



Journal Homepage: - [www.journalijar.com](http://www.journalijar.com)

## INTERNATIONAL JOURNAL OF ADVANCED RESEARCH (IJAR)

Article DOI: 10.21474/IJAR01/21171

DOI URL: <http://dx.doi.org/10.21474/IJAR01/21171>



### RESEARCH ARTICLE

## EFFICACITE BIOLOGIQUE DE METARHIZIUM ANISOPLIAEISOLAT BME2-CNRA CONTRE COELAENOMENODERA LAMEENSIS (COLEOPTERA : CHRYSOMELIDAE) RAVAGEUR DES FEUILLES DU PALMIER A HUILE (ELAEIS GUINEENSIS) EN COTE D'IVOIRE

N'goran Aby<sup>1</sup>, Vemo M. Bamba<sup>2</sup>, Christiane Gouamene<sup>1</sup>, Hauverset Assienan<sup>1</sup>, Hala N'klo<sup>1</sup> and Mauricette O. N'Goran<sup>2</sup>

1. Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), 01 BP 1740 Abidjan 01.
2. Université Felix Houphouët Boigny (UFHB), 01 BP 582 Abidjan 01.

### Manuscript Info

#### Manuscript History

Received: 14 April 2025

Final Accepted: 17 May 2025

Published: June 2025

#### Key words:-

Palmier a Huile, Defoliateur, Metarhizium Anisopliae, Agent Biologique, Côte d'Ivoire

### Abstract

La mineuse des feuilles *Coelaenomenodera lameensis* (Coleoptera ; chrysomelidae) du palmier a huile *Elaeis guineensis* cree des pertes annuelles de production de plus 40%. Son contrôle est basé sur l'utilisation des insecticides chimiques de synthèse. En Côte d'Ivoire, un isolat local de *Metarhizium anisopliae* est en développement comme alternative a ces insecticides. Pour circonscrire son efficacité, le cycle biologique de *C. lameensis* a été étudié et des tests de pathogénicité du champignon ont été effectués au laboratoire et en semi-grandeur au champ à travers des inoculations contrôlées avec des doses croissantes  $10^3$ ;  $10^5$ ;  $10^7$ ;  $10^8$ ;  $10^9$  spores/ml et les relevées des paramètres de pathogénicité : mortalité, TL50, TL90 et TL100. Les résultats ont montré que la femelle crée en moyenne  $9,51 \pm 1,84$  sites de ponte, desquelles sortent environ 885 adultes de sex-ratio (Mâles/femelles) de 1,33. La durée totale du cycle est de  $91 \pm 7,2$  jours avec 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 46,32 jours. Au laboratoire les tests ont donné 100% de mortalité des adultes avec la dose de  $3,4.10^5$  spores/ml par pulvérisation des folioles. Au champ, les applications de doses croissantes ont permis de déterminer la dose  $1,08.10^9$  spores/ml donnant 100% de mortalité, et des TL50 de 5j et TL100 de 8 jours. Des traitements de parcelles pilotes sont en cours pour confirmer l'efficacité de l'isolat *Metarhizium anisopliae* BME2-CNRA comme un potentiel agent de lutte biologique pour lutter contre le plus grand ravageur des feuilles du palmier a huile en Côte d'Ivoire.

"© 2025 by the Author(s). Published by IJAR under CC BY 4.0. Unrestricted use allowed with credit to the author."

### Introduction:-

Le palmier a l'huile (*Elaeis guineensis* ; jacquin, 1963), est une plante pérenne originaire de l'Afrique de l'Ouest (Jacquemard, 1995). Elle est cultivée pour ses fruits et ses amandes qui fournissent une huile végétale utilisée dans l'alimentation, l'oléochimie et le biodiesel (Coffi et al, 2014). La production mondiale d'huile de palme est

Corresponding Author:- N'goran Aby

Address:- Centre National de Recherche Agronomique (CNRA), 01 BP 1740 Abidjan 01.

estimee a environ 79,46 millions de tonnes(USDA,2022).La Côte d'Ivoire occupe le 9<sup>e</sup> rang avec une production estimee a600 000 tonnes produites sur 220 000 ha, la plaçant au 2<sup>ème</sup> rang des pays africains producteurs après le Nigeria. Sur le plan economique, la filière palmier a huile genère 500 milliards de franc CFA et contribue a 3,13% du Produit Interieur Brut (PIB) (PALMAFRIQUE, 2018).

Malgre cette productivite,la culture du palmier a huile est sujette a plusieurs contraintes dont desattaques de maladies et de ravageurs. Le principal ravageur est la mineuse des feuilles, *Coelaenomenodera lameensis* (coleoptera : Chrysomelidae-Hispinae). Les degâts occasionnes par ce ravageur se situe au niveau des folioles et peuvent entraîner une baisse de la production pouvant atteindre 30 a 50 % sur une periode de deux a trois ans (Mariau, 2000). Les stades larvaire et adulte de cet insecte sont voraces, cependant, les larves sont les plus redoutables car elles rongent les tissus internes des folioles (Mariau et Besombes,1972).

Les moyens de lutte contre ce ravageur sont principalement bases sur les traitements d'insecticides de synthèse(Konan et al., 2006).Malheureusement ces derniers ont un effet nefaste sur l'environnement et la sante humaine (Sylvie et Bernard, 2022). Ainsi, dans un contexte d'une agriculture durable, la recherche de methode de lutte efficace, moins polluante, s'avère necessaire. C'est dans ce cadre que cette etude s'est proposee l'usage du champignon entomopathogène du genre *Metarhizium* contre *C. lameensis* pour faire diminuer ses degâts dans les palmeraies. En effet, les champignons entomopathogènes sont des agents biologiques qui regulent efficacement les populations d'insectes nuisibles. Ainsi, dans la lutte contre les insectes nuisibles de differents ordres tels que les Diptères, les Orthoptères et les Coleoptères, les champignons entomopathogènes tels que *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* ont ete utilises (Shoukat.R. F et al; 2020). En Côte d'Ivoire, *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (Deuteromycota : Hypocreales), s'est montre efficace contre *Cosmopolites sordidus*, le charançon du bananier (*Musa paradisiaca*)Aby et al., (2010), egalement contre *Prosoestus* spp du palmier a huile (*Eleais guineensis*) (Hala, 2020). Ainsi, cette etude a pour objectif general de proposer une methode lutte biologique contre *Coelaenomenodera lameensis* par l'utilisation de champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* var BME2-CNRA. De façon specifique il s'est agi d'abord d'etudier le cycle biologique de *Coelaenomenodera lameensis* en milieu semi-contrôle, ensuite, d'évaluer la pathogenicite de l'isolat de *Metarhizium anisopliae* sur les adultes *Coelaenomenodera lameensis* en milieu semi-contrôle avant les essais en grandeur nature dans les palmeraies.

## **Materiel Et Methodes:-**

### **Materiel:-**

#### **Materiel vegetal**

Le materiel vegetal utilise est le palmier a huile, *Elaeis guineensis*, dont les folioles ont servi de support de nourriture pour la conduite de l'elevage de *C. lameensis*.

#### **Materiel fongique**

Le materiel fongique utilise est le champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* isolat BME2 disponible dans la mycothèque au laboratoire d'Entomologie et de Phytopathologie du programme Plantain Banane Ananas du CNRA a Anguededou.

#### **Materiel animal**

Le materiel animal est constitue d'adultes externe de *Coelaenomenodera lameensis*.

### **Methodes:-**

#### **Determination du cycle biologique de *C. lameensis***

L'elevage a ete realise en milieu semi-contrôle dans le but d'avoir une population homogene sur laquelle seront effectues les differents tests. De plus, cet elevage a permis d'etablir quelques parametres du cycle biologique de l'insecte afin de mieux le connaître.

#### **Installation des cages d'elevage**

L'elevage de *Coelaenomenodera lameensis* a ete realise dans une parcelle de la station du CNRA IRHO-La Me en milieu semi-contrôle. Une parcelle non infestee par *Coelaenomenodera lameensis* a ete choisie. Huit plants de palmier ont ete identifiés dans la parcelle, sur lesquels une palme de rang 17, propre, a ete choisi sur chaque plant. Huit (08) cages composees chacune d'une armature cubique de 40 cm de côté et mise dans tissu en fibres de

mousseline (figure1). L'ensemble formant une cage appele encore manchon d'elevage ont ete rattache a l'extremite de chaque palme choisie. Un total de quarante (40) folioles dont 20 de chaque cote du rachis, ont ete mises a l'interieur de chaque manchon. Les manchons ont ete equipes d'une fente laissee sur un cote pour faciliter les observations directes de l'evolution des differents stades de developpement de *C. lameensis*.

### Capture de *C. lameensis* et mise en cage

Des adultes externes de *C. lameensis* ont ete captures directement sur les folioles et a l'aide d'une pince souple sur des plants dans une parcelle infestee de la station de recherche CNRA de LA ME. Les captures ont ete realisees entre 6 et 8 heures de matin, heures d'inactivite de l'insecte. Ensuite, les insectes ont ete sexes au laboratoire en observant l'abdomen qui presente une ligne blanchâtre chez les femelles matures, ce qui est absent chez les mâles. Puis ils ont ete classes par groupes de 10 couples (10 mâles et 10 femelles) a l'interieur de chaque manchon prealablement installe. Pour les 08 manchons installes, un total de 160 insectes, dont 80 mâles et 80 femelles, ont ete utilises pour demarrer l'elevage. Ces insectes ont ete retires 6 jours après leur introduction dans les differents manchons afin de suivre les sites de pontes d'une generation homogene.

### Suivi des differents stades de developpement de *C. lameensis*

L'elevage a ete realise a une temperature moyenne de  $28,92 \pm 0,53^\circ\text{C}$  et une humidite relative de  $80 \pm 9,1\%$ . Les œufs pondus etaient recouverts par une masse fibreuse (site de ponte) dont la surface est variable. Ces sites de ponte ont ete identifies et denombres. Trois fois par semaine, ces sites de ponte etaient observes. Après eclosion les larves se trouvent dans les folioles entre l'epiderme superieure et l'epiderme inferieure et se nourrissent des cellules chlorophylliennes. Les larves suivies etaient retirees des folioles et mesurees pour determiner le stade, et la duree de chaque stade etait calculee. Cette operation a ete realisee 03 fois par semaine et le suivi a ete fait de façon quotidienne jusqu'a la nymphose. Le nombre moyen d'adultes emerges par galerie, le sex-ratio de la nouvelle generation obtenue, la duree de la pre-copulation et la duree de pre-oviposition ont ete determines. Les paramètres etudies ont ete ceux proposes par Kouassi et al., 2019 :

- **Nombre moyen de sites de ponte/femelle** a ete determine en faisant la moyenne des sites de ponte mise en place par 30 femelles ;

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

SP : Sites de Pontes ; Nf : Nombre de femelle

- **Nombre d'adultes emerges/galerie larvaire** a ete determine en faisant la moyenne des adultes emerges par le nombre de galerie suivie au stade d'adultes internes

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

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

- **Taille des differents stades de developpement** a ete determinee en mesurant 30 individus/stade de developpement en moyenne

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

Di : duree necessaire pour passer d'un stade a un autre ; Ni : Nombre d'individus mesures

- **Duree des stades de developpement :**

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

DS : duree du stade d'un individu ; Ni : Nombre d'individus.

- **Duree moyenne de pre-copulation (Dpreco)**

Trente-cinq couples ont pu être observes en prenant la date de sortie des individus jusqu'a la periode du premier accouplement. Les couples ont ete formes par groupe d'adultes emerges et mis dans les petits manchons pour observation.

$$Dpreco = \sum_1^n \frac{NJ}{NC}$$

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

- **Duree moyenne de Pre-oviposition (Dpreov)**

La pre-oviposition est la periode situee entre la première copulation et la ponte. Elle a ete determinee par la formule suivante :

$$D_{preov} = \sum_1^n \frac{NJ}{Nf}$$

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

- **La duree larvaire**

C'est la duree des 4 stades larvaires et elle a ete determinee par la formule suivante :

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

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

- **Duree moyenne du stade nymphal (DN)**

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

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

**Dn** : duree mise par une nymphe pour devenir un adulte interne ; **Nn** : Nombre de nymphes observees

- **Duree de l'adulte interne (Dai)**

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

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

**De** : la duree de l'emergence d'un adulte interne ; **Nai** : Nombre adultes internes observees.

- **La duree totale (DT) du cycle de developpement**

Le cycle de developpement a ete obtenu en additionnant la duree d'incubation (Di), les differents stades larvaires (DL), la nymphe (Dn), l'adulte interne (Dai), la pre-copulation (Dpreco) et la preoviposition (Dpreov) selon la formule ci-dessous :

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

- **Sex-ratio (SR)**

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

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

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

1)

2) 1.2.2 Evaluation de la pathogenicite des isolats de *Metarhiziumanisopliae* sur les adultes de *Coelaenomenodera lameensis*

La pathogenicite decrit le pouvoir pathogene d'un agent infectieux tel qu'une bacterie, un virus ou un champignon, c'est a dire sa capacite a provoquer des troubles chez son hôte. Pour cette etude, la pathogenicite de l'isolat de *Metarhizium anisopliae* BME2-CNRAa ete evaluee sur les adultes de *C. lameensis*.

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

L'isolat de *Metarhizium anisopliae* BME2-CNRA utilise a ete mise en culture sur milieu PDA dans les boites de Petri au laboratoire d'entomologie et phytopathologie du CNRA a Anguededou du programme Plantain-Banane-Ananas. Après sporulation, le champignon a ete multiplie sur un substrat riz precuit mis en incubation a l'obscurite dans un placard pendant 2 semaines.

**Preparation de l'inoculum**

Le premier test a ete effectue avec une dose de  $3,4 \times 10^8$  spores/ml pour confirmer la pathogenicite de l'isolat sur les insectes. Le deuxième test a consiste a utiliser cinq doses croissantes ( $1,08.10^3$  ;  $1,08.10^5$  ;  $1,08.10^7$  ;  $1,08.10^8$  et  $1,08.10^9$  spores/ml) pour les tests.

Ainsi, 100 g du substrat riz sporule a ete preleve a l'aide d'une spatule prealablement sterilisee et delayes dans 250 ml d'eau distillee sterilisee. L'ensemble a ete homogeneise pendant 5 minutes a 260 tours/min (isolats + eau sterilisee) sur un agitateur electrique. Après homogeneisation, le melange a ete tamise et le nombre de spores quantifie a l'Hematimetre de Malassez au microscope optique.

La concentration de la suspension de spores a ete determinee avec la formule:

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

**Nbre** : Nombre ; **Cp** : Coefficient des perimètres de comptage sur la lame de Malassez  
Test de confirmation de la pathogenicite de l'isolat de *Metarhizium* sur *C. lameensis*

### Application du champignon

La disposition des cages pour les tests a ete la même que pour celui de l'elevage. Pour ce premier test, visant a montrer la pathogenicite du champignon sur *C. lameensis*, 12 manchons ont ete installes, dont 2 pour les temoins et 10 inocules (5 manchons pour chacune des methodes appliquees). Dix (10) insectes ont ete introduits dans chaque manchon 24 heures avant le traitement afin qu'ils s'acclimatent. Au total 120 insectes ont ete utilises pour le test. Le matin avant l'application des suspensions fongiques, les manchons ont ete verifies et les insectes morts ont ete retires et remplaces. En somme, 50 insectes ont ete traites par pulverisation sur les folioles a l'interieur de 05 manchons avec un volume de 24 ml de la solution fongique pulverisee par manchon.

Cette application a ete comparee a une inoculation des insectes par marche des insectes dans une suspension de conidies. En effet, 50 insectes ont ete mis dans une boite de Petri contenant 2 ml de la suspension de spores pendant 1 min par vague de 10 insectes. Ils sont ensuite retires et mis dans les manchons où leur mortalite est aussi suivie. Comme temoin sans inoculation, 20 insectes pulverises avec de l'eau. L'etude a ete realisee sous une temperature moyenne de 29°C et une humidite relative de 82% en milieu semi-contrôle et repetee 2 fois.

### Suivi des paramètres de pathogenicite

Les observations etaient realisees tous les matins de 6h a 8h. Les individus morts ont ete comptes par manchon, puis places dans des boîtes de Petri tapisees a l'interieur de papier filtre imbibé d'eau distillee sterile. Chaque boîte correspondait a un manchon et etait etiquete avec la date et le mode de traitement. Les boîtes ont ensuite ete envoyees au laboratoire pour conditionnement afin de reveler par la suite si leur mort etait due a l'infection du champignon.

Le conditionnement a consiste a rincer les insectes morts une fois dans 2% d'acide citrique, puis a les rincer 3 fois avec de l'eau distillee. Les insectes sont ete ensuite essores suite avec du papier filtre sterile et mis dans de nouvelles boites a Petri tapisees a l'interieur de nouveau papier filtre sterile imbibé d'eau distillee sterile. Les insectes conditionnes etaient observes tous les jours et le temps le jour d'apparition des duvets myceliens sur l'insecte etait note. Enfin, les colonies de champignons apparues sur les insectes etaient identifiees au microscope optique. Le taux de mortalite ( $T_m$ ) par jour et le temps moyen d'apparition des duvets myceliens (TDM) ont ete determines respectivement par les formules suivantes :

**JDM** : Jours d'apparition des Duvets Mycelien ; **JM** : Jours de la Mort ;

**Tm** : Total des morts ;

**TDM** : Le Temps d'apparition des Duvets Myceliens.

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

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

### Test d'efficacite a doses croissante

La preparation de l'inoculum a ete identique a celle realisee lors du premier test. Ainsi, 193 g du substrat riz sporule ont ete delayee dans un volume de 250 ml d'eau distillee sterile. Après comptage au Malassez, la solution mère obtenue presentait une concentration de  $1,08 \cdot 10^9$  spores/ml. Des dilutions successives ont ete faites a partir des  $1,08 \cdot 10^9$  spores/ml pour obtenir  $1,08 \cdot 10^8$  spores/ml,  $1,08 \cdot 10^7$  spores/ml,  $1,08 \cdot 10^5$  spores/ml et  $1,08 \cdot 10^3$  spores/ml.

Le mode d'application choisi a ete la pulverisation sur les folioles, car il se rapproche d'avantage du mode de traitement reel dans les plantations. Ainsi, un volume de 30 ml a ete pulverise a l'interieur de chaque manchon. Deux temoins ont ete mis en place, un a ete traite avec de l'eau distillee et le second sans pulverisation. L'observation et le retrait des individus morts ont ete effectues de la même manière que lors du premier test. Les insectes morts ont ete places dans des boîtes de Petri etiquetees avec la date et la concentration. Chaque jour, les insectes morts etaient observes et le temps d'apparition des duvets myceliens etaient notes.

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

### Analyses statistiques

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

Le logiciel WINDL 32 a été utilisé pour la détermination de la TL50 au 5<sup>e</sup> jour en utilisant le nombre de morts cumules.

## Resultats Et Discussion:-

### Resultats:-

#### Cycle biologique de *C. lameensis*

Après le retrait des géniteurs, la capacité d'une femelle à créer des sites de ponte a été en moyenne de  $9,51 \pm 1,84$  sites de ponte selon la surface des sites. À la fin de l'élevage, un total de 885 adultes soit 505 mâles et 380 femelles a été obtenus. Le nombre d'adultes ayant émergés par galerie larvaire a été de  $2,15 \pm 1,2$  adultes. Le sex-ratio (mâles/femelles) est de 1,33. L'analyse de variance ne montre aucune différence significative entre le nombre de mâles et le nombre de femelles (Figure 3). La durée du cycle obtenue est de  $91 \pm 7,2$  jours (Figure 2), soit environ 3 mois, le cycle larvaire a duré 46,32 jours (Tableau I). La durée pour les différents stades de développement se présente comme suite : la durée de la pré-copulation est de  $3,75 \pm 0,85$  jours, la durée de pré-oviposition est de  $5,8 \pm 1,71$  jours, la durée d'incubation dure 18 à 21 jours, la larve du stade 1 dure 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 stade nymphal dure 12 à 15 jours, l'adulte interne dure 2 à 3 jours. La mesure en millimètre (mm) des différents stades larvaires L1, L2, L3 et L4 a donné respectivement,  $0,88 \pm 0,26$  ;  $1,86 \pm 0,23$  ;  $3,18 \pm 0,4$  et  $5,97 \pm 1,06$  (Tableau II). L'analyse de variance ANOVA 1 a démontré qu'il existe une forte différence significative entre les tailles des différents stades larvaires. Les nymphes mesurent en moyenne  $5,28 \pm 0,38$  ml et les adultes mesurent en moyenne  $6,65 \pm 0,5$ . Les œufs n'ayant pas pu être observés et mesurés, seuls les lieux de pontes ont été suivis.

#### Pathogénicité de l'isolat de *Metarhiziumanisopliae* BME2-CNRA sur les adultes de *C. lameensis*

Pour les deux méthodes d'application effectuées, la barre des 50% de mortalités a été dépassée au 4<sup>ème</sup> jour. Et, 100% de mortalité ont été atteints au 8<sup>ème</sup> jour pour les deux modes de traitement. Les analyses ont montré aucune différence significative entre les deux méthodes de traitement mais tous deux statistiquement différents du témoin (Figure 3).

#### Evolution des mortalités après application champignon

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

#### Taux d'insectes morts due au champignon

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

#### Effet des traitements à doses croissantes de *M. anisopliae*

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

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 4,4 jours, et de 5 jours et 7,2 jours (Tableau III). Le taux moyen d'apparition des duvets mycéliens sur les morts est de  $3 \pm 1$  jour (Figure 7). L'identification des conidies de *Metarhizium* nous a donné 46,15%, 49%, 77%, 85,81% et 98,2% d'apparition de duvet du champignon respectivement pour les 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). L'identification des duvets (Figure 9) a donné un taux moyen de révélation de l'isolat BME2-CNRA de 71,23%.

### Discussion:-

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

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

Les différents traitements avec les 05 doses croissantes utilisées ( $1,08.10^3$ ,  $1,08.10^5$ ,  $1,08.10^7$ ,  $1,08.10^8$  et  $1,08.10^9$  spores/ml) ont démontré leur efficacité en fonction de la concentration en spores. Ainsi, la dose de  $1,08.10^9$  spores/ml a été la dose la plus efficace avec plus de 50% de mortalité en 4 jours et 100% au 7<sup>ème</sup> jour, suivie de la dose de  $1,08.10^8$  spores/ml qui a donné 50% en 4,4 jours et 100% au 10<sup>ème</sup> jour. Les trois autres doses ( $1,08.10^3$ ,  $1,08.10^5$  et  $1,08.10^7$  spores/ml) ont atteint 50% de mortalité respectivement en 13,2 ; 13 et 6,8 jours et 100% en 18, 17 et 15 jours. Cela sous-entend que plus il y a de spores dans la solution, plus les mortalités sont importantes et plus elle est efficace sur *Coelaenomenodera lameensis* en donnant un temps létal relativement plus court. Ce résultat a été confirmé par le calcul de la DL50 à la dose de  $5,05.10^7$  spores/ml. Ces résultats sont similaires avec ceux de Sakhraoui (2022), dans son travail où *Metarhizium anisopliae* s'est avéré efficace contre *Tuta absoluta* aux concentrations de 4300 et 1215 spores/ml. Dans son étude, la première dose qui était de 1215 spores/ml et a provoqué 5% de mortalité au 1<sup>er</sup> jour et 72% au 7<sup>ème</sup> jour, tandis que la seconde dose a donné 5% au 1<sup>er</sup> jour et 81% au 7<sup>ème</sup> jour. Aussi, Benaïchour (2017) sur le puceron *Aphis spiraeicola* où le *Metarhizium* a éliminé 100% de la population testée en 07 jours avec une concentration de  $10^6$  spores/ml, en 08 jours avec  $10^5$  spores/ml et en 09 jours pour la concentration de  $10^4$  spores/ml. Cela justifie que le taux de mortalité est en corrélation avec le nombre de spores appliquées. De plus, Youcef (2010), dans son travail a déterminé les TL50 de ces 03 doses utilisées puis une DL50 de  $1,47.10^5$  spores/ml pour démontrer l'efficacité du *Metarhizium* sur les larves du stade 5 (L5) de *Schistocerca gregaria* (Acrididae, Cyrtacanthacridinae). Les travaux de Daniel et Wyss (2008) sur la mouche de la cerise européenne, *Rhagoletis cerasi* avec l'utilisation de plusieurs entomopathogènes notamment *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* et *Metarhizium anisopliae*. Au niveau du taux d'insectes mycosés, nos résultats ont montré pour D1= 46,15%, D2= 49%, D3= 77%, D4= 85,81%, D5= 98,2%. Des études antérieures menées par Ment et al (2010), Daniel et Wyss (2008) ont montré que la sporulation des champignons entomopathogènes sur les morts est en forte corrélation avec des facteurs abiotiques favorables, stipulant que plus le nombre de spores appliqués est

élevé, plus la sporulation des spores du champignon *metarhizium* est importante sur les hôtes lorsque les conditions abiotiques sont bonnes. La similarité des mortalités des deux témoins a permis de confirmer que l'eau distillée n'a pas eu d'effet sur *Coelaenomenodera lameensis*. Cela affirme que seul le champignon agit sur l'insecte dans notre solution formulée pour les différents tests.

### Conclusion:-

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

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

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

### Liste des Tableaux

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

| Stade                 | Moyenne durée (jours)     |
|-----------------------|---------------------------|
| L4                    | 15,16 ± 3,59 <sup>a</sup> |
| L1                    | 11,91 ± 2,38 <sup>b</sup> |
| L3                    | 10,25 ± 1,89 <sup>c</sup> |
| L2                    | 9 ± 1,3 <sup>d</sup>      |
| P < 0,0001 F = 114,62 |                           |

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

**Tableau II:-** Taille des différents stades larvaires *C. lameensis* élevé en milieu semi-contrôlé.

| stade                   | Moyenne Taille (cm)      |
|-------------------------|--------------------------|
| L4                      | 5,97 ± 0,26 <sup>a</sup> |
| L3                      | 3,17 ± 0,23 <sup>b</sup> |
| L2                      | 1,86 ± 0,40 <sup>c</sup> |
| L1                      | 0,88 ± 1,06 <sup>d</sup> |
| P < 0,0001 , F = 114,62 |                          |

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

**Tableau III:-** Temps Letaux (TL10, TL50 et TL90) des différentes concentrations appliquées au cours du test contre *Coelaenomenodera lameensis*.

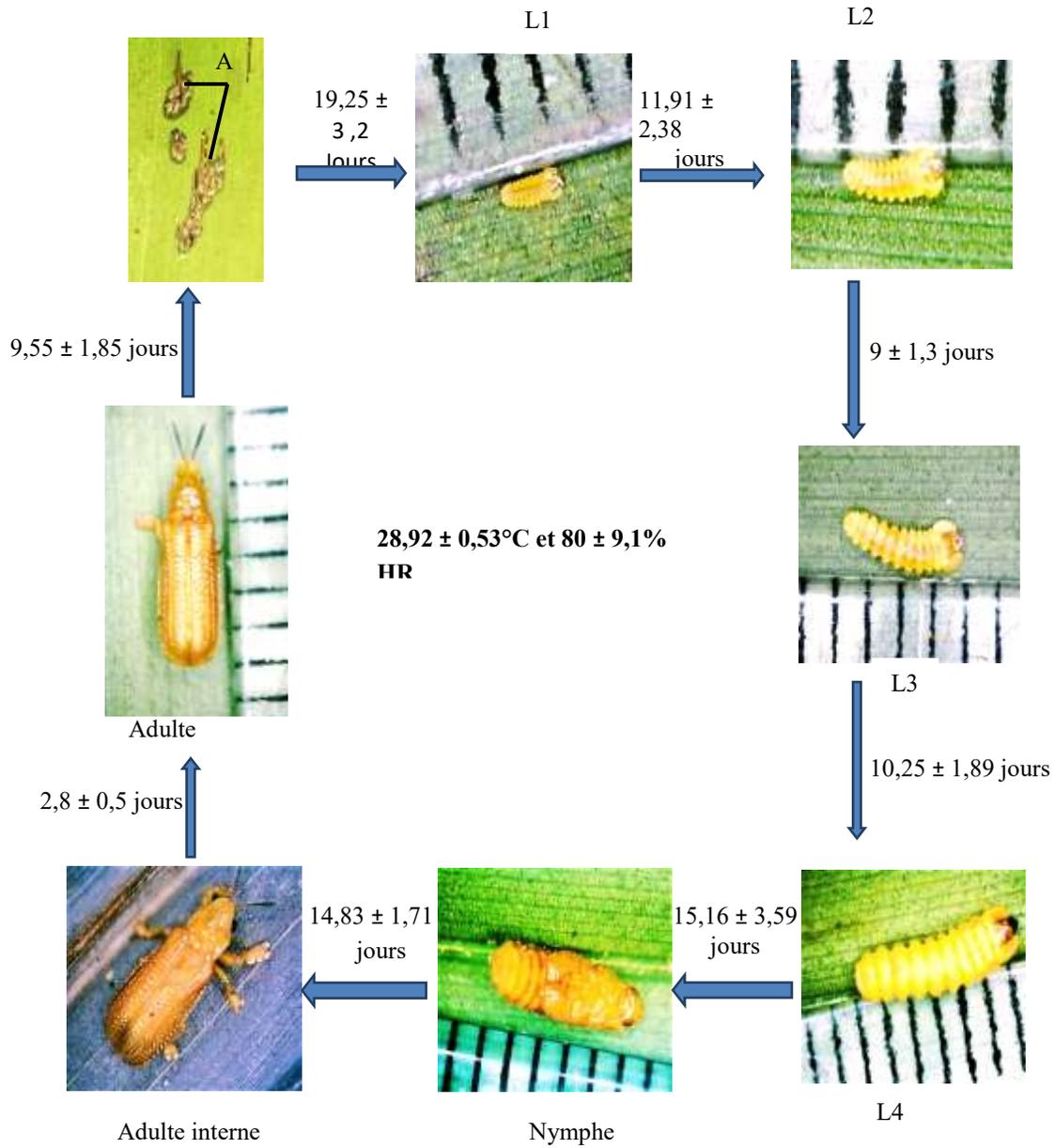
| Doses | TL50                    | TL90                     |
|-------|-------------------------|--------------------------|
| D1    | 13,2 ± 1,3 <sup>a</sup> | 15,6 ± 0,54 <sup>a</sup> |
| D2    | 13 ± 1 <sup>a</sup>     | 14,8 ± 0,44 <sup>a</sup> |
| D3    | 6,8 ± 1,3 <sup>b</sup>  | 14,4 ± 0,54 <sup>a</sup> |
| D4    | 4,4 ± 0,54 <sup>c</sup> | 7,2 ± 1,3 <sup>b</sup>   |
| D5    | 4 ± 0 <sup>c</sup>      | 5 ± 0,7 <sup>c</sup>     |
| F     | 109,11                  | 201,67                   |
| P <   | 0,0001                  | 0,0001                   |

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

**Tableau IV:-** Taux de mortalite 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  |

**Liste des figures****Figure 1:-** Manchons d'eleavage sur une feuille de palmier.



**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.

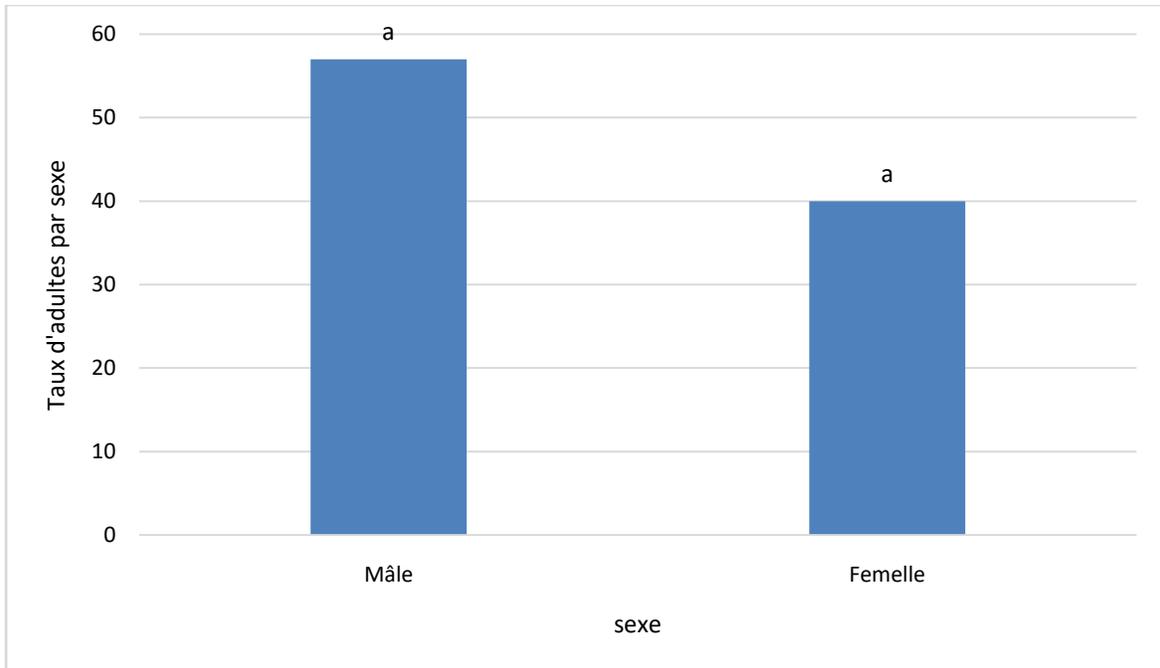


Figure 3:- Nombre moyen d'adultes femelles et mâles emerges.

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

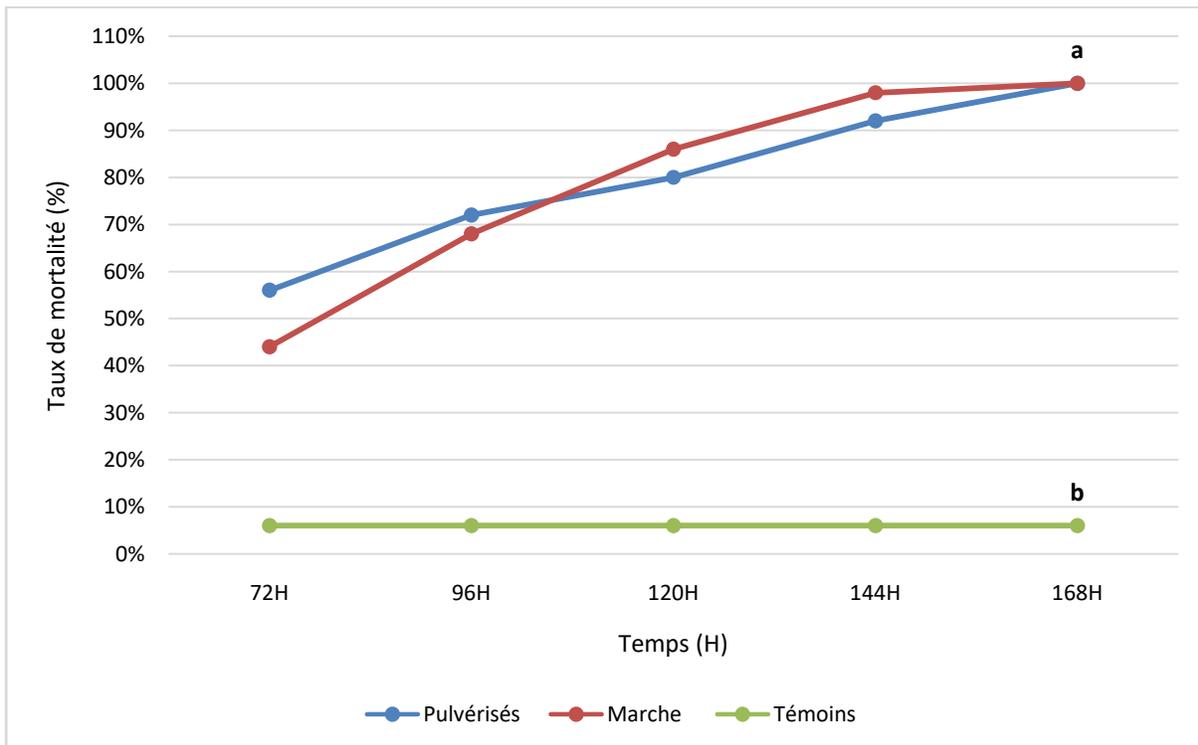


Figure 4:- Evolution des mortalites au cours du test exploratoire.

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

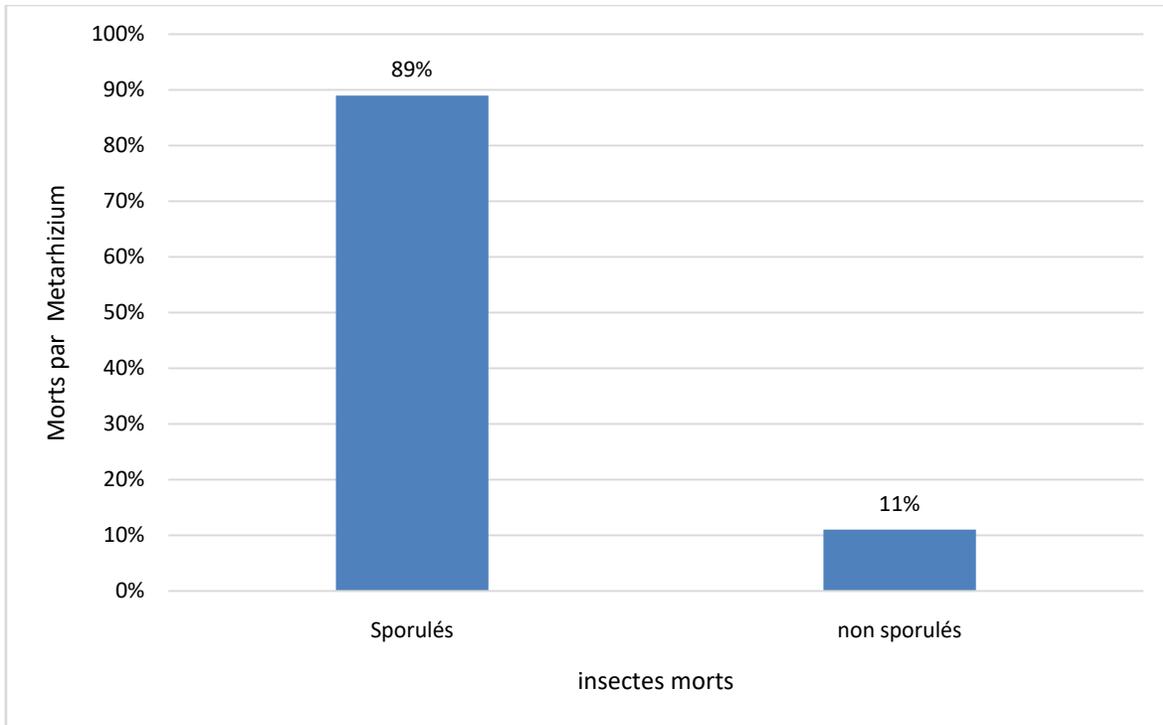


Figure 5:- Insectes morts présentant des spores du Metarhizium anisopliae var BME2 lors du test exploratoire.



Figure 6:- Conditionnement des insectes morts issus du test en milieu semi-contrôle.

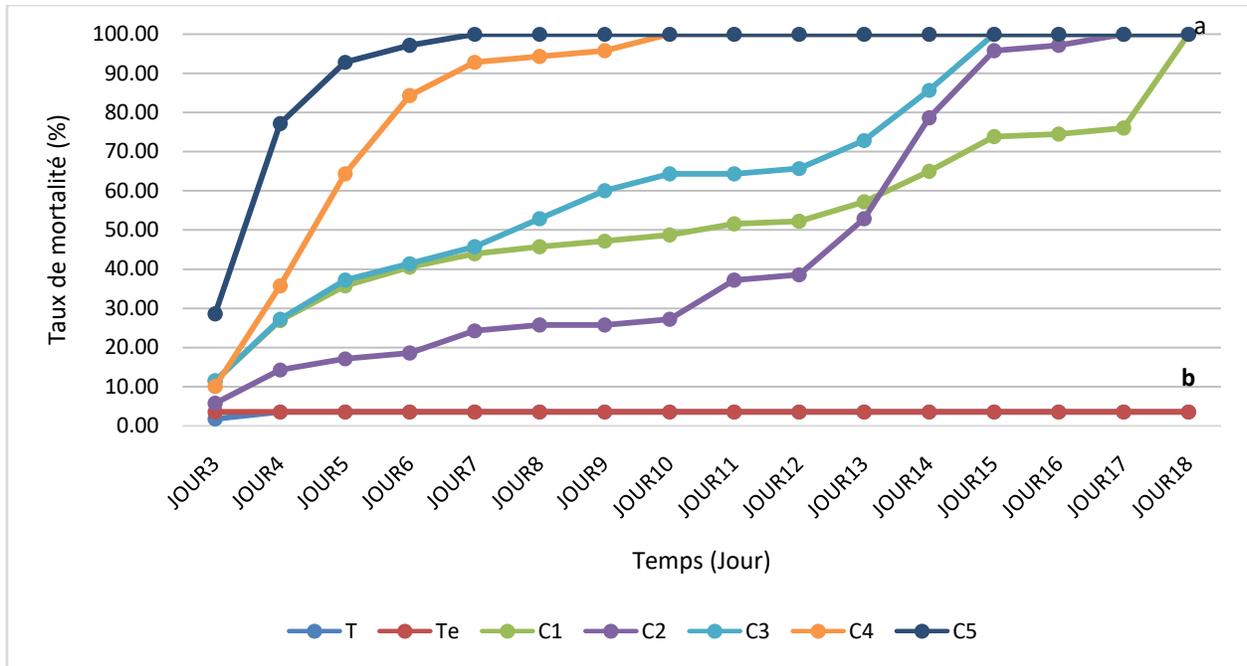
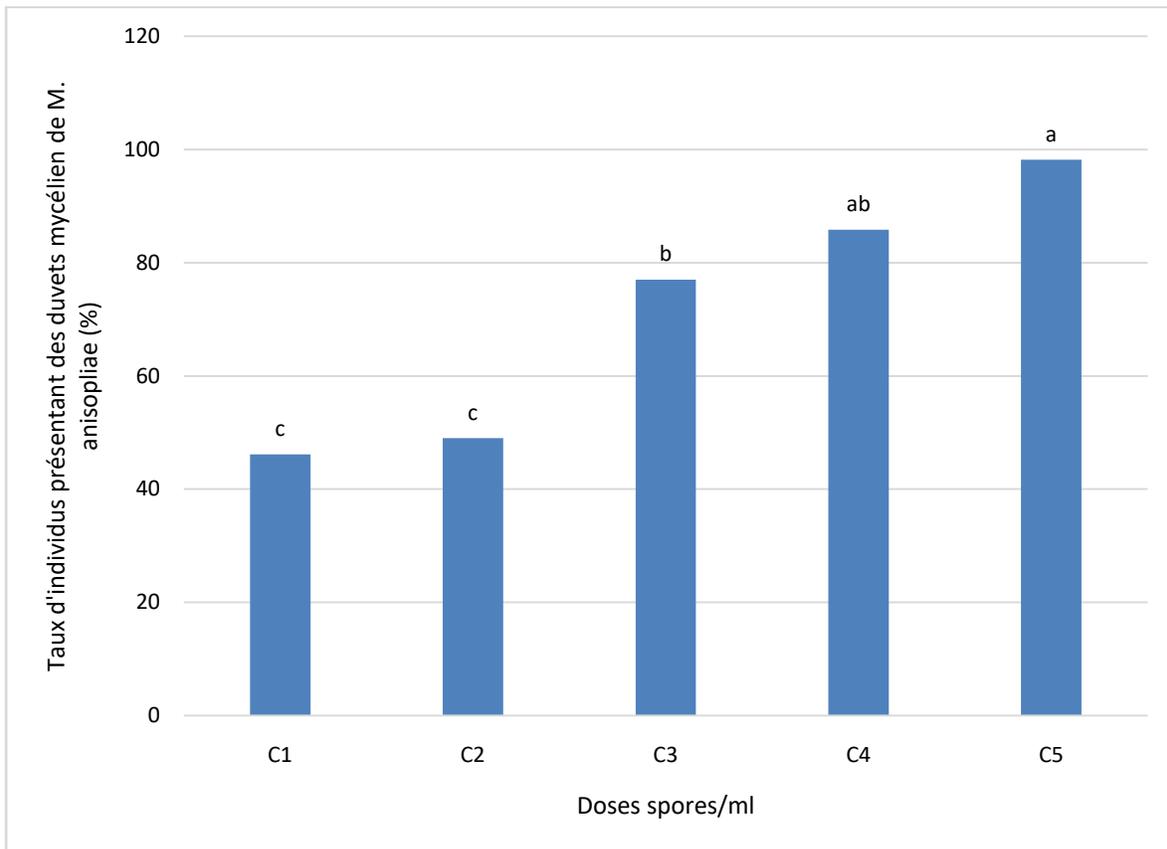


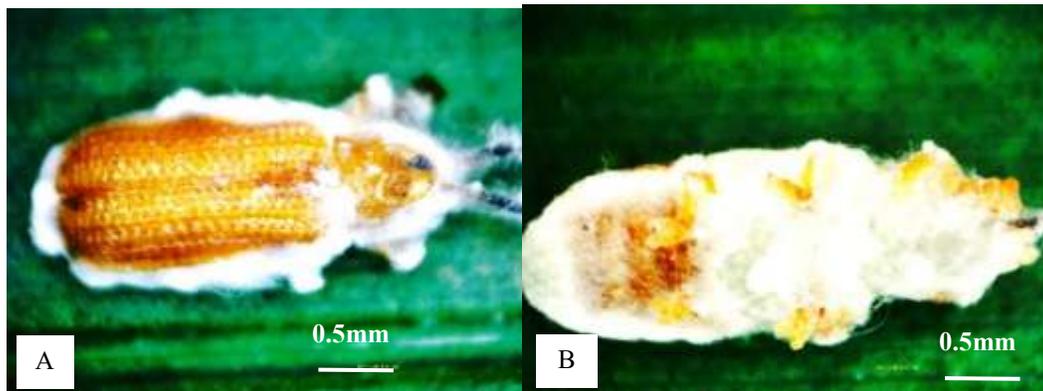
Figure 7:- Evolution du taux de mortalite en fonction des concentrations.

T : temoins ; Te : traite avec de l'eau distille ; C1 : Concentration 1 ; C2 : Concentration 2 ; C3 : Concentration 3 ; C4 : Concentration 4 et C5 : Concentration 5.



**Figure 8:-** Taux d'apparition des duvets myceliens du *Metarhizium anisopliae* sur les morts recueillis selon les concentrations utilisées.

Les bandes avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différentes au seuil de 5% ;  $F = 20,337P < 4.66.10^{-15}$



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

**A : face dorsale ; B : face ventrale**

### References Bibliographiques:-

1. Aby N., Kobenan K., Kehe M., Gnonhouri P., Kone D. & Zouzou M., 2010. *Metarhizium anisopliae*: parasite du charançon noir du bananier *Cosmopolites sordidus* dans les bananeraies Ivoiriennes. *Journal of Animal & Plant Sciences*, 7 (1) : 729 - 741.
2. BENAICHOUR M.N. & DJOURDEM M. 2017. Etude de l'efficacité de *Metarhizium anisopliae* var *acidum* sur *Aphis spiraeicola*. *Protection des Cultures. Memoire de Master 2, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Algérie*, 65p.
3. COFFI A., AHLOUKPE H. N. S., KAKPO F. N., DOSSA J. S. & OMORE A. O., 2014. Contrôle phytosanitaire des nuisibles en culture du palmier à huile au Bénin. *Pobè*, le décembre 2014.
4. Daniel C., Wyss E., 2008. Field applications of entomopathogenic fungi against *Rhagoletis cerasi*. *Research Institute of Organic Agriculture*, Archived at <http://orgprints.org/13650/>
5. Hala K.A., 2020. Bioécologie, dégâts, répartition de *Prosoestus sculptilis* et *Prosoestus minor* (Coleoptera, Curculionidae) dans les principales zones de production du palmier à huile (*Elaeis guineensis* Jacq.) en Côte-d'Ivoire et recherche de méthodes de lutte pour l'amélioration du taux de nouaison. Thèse Doctorat, Entomologie et Gestion des Ecosystèmes de l'Université Félix Houphouët Boigny, Abidjan Cocody, 236p.
6. Jacquemard J. C., 1995. Le palmier à huile. *Le Technicien d'Agriculture Tropicale*. Edition Maisonneuve et Larose, Paris (France), 205 p.
7. Konan K. E., Kone B., Adon N. B., Diabate S., Koutou A. & Ballo K., 2006. Bien cultiver le palmier à huile en Côte-d'Ivoire. Fiche technique palmier n°1 CNRA/CTA, 4 p.
8. Kouassi A.C., Hala N., Hala K. A., Kouassi P., 2019. Impact des fourmis rouges *Oecophylla longinoda* Latreille (Hymenoptera : Formicidae) sur la dynamique des populations de *Coelaenomenodera lameensis* Berti & Mariau (Coleoptera : Chrysomelidae), principal ravageur du palmier à huile *Elaeis guineensis* JACQ en Côte d'Ivoire. *Journal of Animal & Plant Sciences (J.Anim.Plant Sci. ISSN 2071-7024) Vol.41 (1): 6757-6766*.
9. Mariau D. & Besombes J. P., 1972. Les ravageurs et maladies du palmier et du cocotier. Méthode de contrôle des niveaux de population de *Coelaenomenodera elaeidis*. *Oleagineux*, 27 (8-9) : 425-427.
10. Mariau D. & Lecrouste R., 2000. Rôle de Facteurs Eco-Climatiques et Edaphiques Sur la Fécondité au Champ de *Coelaenomenodera Lameensis*, Mineur des Feuilles du Palmier à Huile en Afrique de l'Ouest. *International Journal of Tropical Insect Science*, Volume 20, Issue 1, March 2000, pp. 7 - 21
11. MENT D., GINDIN G., GLAZER I., PERL S., ELAD D., SAMISH M., 2010. The effect of temperature and relative humidity on the formation of *Metarhizium anisopliae* chlamydospores in tick eggs. *fungus biology* 114 (2010) 49–56.
12. PALMAFRIQUE, 2018. Palm'Actu » Le palmier à huile dans l'économie ivoirienne, <https://www.palmafrique.com/lhuile-de-palme-dans-leconomie-ivoirienne/>

13. SAKHRAOUI W .2022. Evaluation de l'efficacite de *Metarhizium anisopliae* contre la mineuse de la tomate *Tuta absoluta* (Meyrick , 1917) (Lepidoptera ; Gelechiidae ). Memoire de Master 2, Science de la Nature et de la Vie Sciences Agronomiques Protection des vegetaux, Universite Mohamed Khider de Biskra Faculte des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie Departement des Sciences Agronomiques, Algerie Biskra, 55p.
14. Shoukat R.F., Zafar J., Yuxin Zhang, Libere S, Xiaoxia Xu & Feng Liang J., 2020. *Metarhizium Anisopliae* defie l'immunité et la demographie des *Plutella xylostella*. *Insecte*, 11, 0694
15. SYLVIE & BERNARD, 2022 *Rev Med Suisse* 2022 ; 18 : 1017-21 | DOI : 10.53738/REVMED.2022.18.782.1017.
16. Toure Seinde, 2018. Interaction insects- micro-organismes entomopathogènes comme source d'inspiration pour la decouverte concomitante de bio-insecticides et d'antimicrobiens. Thèse doctorat, Biochimie [q-bio.BM]. Universite Pierre et Marie Curie. France, 422p.
17. USDA., 2022. Rapport sur les graines et produits oleagineux,Rapport volontaire. Volontaire. Distribution publique,Côte d'Ivoire, 11p.
18. Vincent C.& Coderre D., 1992. La lute biologique. Gaston Morin, Québec, 671p.
19. YOUCEF M., 2010. Essai du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* sur la cuticule des larves L5 de *Schistocerca gregaria* (Acrididae, Cyrtacanthacridinae). Thèse de Doctorat, Entomologie appliquee, Ecole Nationale Supérieure Agronomique du Departement de Zoologie agricole et forestière, Algerie, 120p.