poisson des taux d'infestations de graines de féverole par *Bruchus rufimanus* collectées dans 8 sites d'échantillonnage en Région wallonne (P < 0.001)

Site	Taux d'infestation moyen (%)	IC (95%)		Coefficient	P
		Borne inférieure	Borne supérieure		
Rebecq	5.5	3.0	9.9	-0.435	0.261
Isnes	25.0	18.9	33.0	1.079	< 0.001
Bierwart	13.5	9.3	19.7	0.463	0.135
Assesse	8.5	5.3	13.7	réf.	-
Ciney	35.0	27.7	44.2	1.415	< 0.001
Verdenne	20.5	15.1	27.8	0.880	0.002
Battice	4.0	2.0	8.0	-0.754	0.079
Beho	7.5	4.5	12.4	-0.125	0.724

Annexe 7 : Tableau récapitulatif des résultats du modèle de Poisson de taux d'infestations de 11 variétés de féverole d'hiver analysées au laboratoire (P < 0.001)

Variété	Taux d'infestation moyen (%)	IC (95%)		Coefficient	P
		Borne inférieure	Borne supérieure		
AUGUSTA	15.5	10.9	22.0	réf.	-
AXEL	40.0	32.1	49.8	0.948	< 0.001
BERING NT	26.5	20.2	34.7	0.536	0.018
DIVA	13.5	9.3	19.7	-0.138	0.600
HIVERNA	19.0	13.8	26.1	0.204	0.400
IRENA	48.5	39.7	59.2	1.141	< 0.001
NEBRASKA NT	11.0	7.2	16.7	-0.343	0.219
ORGANDI	24.0	18.1	31.8	0.437	0.058
TUNDRA NT	26.5	20.2	34.7	0.536	0.018
VESPA	26.0	19.8	34.1	0.517	0.023
WIZARD	22.0	16.4	29.6	0.350	0.135

Annexe 8 : Tableau récapitulatif des résultats du modèle de Poisson de taux d'infestations de 13 variétés de féverole de printemps analysées au laboratoire (P < 0.001)

Variété	Taux d'infestation moyen (%)	IC (95%)		Coefficient	P
		Borne inférieure	Bonne supérieure		
(LG) BANQUISE	11.0	7.2	16.7	réf.	-
ALLISON	23.5	17.7	31.3	0.759	0.003
BIORO	12.5	8.4	18.5	0.128	0.662
BOLIVIA NT	16.0	11.3	22.6	0.375	0.176
DOSIS	12.0	8.0	17.9	0.087	0.768
FANFARE	37.5	29.9	47.0	1.226	< 0.001
GL MAGNOLIA	14.5	10.1	20.9	0.276	0.329
LG CARTOUCHE	16.5	11.7	23.2	0.405	0.141
LG VIPER	12.5	8.4	18.5	0.128	0.662
NAKKA	13.0	8.9	19.1	0.167	0.564
NANAUX	10.0	6.5	15.5	-0.095	0.758
TIFFANY	10.5	6.8	16.1	-0.047	0.879
VICTUS	18.0	13.0	25.0	0.492	0.069

Annexe 9 : Tableau récapitulatif des résultats du modèle de Poisson sur la ponte d'adultes de *Callosobruchus maculatus* placés sur graines du niébé traitées au 5^e jour d'essai (P=0.028)

Traitement	Nombre moyen d'œufs par graine	IC (95%)		Coefficient	P
		Borne inférieure	Bonne supérieure		
B.b (GHA)	9.8	8.7	11.0	Réf.	-
Contrôle	12.0	10.9	13.3	0.209	0.008
L.Cyhalotrine	10.1	9.0	11.3	0.030	0.712
USDA 4556	9.9	8.9	11.1	0.017	0.837
V275	11.2	10.1	12.5	0.140	0.080

Annexe 10 : Tableau récapitulatif des résultats du modèle de Poisson du nombre d'œufs par graine enregistré tous les 3 jours durant 10 jours d'essai auprès d'adultes traités de *Callosobruchus maculatus* (P<0,001)

Traitement	Jour de prélèvement	Nombre moyen d'œufs par graine	IC (95%)	
			Borne inférieure	Borne supérieure
Contrôle	3	6.9	6.0	7.9
	6	6.2	5.3	7.1
	9	3.2	2.6	3.9
	12	3.2	2.6	3.9
B.b (GHA)	3	4.6	3.8	5.4
	6	1.6	1.2	2.1
	9	0.0	0.0	0.0
	12	0.0	0.0	0.0
L.Cyhalotrine	3	3.3	2.7	4.0
	6	2.4	1.9	3.1
	9	0.6	0.4	0.9
	12	0.0	0.0	0.2
USDA 4556	3	4.5	3.8	5.3
	6	2.3	1.8	2.9
	9	0.1	0.0	0.3
	12	0.0	0.0	0.0
V275	3	4.4	3.7	5.2
	6	2.2	1.7	2.8
	9	0.1	0.0	0.3
	12	0.0	0.0	0.0

Annexe 11 : Tableau récapitulatif des résultats du modèle de Poisson de taux d'infestations de graines par *Callosobruchus maculatus* enregistrés sur graines du niébé traitées après 25 jours de conservation au laboratoire (P=0.704)

Traitements	Taux d'infestation moyen (%)	IC (95%)		Coefficient	P
		Borne inférieure	Borne supérieure		
B.b (GHA)	63.3	46.0	80.6	Réf.	-
Contrôle	93.3	86.8	99.9	0.388	0.192
L.Cyhalotrine	70.0	50.4	89.6	0.100	0.752
USDA 4556	66.6	43.1	90.2	0.051	0.873
V275	73.3	56.0	90.6	0.147	0.640

Annexe 12 : Dispositif expérimental de l'essai de 24 variétés de féverole analysées au laboratoire

Féveroles hiver

Féveroles printemps

Bloc 4	9	12	5	11	1	8	T	3	7	4	10	2	6
Bloc 3	12	7	9	2	5	4	T	11	8	10	6	1	3
Bloc 2	10	8	6	3	9	2	T	12	11	1	5	7	4
Bloc 1	1	2	3	4	5	6	T	7	8	9	10	11	12

4	2	3	6	1	9	T	10	5	8	11	14	13	T	15	12	7
6	14	12	7	4	10	T	1	9	3	13	5	8	T	15	11	2
8	7	14	9	6	3	T	12	2	11	15	1	13	T	5	10	4
1	2	3	4	5	6	T	7	8	9	10	11	12	T	13	14	15

- 1 TUNDRA Wakil
- 2 NEBRASKA Wakil
- 3 DIVA
- 4 IRENA
- 5 ORGANDI
- 6 AXEL
- 7 WIZARD
- 8 HIVERNA
- 9 VESPA
- 10 AUGUSTA
- 11 BERING Wakil
- 12 FANFARE (Fév. Ptps)

- 1 BIORO
- 2 FANFARE
- 3 (LG) BANQUISE
- 4 TIFFANY
- 5 NAKKA
- 6 VICTUS
- 7 LG CARTOUCHE
- 8 GL MAGNOLIA
- 9 NANAUX
- 10 ALLISON
- 11 DOSIS
- 12 BOLIVIA Wakil
- 13 BOLIVIA NT
- 14 LG VIPER
- 15 TUNDRA (féverole d'hiver)

T : Traces tracteur

