

1 **Efficacité biologique de *Metarhizium anisopliae* isolat Bme2-cnra contre**
2 ***coelaenomenodera lameensis* (Coleoptera : chrysomelidae) ravageur des**
3 **feuilles du palmier à huile (*elaeis guineensis*) en Côte d'ivoire.**

4

5 **Résumé**

6 La mineuse des feuilles *Coelaenomenodera lameensis* (Coleopera ; chrysomelidae) du palmier à
7 huile *Elaeis guineensis* crée des pertes annuelles de production de plus 40%. Son contrôle est
8 basé sur l'utilisation des insecticides chimiques de synthèse. En Côte d'Ivoire, un isolat local de
9 *Metarhizium anisopliae* est en développement comme alternative à ces insecticides. Pour
10 circonscrire son efficacité, le cycle biologique de *C. lameensis* a été étudié et des tests de
11 pathogénicité du champignon ont été effectués au laboratoire et en semi-grandeur au champ à
12 travers des inoculation contrôlées avec des doses croissantes 10^3 ; 10^5 ; 10^7 ; 10^8 ; 10^9 spores/ml et
13 les relevées des paramètres de pathogénicité : mortalité, TL50, TL90 et TL100. Les résultats ont
14 montré que la femelle crée en moyenne $9,51 \pm 1,84$ sites de ponte, desquelles sortent environ 885
15 adultes de sex-ratio (Mâles/femelles) de 1,33. La durée totale du cycle est de $91 \pm 7,2$ jours avec
16 4 stades larvaires L1= $11,91 \pm 2,38$ j ; L2= $9 \pm 1,3$; L3= $10,25 \pm 1,89$ et L4= $15,16 \pm 3,59$ sur
17 46,32 jours. Au laboratoire les tests ont donné 100% de mortalité des adultes avec la dose de
18 $3,4.10^5$ spores/ml par pulvérisation des folioles. Au champ, les applications de doses croissantes
19 ont permis de déterminer la dose $1,08.10^9$ spores/ml donnant 100% de mortalité, et des TL50 de
20 5j et TL100 de 8 jours.

21 Des traitements de parcelles pilotes sont en cours pour de confirmer l'efficacité de l'isolat
22 *Metarhizium anisopliae* BME2-CNRA comme un potentiel agent de lutte biologique pour lutter
23 contre le plus grand ravageur des feuilles du palmier à huile en Côte d'Ivoire.

24 **Mots clés : Palmier à huile, défoliateur, *Metarhizium anisopliae*, agent biologique, Côte**
25 **d'Ivoire.**

26

27 INTRODUCTION

28 Le palmier à l'huile (*Elaeis guineensis* ; **jacquin, 1963**), est une plante pérenne originaire de
29 l'Afrique de Ouest (**Jacquemard, 1995**). Elle est cultivée pour ses fruits et ses amandes qui
30 fournissent une huile végétale utilisée dans l'alimentation, l'oléochimie et le biodiesel (**Coffi et**
31 **al, 2014**). La production mondiale d'huile de palme est estimée à environ 79,46 millions de
32 tonnes (**USDA, 2022**). La Côte d'Ivoire occupe le 9^e rang avec une production estimée à 600 000
33 tonnes produites sur 220 000 ha, la plaçant au 2^{ème} rang des pays africains producteurs après le
34 Nigeria. Sur le plan économique, la filière palmier à huile génère 500 milliards de franc CFA et
35 contribue à 3,13% du Produit Intérieur Brut (PIB) (**PALMAFRIQUE, 2018**).

36 Malgré cette productivité, la culture du palmier à huile est sujette à plusieurs contraintes dont des
37 attaques de maladies et de ravageurs. Le principal ravageur est la mineuse des feuilles,
38 *Coelaenomenodera lameensis* (coleoptera : Chrysomelidae-Hispinae). Les dégâts occasionnés
39 par ce ravageur se situent au niveau des folioles et peuvent entraîner une baisse de la production
40 pouvant atteindre 30 à 50 % sur une période de deux à trois ans (**Mariau, 2000**). Les stades
41 larvaire et adulte de cet insecte sont voraces, cependant, les larves sont les plus redoutables car
42 elles rongent les tissus internes des folioles (**Mariau et Besombes, 1972**).

43 Les moyens de lutte contre ce ravageur sont principalement basés sur les traitements
44 d'insecticides de synthèse (**Konan et al., 2006**). Malheureusement ces derniers ont un effet
45 néfaste sur l'environnement et la santé humaine (**Sylvie et Bernard, 2022**). Ainsi, dans un
46 contexte d'une agriculture durable, la recherche de méthode de lutte efficace, moins polluante,
47 s'avère nécessaire. C'est dans ce cadre que cette étude s'est proposée l'usage du champignon
48 entomopathogène du genre *Metarhizium* contre *C. lameensis* pour faire diminuer ses dégâts dans
49 les palmeraies. En effet, les champignons entomopathogènes sont des agents biologiques qui
50 régulent efficacement les populations d'insectes nuisibles. Ainsi, dans la lutte contre les insectes
51 nuisibles de différents ordres tels que les Diptères, les Orthoptères et les Coléoptères, les
52 champignons entomopathogènes tels que *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* ont été
53 utilisés (**Shoukat.R. F et al ; 2020**). En Côte d'Ivoire, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff)
54 Sorokin (Deuteromycota : Hypocreales), s'est montré efficace contre *Cosmopolites sordidus*, le
55 charançon du bananier (*Musa paradisiaca*) **Aby et al., (2010)**, également contre *Prosoestus spp*
56 du palmier à huile (*Elaeis guineensis*) (**Hala, 2020**). Ainsi, cette étude a pour objectif général de
57 proposer une méthode lutte biologique contre *Coelaenomenodera lameensis* par l'utilisation de
58 champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* var BME2-CNRA. De façon spécifique il
59 s'est agi d'abord d'étudier le cycle biologique de *Coelaenomenodera lameensis* en milieu semi-
60 contrôlé, ensuite, d'évaluer la pathogénicité de l'isolat de *Metarhizium anisopliae* sur les adultes
61 *Coelaenomenodera lameensis* en milieu semi-contrôlé avant les essais en grandeur nature dans
62 les palmeraies.

63 I MATÉRIEL ET METHODES

64 1.1 Matériel

65 1.1.1 Matériel végétal

66 Le matériel végétal utilisé est le palmier à huile, *Elaeis guineensis*, dont les folioles ont servi de
67 support de nourriture pour la conduite de l'élevage de *C. lameensis*.

68 1.1.2 Matériel fongique

69 Le matériel fongique utilisé est le champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* isolat
70 BME2 disponible dans la mycothèque au laboratoire d'Entomologie et de Phytopathologie du
71 programme Plantain Banane Ananas du CNRA à Anguédédou.

72 **1.1.3 Matériel animal**

73 Le matériel animal est constitué d'adultes externe de *Coelaenomenodera lameensis*.

74 **1.2 Méthodes**

75 **1.2.1 Détermination du cycle biologique de *C. lameensis***

76 L'élevage a été réalisé en milieu semi-contrôlé dans le but d'avoir une population homogène sur
77 laquelle seront effectués les différents tests. De plus, cet élevage a permis d'établir quelques
78 paramètres du cycle biologique de l'insecte afin de mieux le connaître.

79 **1.2.1.1 Installation des cages d'élevage**

80 L'élevage de *Coelaenomenodera lameensis* a été réalisé dans une parcelle de la station du CNRA
81 IRHO-La Mé en milieu semi-contrôlé. Une parcelle non infestée par *Coelaenomenodera lameensis*
82 a été choisie. Huit plants de palmier ont été identifiés dans la parcelle, sur lesquels une palme de
83 rang 17, propre, a été choisi sur chaque plant. Huit (08) cages composées chacune d'une armature
84 cubique de 40 cm de côté et mise dans tissu en fibres de mousseline (figure1). L'ensemble formant
85 une cage appelé encore manchon d'élevage ont été rattaché à l'extrémité de chaque palme choisie.
86 Un total de quarante (40) folioles dont 20 de chaque côté du rachis, ont été mises à l'intérieur de
87 chaque manchon. Les manchons ont été équipés d'une fente laissée sur un côté pour faciliter les
88 observations directes de l'évolution des différents stades de développement de *C. lameensis*.

89 **1.2.1.2 Capture de *C. lameensis* et mise en cage**

90 Des adultes externes de *C. lameensis* ont été capturés directement sur les folioles et à l'aide d'une
91 pince souple sur des plants dans une parcelle infestée de la station de recherche CNRA de LA ME.
92 Les captures ont été réalisées entre 6 et 8 heures de matin, heures d'inactivité de l'insecte. Ensuite,
93 les insectes ont été sexés au laboratoire en observant l'abdomen qui présente une ligne blanchâtre
94 chez les femelles matures, ce qui est absent chez les mâles. Puis ils ont été classés par groupes de 10
95 couples (10 mâles et 10 femelles) à l'intérieur de chaque manchon préalablement installé. Pour les
96 08 manchons installés, un total de 160 insectes, dont 80 mâles et 80 femelles, ont été utilisés pour
97 démarrer l'élevage. Ces insectes ont été retirés 6 jours après leur introduction dans les différents
98 manchons afin de suivre les sites de pontes d'une génération homogène.

99 **1.2.1.3 Suivi des différents stades de développement de *C. lameensis***

100 L'élevage a été réalisé à une température moyenne de $28,92 \pm 0,53^{\circ}\text{C}$ et une humidité relative de 80
101 $\pm 9,1\%$. Les œufs pondus étaient recouverts par une masse fibreuse (site de ponte) dont la surface
102 est variable. Ces sites de ponte ont été identifiés et dénombrés. Trois fois par semaine, ces sites de
103 ponte étaient observés. Après éclosion les larves se trouvent dans les folioles entre l'épiderme
104 supérieure et l'épiderme inférieure et se nourrissent des cellules chlorophylliennes. Les larves
105 suivies étaient retirées des folioles et mesurées pour déterminer le stade, et la durée de chaque stade
106 était calculée. Cette opération a été réalisé 03 fois par semaine et le suivi a été fait de façon

107 quotidienne jusqu'à la nymphose. Le nombre moyen d'adultes émergés par galerie, le sex-ratio de
108 la nouvelle génération obtenue, la durée de la pré-copulation et la durée de pré-oviposition ont été
109 déterminés. Les paramètres étudiés ont été ceux proposés par **Kouassi et al., 2019** :

110 - **Nombre moyen de sites de ponte/femelle** a été déterminé en faisant la moyenne des sites
111 de ponte mise en place par 30 femelles ;

$$\text{Sites de pontes/femelle} = \sum_1^n \frac{SP}{Nf}$$

112 **SP** : Sites de Pontes ; **Nf** : Nombre de femelle

113
114 - **Nombre d'adultes émergés/galerie larvaire** a été déterminé en faisant la moyenne des
115 adultes émergés par le nombre de galerie suivie au stade d'adultes internes

$$\text{Nombre d'adultes externes/galerie} = \sum_1^n \frac{Na}{Ngal}$$

116 **Na** : Nombre d'adultes ; **Ngal** : Nombre de galeries d'adultes interne

117 - **Taille des différents stades de développement** a été déterminée en mesurant 30
118 individus/stade de développement en moyenne

$$\text{Taille moyenne des individus de chaque stade} = \sum_1^n \frac{Di}{Ni}$$

119 **Di** : durée nécessaire pour passer d'un stade à un autre ; **Ni** : Nombre d'individus mesurés

120 - **Durée des stades de développement** :

$$\text{Durée d'un stade de développement} = \sum_1^n \frac{DS}{Ni}$$

121 **DS** : durée du stade d'un individu ; **Ni** : Nombre d'individus.

122 - **Durée moyenne de pré-copulation (Dpréco)**

123 Trente-cinq couples ont pu être observés en prenant la date de sortie des individus jusqu'à la
124 période du premier accouplement. Les couples ont été formés par groupe d'adultes émergés et mis
125 dans les petits manchons pour observation.

$$Dpréco = \sum_1^n \frac{NJ}{NC}$$

126 **NJ** : Nombre de Jours avant accouplement ; **NC** : Nombre de Couple

127 - **Durée moyenne de Pré-oviposition (Dpreov)**

128 La pré-oviposition est la période située entre la première copulation et la ponte. Elle a été
129 déterminée par la formule suivante :

$$Dpreov = \sum_1^n \frac{NJ}{Nf}$$

130 **NJ** : Nombre de Jours entre l'accouplement et la ponte ; **Nf** : Nombre de femelle.

131 - **La durée larvaire**

132 C'est la durée des 4 stades larvaires et elle a été déterminée par la formule suivante :

$$DL (\text{Jour}) = DL1 + DL2 + DL3 + DL4$$

134 **DL1** : Stade Larvaire 1 ; **DL2** : Stade Larvaire 2 ; **DL3** : Stade Larvaire 3 et **DL4** : Stade Larvaire 4

135 - **Durée moyenne du stade nymphal (DN)**

136 Elle commence dès l'apparition de la nymphe et prend fin avec la mue imaginale.

$$DN (\text{jours}) = \sum_1^n \frac{Dn}{Nn}$$

137 **Dn** : durée mise par une nymphe pour devenir un adulte interne ; **Nn** : Nombre de nymphes
138 observées

139 - **Durée de l'adulte interne (Dai)**

140 C'est le temps mis par l'adulte interne pour émerger de la foliole

$$Dai = \sum_1^n \frac{De}{Nai}$$

141 **De** : la durée de l'émergence d'un adulte interne ; **Nai** : Nombre adultes internes observées.

142 - **La durée totale (DT) du cycle de développement**

143 Le cycle de développement a été obtenu en additionnant la durée d'incubation (Di), les différents
144 stades larvaires (DL), la nymphe (Dn), l'adulte interne (Dai), la pré-copulation (Dpreco) et la
145 préoviposition (Dpreov) selon la formule ci-dessous :

$$DT = Di + DL + DN + Dai + Dpreco + Dpreov$$

147 - **Sex-ratio (SR)**

148 C'est le rapport entre le nombre de mâle et le nombre de femelle d'une population donnée. Sa
149 formule est la suivante :

$$SR = \sum_1^n \frac{Nm}{Nf}$$

150 **Nm** : Nombre de mâles ; **Nf** : le Nombre de femelle

151
152 **1.2.2 Évaluation de la pathogénicité des isolats de *Metarhizium anisopliae* sur les adultes de**
153 ***Coelaenomenodera lameensis***

154 La pathogénicité décrit le pouvoir pathogène d'un agent infectieux tel qu'une bactérie, un virus ou
155 un champignon, c'est à dire sa capacité à provoquer des troubles chez son hôte. Pour cette étude, la
156 pathogénicité de l'isolat de *Metarhizium anisopliae* BME2-CNRA a été évaluée sur les adultes
157 de *C. lameensis*.

158 **1.2.2.1 Culture de l'isolat *Metarhizium anisopliae* BME2-CNRA**

159 L'isolat de *Metarhizium anisopliae* BME2-CNRA utilisé a été mise en culture sur milieu PDA dans
160 les boites de Pétri au laboratoire d'entomologie et phytopathologie du CNRA à Anguédédou du
161 programme Plantain-Banane-Ananas. Après sporulation, le champignon a été multiplié sur un
162 substrat riz précuit mis en incubation à l'obscurité dans un placard pendant 2 semaines.

163
164 **1.2.2.2 Préparation de l'inoculum**

165 Le premier test a été effectué avec une dose de $3,4 \times 10^8$ spores/ml pour confirmer la pathogénicité
166 de l'isolat sur les insectes. Le deuxième test a consisté à utiliser cinq doses croissantes ($1,08.10^3$;
167 $1,08.10^5$; $1,08.10^7$; $1,08.10^8$ et $1,08.10^9$ spores/ml) pour les tests.

168 Ainsi, 100 g du substrat riz sporulé a été prélevé à l'aide d'une spatule préalablement stérilisée et
169 délayés dans 250 ml d'eau distillée stérilisée. L'ensemble a été homogénéisé pendant 5 minutes à
170 260 tours/min (isolats + eau stérilisée) sur un agitateur électrique. Après homogénéisation, le
171 mélange a été tamisé et le nombre de spores quantifié à l'Hematimètre de Malassez au microscope
172 optique.

173 La concentration de la suspension de spores a été déterminée avec la formule:

174

$$\text{Densité des spores} = \frac{\text{Nbre de cellules comptées}}{\text{Nbre de rectangles comptés}} \times Cp$$

175

176

177 **Nbre** : Nombre ; **Cp** : Coefficient des périmètres de comptage sur la lame de Malassez

178

179 **1.2.2.3 Test de confirmation de la pathogénicité de l'isolat de Metarhizium sur *C. lameensis***

180 **Application du champignon**

181 La disposition des cages pour les tests a été la même que pour celui de l'élevage. Pour ce premier
182 test, visant à montrer la pathogénicité du champignon sur *C. lameensis*, 12 manchons ont été
183 installés, dont 2 pour les témoins et 10 inoculés (5 manchons pour chacune des méthodes
184 appliquées). Dix (10) insectes ont été introduits dans chaque manchon 24 heures avant le traitement
185 afin qu'ils s'acclimatent. Au total 120 insectes ont été utilisés pour le test. Le matin avant
186 l'application des suspensions fongiques, les manchons ont été vérifiés et les insectes morts ont été
187 retirés et remplacés. En somme, 50 insectes ont été traités par pulvérisation sur les folioles à
188 l'intérieur de 05 manchons avec un volume de 24 ml de la solution fongique pulvérisée par
189 manchon.

190 Cette application a été comparée à une inoculation des insectes par marche des insectes dans une
191 suspension de conidies. En effet, 50 insectes ont été mis dans une boîte de Pétri contenant 2 ml de la
192 suspension de spores pendant 1 min par vague de 10 insectes. Ils sont ensuite retirés et mis dans les
193 manchons où leur mortalité est aussi suivie. Comme témoin sans inoculation, 20 insectes pulvérisés
194 avec de l'eau. L'étude a été réalisée sous une température moyenne de 29°C et une humidité
195 relative de 82% en milieu semi-contrôlé et répétée 2 fois.

196 **Suivi des paramètres de pathogénicité**

197 Les observations étaient réalisées tous les matins de 6h à 8h. Les individus morts ont été comptés
198 par manchon, puis placés dans des boîtes de Pétri tapissées à l'intérieur de papier filtre imbibé d'eau
199 distillée stérile. Chaque boîte correspondait à un manchon et était étiquetée avec la date et le mode
200 de traitement. Les boîtes ont ensuite été envoyées au laboratoire pour conditionnement afin de
201 révéler par la suite si leur mort était due à l'infection du champignon.

202 Le conditionnement a consisté à rincer les insectes morts une fois dans 2% d'acide citrique, puis à
203 les rincer 3 fois avec de l'eau distillée. Les insectes sont été ensuite essorés suite avec du papier
204 filtre stérile et mis dans de nouvelles boîtes à Pétri tapissées à l'intérieur de nouveau papier filtre
205 stérile imbibé d'eau distillée stérile. Les insectes conditionnés étaient observés tous les jours et le
206 temps le jour d'apparition des duvets mycéliens sur l'insecte était noté. Enfin, les colonies de
207 champignons apparues sur les insectes étaient identifiées au microscope optique. Le taux de
208 mortalité (T_m) par jour et le temps moyen d'apparition des duvets mycéliens (TDM) ont été

$$TDM = \frac{\sum_{k=0}^n (JDM - JM)}{T_m}$$

209 déterminés respectivement par les formules suivantes :

210 **JD** lien ; **JM** : Jours de la Mort ;

$$T_m = \frac{\text{Nombre de morts}}{\text{Total des individus}} \times 100$$

211 **Tm** : Total des morts ;
212 **TDM** : Le Temps d'apparition des Duvets Mycéliens.
213

214 **1.2.2.4 Test d'efficacité à doses croissante**

215 La préparation de l'inoculum a été identique à celle réalisée lors du premier test. Ainsi, 193 g du
216 substrat riz sporulé ont été délayée dans un volume de 250 ml d'eau distillée stérile. Après
217 comptage au Malassez, la solution mère obtenue présentait une concentration de $1,08 \cdot 10^9$ spores/ml.
218 Des dilutions successives ont été faites à partir des $1,08 \cdot 10^9$ spores/ml pour obtenir $1,08 \cdot 10^8$
219 spores/ml, $1,08 \cdot 10^7$ spores/ml, $1,08 \cdot 10^5$ spores/ml et $1,08 \cdot 10^3$ spores/ml.

220 Le mode d'application choisi a été la pulvérisation sur les folioles, car il se rapproche d'avantage du
221 mode de traitement réel dans les plantations. Ainsi, un volume de 30 ml a été pulvérisé à l'intérieur
222 de chaque manchon. Deux témoins ont été mis en place, un a été traité avec de l'eau distillé et le
223 second sans pulvérisation. L'observation et le retrait des individus morts ont été effectués de la
224 même manière que lors du premier test. Les insectes morts ont été placés dans des boîtes de Pétri
225 étiquetées avec la date et la concentration. Chaque jour, les insectes morts étaient observés et le
226 temps d'apparition des duvets mycéliens étaient notés.

227 Par suite les différents paramètres de pathogénicité TL50, TL90, DL50 et DL90 ont également été
228 déterminés. L'étude a été réalisée sous une température moyenne de 29°C et une humidité relative
229 de 82% en milieu semi-contrôlé et répétée 2 fois.

230 .

231 **Analyses statistiques**

232 Le logiciel SAS 9.4 a été utilisé pour l'analyse des variances ANOVA 1 concernant les taux de
233 mortalité dans les différents tests, ainsi que pour l'analyse des paramètres du cycle biologique. Le
234 temps d'apparition du duvet mycélien sur les individus morts a été déterminée par le test de Khi-2.

235 Le logiciel WINDL 32 a été utilisé pour la détermination le TL50 au 5e jour en utilisant le nombre
236 de morts cumulés.

237

238 **II RÉSULTATS ET DISCUSSION**

239 **2.1 Résultats**

240 **2.1.1 Cycle biologique de *C. lameensis***

241 Après le retrait des géniteurs, la capacité d'une femelle à créer des sites de ponte a été en moyenne
242 de $9,51 \pm 1,84$ sites de ponte selon la surface des sites. A la fin de l'élevage, un total de 885 adultes
243 soit 505 mâles et 380 femelles a été obtenus. Le nombre d'adultes ayant émergés par galerie
244 larvaire a été de $2,15 \pm 1,2$ adultes. Le sex-ratio (mâles/femelles) est de 1,33. L'analyse de variance
245 ne montre aucune différence significative entre le nombre de mâles et le nombre de femelles
246 (Figure 3). La durée du cycle obtenue est de $91 \pm 7,2$ jours (Figure 2), soit environ 3 mois, le cycle
247 larvaire a duré 46.32 jours (Tableau I). La durée pour les différents stades de développement se
248 présente comme suite : la durée de la pré-copulation est de $3,75 \pm 0,85$ jours, la durée de pré-
249 oviposition est de $5,8 \pm 1,71$ jours, la durée d'incubation dure 18 à 21 jours, la larve du stade 1 dure
250 9 à 15 jours, le stade 2 dure 7 à 11 jours, le stade 3 dure 8 à 13 jours, le stade 4 dure 13 à 18 jours, le

251 stade nymphal dure 12 à 15 jours, l'adulte interne dure 2 à 3 jours. La mesure en millimètre (mm)
252 des différents stades larvaires L1, L2, L3 et L4 a donnée respectivement, $0,88 \pm 0,26$; $1,86 \pm 0,23$;
253 $3,18 \pm 0,4$ et $5,97 \pm 1,06$ (Tableau II). L'analyse de variance ANOVA 1 a démontré qu'il existe une
254 forte différence significative entre les tailles des différents stades larvaires. Les nymphes mesurent
255 en moyenne $5,28 \pm 0,38$ ml et les adultes mesure en moyenne $6,65 \pm 0,5$. Les œufs n'ayant pas pu
256 être observés et mesurés, seuls les lieux de pontes ont été suivis.

257

258 **2.1.2 Pathogénicité de l'isolat de *Metarhizium anisopliae* BME2-CNRA sur les adultes de *C.*** 259 ***lameensis***

260 Pour les deux méthodes d'application effectués, la barre des 50% des mortalités a été dépassée au
261 4^{ème} jour. Et, 100% de mortalité ont été atteints au 8^{ème} jour pour les deux modes de traitement. Les
262 analyses ont montré aucune différence significative entre les deux méthodes de traitement mais tous
263 deux statistiquement différents du témoin (Figure 3).

264 **2.1.3 Évolution des mortalités après application champignon**

265 Au niveau des pulvérisations sur les folioles pour la confirmation de l'efficacité du champignon sur
266 l'insecte, les mortalités ont débuté le 3^{ème} jour (72h) et ont été significatives, avec un taux de 56%,
267 qui est aussi le plus fort taux journalier. Après le 3^{ème} jour (72h), le taux de mortalité journalier a
268 diminué et a varié entre 8% et 12% jusqu'à atteindre le cumul de 100% de mortalité le 8^{ème} jour
269 (Figure 4).

270 **2.1.4 Taux d'insectes morts due au champignon**

271 Sur les 100 individus inoculés, 89 ont été infectés par le champignon entomopathogène
272 *Metarhizium anisopliae* var BME2 soit à 89% (Figure 5).

273 **2.1.5 Effet des traitements à doses croissantes de *M. anisopliae***

274 Les cinq doses de *M. anisopliae* appliquées, $1,08.10^3$, $1,08.10^5$, $1,08.10^7$, $1,08.10^8$ et
275 $1,08.10^9$ spores/ml, ont provoqué des mortalités dès le troisième jour après le traitement. Le temps
276 de latence a été de 3 jours. Les doses de $1,08.10^9$ spores/ml et de $1,08.10^8$ spores/ml ont été les plus
277 efficaces et ont mis respectivement 8 jours et 10 pour provoquer 100% de mortalité. Ensuite, pour la
278 dose de $1,08.10^7$ spores/ml les 100% de mortalité ont été atteints le 15^{ème} jour et les doses de
279 $1,08.10^5$ et $1,08.10^3$ spores/ml ont atteint les 100% de mortalité respectivement le 17^{ème} et le 18^{ème}
280 jours. Au niveau des deux témoins, les taux de mortalité ont été d'environ 3,57% (Figure 6).

281 Les TL50 et TL90 des doses de $1,08.10^9$ et $1,08.10^8$ spores/ml ont été respectivement de 4 jours et
282 4,4 jours, et de 5 jours et 7,2 jours (Tableau III). Le taux moyen d'apparition des duvets mycéliens
283 sur les morts est de 3 ± 1 jour (Figure 7). L'identification des conidies de *Metarhizium* nous a donné
284 46,15%, 49%, 77%, 85,81% et 98,2% d'apparition de duvet du champignon respectivement pour les
285 concentrations $1,08.10^3$, $1,08.10^5$, $1,08.10^7$, $1,08.10^8$ et $1,08.10^9$ spores/ml (Figure 8).
286 L'identification des duvets (Figure 9) a donné un taux moyen de révélation de l'isolat BME2-
287 CNRA de 71,23%.

288

290 DISCUSSION

291 Dans le but de nous assurer de l'efficacité de l'isolat local de *Metarhizium anisopliae* sur
 292 *Coelaenomenodera lameensis*, un élevage a été réalisé afin d'effectuer le test sur des sujets
 293 homogènes d'une même génération et de même âge. Au cours de cet élevage, la durée du cycle de
 294 développement a été réalisée à une température et humidité de $28,92 \pm 0,53^\circ\text{C}$ et $80 \pm 9,1\%$, et a
 295 donné $91 \pm 7,2$ jours, environ 3 mois. Ces résultats corroborent ceux obtenu par Kouassi *et al.*
 296 (2019), réalisés dans les conditions presque similaires. Dans ce travail, ils ont obtenu $94,5 \pm 7,94$
 297 jours comme durée du cycle, cela sous une température et une humidité de $28,08 \pm 0,79^\circ\text{C}$ et $82 \pm$
 298 $15,76\%$. De plus, cette étude a été réalisée dans la même zone que celle de Kouassi *et al.* en 2019.
 299 Concernant les adultes obtenus, l'effectif des mâles surpasse celui des femelles avec un sex-ratio de
 300 1,33 en faveur des mâles. Ce résultat est aussi semblable à celui de Kouassi *et al.* (2019) où le sex-
 301 ratio était de 1,34 en faveur des mâles.

302 *Metarhizium anisopliae* est jugé efficace contre une large gamme d'insectes appartenant à divers
 303 Ordres (Vincent et Coderre, 1992). Ainsi, pour s'assurer de l'efficacité de l'isolat local BME2-
 304 CNRA, deux méthodes ont été utilisées. Les deux méthodes d'application du *Metarhizium* BME2
 305 (pulvérisation et marche) utilisées sur *Coelaenomenodera lameensis* lors du test exploratoire ont
 306 montré une efficacité similaire, avec plus de 50% de mortalité atteinte dès le 4^{ème} jour et 100% de
 307 mortalité au 8^{ème} jour. De plus, les témoins ont enregistré seulement 6,67% de mortalité au 8^{ème}
 308 jours, ce qui est significativement inférieur aux taux des deux méthodes de traitement utilisées.
 309 Ensuite, les résultats lors des tests avec les doses croissantes où les 100% de mortalité ont été
 310 atteints au 18^{ème} jours après les traitements pour les cinq doses, le taux de mortalité des témoins
 311 était de 3,57%. Le taux très faible des témoins nous démontre que les facteurs environnementaux
 312 n'ont pas eu d'effets significatives sur les sujets pendant l'expérience. Ces résultats montrent que le
 313 *Metarhizium* BME2 est un agent de contrôle biologique très efficace. Ces résultats corroborent ceux
 314 de Aby *et al* (2010) et Hala (2020) qui ont montré l'efficacité du *Metarhizium anisopliae* isolat
 315 BME2-CNRA sur respectivement *Cosmopolites sordidus* (Coleoptera ; Curculionidae) et
 316 *Prosoestus spp* (Coleoptera ; Curculionidae), qui sont tous les deux des insectes de l'ordre des
 317 Coléoptères comme *C. lameensis*. En outre, ce résultat est soutenu par Touré *et al.* en 2018 qui ont
 318 prouvé l'efficacité du *Metarhizium* sur les stades larvaires du criquet sénégalais (*Oedaleus*
 319 *senegalensis*).

320 Les différents traitements avec les 05 doses croissantes utilisées ($1,08.10^3$, $1,08.10^5$, $1,08.10^7$,
 321 $1,08.10^8$ et $1,08.10^9$ spores/ml) ont démontré leur efficacité en fonction de la concentration en
 322 spores. Ainsi, la dose de $1,08.10^9$ spores/ml a été la dose la plus efficace avec plus de 50% de
 323 mortalité en 4 jours et 100% au 7^{ème} jour, suivie de la dose de $1,08.10^8$ spores/ml qui a donné 50%
 324 en 4,4 jours et 100% au 10^{ème} jour les trois autres doses ($1,08.10^3$, $1,08.10^5$ et $1,08.10^7$ spores/ml)
 325 ont atteint 50% de mortalité respectivement en 13,2 ; 13 et 6.8 jours et 100% en 18, 17 et 15 jours.
 326 Cela sous-entend que plus il y'a de spores dans la solution, plus les mortalités sont importantes et
 327 plus elle est efficace sur *Coelaenomenodera lameensis* en donnant un temps létal relativement plus
 328 court. Ce résultat a été confirmé par le calcul de la DL50 à la dose de $5,05.10^7$ spores/ml. Ces
 329 résultats sont similaires avec ceux de Sakhraoui (2022), dans son travail où *Metarhizium anisopliae*
 330 s'est avéré efficace contre *Tuta absoluta* aux concentrations de 4300 et 1215 spores/ml. Dans son

331 étude, la première dose qui était de 1215 spores/ml et a provoqué 5% de mortalité au 1^{er} jour et 72%
332 au 7^{ème} jour, tandis que la seconde dose a donné 5% au 1^{er} jour et 81% au 7^{ème} jour. Aussi,
333 Benaichour (2017) sur le puceron *Aphis spiraecola* où le *Metarhizium* a éliminé 100% de la
334 population testée en 07 jours avec une concentration de 10⁶ spores /ml, en 08 jours avec 10⁵
335 spores/ml et en 09 jours pour la concentration de 10⁴ spores/ml. Cela justifie que le taux de
336 mortalité est en corrélation avec le nombre de spores appliquées. De plus, Youcef (2010), dans son
337 travail a déterminé les TL50 de ces 03 doses utilisées puis une DL50 de 1,47.10⁵ spores/ml pour
338 démontrer l'efficacité du *Metarhizium* sur les larves du stade 5 (L5) de *Schistocerca gregaria*
339 (Acrididae, *Cyrtacanthacridinae*). Les travaux de Daniel et Wyss (2008) sur la mouche de la cerise
340 européenne, *Rhagoletis cerasi* avec l'utilisation de plusieurs entomopathogènes notamment
341 *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* et *Metarhizium anisopliae*. Au niveau du taux d'insectes
342 mycosés, nos résultats ont montré pour D1= 46,15%, D2= 49%, D3= 77%, D4= 85,81%, D5=
343 98,2%. Des études antérieures menées par Ment *et al* (2010), Daniel et Wyss (2008) ont montré que
344 la sporulation des champignons entomopathogènes sur les morts est en forte corrélation avec des
345 facteurs abiotiques favorables, stipulant que plus le nombre de spores appliqués est élevé, plus la
346 sporulation des spores du champignon *metarhizium* est importante sur les hôtes lorsque les
347 conditions abiotiques sont bonnes. La similarité des mortalités des deux témoins a permis de
348 confirmer que l'eau distillé n'a pas eu d'effet sur *Coelaenomenodera lameensis*. Cela affirme que
349 seul le champignon agit sur l'insecte dans notre solution formulée pour les différents tests.

350

351 CONCLUSION

352 Le palmier à huile (*Eleais guineensis*) en Côte d'Ivoire est une culture qui enregistre d'importantes
353 attaques de *Coelaenomenodera lameensis*, ce qui fait de lui le principal ravageur. Face à ce
354 problème, la lutte chimique, la plus utilisé ne donne pas de résultat des résultats escomptés. Car
355 combiné à son effet néfaste pour l'environnement et le consommateur, une méthode alternative
356 (lutte biologique) s'avère nécessaire et devient une priorité pour certains chercheurs.

357 Le présent travail représente une contribution dans la lutte biologique par utilisation de champignon
358 entomopathogène *Metarhirium anisopliae* avec l'isolat local BME2-CNRA capable de freiner
359 l'incidence de *C. lameensis* dans les plantations en milieu semi-contrôlé.

360 Enfin, ce travail doit se poursuivre au champ en grandeur pour confirmer son efficacité dans les
361 conditions naturelles. Cela dans le but d'instaurer un programme de lutte biologique acceptable du
362 point de vue environnemental et efficace pour le contrôle les populations de *C. lameensis* dans les
363 plantations de palmier.

364

365 **Liste des Tableaux**

366 **Tableau I:** Durée des différents stades larvaires de *C. lameensis* élevé en milieu semi

Stade	Moyenne durée (jours)	367	c
		368	o
L4	15,16 ± 3,59 ^a	369	n
L1	11,91 ± 2,38 ^b	370	t
L3	10,25 ± 1,89 ^c	371	r
		372	ô
L2	9 ± 1,3 ^d	373	l
		374	é
P < 0,0001 F = 114,62		375	Les
		376	chiffre

377 es avec les mêmes lettres dans une même colonne ne sont pas significativement différents au seuil de 5%.

378

stade	Moyenne Taille (cm)	379	Tableau
		380	II : Taille
L4	5,97 ± 0,26 ^a	381	des
		382	différents
L3	3,17 ± 0,23 ^b	383	stades
		384	larvaires
L2	1,86 ± 0,40 ^c	385	<i>C.</i>
		386	<i>lameensis</i>
L1	0,88 ± 1,06 ^d	387	élevé en
P < 0,0001 , F = 114,62		388	milieu
		389	semi

390 contrôlé

391

392

393

394

395

396

397 Les chiffres avec les mêmes lettres dans une même colonne ne sont pas significativement différents au seuil de 5%.

398

399

400

401

402 **Tableau III:** Temps Létaux (TL10, TL50 et TL90) des différentes concentrations appliquées au
 403 cours du test contre *Coelaenomenodera lameensis*

Doses	TL50	TL90
D1	13,2 ± 1,3 ^a	15.6 ± 0,54 ^a
D2	13 ± 1 ^a	14.8 ± 0,44 ^a
D3	6,8 ± 1,3 ^b	14.4 ± 0,54 ^a
D4	4,4 ± 0,54 ^c	7.2 ± 1,3 ^b
D5	4 ± 0 ^c	5 ± 0,7 ^c
F	109,11	201,67
P <	0,0001	0,0001

404 Les chiffres avec les mêmes lettres dans une même colonne ne sont pas significativement différents au seuil de 5%.

405

406 **Tableau IV :** Taux de mortalité en fonction des concentrations

temps	T	Te	C1	C2	C3	C4	C5
JOUR3	1,79	3,57	11,4718615	5,71	11,43	10,00	28,57
JOUR4	3,57	3,57	26,8398268	14,29	27,14	35,71	77,14
JOUR5	3,57	3,57	35,7142857	17,14	37,14	64,29	92,86
JOUR6	3,57	3,57	40,4761905	18,57	41,43	84,29	97,14
JOUR7	3,57	3,57	43,9393939	24,29	45,71	92,86	100,00
JOUR8	3,57	3,57	45,6709957	25,71	52,86	94,29	100,00
JOUR9	3,57	3,57	47,1861472	25,71	60,00	95,71	100,00
JOUR10	3,57	3,57	48,7012987	27,14	64,29	100,00	100,00
JOUR11	3,57	3,57	51,5151515	37,14	64,29	100,00	100,00
JOUR12	3,57	3,57	52,1645022	38,57	65,71	100,00	100,00
JOUR13	3,57	3,57	57,1428571	52,86	72,86	100,00	100,00
JOUR14	3,57	3,57	64,9350649	78,57	85,71	100,00	100,00
JOUR15	3,57	3,57	73,8095238	95,71	100,00	100,00	100,00
JOUR16	3,57	3,57	74,4588745	97,14	100,00	100,00	100,00
JOUR17	3,57	3,57	75,974026	100,00	100,00	100,00	100,00
JOUR18	3,57	3,57	100	100,00	100,00	100,00	100,00
P <	1,00	1,00	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001	0,0001
F	0,05	0,00	41.98	115.00	62.04	42.18	63.26

407

408



411

412

Figure 1: Manchons d'élevage sur une feuille de palmier

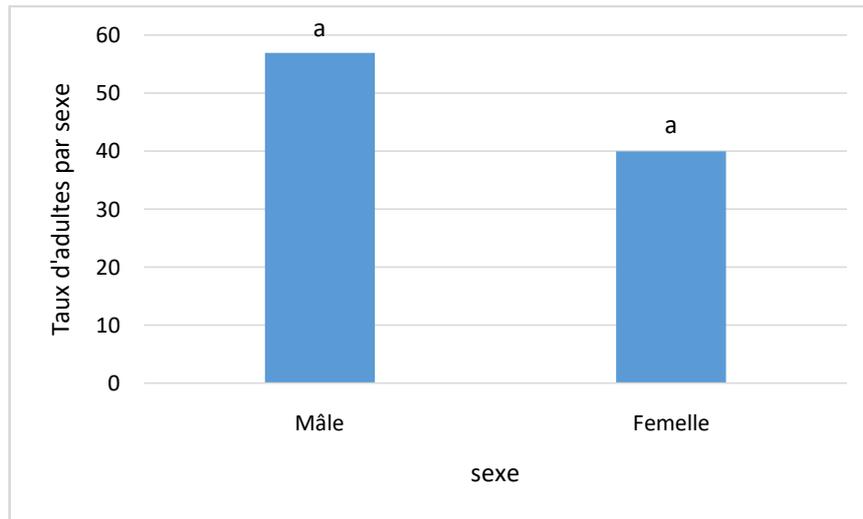
413



Figure 2: Cycle biologique de *Coelaenomenodera lameensis* établi au cours de l'élevage en masse, L1 : Larve de stade 1, L2 : Larve de stade 2, L3 : Larve de stade 3, L4 : Larve de stade 4, A : Site de ponte

414

415



416

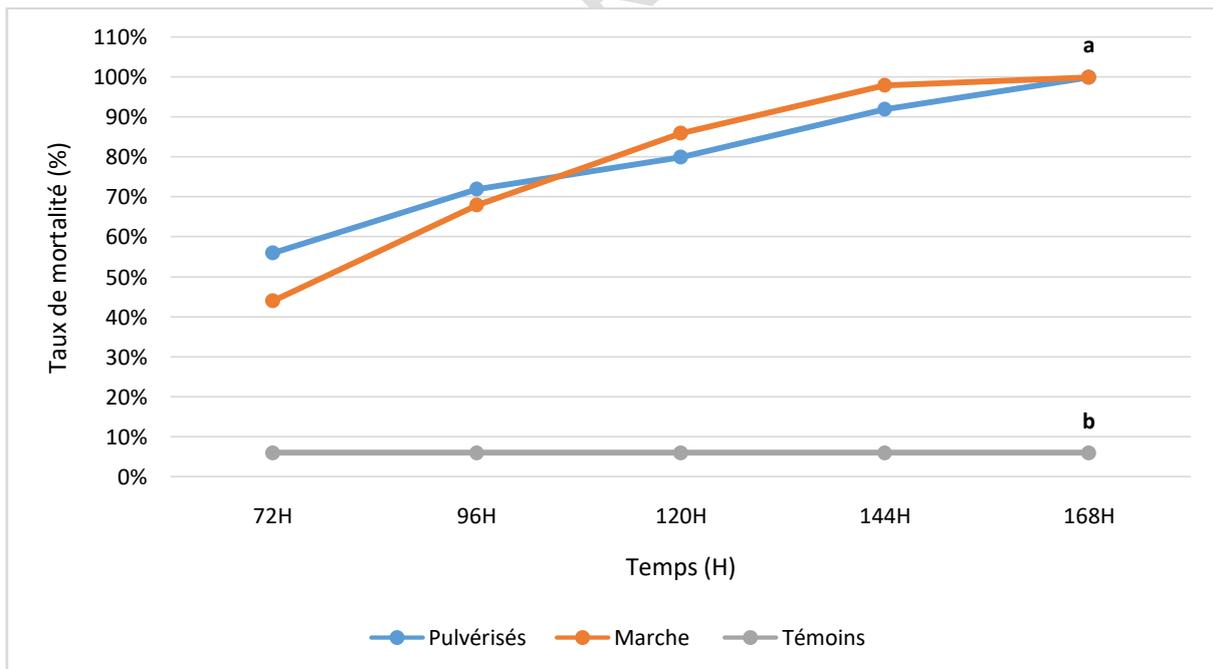
417 Les bandes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différents au seuil de 5% , $F = 2.74$, $P = 0.1367$

418 **Figure 3:** Nombre moyen d'adultes femelles et mâles émergés

419

420

421



422

423 Les courbes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différents au seuil de 5% ; $F=46.73$; $P < 0.0001$

424

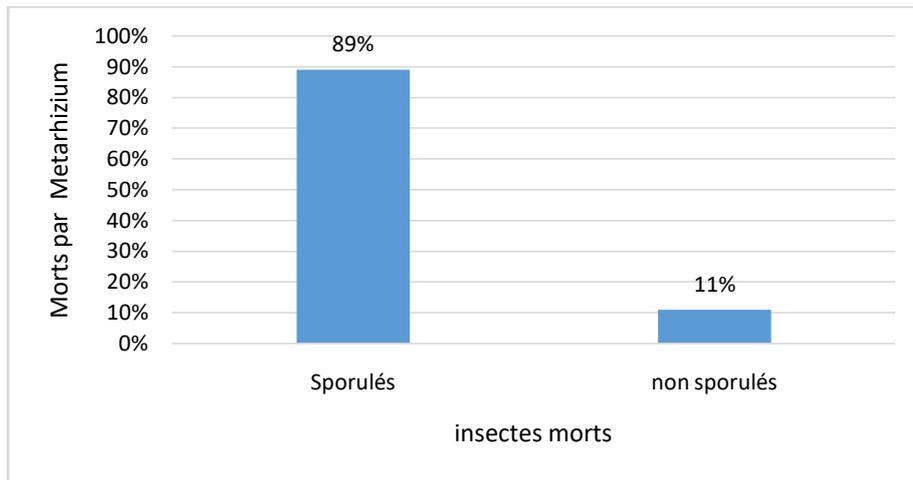
Figure 4: Évolution des mortalités au cours du test exploratoire

425

426

427

428



429

430 **Figure 5** : Insectes morts présentant des spores du *Metarhizium anisopliae* var BME2 lors
431 du test exploratoire

432

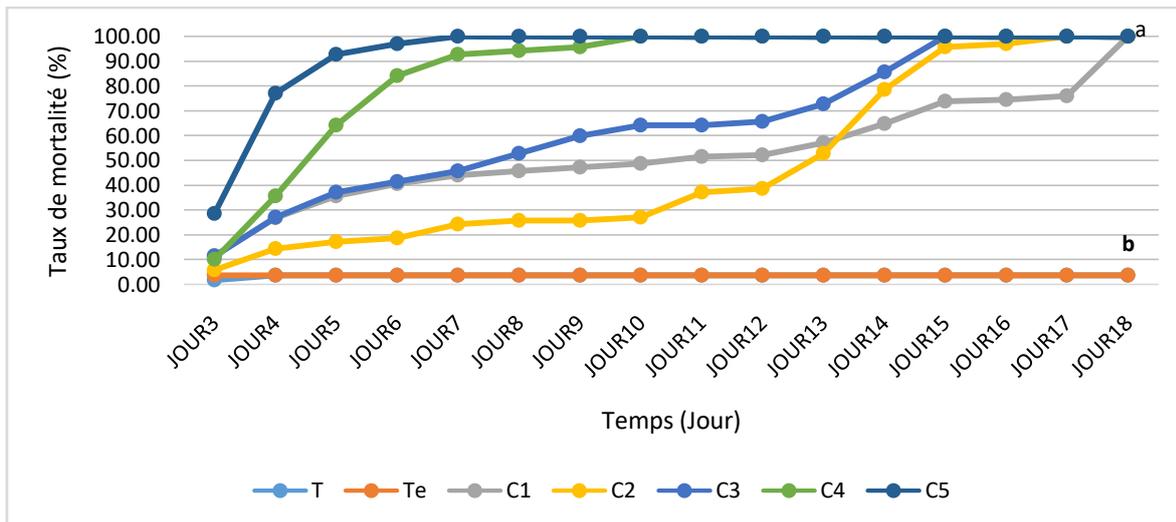
433



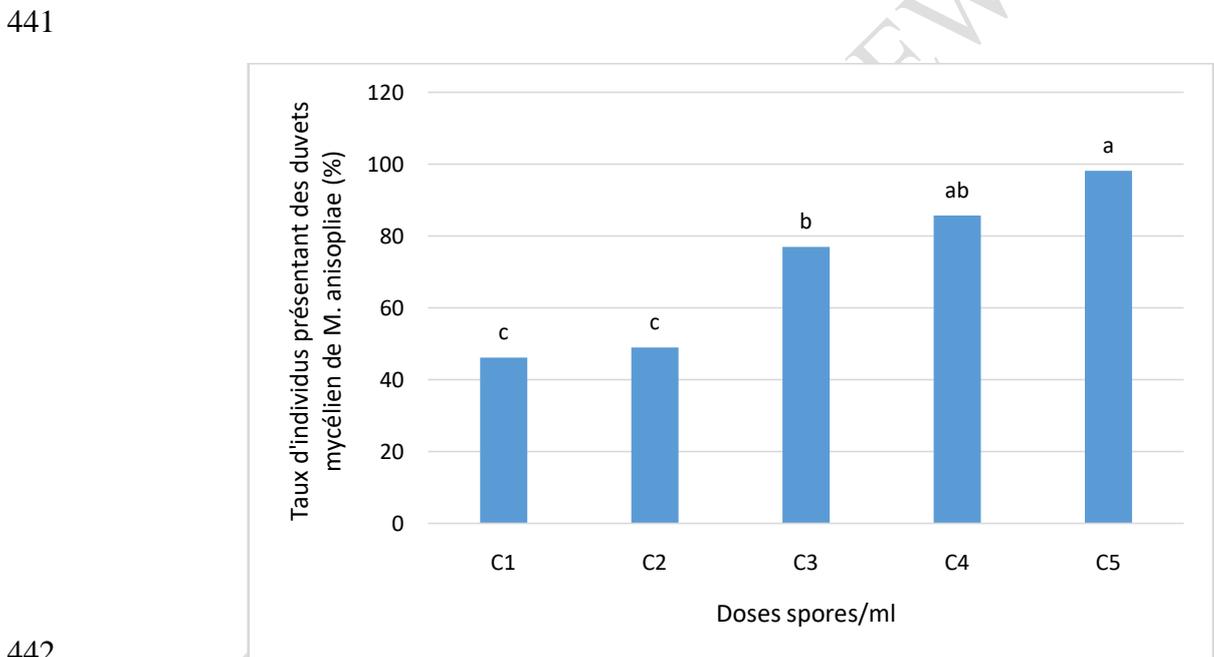
434

435 **Figure 6**: Conditionnement des insectes morts issus du test en milieu semi-contrôlé

436



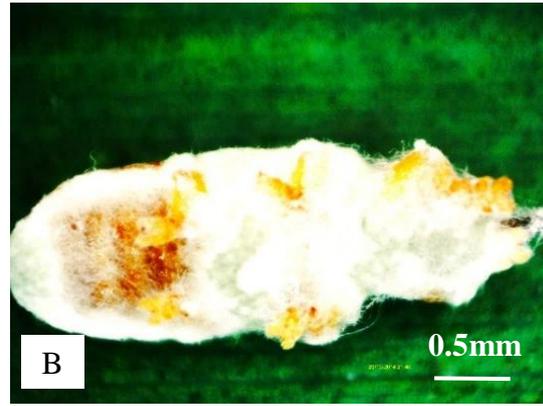
437
 438 **Figure 7:** Evolution du taux de mortalité en fonction des concentrations
 439 **T** : témoins ; **Te** : traité avec de l'eau distillé ; **C1** : Concentration 1 ; **C2** : Concentration 2 ; **C3** : Concentration 3 ;
 440 **C4** : Concentration 4 et **C5** : Concentration 5.



442
 443 **Figure 8:** Taux d'apparition des duvets mycéliens du *Metarhizium anisopliae* sur les morts
 444 recueillis selon les concentrations utilisées

445 Les bandes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différents au seuil de 5% ; $F = 20,337$ $P <$
 446 $4.66 \cdot 10^{-15}$

447



448

449 **Figure 9:** *Coelaenomenodera lameensis* mort suite à l'infestation de *Metarhizium anisopliae*
450 après les tests effectués en milieu semi contrôlé

451 A : face dorsale ; B : face ventrale

452

453

454

455

456

UNDER PEER REVIEW IN IJAR

457 **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

458 **Aby N., Kobénan K., Kéhé M., Gnonhour P., Koné D. & Zouzou M., 2010.** *Metarhizium*
459 *anisopliae*: parasite du charançon noir du bananier *Cosmopolites sordidus* dans les bananeraies
460 Ivoiriennes. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 7 (1) : 729 - 741.

461 **BENAICHOURE M.N. & DJOURDEM M. 2017.** Etude de l'efficacité de *Metarhizium anisopliae*
462 var *acridum* sur *Aphis spiraecola*. Protection des Cultures. Mémoire de Master 2, Université
463 Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Algérie, 65p.

464 **COFFI A., AHOLOUKPE H. N. S., KAKPO F. N., DOSSA J. S. & OMORE A. O., 2014.**
465 Contrôle phytosanitaire des nuisibles en culture du palmier à huile au Bénin. Pobè, le décembre
466 2014.

467 **Daniel C., Wyss E., 2008.** Field applications of entomopathogenic fungi against *Rhagoletis cerasi*.
468 Research Institute of Organite Agriculture, Archived at <http://orgprints.org/13650/>

469 **Hala K.A., 2020.** Bioécologie, dégâts, répartition de *Prosoestus sculptilis* et *Prosoestus minor*
470 (Coleoptera, Curculionidae) dans les principales zones de production du palmier à huile (*Elaeis*
471 *guineensis* Jacq.) en Côte-d'Ivoire et recherche de méthodes de lutte pour l'amélioration du taux de
472 nouaison. Thèse Doctorat, Entomologie et Gestion des Ecosystèmes de l'Université Félix
473 Houphouët Boigny, Abidjan Cocody, 236p.

474 **Jacquemard J. C., 1995.** Le palmier à huile. Le Technicien d'Agriculture Tropicale. *Edition*
475 *Maisonneuve et Larose*, Paris (France), 205 p.

476 **Konan K. E., Koné B., Adon N. B., Diabaté S., Koutou A. & Ballo K., 2006.** Bien cultiver le
477 palmier à huile en Côte-d'Ivoire. Fiche technique palmier n°1 CNRA/CTA, 4 p.

478 **Kouassi A.C., Hala N., Hala K. A., Kouassi P., 2019.** Impact des fourmis rouges *Oecophylla*
479 *longinoda* Latreille (Hymenoptera : Formicidae) sur la dynamique des populations de
480 *Coelaenomenodera lameensis* Berti & Mariau (Coleoptera : Chrysomelidae), principal ravageur du
481 palmier à huile *Elaeis guineensis* JACQ en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences*
482 (J.Anim.Plant Sci. ISSN 2071-7024) Vol.41 (1): 6757-6766.

483 **Mariau D. & Besombes J. P., 1972.** Les ravageurs et maladies du palmier et du cocotier. Méthode
484 de contrôle des niveaux de population de *Coelaenomenodera elaeidis*. *Oléagineux*, 27 (8-9) : 425-
485 427.

486 **Mariau D. & Lecrouste R., 2000.** Rôle de Facteurs Eco-Climatiques et Edaphiques Sur la
487 Fécondité au Champ de *Coelaenomenodera Lameensis*, Mineur des Feuilles du Palmier à Huile en
488 Afrique de l'Ouest. *International Journal of Tropical Insect Science* , Volume 20 , Issue 1 , March
489 2000 , pp. 7 - 21

490 **MENT D., GINDIN G., GLAZER I., PERL S., ELAD D., SAMISH M., 2010.** The effect of
491 temperature and relative humidity on the formation of *Metarhizium anisopliae* chlamydospores in
492 tick eggs. *fungal biology* **114** (2010) 49–56.

493 **PALMAFRIQUE, 2018.** Palm'Actu » Le palmier à huile dans l'économie ivoirienne,
494 <https://www.palmafrique.com/lhuile-de-palme-dans-leconomie-ivoirienne/>

495 **SAKHRAOUI W .2022.** Evaluation de l'efficacité de *Metarhizium anisopliae* contre la mineuse de
496 la tomate *Tuta absoluta* (Meyrick , 1917) (Lepidoptera ; Gelechiidae). Mémoire de Master 2,
497 Science de la Nature et de la Vie Sciences Agronomiques Protection des végétaux, Université
498 Mohamed Khider de Biskra Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie
499 Département des Sciences Agronomiques, Algérie Biskra, 55p.

500 **Shoukat R.F., Zafar J., Yuxin Zhang, Libéré S, Xiaoxia Xu & Feng Liang J., 2020.**
501 *Metarhizium Anisopliae* défie l'immunité et la démographie des *Plutella xylostella*. *Insecte*, 11, 0694

502 **SYLVIE & BERNARD, 2022** Rev Med Suisse 2022; 18: 1017-21 | DOI :
503 10.53738/REVMED.2022.18.782.1017.

504 **Touré Seindé, 2018.** Interraction insects- micro-organismes entomopathogènes comme source
505 d'inspiration pour la découverte concomitante de bio-insecticides et d'antimicrobiens. Thèse
506 doctorat, Biochimie [q-bio.BM]. Université Pierre et Marie Curie. France, 422p.

507 **USDA., 2022.** Rapport sur les graines et produits oléagineux, Rapport volontaire. Volontaire.
508 Distribution publique, Côte d'Ivoire, 11p.

509 **Vincent C. & Coderre D., 1992.** *La lute biologique*. Gaston Morin, Québec, 671p.

510 **YOUCEF M., 2010.** Essai du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* sur la
511 cuticule des larves L5 de *Schistocerca gregaria* (Acrididae, Cyrtacanthacridinae). Thèse de
512 Doctorat, Entomologie appliquée, Ecole Nationale Supérieure Agronomique du Département de
513 Zoologie agricole et forestière, Algérie, 120p.