UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL

APPLICATION DE *BEAUVERIA BASSIANA* CONTRE LA PUNAISE TERNE *LYGUS LINEOLARIS* (PALISOT DE BEAUVOIS) (HÉMIPTÈRES: MIRIDÉS) DANS LES VIGNOBLES

MÉMOIRE

PRÉSENTÉ

COMME EXIGENCE PARTIELLE
DE LA MAÎTRISE EN BIOLOGIE

PAR
ZIANI JAMAL

Octobre 2008

UNIVERSITÉ DU QUÉBEC À MONTRÉAL
Service des bibliothèques

Avertissement

La diffusion de ce mémoire se fait dans le respect des droits de son auteur, qui a signé le formulaire *Autorisation de reproduire et de diffuser un travail de recherche de cycles supérieurs* (SDU-522 – Rév.01-2006). Cette autorisation stipule que «conformément à l'article 11 du Règlement no 8 des études de cycles supérieurs, [l'auteur] concède à l'Université du Québec à Montréal une licence non exclusive d'utilisation et de publication de la totalité ou d'une partie importante de [son] travail de recherche pour des fins pédagogiques et non commerciales. Plus précisément, [l'auteur] autorise l'Université du Québec à Montréal à reproduire, diffuser, prêter, distribuer ou vendre des copies de [son] travail de recherche à des fins non commerciales sur quelque support que ce soit, y compris l'Internet. Cette licence et cette autorisation n'entraînent pas une renonciation de [la] part [de l'auteur] à [ses] droits moraux ni à [ses] droits de propriété intellectuelle. Sauf entente contraire, [l'auteur] conserve la liberté de diffuser et de commercialiser ou non ce travail dont [il] possède un exemplaire.»

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier tout d'abord mon directeur de recherche, Yves Mauffette, pour son soutien et sa grande disponibilité tout au long de ma maîtrise, pour son encadrement particulièrement formateur, et aussi pour avoir établi une très belle dynamique au sein du laboratoire.

Je tiens aussi à remercier mes codirecteurs, Claude Guertin (INRS-Insttitut Armand-Frappier) et Charles Vincent (Agriculture et Agroalimentaire Canada), auxquels j'exprime toute ma gratitude pour le partage de leur connaissance et de leur expertise lors de la réalisation de ce projet de recherche. Merci à tous les membres de l'équipe du laboratoire de Yves Mauffette, Claude Guertin, Charles Vincent et Abderrazzak Merzouki.

Je ne pourrais passer sous silence l'apport de mes amis Rachid Sabbahi, Hajbou Iguiliz, Faiza Samoui et Myriam Jean pour toutes les bonnes discussions (sérieuses ou non). Finalement, un énorme merci à mes parents pour leur soutien, ainsi que mon frère Mohamed et ma cousine Boukhabza Rizlaine pour leur soutien moral pendant la rédaction de ce document.

TABLE DES MATIÈRES

LISTE DES FIGURES ..... **vii**
LISTE DES TABLEAUX ..... **ix**
LISTE DES ABRÉVIATIONS ..... **x**
RÉSUMÉ ..... **xi**
Chapitre I: Revue bibliographique **1**
1.1 Problématique **1**
1.2 Vigne **3**
1.2.1 Historique et taxonomie 3
1.2.2 Écologie de la vigne 4
1.2.3 Cycle vital de la vigne 4
1.2.4 Importance de la viticulture au Canada 5
1.2.5 Insectes ravageurs de la vigne au Québec 8
1.3 Punaise terne **9**
1.3.1 Aspects taxonomiques 9
1.3.2 Biologie de l'insecte 9
1.3.3 Dommages aux cultures 10
1.3.4 Contrôle des populations de la punaise terne 12
1.3.4.1 Méthodes chimiques 13
1.3.4.2 Méthodes physiques 13
1.3.4.3 Méthodes biologiques 14
1.4 Champignon *Beauveria bassiana* **14**
1.4.1 Aspects taxonomiques 14
1.4.2 Morphologie 15
1.4.3 Mode d'action 16
1.4.4 Persistance de *Beauveria bassiana* en conditions environnementales 18
1.4.5 Facteurs affectant l'efficacité de *Beauveria bassiana* 19
1.4.5.1 Facteurs liés aux pathogènes 19

1.4.5.2 Facteurs dépendant de l'hôte 19
1.4.5.3 Facteurs de l'environnement 19
1.4.5.4 Effet du sol 20
1.4.6 Avantages de l'utilisation de *Beauveria bassiana* 21
1.4.7 Utilisation de *B. bassiana* contre les ravageurs 22
1.5 Punaise terne et la vigne 23
1.6 Susceptibilité de la punaise terne à *Beauveria bassiana* 24
1.6.1 Culture de la fraise 25
1.6.2 Culture de coton 25
1.6.3 Culture de la laitue 25
1.6.4 Culture de canola 26
1.6.5 Culture de la luzerne. 26
1.7 Proposition de recherche 26
1.8 Objectifs et hypothèses 27
Chapitre II: Efficacité insecticide des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* contre les populations adultes et nymphales de la punaise terne, *Lygus lineolaris*. 28
2.1 Introduction 28
2.2 Matériel et méthodes 29
2.2.1 Insectes 29
2.2.2 Origine des isolats de *Beauveria bassiana* 29
2.2.3 Production de *Beauveria bassiana* 30
2.2.4 Pourcentage de germination 30
2.2.5 Titres insecticides 30
2.2.6 Analyse statistique 31
2.3 Résultats et discussion 34
2.4 Conclusion 34
Chapitre III: Efficacité de *Beauveria Bassiana* et du cyhalothrin-λ contre les populations de la punaise terne, *Lygus lineolaris,* dans la culture de la vigne. 39
3.1 Introduction : 39

3.2 Matériel et méthodes 41

3.2.1 Provenance des insectes 41

3.2.2 Production de *Beauveria bassiana* 41

3.2.3 Persistance de l'activité insecticide et viabilité des conidies de *Beauveria bassiana* contre les adultes de *Lygus lineolaris* sur les feuilles de la vigne 42

3.2.3.1 Dispositif expérimental et traitements appliqués 42

3.2.3.2 Description des traitements 42

3.2.3.3 Préparation de la formulation 42

3.2.3.4 Application des traitements 43

3.2.3.5 Pulvérisation 43

3.2.3.6 Échantillonnage des feuilles de vignes 44

3.2.3.7 Évaluation de la persistance de l'activité insecticide 44

3.2.3.8 Évaluation de la viabilité des conidies de *Beauveria bassiana* 44

3.2.4 Suivi de la survie des populations nymphales de la punaise terne suite aux pulvérisation de *Beauveria bassiana* 45

3.2.4.1 Dispositif expérimental 45

3.2.4.3 Observation de l'infection par *Beauveria bassiana* 45

3.2.5 Analyses statistiques 46

3.2.6 Activité insecticide des conidies de *Beauveria bassiana* et du cyhalothrin-λ sur *Lygus lineolaris* 50

3.2.7 Persistance des conidies de *Beauveria bassiana* sur les feuilles de vigne.... 51

3.2.8 Suivi de la survie des populations nymphales de la punaise terne suite aux pulvérisation de *Beauveria bassiana* 51

3.3 Résultats 51

3.3.1 Activité insecticide de *Beauveria bassiana* et du cyhalothrin-λ sur *Lygus lineolaris* 51

3.3.2 Persistance des conidies de *Beauveria bassiana* sur les feuilles de vigne 53

3.3.3 Suivi de la survie des populations nymphales de la punaise terne suite aux pulvérisation de *Beauveria bassiana* 54

3.4 Discussion 62

3.5 Conclusion.....66
Conclusion générale 67
Références 70

LISTE DES FIGURES

Figure1.1 Les principales étapes des cycles végétatif et reproducteur de la vigne *Vitis vinifera*.....7

Figure 1.2 Différents stades de développement de la punaise terne *Lygus lineolaris*. 11

Figure 1.3 Morphologies de *Beauveria bassiana*. 17

Figure 2.1 Quelques étapes de la production de *Beauveria bassiana* dans un milieu solide..... 32

Figure 2.2 Représentation de différentes étapes du processus menant à la réalisation des épreuves biologique sur les adultes et les nymphes de la punaise terne *Lygus lineolaris*.. 33

Figure 2.3 Mortalité des adultes et des nymphes de la punaise terne exposées aux différentes concentrations de deux isolats de *Beauveria bassiana*.....38

Figure 3.1 Application des isolats INRS-CFL et INRC-IP de *Beauveria bassiana* à des concentrations de 5×10^{11} et 5×10^{13} conidies/ha sur les parcelles de vignes à l'aide d'un pulvérisateur à dos.....48

Figure 3.2 Incubation des adultes de la punaise terne dans des boîtes de Pétri contenant des feuilles de vigne traitées par *Beauveria bassiana* et le cyhalothrin-λ.....49

Figure 3.3 Formation de colonies de *Beauveria bassiana* sur milieu sélectif. Le matériels a été récupérer a partie des feuilles de la vigne traitée par *Beauveria bassiana*.....50

Figure 3.4 Activité insecticide des conidies des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* et cyalothrine-lambda contre les adultes de *Lygus lineolaris* sur les feuilles de vignes échantillonnées au jour (récolte) 0, 3 et 6 suivant l'application.....56

Figure 3.5 Mortalité des adultes de *Lygus lineolaris* exposés aux feuilles traitées par les isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* et par le cyhalothrin-λ..... 57

Figure 3.6 Persistance des conidies des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* sur le feuillage de la vigne en fonction du temps..... 59

Figure 3.7 Nombre de nymphes de *Lygus lineolaris* dépistées à partir des plants traités par les isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* et cyhalothrin-λ en fonction du temps.....61

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 2.1 Pathogénicité et virulence des isolats INRS-IP et INRS-CFL de B*eauveria bassiana* vis-à-vis des adultes et des nymphes (5ième stade) de Lygus *lineolaris* à une concentration de 1 x 10^6 conidies/ml.....37

Tableau 3.1 Répartition aléatoire des différents traitements dans le dispositif à blocs aléatoire implanté sur des parcelles de vigne *Vitis Vinifiera* variété Chancellor de la ferme expérimentale de Frelighsburg d'Agriculture et Agroalimentaire Canada.....47

Tableau 3.2 Analyse de variance de l'activité insecticide des différents traitements avec les isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* et avec le cyhalothrin-λ sur les adultes de *Lygus lineolaris*.....55

Tableau 3.3 Analyse de variance de la persistance des conidies des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* sur les feuilles de vignes.....58

Tableau 3.4 Analyse de variance du nombre de nymphes de *Lygus lineolaris* dépistées à partir des plants traités par les isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* et par le cyhalothrin-λ en fonction du temps.....60

LISTE DES ABRÉVIATIONS

INRS-IP	Nom d'un isolat de *Beauveria bassiana* provenant de la banque des entomopathogènes de l'INRS-Institut Armand-Frappier cet isolat a été sélectionné de l'insecte, *Tomicus piniperda* (Coleoptera: Scolytidae) au Québec
INRS-CFL	Nom d'un isolat de *Beauverial bassiana* provenant de la banque des entomopathogènes de l'INRS-Institut Armand-Frappier cet isolat a été sélectionné de l'insecte, *Lygus sp.* (Heteroptera: Miridae) au Québec
CL_{50}	Concentrations létales tuant 50 % de la population d'insectes
TL_{50}	Temps létaux suffisant pour tuer 50 % de la population d'insectes
CFU	Unité formant colonie (*Colony Forming Unit*)

RÉSUMÉ

Les insecticides chimiques sont de plus en plus considérés comme des moyens de derniers recours pour lutter contre les populations de ravageurs, car ils augmentent considérablement les coûts de production et que leur usage abusif peut entraîner des effets néfastes sur la santé humaine, animale et environnementale. Dans ce contexte, la recherche de méthode alternative de lutte prend toute son importance afin de remplacer leur emploi par des outils à risque réduit. A l'instar de plusieurs autres insectes, certaines populations de la punaise terne, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hémiptères: Miridés), qui est un ravageur cosmopolite, phytophage et d'importance économique en Amérique du Nord, sont résistantes à plusieurs pesticides chimiques actuellement homologués. Les microorganismes entomopathogènes occupent une place importante parmi les méthodes alternatives de lutte contre les insectes ravageurs. Le champignon *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vouillemin, est un agent entomopathogène naturellement présent dans les écosystèmes. Il offre un potentiel très intéressant pour contrôler les populations de la punaise terne.

L'objectif général de cette étude était de mesurer l'impact de l'emploi des préparations insecticides à base de *B. bassiana* sur les populations de la punaise terne dans les vignobles. La première étape de notre démarche visait à déterminer, à l'aide d'épreuves biologique, la pathogénicité et la virulence (CL_{50} et TL_{50}) des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *B. bassiana* sur les populations adultes et nymphales de la punaise terne. Les résultats ont montré une susceptibilité des nymphes et des adultes de *L. lineolaris* soumis aux préparations à base de *B. bassiana*.

La seconde étape de notre démarche, a consisté en l'étude comparative de l'effet de l'application de ces deux isolats de *B. bassiana* et de l'insecticide chimique cyhalothrin-λ (Matador®) sur les populations des adultes de la punaise terne dans les vignobles. Les résultats ont montré que les mortalités provoquées par *B. bassiana* étaient comparables à celles obtenues avec le cyhalothrin-λ. Ces résultats suggèrent l'utilisation d'une formulation à base de l'isolat INRS-CFL de *B. bassiana* contre les populations adultes de la punaise terne avec une concentration de 5×10^{13} conidies/ ha. Nos résultats démontrent aussi que l'activité insecticide des conidies des isolats INRS-IP et INRS-CFL de *B. bassiana* est maintenue jusqu'a six jours suivant l'application. Des applications multiples sur une base hebdomadaire sont donc requises tout au long de la durée de floraison de la vigne si l'on désire maintenir une activité insecticide permettant de contrôler les populations de la punaise terne.

En complément de l'objectif précédent, la troisième étape devait permettre de suivre la persistance des conidies de *B. bassiana* sur les feuilles de la vigne. La persistance des conidies semble être le facteur déterminant l'activité insecticide des préparations à base de *B. bassiana*. Ainsi, nos résultats montrent que les conidies des isolats INRS-IP et INRS-CFL de *B. bassiana* sont présentes durant six jours suite à leur application sur les feuilles des plants de la vigne. Ces résultats mettent en évidence la nécessité d'élaborer une formulation permettant d'accroître la persistance des conidies sur le feuillage augmentant ainsi l'efficacité des applications.

La dernière étape avait comme objectif de déterminer l'effet des applications multiples de *B. bassiana* sur la survie des populations nymphales de *L. lineolaris*. Le suivi des populations nymphales de la punaise terne par la technique de frappe montre qu'il y a une diminution significative du nombre de nymphes vivantes en fonction du temps.

Nos résultats au laboratoire et en champ de la vigne démontrent le fort potentiel de l'agent entomopathogène *B. bassiana* contre les populations de la punaise terne.

Mots clés : La punaise terne, *Beauveria bassiana*, épreuves biologique, cyhalothrin-λ, pathogénicité, virulence, activité insecticide, persistence.

Chapitre I :

Revue bibliographique

1.1 Problématique

L'intensification de la production végétale au cours des dernières décennies est associée à la mise en marché d'outils de protection phytosanitaire de plus en plus efficace et performante. Cependant, parmi ces outils, on retrouve les pesticides chimiques qui devraient être considérés comme des moyens de dernier recours, puisque leur utilisation peut entraîner des effets négatifs sur la santé humaine, animale et environnementale. Du point de vue de l'entomologique, plusieurs espèces d'insectes nuisibles ont développé des formes de résistance aux insecticides de synthèse disponibles sur le marché. Par exemple, l'utilisation étendue de l'insecticide Malathion (Malathion 500^{E}) sur le coton a entraîné le développement de résistance chez les populations de la punaise terne, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Cheng *et al.*, 2004). Sur les cultures légumières, le même phénomène a été observé suite à l'emploi du diméthoate (Cygon 480 AG), de l'endosulfan (Thiodan 4 EC) et de plusieurs pyréthrines de synthèse comme la cyhalothrin-λ (Matador®) (Chaput et Uyenaka, 1998). Afin d'assurer une protection phytosanitaire et un rendement soutenu de la productivité agricole, il est important de développer des approches à risque réduit pour l'environnement afin de lutter contre les populations d'insectes nuisibles.

Plusieurs solutions sont proposées pour remplacer l'emploi des produits chimiques. Les concepts écologiques de lutte biologique et de lutte intégrée sont des alternatives à considérer (Coderre et Vincent, 1992). On entend par lutte biologique toute forme d'utilisation d'organismes vivants ayant pour but de limiter la pullulation et/ou la nocivité de divers ennemis de cultures (Jourdheuil *et al.*, 1991). Parmi les organismes qui peuvent être utilisés en lutte biologique, on peu compter sur plus de 700 espèces de microchampignons entomopathogènes (Starnes *et al.*, 1993). Ces microchampignons occupent une place privilégiée parmi les agents microbiens de lutte biologique. En effet, leur mode d'action par ingestion ou par contact leur confère un avantage puisqu'ils pourraient être utilisés pour lutter contre des populations des différents stades de développement d'un même ravageur.

Beauveria tenella (Hyphomycètes) a été le premier champignon étudié comme agent de lutte biologique (Subramanian, 1983). Une quinzaine d'espèces de champignons entomopathogènes ont été identifiées pour leurs effets contre certains ravageurs. Parmi celles-ci, l'hyphomycète *Beauveria bassiana* vient certainement en première place, notamment en considérant la diversité des ravageurs pouvant être affectés par ce champignon (Coderre et Vincent, 1992). Ce mycète agit comme un insecticide de contact. Ainsi, contrairement à plusieurs agents microbiens de lutte, il peut infecter un insecte sans que ce dernier ait à ingérer les spores. Ce champignon prolifère à l'intérieur de l'organisme jusqu'à ce qu'il provoque sa mort. Par la suite, le mycélium traverse les parties plus molles de la cuticule, couvrant ainsi l'insecte d'une couche blanche, appelée muscardine. Cette couche duveteuse est le site de production de spores contagieuses, appelées conidies. Ces dernières sont libérées dans l'environnement afin de reproduire le cycle d'infection chez un autre insecte.

Plusieurs études ont démontré le potentiel insecticide de *B. bassiana*. Ce champignon peut être utilisé contre différents insectes ravageurs appartenant à divers ordres, notamment les coléoptères (Todorova *et al.*, 1996; Todorova *et al.*, 2002a; Dowd et Vega, 2003; Cornia et Beatriz., 2004; Liu *et* Bauer, 2006; Liu *et* Bauer, 2008a), les homoptères (Todorova *et al.*, 2002a ; Feng *et al.*, 2004; Dara et *al.*, 2007; Liu *et al.*, 2008b), les lépidoptères (Todorova *et al.*, 2002a; Tadela et Pringle, 2003; El-Sinary et Rizk, 2007; Nguyen *et al.*, 2007) et les hémiptères (Luz *et al.*, 1989; Liu *et al.*, 2003a; Kouassi *et al.*, 2002; Jarrod et Robert, 2005; McGuire et Leland, 2006; Sabbahi *et al.*, 2008a). Jusqu'à ce jour, les résultats obtenus concernant la réduction des populations de doryphore de la pomme de terre, *Leptonotarsa decemlineata*, montrent tout le potentiel de ce champignon comme une alternative aux pesticides chimiques pour les producteurs agricoles (Talaei *et al.*, 2006). L'application de *B. bassiana* sur des parcelles expérimentales (rizières ou des champs de sorgho), a permis d'éliminer 98 % des larves et des imagos du criquet sénégalais, *Oedaleus senegalensis* (Orthoptères : Acridés) après seulement sept jours (Greathead *et al.*, 1994). Dans l'état de New York, on a démontré que l'emploi d'une formulation à base de *B. bassiana* combinée à un agent mouillant, le Silwet, pouvait diminuer les dommages causés par la punaise terne dans la culture de fraise (Kovach et Greg, 1996). Plus récemment, des études ont démontrées

le potentiel de certains isolats du champignons contre les principaux ravageurs des fraiseraies au Québec, dont la punaise terne (Sabbahi *et al.*, 2008a,b).

À l'instar de plusieurs autres insectes nuisibles, la punaise terne est une espèce largement distribuée en Amérique du Nord. Cette espèce polyphage peut provoquer des pertes dans différentes cultures. Par exemple, on a observé des pertes de 80 % dans des champs de céleris non traités (Richard et Boivin., 1994). Le même niveau de dommages a été observé dans des champs de laitues (Chaput et Uyenaka, 1998). Bien que l'importance des dommages qu'elle inflige aux parties commercialisables du brocoli et du chou-fleur soit à la hausse ces dernières années, la punaise terne est considérée comme un ravageur occasionnel de ces deux cultures (Chaput et Uyenaka, 1998). Dans l'État de New York, la punaise *Taedia scrupea* (Say) (Miridae), est un ravageur sporadique de la vigne qui se nourrit sur les grappes entre le débourrement et la floraison. Cet insecte peut réduire de 20% le nombre de grappes par pied de vigne (Vincent *et al.*, 2002). Une seule nymphe par pied de vigne peut réduire de 0,18 kg le rendement de raisins par saison (Martinson *et al.*, 1998). Au Québec, les dommages causés par la punaise terne en verger ont atteint 2 % en 1972 et 1980 (Boivin et Stewart, 1982). À l'heure actuelle, aucune méthode de lutte biologique efficace contre les populations de ce ravageur n'est connue dans la culture de la vigne.

1.2 Vigne

1.2.1 Historique et taxonomie

L'histoire de la vigne accompagne l'histoire de l'humanité depuis des millénaires. Elle semble originaire des régions chaudes du bassin méditerranéen. La vigne existe depuis près de 5 000 ans. Les Grecs ont été les premiers à cultiver la vigne sauvage, alors appelée lambrusque. Ils ont aussi fait le plus grand développement de leurs vignobles du 13e au 19e siècle. Au Québec, l'arrivée des Français, sur les rives du Saint-Laurent, fut l'occasion de découvrir la vigne sauvage *Vitis riparia* (Dubois et Deshaies, 1997).

La vigne est une plante à graine (spermatophyte), ligneuse et grimpante grâce à ses vrilles. Elle appartient à la classe des dicotylédones, à l'ordre des Vitales et à la famille des Vitacées (Ampélidacées). On retrouve 16 genres dans cette famille, dont plusieurs sont

utilisés comme plantes ornementales (Mario, 1969). L'espèce de la vigne la plus connue est *Vitis vinifera* qui est utilisée pour la production du vin.

Les fruits de la vigne sont de petites baies (grains de raisin). Disposés en grappe, les rameaux fructifères portent à leur base des inflorescences d'environ une centaine de fleurs hermaphrodites et actinomorphes. Lors de la floraison, les vignes présentent des inflorescences indéfinies de type grappes composées. La floraison s'étale sur dix à quinze jours (Dubois et Deshaies, 1997).

1.2.2 Écologie de la vigne

Le climat est l'un des facteurs les plus contraignants de la viticulture. La vigne est une plante de plein soleil. La quantité de chaleur disponible durant la saison de croissance déterminera si les fruits de tel cultivar auront le temps de mûrir à un endroit donné (Mario, 1996). La température annuelle moyenne permettant la production de la vigne doit être au-dessus de 9°C. En plus de stimuler sa croissance et d'augmenter la qualité des fruits, le soleil assèche le feuillage après une pluie ou une rosée abondante ce qui diminue les dégâts associés aux maladies fongiques. Par contre, la vigne ne supporte pas les températures élevées couplées à l'humidité élevée que l'on retrouve dans les tropiques. Au Québec, les basses températures hivernales constituent le principal facteur environnemental limitant la productivité des vignobles puisque les racines et les bourgeons de *V. vinifiera* sont très sensibles aux gels et ne suportent mal les gels en dessous de –25°C (Dubois et Deshaies, 1997).

1.2.3 Cycle vital de la vigne

Pendant la vie active de la vigne, un cycle végétatif et un cycle reproducteur ont lieu en même temps au cours d'une année. Le cycle végétatif est caractérisé par un développement de rameaux et des feuilles, tandis que le cycle reproducteur est déterminé par un développement des inflorescences, puis des grappes végétatives. Voici les principales étapes de ce cycle:

- Pleurs: Les pleurs constituent la première manifestation externe du passage de la vie ralentie à la vie active des plants de vigne. Ils sont associés à la reprise de l'activité

du système racinaire. Les pleurs se caractérisent par un écoulement d'un liquide incolore des plaies fraîches. Au Québec, ils débutent généralement au mois de mai;

- Débourrement: Le débourrement est caractérisé par l'apparition des bourgeons qui donneront les rameaux et les feuilles. Pendant cette étape, la formation des fleurs se fait sur les futures grappes. Au Québec, le débourrement prend généralement place au début du mois de mai (Dubois et Deshaies, 1997). C'est la première phase réelle du cycle végétatif (figure 1.1 A);
- Floraison: Au cours de la floraison, les inflorescences (grappes) se développent sur les sarments en croissance. Au Québec, la floraison est de courte durée et elle commence vers la fin du mois de juin (Dubois et Deshaies, 1997) (figure 1.1 B);
- Nouaison: La nouaison est la phase qui suit la fécondation. Chaque fleur fécondée devient un grain de raisin. Cette étape débute à la mi-juillet (Dubois et Deshaies, 1997) (figure 1.1 C);
- Véraison: Durant la véraison, les grains augmentent de volume, de poids et la coloration des raisins passe du blanc au vert puis au jaune. Les raisins noirs vont du rouge clair en s'assombrissant graduellement. Cette étape apparaît entre la fin du mois de juillet et à la mi-août (Dubois et Deshaies, 1997) (figure 1.1 D);
- Maturité: Le stade de la maturité des raisins est déterminé à l'aide des critères particuliers définis par les œnologues. Ces derniers sont basés sur l'évolution des courbes de la teneur en sucre et en acides organiques. Le stade de maturité est fixé en fonction de la nature du vin recherché (figure 1.1 E);
- Vendange: La période des vendanges (septembre, octobre) varie en fonction des régions, des années et des cépages (figure 1.1 F);
- Chute des feuilles: Cette étape, qui survient vers la fin du mois d'octobre et au début du mois de novembre, marque la fin du cycle végétatif annuel et le début de la période de repos hivernale ou dormance, durant laquelle le vigneron réalise l'opération de la taille (Logette, 1995).

1.2.4 Importance de la viticulture au Canada

La viticulture est une composante de plus en plus importante de l'industrie agricole du Canada. La réputation des viticulteurs canadiens ne cesse de croître dans le monde, grâce à la

qualité de leurs vins. La forte demande de vins canadiens encourage la plantation de raisins *Vinifera*, et la production devrait continuer à augmenter dans les années à venir. La majeure partie des raisins canadiens sont cultivés dans quatre provinces : l'Ontario, la Colombie-Britannique, le Québec et la Nouvelle-Écosse. Au Canada, les deux grandes régions de culture du raisin à vin sont la péninsule de Niagara, en Ontario, et la vallée de l'Okanagan, en Colombie-Britannique. La vigne représente une des vingt cultures comestibles les plus cultivées au Canada, avec une production totale de plus de 11 millions de tonnes annuellement (Harlan, 1992). Le chiffre d'affaires des vignobles provient principalement de la vente du vin (87 %), de la dégustation (4,7%) et de la restauration (4,2 %) (Dubois et Deshaies, 1997). En 2005, les producteurs canadiens ont récolté les produits de 21 715 acres de vignes, comparativement aux 14 872 acres en 2002 (Statistique Canada, 2002). Les producteurs de l'Ontario ont récolté pour leur part les produits de 14 270 acres de vignes, surtout dans la péninsule de Niagara. Il s'agissait d'une superficie deux fois plus grande que les 6 755 acres de récolte en Colombie-Britannique (Statistique Canada, 2006). Les producteurs Québécois ont récolté seulement 460 acres de vignes et ceux de la Nouvelle-Écosse ont cultivé 230 acres (Statistique Canada, 2006).

Au Québec, le secteur viticole tient essentiellement sur la valeur ajoutée attribuée par l'embouteillage et le coupage des vins importés au vrac. On compte également un certain nombre de nouveaux petits viticulteurs ou producteurs éleveurs dans cette province. Depuis une quinzaine d'années, on observe un essor marqué des vignobles. En 2000, il y a avait 122 vignobles en activité au Québec d'une superficie totale de 502.26 ha soit environ 5 ha par vignoble (Agriculture et Agroalimentaire Canada, 2003).

Les vignobles constituent une valeur culturelle. Le vignoble québécois, totalise environ 502.26 ha de vignes qui produisent 350 000 bouteilles de vin par an (Statistique Canada, 2006). Chaque vignoble procède à la vinification de ses propres raisins, ce qui permet une plus grande variété de vins. La région de Yamaska en embouteille près de 55 % de la production totale du Québec, tandis que celle du Richelieu produit 20%, suivi par l'Estrie avec 19 % (Dubois et Deshaies, 1997). Les vignobles se repartissent en sept régions: la région de Lanaudière avec 10 vignobles, celle de Laurentides avec 18 vignobles, celle de Laval avec

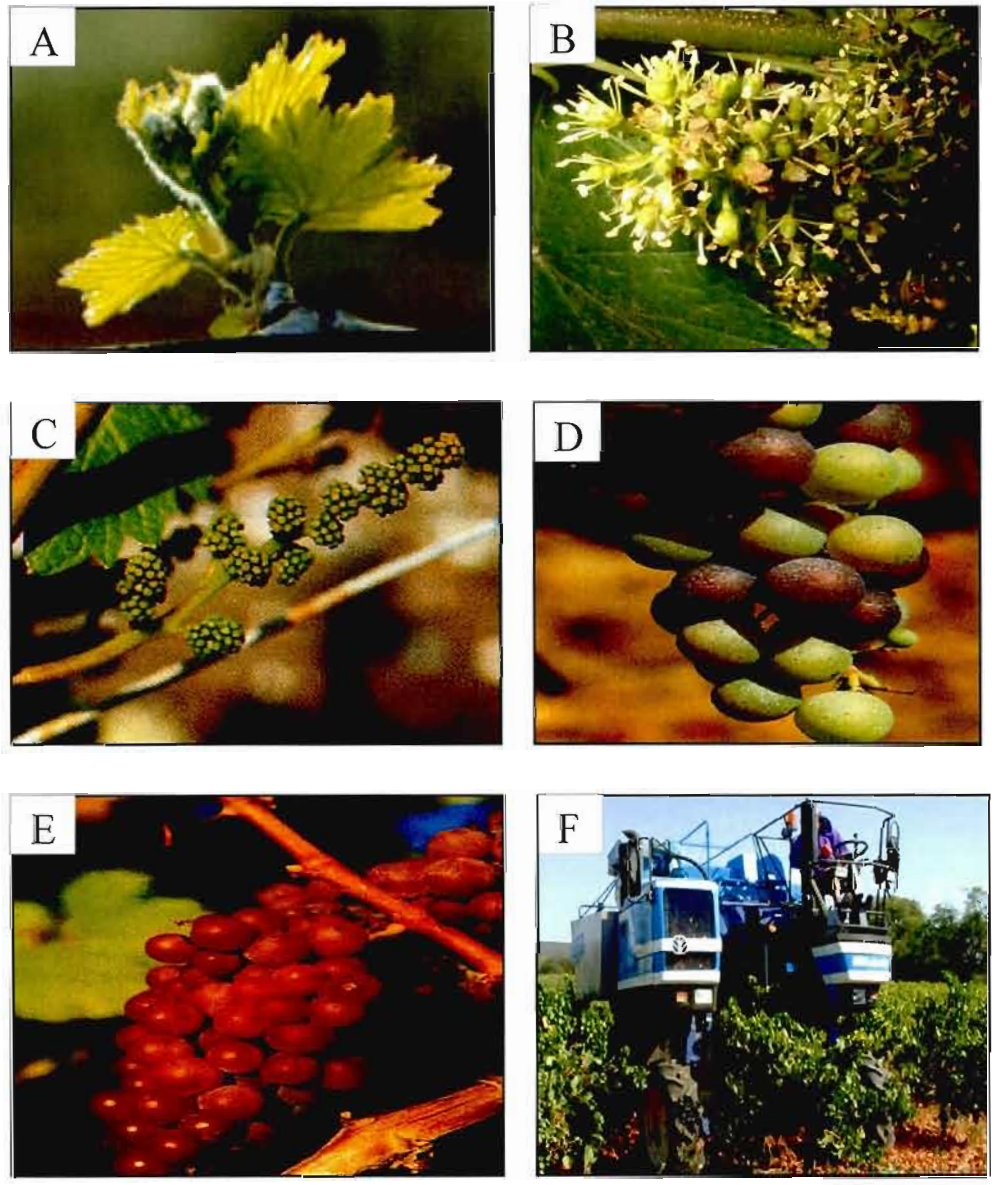


Figure 1.1. Les principales étapes des cycles végétatif et reproducteur de la vigne *Vitis vinifera*. A – débourrement; B – floraison; C – nouaison; D – véraison; E - maturité; F – vendange. (Source : www.vignobletiquette.com/info/trvig.htm).

2 vignobles, celle de Mauricie avec 4 vignobles, celle de Montérégie avec 83 vignobles et la région d'Outaouais, Saguenay-Lac-Saint-Jean avec quatre vignobles (Zerouala., 2006).

Les vignobles peuvent abriter des espèces d'arthropodes pouvant causer des dommages économiques nécessitant des interventions phytosanitaires. La simple présence d'un ravageur dans une culture ne signifie pas nécessairement qu'il faille intervenir. Cependant, la variation observée d'une année à l'autre au niveau de la gravité des maladies et de l'abondance des populations d'insectes ravageurs peut avoir des répercussions dévastatrices sur la production des vignobles.

1.2.5 Insectes ravageurs de la vigne au Québec

Si la culture de la vigne demande autant d'attention, c'est que cette plante semble être très susceptible à plusieurs maladies et à l'invasion de nombreux ravageurs. Plusieurs insectes peuvent causer d'importants dommages qui nécessitent des interventions phytosanitaires. En plus de la punaise terne, on retrouve, notamment, la tordeuse de la vigne (*Endopiza viteana* Clemens), un ravageur important dans l'état de New York et dans la province de l'Ontario (Hoffman et Dennehy, 1987). Les larves de cet insecte sont de petite taille et elles creusent des cavités à l'intérieur du fruit et peuvent endommager plusieurs baies dans une même grappe (Lasnier *et al.*, 2000). Selon les mêmes auteurs la cicadelle du raisin (*Erythroneura comes* Say) est un insecte qui envahit les vignobles et cause des dommages de façon sporadique. Les nymphes et les adultes piquent les cellules des feuilles pour en extraire leur contenu, ce qui entraîne le blanchiment des cellules dans ces zones. Quoique cette espèce n'hiverne pas au Québec, elle se déplace à l'aide des courants d'air en provenance des états du sud des États-Unis (Funt *et al.*, 2002). Le phylloxera de la vigne *(Daktulosphaira vitifoliae* Fitch*)* fait partie des ravageurs les plus destructifs des raisins cultivés (*V. vinifera*) dans le monde entier (Omer *et al.*, 1999). Les adultes s'attaquent au système racinaire des plants de vigne ce qui peut provoquer la mort. Les nymphes forment des galles et migrent vers les jeunes tissus foliaires et les zones

de croissance pour établir de nouvelles colonies (Granett *et al.*, 2001). Finalement, certaines vignes sont affectées par des attaques par le charançon de la vigne (*Ampeloglypter* A*ter*). Il s'agit d'un ravageur très commun des vignes mais les dommages qu'il cause sont généralement mineurs sur la production des fruits (Lasnier *et al.*, 2000).

1.3 Punaise terne

1.3.1 Aspects taxonomiques

La punaise terne, *L. lineolaris*, appartient à l'ordre des hémiptères, au sous-ordre des hétéroptères et à la famille des Miridés qui comprend près de 10 000 espèces (Borror *et al.*, 1989). La première mention du ravageur en Amérique a été rapportée par Palisot de Beauvois au début du 19e siècle, qui avait décrit l'espèce dans son ouvrage sur les insectes du nouveau continent et lui avait donné le nom de *Coreus lineolaris* (Crosby et Leonard, 1914).

1.3.2 Biologie de l'insecte

La punaise terne hiverne sous la forme adulte dans des endroits abrités dans la litière constituée de feuilles, de débris de plantes, en bordure de haies et dans les amas de broussailles. La première génération d'adultes apparaît environ deux mois après que les adultes hivernant redeviennent actifs. Les larves sont présentes de la mi-juillet jusqu'à la fin de septembre et la deuxième génération d'adultes apparaît à la mi-août (Richard et Boivin., 1994).

La punaise terne est un insecte hétérométabole puisqu'elle subit une métamorphose incomplète. L'adulte possède des ailes de structure hétérogène (hémélytre) et mesure environ 6 mm de longueur (figure 1.2 A). Il se distingue par un trait submédian oblique sur le devant de la tête, des plages latérales pâles ou rougeâtre sur le dorsum du thorax médian et des soies denses et jaunes sur les ailes antérieures (Richard et Boivin., 1994; Chaput et Uyenaka, 1998). À la lumière des observations effectuées sur différentes cultures, la hauteur du vol de la majorité des adultes de *L. lineolaris* en fraisier ne dépasse pas un mètre au-dessus du couvert végétal (Rancourt *et al.*, 2003). La femelle, qui vit plus longtemps que le mâle,

(Khattat et Stewart, 1977), peut déposer de 1 à 27 œufs par ponte (Ridgway et Gyrisco, 1960). Les femelles meurent généralement peu après la ponte (Kelton, 1982). La ponte débute lorsque la température atteint ou dépasse 20°C généralement au début ou à la mi-mai et s'échelonne sur une période de 10 à 31 jours. Les œufs fraîchement pondus sont ovales et translucides et jaunissent par la suite. Ils sont introduits dans les tiges, les pétioles ou les nervures principales des feuilles. Ils peuvent également être pondus dans les boutons ou insérés parmi les fleurons d'un capitule (Cermak et Walker, 1992).

L'insecte compte cinq stades nymphals d'une durée de 3 à 4 semaines (Cermak et Walker, 1992) (figure 1.2 B). Les nymphes, de couleur verte, n'ont pas d'ailes et se déplacent rapidement si elles sont perturbées. Bien qu'elles ressemblent à des pucerons quand elles sont très jeunes, la rapidité de leurs déplacements et l'absence des deux appendices à l'extrémité postérieure permettent de les distinguer facilement des pucerons. Les crêtes de populations chez les adultes se produisent généralement au début des mois de juillet, août et septembre (Ridgway et Gyrisco, 1960). Dans le sud de Québec, où les cultures fruitières sont concentrées, on peut observer jusqu'à trois générations par année (Stewart et Khoury, 1976).

La notion de degré-jour repose sur le principe qu'à une température inférieure à un certain seuil les insectes, comme la punaise terne, sont inactives ou ne se développent plus. Ainsi, il faut un nombre précis de jours où la température est supérieure au seuil pour observer une activité de l'insecte. Dans le cas de la punaise terne, il s'agit de températures suffisamment chaudes pour permettre la ponte des premiers œufs et la sortie des nymphes. Pour cet insecte, le seuil de température a été estimé à 12,4°C et le nombre de degrés-jours nécessaires pour que la première éclosion se produise correspond à une accumulation totale de 35 à 40 degrés-jours après le 1er avril (Kouassi *et al.*, 2003).

1.3.3 Dommages aux cultures

La punaise terne possède des pièces buccales de types piqueur-suceur qui causent des dégâts importance aux plantes hôtes. Cet insecte peut se nourrir sur plus de 358 espèces de plantes, incluant 130 espèces végétales d'importance économique (Young, 1986). La majorité

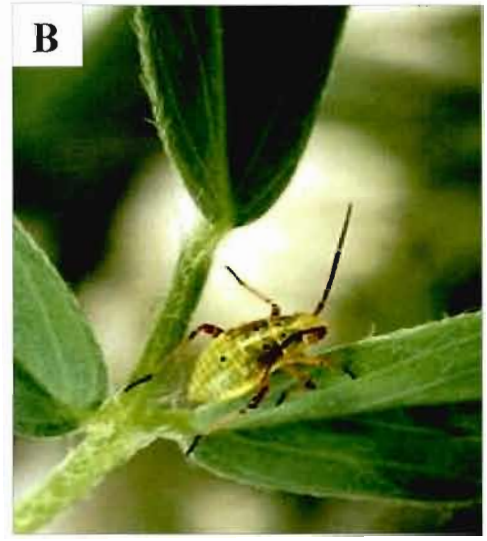


Figure 1.2. Différents stades de développement de la punaise terne *Lygus lineolaris*. A – Adulte de la punaise terne (source: http://www.ars.usda.gov/.../photos/dec97/k7866-1i.jpg); B – nymphe de la punaise terne *Lygus lineolaris* (source: creatures.ifas.ufl.edu/trees/tarnished03.htm).

des plantes hôtes appartiennent aux sous-classes des Rosacées et des Astéracées (Wayne, 1989). La majorité des dégâts provient du fait que la punaise terne est un insecte suceur qui, lorsqu'il se nourrit de la sève des plantes hôtes, sécrète des enzymes digestives dans les tissus. Les sécrétions causent des nécroses et laisse apparaître des lésions aux tissus affectés. Normalement, ces symptômes apparaissent quelques semaines après les premières attaquent (Wayne, 1989).

Dans les vergers d'arbres fruitiers, les dégâts causés par la punaise terne se manifestent de deux façons, soit par la chute prématurée des boutons floraux lorsque l'attaque survient aux stades de débourrement et prébouton rose, soit par des malformations plus ou moins prononcées des fruits lorsque l'attaque a lieu du stade de bouton rose jusqu'à la chute des pétales (Richard et Boivin., 1994). En se nourrissant, les adultes de *L. lineolaris* piquent les jeunes bourgeons et les fleurs du pommier ce qui occasionne une exsudation et par la suite le dessèchement et la mort du bourgeon (Boivin et Stewart, 1982). En effet, le prélèvement d'une quantité importante de liquides du végétal est un facteur qui affecte la proportion d'hormones ou auxines produites par les plantes responsables de son développement. Dans la culture de céleri, les piqûres des punaises sur les parties feuillées du pétiole entraînent la nécrose des folioles et de la base des feuilles, et dans les cas extrêmes, la destruction du pétiole entier à la suite d'invasions par des organismes secondaires tels que les bactéries (Richard et Boivin., 1994). Dans les fraisières, les adultes et les nymphes de la punaise terne se nourrissent des akènes (graines) ou du tissu vasculaire sous-jacent, ainsi les graines attaquées avortent et cessent de produire l'hormone de croissance (Cermak et Walker, 1992). En l'absence de cette hormone, les tissus entourant la graine cessent de croître et le fruit ne peut se former normalement. Il en résulte une agglomération de graines à la partie apicale du fruit ou une déformation de ce dernier.

1.3.4 Contrôle des populations de la punaise terne

Afin de réduire les risques d'infestation et les pertes associées à la punaise terne, le développement de stratégies permettant le contrôle des populations de ce ravageur prend toute son importance. Plusieurs méthodes ont été considérées afin de lutter contre les populations de ce ravageur.

1.3.4.1 Méthodes chimiques

Avant l'avènement des insecticides de synthèse, la punaise terne constituait une véritable énigme pour les entomologistes impliqués dans la protection des cultures (Crosby et Leonard, 1914). L'arrivée de la lutte chimique a résolu en partie le problème. Cependant, la grande mobilité de ce ravageur a incité à optimiser les interventions contre ce dernier par un suivi des populations afin de réduire les traitements contre les ravageurs. Parmi les insecticides disponibles pour contrôler ces populations, les pyréthrinoïdes sont très efficaces contre la punaise terne dans la culture du céleri (Richard et Boivin., 1994). En effet, on a démontré que les résidus de cyperméthrine restent toxiques pour les punaises pendant 7 à 10 jours. De plus, l'utilisation étendue de l'insecticide Malathion (Malathion 500^{E}) sur le coton a entraîné une diminution significative des populations nymphales de la punaise terne, *L. lineolaris* (Cheng *et al.*, 2004). Sur les cultures légumières, l'application du diméthoate (Cygon 480 AG), de l'endosulfan (Thiodan 4 EC) et de plusieurs pyréthrines de synthèse comme la cyhalothrin-λ (Matador®) a entraîné une diminution significative des populations nymphales de la punaise terne (Chaput et Uyenaka, 1998).

1.3.4.2 Méthodes physiques

La lutte physique en phytoprotection regroupe toutes les techniques de lutte dont le mode d'action primaire ne fait intervenir aucun processus biologique, biochimique ou toxicologique (Vincent et Panneton., 2001). Il existe deux méthodes en lutte physique: les méthodes actives et les méthodes passives. Les méthodes actives utilisent de l'énergie au moment de l'application pour détruire, blesser ou stresser les ennemis des cultures, ou tout simplement pour les retirer du milieu. Ces méthodes n'agissent qu'au moment de l'application et ne présentent pratiquement aucune rémanence. Les méthodes passives procèdent par une modification du milieu et possèdent un caractère plus durable (Vincent et Panneton, 2001). L'efficacité d'un aspirateur pour réduire des populations de *L. lineolaris* dans un champ de fraises, a été évaluée sur une période de trois ans. Une réduction significative des populations de la punaise terne de 75 % pour les adultes et de 50 % pour les nymphes a été observée (Rancourt *et al.*, 2003). Il a également été démontré que le battage des inflorescences est une méthode d'échantillonnage très efficace pour réduire la densité larvaire de la punaise terne dans les fraisières (Rancourt *et al.*, 2000).

1.3.4.3 Méthodes biologiques

Actuellement, il n'existe aucune méthode biologique qui soit totalement efficace afin de maintenir les populations de la punaise terne sous le seuil acceptable. La plupart des méthodes biologiques ne font que réduire les populations de ravageurs. Plusieurs espèces prédatrices et parasitoïdes indigènes des œufs ou des nymphes de *L. lineolaris* sont connus, tels que les guêpes *Peristenus pallipes* (Curtis) et *P. pseudopallipes* (Loan) (Carignan *et al.*, 1995). Depuis peu, la recherche sur les microchampignons entomopathogènes occupent une place privilégiée parmi les agents microbiens de lutte biologique. En effet, leur mode d'action assez particulier, par ingestion ou par contact, permet de contrôler efficacement tous les stades du ravageur (Vey *et al.*, 1982) .

En ce qui concerne ce projet, l'emphase est mise sur l'utilisation du microchampignon entomopathogène *B. bassiana* pour lutter contre les populations de la punaise terne dans la culture de la vigne.

1.4 Champignon *Beauveria bassiana*

1.4.1 Aspects taxonomiques

Le champignon *B. bassiana* est un mycète filamenteux naturel initialement décrit par Beauverie en 1911 sous le nom de *Botrytis bassiana*. Le genre a été établi par Veullemin (1912) et appartient à la classe des deuteromycètes et à l'ordre des hyphomycètes. En effet, on regroupe sous le nom des hyphomycètes plus de 10 000 espèces appartenant à plus de 1 800 genres (Subramanian, 1983).

L'identification des hyphomycètes est principalement basée sur la morphologie, l'arrangement, la pigmentation et la texture externe des conidies. Du point de vue systématique, les deux systèmes de classification des hyphomycètes sont celui de Saccardo établit en 1886 et qui est basé sur la morphologie et la pigmentation des conidies et conidiophores; et celui de Hughes décrite en 1953 qui s'appuie sur le développement et la morphologie considérant la pigmentation et la septation des conidies comme des caractères secondaires. Selon Talbot (1971), les espèces sont essentiellement instables et sont définies de diverses manières selon leur intérêt pour différents aspects de leur variation. D'ailleurs,

des chercheurs sont intéressés par la morphologique des mycètes, d'autres par la variation génétique. En effet, selon cet auteur, les caractéristiques des hyphomycètes peuvent varier en fonction des conditions de croissance et de maturité. Ainsi, Talbot (1971) a donc reclassé toutes les espèces du genre *Tolypocladuim* comme des synonymes de *Beauveria*. Cependant, les profiles d'utilisation de 49 hydrates de carbone en se basant sur les tests biochimiques API 50 CH, ont été utilisés par Todorova *et al.*, (1998) afin d'identifier et distinguer 75 souches des genres *Beauveria* et *Tolypocladium*. Ces tests ont montré que *Beauveria* et *Tolypocladium* sont deux genres distincts. Plusieurs études basées sur des techniques de biologie moléculaire permettent de classer les isolats fongiques de leurs profils génétiques. Des recherches ont été réalisées afin de mettre en évidence les variations génétiques entre les isolats de *B. bassiana*. Pfeifer et Khachatourians (1993) ainsi que Viaud *et al.* (1996) ont démontré des différences significatives entre les ADN des différents isolats. Une analyse phylogénétique a révélé que l'espèce anamorphe de *B. bassiana* était plus proche des pyrénomycètes que des plectomycètes de type ascomycètes. Ceci était inattendu d'après les comparaisons antérieures des réarrangements de gènes chez les champignons filamenteux (Hegedus *et al.*, 1998). Une étude récente a montré des variations des profiles de l'ADN plamidiques de différents isolats de *B. bassiana* (Sabbahi, Guertin et Merzouki, communication personnelle).

1.4.2 Morphologie

Le champignon *B. bassiana* est une espèce fréquemment retrouvée dans les sols du monde entier. Ce champignon forme des hyphes transparents et septaux de 3,5 µm de diamètre (figure 1.3 A). Cette espèce produit des colonies cotonneuses de couleur blanchâtre à jaunâtre. Le genre est caractérisé par un conidiophore à base renflée et à extrémité terminale en zigzag formant de façon sympodiale de petites spores unicellulaires (figure 1.3 B). Le conidiophore continue de croître après avoir donné naissance aux spores et chaque spore laisse une cicatrice en relief (aspect denticulé). Les bouquets de conidiospores donnent un aspect en "fausse tête". On distingue deux types de spores selon la présence ou l'absence d'oxygène: les conidiospores formées en présence d'air et les blastospores en condition d'anaérobie. Les conidiospores prennent une forme sphérique ou ovale tandis que les

blastospores sont uniquement ovales. Les deux types de spores peuvent avoir le même effet pathogène sur les insectes infectés (Weiser, 1972 et Lipa, 1975).

1.4.3 Mode d'action

Le champignon *B. bassiana* infecte l'insecte par contact et n'a pas besoin d'être ingéré par son hôte pour causer l'infection. En général, le processus d'infection de *B. bassiana* est divisé en quatre phases distinctes soit les phases d'adhésion, de germination, de différentiation et de pénétration.

La phase d'adhésion constitue la première étape du processus d'infection. Elle se déclenche par un mécanisme de reconnaissance et de compatibilité des conidies avec le tégument de l'insecte. Ce phénomène peut être déclenché par des polysaccharides fongiques extra-cellulaires, des lectines et des enzymes extracellulaires (Boucias et Pendland, 1991).

La phase de germination dépend des conditions environnementales et également de la physiologie de l'hôte (composition biochimique de la cuticule) qui peut favoriser ou inhiber la germination (Ferron, *et al.,* 1991). Il a été démontré que la germination des spores était affectée par des lipides épicuticulaires et les acides gras (Boucias et Pendland, 1991).

La phase de différentiation est une phase importante dans le processus d'infection. Au cours de cette phase, la spore germée produit une structure appressoriale, qui sert de point d'ancrage et de ramollissement de la cuticule ce qui a pour effet de favoriser la pénétration de la spore. La production des appressorias est dépendante de la valeur nutritive de la cuticule de l'hôte (Magalhaes *et al.,* 1989).

Finalement, la phase de pénétration consiste à la pénétration du microchampignon dans l'hôte à travers les orifices naturels, la cuticule ou par ingestion. En général, la cuticule de l'insecte est une barrière structurellement et chimiquement complexe pour la pénétration du champignon. L'épicuticule contient une protéine stable au phénol et est couverte d'une couche cireuse contenant des acides gras, des lipides et des stérols (Andersen, 1979). La procuticule contient de nombreuses fibrilles de chitine enfouies dans une matrice protéinique. Celle-ci peut représenter jusqu'à 70% du poids sec de la cuticule. Il n'est pas surprenant, vu

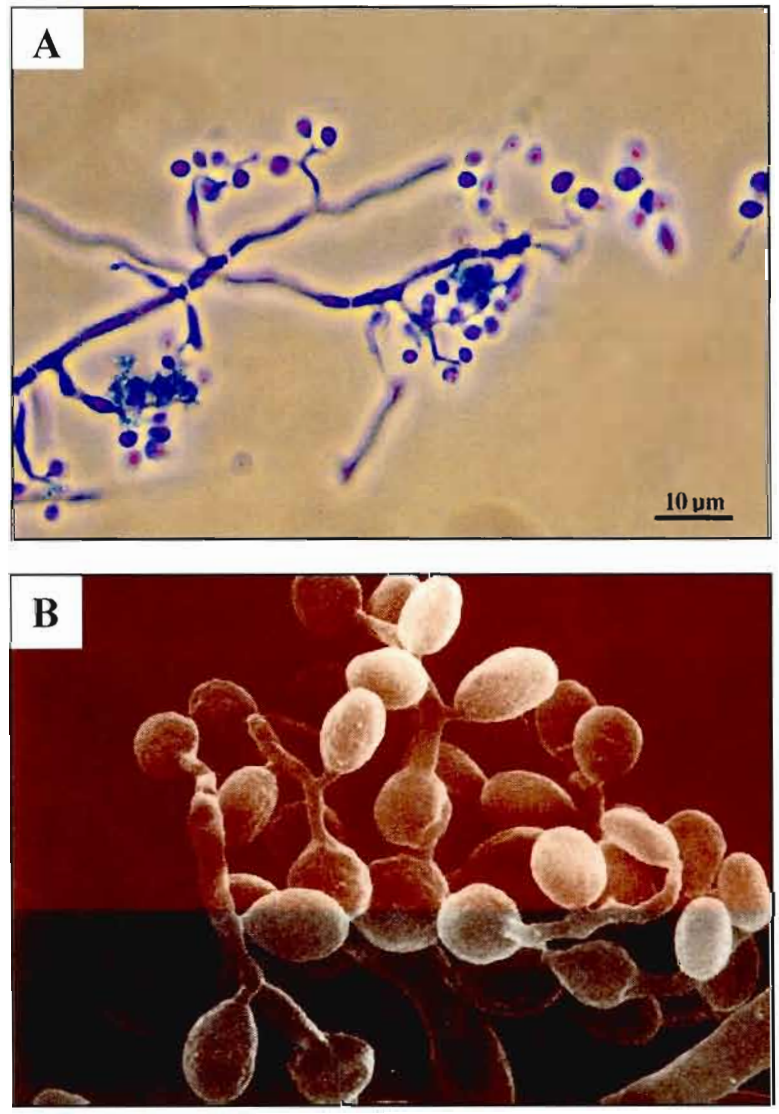


Figure 1.3. Morphologie de *Beuveria bassiana.* A – Hyphes et mycélium de *Beauveria bassiana* (Par David Ellis, source : http:// www.mycology.adelaide.edu.au/.../beauveria1.gif); B – Spores de *B. bassiana :* Unités infectieuses (Par John Bisselt Source : http:// www.vertigo.uqam.ca/.../*beauveria_bassiana*_1.jpg.).

la complexité de la cuticule, que les champignons entomopathogènes aient besoin d'une série d'enzymes hydrolytiques pour assurer la pénétration cuticulaire et fournis la nourriture nécessaire à la croissance. On connaît surtout la protéase. Cette enzyme a une forte activité sur la cuticule des insectes et est la protéine prédominante produite pendant la formation de l'appressorium (St Léger *et al.*, 1993).

Lorsque l'insecte meurt, le champignon sécrète un antibiotique, l'oosporine, qui lui permet de surmonter la compétition des bactéries intestinales. Il s'ensuit une momification du cadavre transformé en sclérote, phase nommée saprophyte.

1.4.4 Persistance de *Beauveria bassiana* en conditions environnementales

La description et la quantification de la persistance environnementale des entomopathogènes ainsi que les causes de la variation de cette persistance ont été étudiées pendant plusieurs décennies. La survie des conidies de *B. bassiana* diminue dans le sol dans les deux mois suivants leur application au champ (Groden et Lockwood, 1991). Alors que dans la littérature, il est rapporté que les conidies de *B. bassiana* sur les feuilles ont un temps de survie court ne dépassant pas une semaine (Daoust et Pereira, 1986a). En effet, les données d'une expérience réalisée dans un champ de coton indiquent que les conidies de *B. bassiana* peuvent persister et affecter *L. lineolaris* durant 24 à 96 heures (Steinkraus et Tugwell, 1997). Par contre, une étude a démontré que l'isolat MK 2001 de *B. bassiana* peut persister et infecter les adultes de *L. lineolaris* jusqu'à 26 jours en champs (Kouassi *et al.*, 2002). De façon générale, la viabilité des conidies de plusieurs espèces fongiques est fortement affectée par des facteurs biotiques et abiotiques, ce qui entraîne une distribution spatiale sporadique lors des applications au champ. Pour compenser cette mortalité, beaucoup d'espèces produisent de grandes quantités de spores contagieuses et/ou forment des structures adaptatives modifiées telles que des hyphes résistants, des chlamydospores, des spores de repos, de la sclérotite et des conidies macrocycliques, afin de survivre (Pendland, 1982).

1.4.5 Facteurs affectant l'efficacité de *B. bassiana*

Le potentiel infectieux des champignons entomopathogènes comme agents de lutte biologique dépend de leurs propriétés physiologiques de la population de l'hôte et des conditions du milieu (Ferron *et al.*, 1991).

1.4.5.1 Facteurs liés aux pathogènes

La virulence et la spécificité de l'hôte sont deux éléments essentiels dans le choix d'un bon candidat à la lutte biologique. Il a été démontré que les insectes d'une même population révèlent une sensibilité qui diffère selon les isolats de *B. bassiana* (Todorova *et al.*, 1994). À une échelle industrielle, les épreuves biologiques standardisés de laboratoire sont essentielles afin de vérifier le potentiel insecticide des préparations produites et de suivre leur stabilité de conservation (Ferron *et al.*, 1991).

1.4.5.2 Facteurs dépendant de l'hôte

Il est maintenant reconnu que tous les stades de développement de l'insecte, de l'oeuf jusqu'à l'adulte, peuvent être sensibles à l'infection fongique. L'épizootie fongique survient généralement à de fortes densités de la population hôte favorisant ainsi la probabilité de contact entre le pathogène et l'hôte, de même qu'entre les insectes infectés et non infectés (Ferron *et al.*, 1991).

1.4.5.3 Facteurs de l'environnement

L'efficacité du *B. bassiana* contre les insectes est souvent influencée par des conditions environnementales. Les radiations ultraviolettes sont le principal facteur abiotique limitant la viabilité de conidies sur le feuillage. L'exposition aux rayons ultraviolets peut influencer de manière significative la mortalité des larves d'*Ostrinia nubilalis* (ravageur de maïs) par des isolats de *B. bassiana* en interférant avec leurs propriétés physiologiques (Cagani et Svercel, 2001). La lumière du soleil d'une longueur d'onde de 290 à 400 nm affecte la persistance des conidies sur le feuillage et peut directement affecter la composition génétique de champignon (McCoy *et al.*, 1990). Malgré son effet nocif sur la persistance des conidies, la lumière peut stimuler certaines étapes du cycle évolutif des champignons entomopathogènes cultivés *in vitro* ou *in vivo* (Silvy et Riba, 1989). De plus, afin d'assurer une protection contre ces

rayons, les coelomycètes, tels que le genre *Aschersonia*, produisent des cellules conidiogènes dans des pycnides fortement pigmentés (McCoy *et al.*, 1990).

La température est un autre facteur important qui peut affecter le taux de germination, la croissance, la sporulation et la survie des hyphomycètes entomopathogènes. Hastuti et ses collaborateurs (1999) ont démontré que 100 % des larves de *Paropsis charybdis* (Coleoptera: Chrysomelidae) sont tuées par *B. bassiana* après une incubation de 21 jours à 35°C, alors que 93 % des larves sont mortes à une température d'incubation de 15°C. La température optimale qui assure la survie d'un champignon diffèrent selon les taxa. Ainsi, les spores des entomophthorales semblent être plus sensibles que les spores de la plupart des deutéromycètes. Généralement, les températures au-dessus de 35°C empêchent la croissance et le développement des mycètes entomopathogènes. Les conidies de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* ne peuvent pas survivre plus que 15 minutes à 40°C (McCoy *et al.*, 1990).

L'humidité affecte aussi la persistance et la survie des champignons entomopathogènes. La plupart de ces mycètes exigent au moins 95 % de l'humidité relative à la surface de l'insecte afin de germer (Hallsworth et Magan, 1999). L'humidité relativement élevée dans les endroits abrités fournit un micro-environnement favorable pour le développement des spores (Liu *et al.*, 2003b). Les effets de la température et de l'humidité sont intimement reliés d'où la tolérance de quelques mycètes à des températures extrêmes lorsqu'il y a plus d'humidité ou lorsque la condensation se produit aisément et la perte d'eau est réduite au minimum. Le vent peut aussi modifier de manière significative l'humidité microclimatique et considérablement influencer le comportement fongique (McCoy *et al.*, 1990).

1.4.5.4 Effet du sol

Le sol constitue un réservoir naturel pour les insectes infectés par des mycètes fongiques sur le feuillage qui plus tard tombent sur le sol (Keller et Zimmermann, 1989). En effet, les mycètes dans le sol sont protégés contre la dessiccation, le rayonnement ultraviolet et les températures extrêmes (McCoy *et al.*, 1990). En général, la simple présence des microflores dans le sol peut influencer l'efficacité des hyphomycètes (Groden et Lockwood, 1991).

1.4.6 Avantages de l'utilisation de *B. bassiana*

L'exploitation directe d'organismes vivants afin d'éliminer les ravageurs nécessite une compréhension des mécanismes d'interaction entre l'agent entomopathogène et l'insecte nuisible visé. En effet, la pathogénicité de l'inoculum sporal et la spécificité de l'hôte sont deux paramètres importants dans le choix de l'isolat fongique. Le microchampignon *B. bassiana* s'avère être un agent de lutte intéressant puisqu'il possède l'avantage, par rapport aux autres microorganismes pathogènes, d'infecter l'hôte sans être ingéré. Ce qui peut rendre les différents stades de développement de l'hôte sensibles à ce biopesticide. Cette caractéristique fait aussi en sorte que ce mycète peut être efficace contre les insectes piqueurs-suceurs qui sont relativement peut exposés à l'infection par des spores déposées sur le feuillage des plantes (Wraight et Roberts, 1987). Les espèces de champignon du genre *Beauveria* ont un intérêt agronomique considérable dans la lutte biologique contre les ravageurs de cultures et font donc l'objet d'études de plus en plus poussées. En outre, la persistance des conidies dans le sol peut assurer un contrôle à long terme en provoquant la mycose sur les générations suivantes de l'hôte (Gaugler et Lashomb, 1989). Au niveau de la biosécurité, plusieurs études ont prouvé que ce mycète n'est pas dangereux pour les vertébrés (Faria et Wraight, 2001).

Le champignon *B. bassiana*, comme la plupart des microchampignons entomopathogènes, peut être produit en masse et peut être appliqué avec les méthodes conventionnelles (Faria et Wraight, 2001). La production de ce champignon entomopathogène peut s'effectuer de diverses façons: une méthode simple consiste à faire croître ce champignon dans des sacs de plastique en utilisant comme milieu nutritif du riz stérile, du blé ou autres céréales. La croissance peut également se faire en fermentation liquide sur des milieux bien définis ou en fermentation semi-solide. Actuellement, plusieurs préparations à base de champignons entomopathogènes sont commercialisées. En France, deux insecticides biologiques à base fongique, l'Ostrinil (composé de spores de *B. bassiana* et destiné à la lutte contre la pyrale du maïs) et le Bétel (préparation composée de *B. brongniartii* et qui permet de lutter contre le ver blanc de la canne à sucre), ont été récemment homologués.

1.4.7 Utilisation de *B. bassiana* contre les ravageurs

Contrairement aux insecticides chimiques qui tuent rapidement les insectes, la plupart des mycètes entomopathogènes, mettent quelques jours avant de tuer leur hôte. Selon Liu *et al.*, (2003b), une période minimum d'incubation de six jours après un traitement fongique est nécessaire afin d'évaluer l'efficacité de *B. bassiana* sur l'insecte hôte. Plusieurs études ont montré que le *B. bassiana* peut infecter une grande variété d'insectes (Goettel, 1992). Chez l'ordre des lépidoptères, la virulence de 23 isolats de *B. bassiana* a été testée en laboratoire contre les larves du troisième stade de la tordeuse à bandes obliques, *Choristoneura rosaceana* (Tortricidae) (Todorova *et al.*, 2002a). Tous les isolats ont causé plus de 66 % de mortalité des larves et des pupes après 16 jours. Une réduction du comportement d'alimentation a été observée 3 jours après l'inoculation des larves de deuxième stade de *la* pyrale de maïs *Chilo partellus (*Pyralidae) par *B. bassiana* (Tadela et Pringle, 2003). Cette réduction a été attribuée à la production de substances toxiques par les mycètes et/ou la rupture mécanique de l'intégrité structurale de l'insecte par la croissance des hyphes. Des travaux effectués sur des espèces appartenant à l'ordre des coléoptères ont démontré que *B. bassiana* peut entraîner une mortalité élevée contre la coccinelle maculée, *Coleomegilla maculata* (Coccinellidae) (Todorova *et al.*, 2002b ; Todorova *et al.*, 1996). Également, l'utilisation de certains isolats de *B. bassiana* contre le scarabée argentin, *Cyclocephala signaticollis* (Scarabeidae), peut provoquer une mortalité de 70 % de larves du troisième stade après 16 jours (Cornia et Beatriz , 2004). D'autre part, Todorova *et al.*, (1994) ont observé, en laboratoire, l'effet pathogène de certains isolats de *B. bassiana* contre le doryphore de la pomme de terre (*Leptinotarsa decemlineata*) (Chrysomelidae). Chez les homoptères, l'effet pathogène de *B. bassiana* a été évalué au champ contre le puceron russe du blé *Diuraphis noxia* (Aphidae) (Hatting *et al.*, 2004). Ces chercheurs ont démontré que les applications de ce mycète, à un taux de 5 x 10^{13} conidies/ha, ont provoqué une mortalité d'insectes de 75 % par rapport au témoin. Les criquets, appartenant à l'ordre des orthoptères, sont les principaux ravageurs causant des dégâts aux cultures et aux pâturages. Actuellement, les deux genres d'hyphomycètes reconnus pour leur effet sur ces insectes sont *Metarhizium* et *Beauveria*. Dans les régions tempérées, il existe des souches efficaces infectant les criquets. La plupart de ces champignons ne provoquent pas de symptômes visibles avant la mort. Les criquets atteints perdent l'appétit et deviennent de moins en moins actifs et leur couleur

devient parfois rougeâtre (Greathead *et al.*, 1994). Au Brésil, l'effet pathogène de *B. bassiana* s'est avéré efficace contre le réduvidé, *Triatoma infestant* (Hemiptera : Reduviidae) (Luz *et al.*, 1989). L'application de *B. bassiana* à des concentrations de 1 x 10^8 et 1 x 10^9 conidies/ml sur les branches du pin blanc, *Picea abies* a entrainé des mortalités de 75 % des adultes de charançon du pin blanc, *Pissodes strobi* (Trudel *et al.*, 2007). Plus récemment, des études ont démontrées le potentiel insecticide de certains isolats du champignons entomopathoène *B. bassiana* contre les principaux ravageurs des fraiseraies au Québec, dont la punaise terne (Sabbahi *et al.*, 2008a,b).

1.5 La punaise terne et la vigne

Dans l'État de New York, la punaise *Taedia scrupea* (Miridae), est un ravageur sporadique de la vigne qui se nourrit sur les grappes entre le débourrement et la floraison (Martinson *et al.*, 1998). Les nymphes se nourrissent sur les jeunes pousses et sur les jeunes grappes en formation, causant ainsi une croissance réduite de la plante et de la grappe. Chaque nymphe de *T. scrupea* a été associée à une perte de 0.18 kg de raisin, suggérant qu'un nombre moyen aussi bas que 0,5 nymphe par cep peut provoquer des dommages économiques ce qui nécessite l'application d'insecticides.

En Suisse, la punaise verte, *Lygus spinolaï* (Meyer-Duer), cause des dégâts en vignobles (Caccia *et al.*, 1988). Seules les nymphes semblent provoquer des dégâts sur les nouvelles pousses de la vigne avec une préférence pour les jeunes feuilles qui ne sont pas encore ouvertes. Les principaux sites d'attaques apparaissent sur les feuilles et les grappes. L'axe de la pousse est plus rarement attaqué. Dans les cas graves, une coulure plus ou moins importante se manifeste et il ne reste que quelques baies sur la grappe.

Dans la culture de la vigne au Québec, le statut de la punaise terne en tant que ravageur des vignes n'est pas encore établi (Vincent *et al.*, 2002). Par contre, plusieurs auteurs ont indiqué que *L. lineolaris* se nourrit au détriment de la vigne (Crosby et Leonard, 1914 ; Stewart et Khoury, 1976 ; Young, 1986). Ainsi, la punaise *Taedia scrupeus* pourrait causer des dommages qui pourraient entraîner une diminution de rendement sachant qu'une seule nymphe par pied de vigne peut réduire le rendement de 0,18 kg de raisins par saison

(Martinson *et al.*, 1998). Vincent *et al.*, (2002) on déjà observé un seuil de 13 nymphes par 100 grappes dans un champ expérimental de vignes.

Le disque nectarifère qui entoure la base de l'ovaire de la feuille de la vigne est formé de cinq nectaires. Ces nectaires sont composés de tissus parenchymateux contenant un suc cellulaire abondant, sucré, dégageant une odeur sauve et pénétrante. Ce parfum doit contribuer à attirer les insectes pour faciliter la pollinisation croisée (Galet, 2000). Les adultes et les nymphes de la punaise terne piquent les baies de la vigne pour sucer les nutriments en injectant des enzymes digestives dégradant les tissus végétaux causant ainsi des blessures. Au cours des stades phénologiques H et I, la zone nectarifère est nettement le lieu privilégié des lésions tissulaires engendrées sur la fleur de vigne lors de la prise de nourriture par l'insecte. Ces lésions peuvent causer des infections secondaires par divers micro-organismes et entraîner la nécrose des baies attaquées affectant ainsi de manière négative le rendement de vignobles (Fleury *et al.*, 2003).

1.6 Susceptibilité de la punaise terne à *B. bassiana*

En raison de leur efficacité éprouvée, la production sur une base commerciale de différentes souches de *B. bassiana* a été réalisée par plusieurs chercheurs pour le contrôle des populations de la punaise terne. Kouassi *et al.*, (2002) a évalué, au laboratoire, le potentiel infectieux de cinq isolats de *B. bassiana* contre cet insecte. Une haute pathogénicité et une virulence élevée ont été remarquées contre la punaise terne. Liu *et al.*, (2003a) ont démontré que *B. bassiana* est efficace contre les populations de la punaise terne. Ainsi, on a démontré qu'une concentration de 3.7×10^5 conidies/ml de *B. bassiana* peut provoquer la mort de 50 % des nymphes et des adultes de *L. lineolaris* après 8 jours, tandis qu'une concentration de $2,2 \times 10^6$ conidies/ml entrainait le même pourcentage de mortalité en seulement 5 jours (Steinkraus et Tugwell, 1997). Sabbahi *et al.*, (2008a) ont démontré au laboratoire une susceptibilité des adultes et des nymphes de la punaise terne aux isolats INRS-CFL et INRS-IP de *B. bassiana*. La mortalité des insectes dépend du nombre de spores entrant en contact avec l'insecte, de l'âge de l'insecte et de la température (Noma et Strickler, 1999). Les insectes infectés peuvent continuer de s'alimenter et pondre des oeufs avant leur mort. Parmi

les symptômes observés sur les insectes traités, il y a la rétraction des pattes et la coloration qui devient verte (Liu *et al.*, 2003a).

Jusqu'à ce jour, aucune étude n'a été publiée concernant l'effet de *B. bassiana* contre la punaise terne *L. lineolaris* dans la culture de la vigne. L'application de ce mycète a cependant été utilisée contre la punaise terne dans plusieurs autres cultures.

1.6.1 Culture de la fraise

Aux États-Unis, l'application de *B. bassiana* « Mycotrol WP» dans les champs de fraises contre la punaise terne a réduit de 50 % les dommages causés aux fruits par cet insecte. Des applications multiples sur une base hebdomadaire de cette même préparation à base de *B. bassiana* dans les champs de fraises montrent que plus de 40 % des nymphes de *L. lineolaris* sont tuées par ce champignon (Gleason *et al.*, 1999). Sabbahi *et al.*, (2008a) ont démontré aussi que les applications hebdomadaires de *B. bassiana* à une concentration de 1×10^{13} conidies/ha peuvent provoquer une diminution significative des populations nymphales de la punaise terne dans les champs de fraises.

1.6.2 Culture de coton

L'application de *B. bassiana* à une concentration de 1×10^{13} conidies/ha dans les champs de coton a entraîné une mortalité d'environ 90 % des adultes da la punaise terne au bout de 5 à 7 jours après le traitement fongique comparativement à une mortalité de 7 % au niveau des parcelles témoins (Steinkraus et Tugwell, 1997).

1.6.3 Culture de la laitue

Des essais en champ sur des plants de laitue encagés ont montré que l'isolat MK 2001 de *B. bassiana* est fortement pathogène contre les adultes de *L. lineolaris* (Kouassi *et al.*, 2002). Les mêmes auteurs ont démontré aussi que les conidies de cet isolat peuvent persister et infecter les adultes de *L. lineolaris* durant plus de 26 jours dans les conditions environnementales.

1.6.4 Culture de canola

La punaise terne est un ravageur d'importance économique dans la culture du canola (Steinkraus et Tugwell, 1997). Des applications à un taux de 1,1 kg/ha d'une formulation commerciale de *B. bassiana* (Mycotrol WP) sur des plants du canola encagés ont provoqué une mortalité de 91.5 % des adultes de *L. lineolaris* 5 jours après les traitements.

1.6.5 Culture de la luzerne.

L'application d'une formulation à base de *B. bassiana* (Mycotrol WP) à un taux de 1.2 kg/ha dans le champ de la luzerne n'a pas eu d'effet significatif sur les populations de la punaise *L. hesperus* (Noma et Strickler, 1999).

1.7 Proposition de recherche

Ces dernières décennies, la protection de l'environnement s'impose de plus en plus comme une préoccupation majeure. Dans le domaine de l'agriculture, il est indéniable que l'expansion et la productivité agricole doivent dorénavant passer par une gestion optimale des insectes nuisibles et des mauvaises herbes en minimisant les effets sur l'environnement. Il est admis maintenant par tous que la lutte chimique a des conséquences néfastes sur l'environnement; entre autres, par la toxicité dans la chaîne trophique, la pollution des eaux de surface et souterraines. Plusieurs solutions sont proposées pour remplacer l'emploi des produits chimiques. Parmi ceux-ci, les concepts écologiques de lutte biologique et de lutte intégrée sont des alternatives intéressantes à explorer et à développer (Coderre et Vincent, 1992).

L'application de formulations à base de *B. bassiana* contre la punaise terne dans différentes cultures (fraise, luzerne, canola, coton, céleri, laitue...), montre une différence d'efficacité et de persistance des conidies d'une culture à l'autre. Cependant, aucune information n'est disponible concernant l'application de ce mycète dans la culture de la vigne. Cette étude a comme prémisse de déterminer l'impact de l'emploi de préparations à base de *B. bassiana* afin de contrôler les populations de la punaise terne, l'un des insectes ravageurs de la culture de vigne. Afin de répondre à cet objectif, des épreuves biologiques standardisées ont été réalisés au laboratoire sur les adultes et les nymphes de la punaise terne

en utilisant deux isolats (INRS-IP et INRS-CFL) de *B. bassiana* pour déterminer leurs titres insecticides (CL_{50} et TL_{50}). Des préparations à base de ces deux isolats ont par la suite été appliquées en champ sur les plants de la vigne afin de déterminer leur effet sur les populations de la punaise terne et évaluer la persistance de leur activité insecticide lorsqu'elles sont exposées aux conditions environnementales.

1.8 Objectifs et hypothèses

Afin de mesurer l'impact de l'emploi des préparations insecticides à base de *B. bassiana* sur les populations de la punaise terne, les hypothèses de travail suivantes ont été proposées :

> Les applications hebdomadaires des préparations à base de *B. bassiana* permettent de contrôler efficacement les populations de la punaise terne dans les vignobles.
>
> Les conidies de *B. bassiana* peuvent persister et infecter les punaises ternes plus que 6 jours sur les feuilles de la vigne dans les conditions environnementales.

Afin de démontrer l'efficacité insecticide de *B. bassiana*, différents objectifs sont proposés :

> Déterminer et comparer le titre insecticide (CL_{50} et TL_{50}) de deux préparations à base de *B. bassiana* soit avec les isolats INRS-CFL et INRS-IP contre les populations de la punaise terne;
>
> Vérifier l'activité insecticide des isolats INRS-CFL et INRS-IP et du cyhalothrin-λ (Matador®) lors de leurs applications sur le terrain;
>
> Mesurer la persistance des produits à base des deux isolats de *B. bassiana* suite à leur application sur les plants de la vigne;
>
> Déterminer l'effet de différents traitements sur la survie des populations nymphales de la punaise terne dans les vignobles.
>
> Évaluer la mortalité des adultes de la punaise terne suite à l'application des isolats INRS-CFI et INRS-IP de *B. bassiana* et le cyhalothrin-λ en vignobles.

Chapitre II :

Efficacité insecticide des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* contre les populations adultes et nymphales de la punaise terne, *Lygus lineolaris*.

2.1 Introduction

La punaise terne *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera: Miradae), constitue un des plus importants ravageurs, puisqu'il s'attaque à de nombreuses cultures. Il est distribué sur l'ensemble du continent nord-américain (Young, 1986). La majorité des plantes hôtes affectées appartiennent aux sous-classes des *Rosacae* et des *Asteracae* (Wayne, 1989). Actuellement, la lutte chimique est le seul moyen utilisé pour contrôler les populations de ce ravageur. Par contre, comme pour de nombreuses espèces d'insectes, le développement de résistance à plusieurs produits de synthèse est une préoccupation qui doit être prise en considération dans la poursuite et le développement de stratégies phytosanitaires. Par exemple, l'utilisation étendue de l'insecticide Malathion (Malathion 500^{E}) sur le coton a entraîné le développement de résistance chez les populations de la punaise terne (Cheng *et al.*, 2004). À l'heure actuelle, une véritable impasse vis-à-vis de ce ravageur existe puisqu'il n'y a pas de méthode alternative efficace pour lutter contre ces populations.

Les micro-organismes offrent une diversité d'agents de lutte microbiens. Ces organismes entomopathogènes appartiennent à plusieurs taxons, à savoir, les virus, les bactéries, les microchampignons et les protozoaires. Le champignon microscopique *Beauveria bassiana* est un agent entomopathogène de lutte intéressant. Plusieurs auteurs ont démontré que *B. bassiana* possède un potentiel intéressant pour lutter contre les populations de la punaise terne (Luz *et al.*, 1989; Bidochka *et al.*, 1993; Tugwell, 1997; Kouassi *et al.*, 2002; Kouassi *et al.*, 2003; Liu *et al.*, 2003a et Sabbahi *et al.*, 2008a,b). Steinkaraus et ces collaborateurs (2003a) ont montré que les adultes de la punaise terne sont très susceptibles à *B. bassiana*. Ainsi, ils ont démontré qu'une concentration de 1×10^6 conidies/ml de *B. bassiana* est capable de tuer les adultes de *L. lineolaris* causent une CL_{50} est de 2.2×10^6 conidies/ml après 5 jours suivant l'inoculation en conditions de laboratoire. De plus, les résultats de Sabbahi *et*

al, (2008a) démontrent la susceptibilité des nymphes de la punaise terne aux isolats INRS-CFL et INRS-IP de *B. bassiana.*

L'objectif de cette étude était de déterminer et de comparer les titres insecticides (CL_{50} et TL_{50}) de deux préparations à base des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *B. bassiana*, contre les populations de la punaise terne. De plus, elle cherchait à déterminer et comparer la susceptibilité des adultes et des nymphes de la punaise terne soumis à ces deux isolats.

2.2 Matériel et méthodes

2.2.1 Insectes

Les adultes et les nymphes de *L. lineolaris* utilisés lors de ces expériences proviennent de collectes régulières d'insectes effectuées sur des plants infestés de fraises, à la ferme biologique de Lortie à Sainte-Dorothée (Laval, Québec). Des filets entomologiques ont été utilisés pour ramasser les nymphes et les adultes de la punaise terne. Les punaises ternes ont été élevées selon la technique de Slaymaker et Tugwell, (1982) dans des cages de (16.5 x 2.0 x 8.5cm) sur des tubercules germés de pommes de terre et des feuilles fraîches de laitue, remplacés à intervalle régulier. Ces deux ressources servaient de substrat alimentaire. Les insectes ont été maintenus à une température de 25°C, sous une photopériode de 16L:08D.

2.2.2 Origine des isolats de *B. bassiana*

Les isolats INRS-IP et INRS-CFL de *B. bassiana* proviennent de la banque d'hyphomycètes du Laboratoire de recherche en lutte biologique de l'INRS-Institut Armand-Frappier. Après un criblage de plusieurs isolats de *B. bassiana*, Sabbahi *et al.*, (2008a) ont identifié deux isolats, les isolats INRS-IP et INRS-CFL, qui possédaient un potentiel insecticide intéressant contre les populations adultes et nymphales de *L. lineolaris*. En effet, ces isolats causaient des mortalités respectives de 85 et 90 %. Ces deux isolats sont indigènes au Québec et représentent des agents de lutte pouvant être utilisés sans contrainte, puisqu'ils n'impliquent pas l'introduction des souches exogènes.

2.2.3 Production de Beauveria bassiana

Les conidies des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *B. bassiana* ont été produites sur un milieu solide à base d'orge. La production a été réalisée dans des sacs autoclavables (figure 2.1 A) dans lesquels 50 g d'orge humectés avec 20 ml d'eau distillée et 8g de ténébrions meuniers (*Tenebrio molitor)* broyés ont été ajoutés. Après stérilisation de ce substrat de culture, 10 ml d'une suspension fongique d'une concentration de 1 x 10^6 conidies/ml a été ajoutée au milieu. Les sacs ont été placés dans une chambre de croissance à une température de 25°C et 60 % HR pendant une période de 16 jours.

Afin d'extraire les conidies produites, 100 ml d'une solution de 0,1 % de Tween 80 ont été ajoutés au milieu solide. Après agitation permettant une homogénéisation du milieu, la suspension de conidies a été filtrée à travers deux épaisseurs d'étamine (figure 2.1 B). Par la suite, la concentration du surnageant contenant la suspension fongique (figure 2.1 C) a été évaluée en utilisant un hématimètre Bright-Line (Hausser Scientific).

2.2.4 Pourcentage de germination

Le pourcentage de germination des conidies de chaque isolat de *B. bassiana* a été déterminée par la technique de Inglis *et al.,* (1993). Cette technique consiste à étaler 50 µl d'une suspension fongique sur un milieu de croissance liquide à base de 150 µl de Sabouraud Dextrose Broth (SDB) (10 % neopeptone et 20 % dextrose) et d'incuber le tout à une température de 24°C durant 24 heures dans un agitateur rotatif à 120 rpm. Le pourcentage de germination a été évalué sur 200 conidies en utilisant un hématimètre. Quatre réplicats ont été réalisés pour chacune des suspensions fongiques.

2.2.5 Titres insecticides

Afin de déterminer le titre insecticide des deux productions des isolats INRS-CFL et INRS-IP, des épreuves biologiques ont été réalisées en laboratoire sur les nymphes et les adultes de *L. lineolaris*. Les concentrations létales (CL_{50}) et les temps létaux (TL_{50}) de chacun des isolats ont été déterminés. Une cohorte d'insectes a été soumise à différentes concentrations de conidies (0; 1 x 10^4; 1 x 10^6; 1 x 10^8 et 1 x 10^9 conidies/ml). Pour chacune de ces concentration, 20 insectes ont été immergés dans la suspension fongique pendant 10

de ces concentration, 20 insectes ont été immergés dans la suspension fongique pendant 10 secondes (Butt *et al.*, 1994) (figure 2.2 A). Par la suite, les insectes ont été transférés individuellement dans des boîtes de Pétri contenant des fleurs de fraises dont le pétiole a été introduit dans des tubes Ependorff remplis de 1 ml d'eau distillée et incubés à une température de 25°C, une photopériode de 16L : 08D et une humidité relative de 60 % (figure 2.2 B). De la même façon, des insectes témoins (non traités) ont été soumis aux mêmes conditions et ont été exposés à l'eau. Quatre réplicats ont été effectués pour chaque concentration. La mortalité des insectes a été notée quotidiennement pendant 7 jours.

2.2.6 Analyse statistique

Les titres insecticides (CL_{50} et TL_{50}) des deux isolats (INRS-IP et INRS-CFL) ont été estimés par l'analyse de Probit (SAS Institute, 1996). Les différences entre les concentrations utilisées sont déterminées en utilisant une analyse de variance (Anova) à deux critères de classification, à l'aide du logiciel statistique JMP v 5.0 (SAS Institute, 1996). Un test du Tukey-Kramer a été effectué afin de faire une comparaison entre les différents traitements.

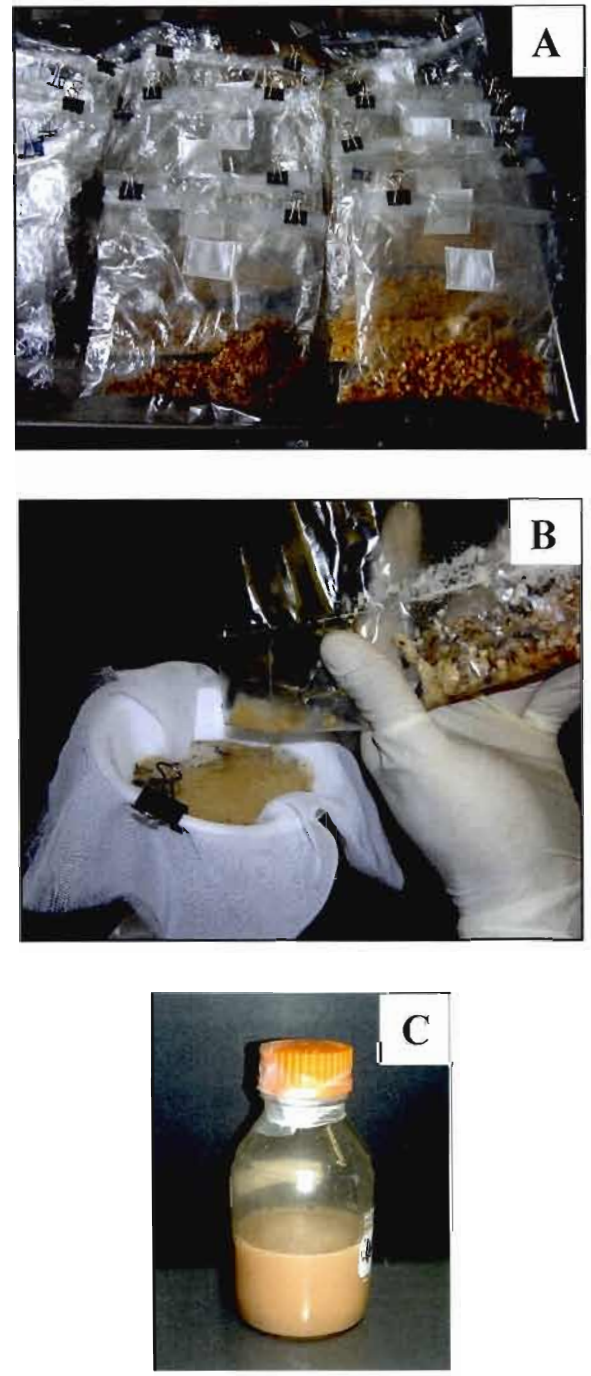


Figure 2.1. Quelques étapes de la production de *Beauveria bassiana* dans un milieu solide. A – Production dans les sacs autoclavables; B – suspension fongique de *Beauveria bassiana*; C – Filtration de la suspension fongique à travers une mousseline

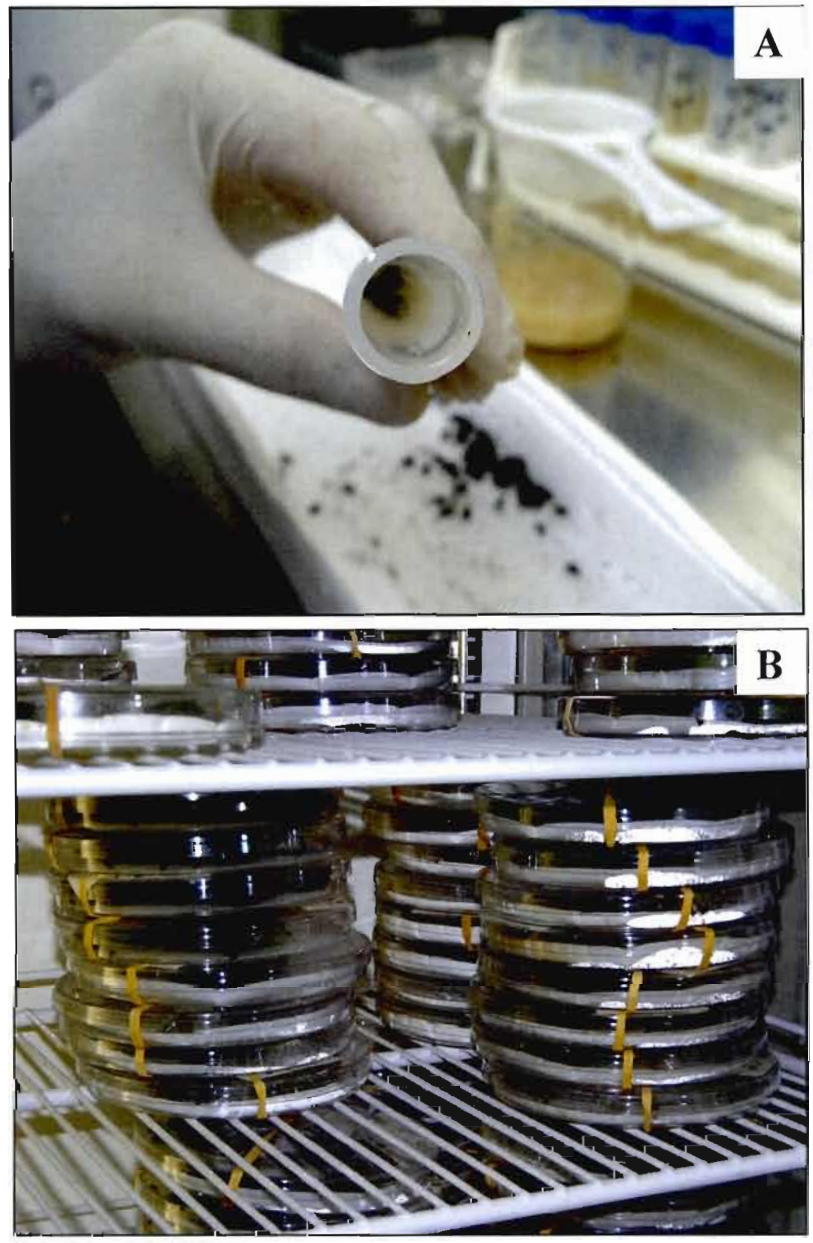


Figure 2.2. Représentation de différentes étapes du processus menant à la réalisation des épreuves biologique sur les adultes et les nymphes de la punaise terne *Lygus lineolaris*. A – Immersion des adultes et nymphes dans une suspension fongique de *Beauveria bassiana;* B – Incubation des adultes et des nymphes, inoculés par des préparations de *Beauveria bassiana,* dans une chambre de croissance.

2.3 Résultats et discussion

Le test de germination des conidies de *B. bassiana* a permis d'évaluer le taux de germination qui était de 82.75 % pour l'isolat INRS-IP et de 84.50 % pour l'isolat INRS-CFL. Les adultes et les nymphes de la punaise terne sont susceptibles aux deux isolats de *B. bassiana* (tableau 2.1). Une profusion de mycélium a été observée sur les cadavres d'insectes soumis aux préparations fongiques. Les résultats des titres insecticides ont démontré qu'il y a une différence significative entre la mortalité des adultes et celle des nymphes de *L. lineolaris* exposées aux différentes concentrations des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *B. bassiana* (Tukey HSD; $p<0.0001$). L'isolat INRS-CFL a été plus virulent que l'isolat INRS-IP contre les nymphes et les adultes de *L. lineolaris*. Les concentrations létales des isolats INRS-IP et INRS-CFL entraînant 50% de mortalité (CL_{50}) chez les nymphes de la punaise terne ont été estimées à, respectivement, de 8.0×10^5 et de $1,7 \times 10^4$ conidies/ml et chez les adultes à 1.7×10^5 et de 5.9×10^6 conidies/ml après jour 6 suivant l'inoculation. Ces résultats indiquent la susceptibilité des nymphes et des adultes face aux infections par *B. bassiana*. Nos données supportent les résultats obtenus par (Liu *et al.*, 2002a). En utilisant les mêmes isolats de *B. bassiana*, Sabbahi *et al.*, (2008a) ont obtenu des CL_{50} de 7.8×10^5 et de 5.3×10^5 conidies/ml contre les adultes de *L. lineolaris* après 7 jours post-inoculation. Alors qu'avec d'autres isolats de *B. bassiana*, Noma et Strickler (1999); Steinkraus et Tugwell (1997) ont obtenu des CL_{50} respectives de 1.9×10^6 et de 2.2×10^6 conidies/ml contre les adultes de *L. lineolaris* après 5 jours post-inoculation. Les variations observées entre les différentes valeurs de CL_{50} peuvent être expliquées par une spécificité de virulence des isolats vis-à-vis l'insecte hôte (Khachatourians, 1992).

La spécificité pathogénique des isolats de *B. bassiana* vis-à-vis de la punaise terne a déjà été étudiée (Kouassi *et al.*, 2002). En plus de la punaise terne, Sabbahi *et al.*, (2008b) ont démontré une variation de la pathogénicité et de la virulence des isolats de *B. bassiana* contre les populations de l'anthonome de la fleur du fraiser, *Anthonomus signatus* et le charançon de la racine du fraisier, *Otiorhynchus ovatus*. Cette variation semble être associée à des caractéristiques génétiques de certains isolats et/ou à des facteurs physiologiques intrinsèques de l'hôte (Miranpuri et Khachatourians, 1991). Par exemple, Feng et Johnson (1990) ont

montré une différence de la virulence des isolats de *B. bassiana* et qu'elle était corrélée à des variations du taux de germination du champignon sur la cuticule de l'insecte.

Il est reconnu que la mortalité des insectes infectés par les champignons entomopathogènes dépend du nombre de spores entrant en contact avec l'insecte (Steinkraus, et Tugwell, 1997). Nos résultats ont démontré que les mortalités des adultes et nymphes de *L. lineolaris* augmentent avec la concentration de chacun des deux isolats de *B. bassiana* utilisés (figure 2.6 A, B, C et D). La concentration la plus élevée (1 x 10^9 conidies/ml) de ces deux isolats a causé 100 % de mortalité des nymphes et des adultes sept jours suivant leur inoculation. Ces résultats indiquent une susceptibilité des adultes et des nymphes de *L. lineolaris* aux isolats INRS-CFL et INRS-IP de *B. bassiana* et confirment les observations faites par Sabbahi *et al.* (2008a).

Les temps létaux ont été estimés à l'aide d'une concentration de 1 x 10^6 conidies/ml correspondant à une concentration devant entraîner 50 % de mortalité dans la population. Les résultats ont montré qu'à cette concentration, les valeurs de TL_{50} étaient respectivement de 5.03 et de 4.77 jours chez les nymphes soumises aux isolats INRS-CFL et INRS-IP (tableau 2.1). Les temps létaux étaient de 6.29 et de 5.02 jours dans le cas des adultes de la punaise terne exposés aux mêmes isolats. Pour chacun des isolats, les résultats viennent supporter les observations faites avec les CI_{50} à l'effet que les nymphes étaient plus susceptibles que les adultes exposés aux préparations à base de *B. bassiana*.

Pour les mêmes isolats, Sabbahi *et al.* (2008a) ont obtenu des temps moyens de survie (TMS) de 4.46 et de 4.37 jours à une concentration de 1 x 10^8 conidies/ml chez les adultes de la punaise terne. Sur les bases de l'étude de Steinkraus, et Tugwell, (1997), cette différence entre les résultats est probablement liée à la variation des concentrations de *B. bassiana* utilisées dans les deux expériences. Liu *et al.*, (2002a) ont démontré une susceptibilité des nymphes de la punaise terne a différents isolats de *B. bassiana*. Ils ont obtenue des TL_{50} de 2.5 et 4.0 jours à des concentrations de 2 x 10^7 conidies/ml. Les résultats obtenus lors de cette expérience supportent aussi les valeurs de TL_{50} de 3.0 et de 4.9 jours obtenues avec des adultes par Kouassi *et al.* (2003) et Bidochka *et al.* (1993).

2.4 Conclusion

En conclusion, les isolats INRS-IP et INRS-CFL de *B. bassiana* montrent un potentiel insecticide intéressant contre les adultes et les nymphes de la punaise terne dans les conditions contrôlées de laboratoire. Les résultats obtenus confirment ceux obtenus par d'autres chercheurs et supportent une utilisation possible en champ pour la répression de ce ravageur.

Tableau 2.1. Pathogénicité et virulence des isolats INRS-IP et INRS-CFL de *Beauveria bassiana* vis-à-vis des adultes et des nymphes (5ième stade) de Lygus *lineolaris* à une concentration de 1×10^6 conidies/ml.

Isolat	*Stade d'insectes*	*CL_{50} conidies/ml*	*Intervalle de confiance*		*TL_{50} Jours*	*Intervalle de confiance*	
			inférieur	*supérieur*		*inférieur*	*supérieur*
INRS-CFL	Nymphe	8×10^5	3.73×10^3	5×10^5	4.77	4.43	5.06
	Adulte	1.7×10^5	8×10^2	1.8×10^6	5.02	3.33	6.66
INRS-IP	Nymphe	1.7×10^4	2×10^1	3.4×10^5	5.03	3.13	4.77
	Adulte	5.9×10^6	0.3×10^3	2.6×10^7	6.29	3.07	7.59

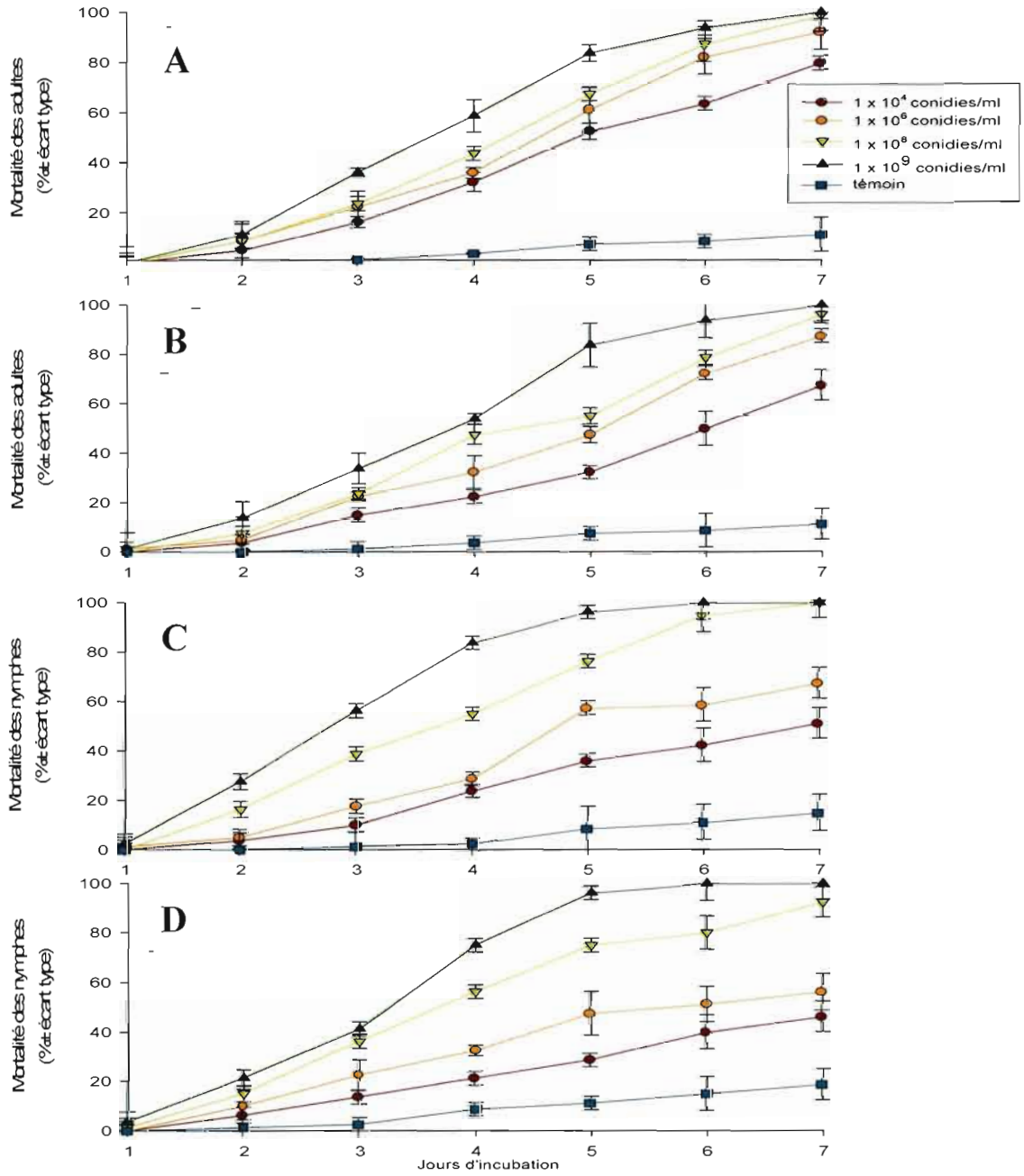


Figure 2.3 Mortalité des adultes et des nymphes de la punaise terne exposées aux différentes concentrations de deux isolats de *Beauveria bassiana*. A – Adulte (INRS-CFL); B – Adulte (INRS-IP); C – Nymphe (INRS-CFL) et D – Nymphe (INRS-IP).

Chapitre III :

Efficacité de *Beauveria bassiana* et du cyhalothrin-λ contre les populations de la punaise terne, *Lygus lineolaris,* dans la culture de la vigne.

3.1. Introduction :

La punaise terne *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hémiptères : Miridae) est l'un des ravageurs les plus importants d'Amérique du Nord (Kelton, 1982). Cet insecte est reconnu pour se nourrir sur plus de 358 espèces de plantes hôtes, dont 130 espèces végétales ont une importance économique (Young, 1986). Cet insecte se retrouve fréquemment dans les cultures fruitières, telles que la framboise (Boivin *et al.*, 1981) et la fraise (Bostanian, 1994; Rancourt *et al.*, 2000) et la pomme (Michaud *et al.*, 1986).

Plusieurs auteurs mentionnent que *L. lineolaris* est un insecte se nourrissant des plants de vignes (Crosby et Leonerd, 1914 ; Stewart et Khoury, 1976 ; Young, 1986). La vigne est particulièrement vulnérable au moment de la floraison. Les nymphes et les adultes piquent les baies de la vigne pour sucer les nutriments en injectant des enzymes digestives dégradant les tissus végétaux et causants des blessures. Ces lésions peuvent engendrer des infections secondaires par divers micro-organismes. Ainsi, les baies attaquées pourraient se nécroser, provoquant une perte de rendement au vignoble (Fleury, *et al,* 2003). Le comportement polyphage des populations de la punaise terne et leur capacité de migrer d'une culture à l'autre rendent difficile l'estimation des dégâts qu'elles peuvent causer. L'utilisation d'insecticides chimiques reste la méthode préconisée pour le contrôle des populations de ce ravageur (Vincent et Lachance, 1993; Richard et Boivin., 1994). Cependant, depuis plusieurs années, la résistance de *L. lineolaris* à certains insecticides chimiques a été notée dans des populations au champ (Cleveland, 1985; Cleveland et Furr, 1979; Snodgrass, 1994; Cheng *et al*, 2004; Snodgrass, 1996). Il est donc important de développer des approches à risque réduit pour l'environnement afin de remplacer ces composés chimiques.

Le microchampignon *Beauveria bassiana* (Balsamo) Veuillemin s'avère être un agent de lutte intéressant pour contrer les populations de *L. lineolaris*. Ce champignon possède un avantage par rapport aux autres microorganismes pathogènes, puisqu'il est en mesure d'infecter ses hôtes sans devoir être ingéré. En effet, son mode d'action assez particulier, par ingestion ou par contact, lui permettrait d'attaquer tous les stades d'un ravageur (Bidochka *et al.*, 1993; Steinkraus et Tugwell, 1997; Liu *et al.*, 2003a). Il a été démontré que *B. bassiana* possède un potentiel insecticide pour lutter contre différentes espèces d'insectes ravageurs (Todorova, *et al.*, 2002a; Kouassi *et al.*, 2002; Tadela et Pringle, 2003; Liu *et al.*, 2003a). Le potentiel infectieux de *B. bassiana* contre *L. lineolaris* a été évalué au laboratoire et en champ du coton (Noma et Strickler, 1999). Snodgrass et Elzen (1994), ont démontré qu'une formulation à base de *B. bassiana* était particulièrement efficace contre cet insecte dans le coton à un taux de 1.1 litre/ha. D'autre part, l'application d'une autre préparation commerciale de *B. bassiana* contre *L. lineolaris* dans les champs de fraises a eu comme conséquence une réduction de 50 % des dommages causés aux fruits par cet insecte par rapport au témoin (Kovach et Greg, 1996). Récemment, des applications hebdomadaires de *B. bassiana* à une concentration de 1×10^{13} conidies/ha ont provoquées une diminution significative des populations nymphales de la punaise terne dans la culture de fraises (Sabbahi *et al.*, 2008a). De plus, l'application de *B. bassiana* à une dose de 1.1 kg/ha sur des plants de canola encagés provoquait une mortalité de 91.5 % des adultes de *L. lineolaris* 5 jours suivant le traitement (Steinkraus et Tugwell, 1997).

La persistance des conidies de *B. bassiana* sur les feuilles à un temps de survie ne dépassant pas une semaine (Daoust et Pereira, 1986a). En effet, les données d'une expérience réalisée dans un champ de fraise indiquent que les conidies de *B. bassiana* peuvent persister et affecter *L. lineolaris* durant 7 jours (Sabbahi *et al.*, 2008a). À notre connaissance, une seule étude a démontré une persistance des conidies de *B. bassiana* durant 26 jours (Kouassi *et al.*, 2003). Bien que peu d'informations existent au sujet de la persistance des conidies de *B. bassiana* sur le feuillage en conditions naturelles, plusieurs formulations ont été développées dans le but d'améliorer la protection des conidies de *B. bassiana* contre les rayons ultraviolets et de favoriser leur persistance (Johnson *et al.*, 1992; Jarrod *et al.*, 2005).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact de l'emploi de préparation insecticide à base de *B. bassiana* sur la punaise terne et de démontrer leur persistance en vignobles. Afin de démontrer l'efficacité de cette approche, différents objectifs sont proposés: 1) Vérifier l'activité insecticide de deux isolats de *B. bassiana* (INRS-CFL et INRS-IP) et comparer les résultats avec ceux obtenus lors de l'application du cyhalothrin-λ, un produit communément utilisé contre cet insecte; 2) Mesurer la persistance des conidies de *B. bassiana* suite à leur application sur les plants de vigne; 3) Déterminer l'effet des différents traitements sur la survie des populations nymphales de la punaise terne *L. lineolaris* dans les vignobles.

3.2. Matériel et méthodes

3.2.1. Provenance des insectes

Les insectes utilisés lors des différentes expériences proviennent des collectes régulières (06/07/05 à 30/07/05) d'insectes sur le terrain (Ferme expérimentale d'Agriculture et Agroalimentaire Canada à Frelighsburg). Les punaises ternes récoltées ont été élevées dans des cages de (16.5 x 2.0 x 8.5cm) sur des tubercules germés de pommes de terre et des feuilles fraîches de laitue. Les insectes ont été maintenus à une température de 25°C, sous une photopériode de 16L:08D jusqu'à leurs utilisations.

3.2.2. Production de *Beauveria bassiana*

La production des isolats INRS-IP et INRS-CFL de *B. bassiana* a été réalisée en se basant sur la technique décrite précédemment à la section 2.2.3. Il s'agit d'une production sur milieu solide à base des céréales. Ainsi, 500 g d'orge ont été utilisés et humectés avec 200 ml d'eau distillée et 80 g de ténébrions meuniers broyés ont été ajoutés dans des sacs autoclavables afin de s'assurer de l'activation des isolats. Les sacs ont été placés dans une chambre de croissance à une température de 25°C et 60 % HR pendant une période de 16 jours. Afin d'extraire les conidies, 500 ml d'une solution de 0.1 % de Tween 80 ont été ajoutés au milieu solide. Après une agitation permettant une homogénéisation, la suspension de conidies a été filtrée à travers deux épaisseurs d'étamine. La concentration des suspensions fongiques récoltées dans le surnageant a été évaluée en utilisant un hématimètre Bright-Line (Hausser Scientific) et leur viabilité a été déterminée.

3.2.3. Persistance de l'activité insecticide et viabilité des conidies de *B. bassiana* contre les adultes de *L. lineolaris* sur les feuilles de la vigne

3.2.3.1. Dispositif expérimental et traitements appliqués

La persistance de l'activité insecticide des conidies de *B. bassiana* et le cyhalothrin-λ a été évaluée suite à leur pulvérisation sur des plants de la vigne. Un dispositif à trois blocs aléatoires avec six traitements a été établi sur une superficie de 0.41 ha dans un vignoble expérimental d'Agriculture et Agroalimentaire Canada située à Frelighsburg au Québec. Chaque bloc avait 36 m de longueur et était séparé de 10 m. À l'intérieur de chaque bloc, on retrouvait 15 sections de 5 plants séparées de 5 m. Les différents traitements ont été assignés de façon aléatoire aux différentes sections de chaque bloc. Les expériences se sont déroulées entre le 6 juillet et le 10 août 2005.

3.2.3.2. Description des traitements

Six traitements ont été appliqués sur une base quotidienne durant quatre semaines dans chacun des blocs. Il s'agit:

1) INRS-CFL, concentration $5x10^{11}$ conidies/ha;
2) INRS-CFL, concentration $5x10^{13}$ conidies/ha;
3) INRS-IP, concentration $5x10^{11}$ conidies/ha;
4) INRS-IP, concentration $5x10^{13}$ conidies/ha;
5) cyhalothrin-λ, 50 ml/ha;
6) témoin sec (Parcelles non traitée).

3.2.3.3. Préparation de la formulation

Afin d'assurer une protection aux conidies de *B. bassiana* face aux conditions environnementales, une formulation contenant 1% de lait en poudre, 2 % de glycérol, 4 % d'huile du canola et 5 % d'argile a été ajoutée à chaque préparation à base de *B. bassiana* en se basant sur les essais réalisés par plusieurs auteurs (Goettel et Inglis, 1997; Moore et Caudwell, 1997; Burgues, 1998 et Poprawski et Wraight, 2000). L'huile du canola, qui est un excellent autocollant, a été utilisée pour favoriser le contact entre les substances actives

excellent autocollant, a été utilisée pour favoriser le contact entre les substances actives formulées et la cuticule de l'insecte et augmenter leur stabilité sur les feuilles (Burgues, 1998). L'argile a été utilisée parce qu'elle favoriserait la protection des conidies contre les rayons ultraviolets (Butt, 2002). Le glycérol est un humectant, un nutriment et un adhésif (Moore et Caudwell, 1977). Le lait en poudre est un nutriment et humectant (Burgues, 1998). Cette formulation a été ajoutée aux conidies de *B. bassiana* produites aux concentrations requises pour les pulvérisations. Les conidies de *B. bassiana* et la formulation ont été mélangées sur le terrain juste avant leurs applications sur les plants de la vigne.

3.2.3.4. Application des traitements

Le volume requis pour pulvériser une section de plants de vigne peut varier selon le débit de la pompe utilisée, le temps d'application et la concentration désirée de conidies ou de produit par unité de surface. Des tests préliminaires ont été réalisés afin de déterminer les paramètres de l'équipement et ainsi de définir les conditions d'application en utilisant l'équation suivante:

$$QT = \frac{(ab)}{Cd / Ci}$$

La quantité de produits appliquée par plant (**QT**) devait tenir compte du débit de la pompe (**a**); de la durée de pulvérisation (**b**); de la concentration désirée du produit (**Cd**); et de la concentration initiale du produit (**Ci**). Par exemple, dans le cas des préparations à base de *B. bassiana* avec les données suivantes : a = 13.58 ml/s, b = 24 s, Ci = 5×10^{10} conidies/ml, Cd = 5×10^{11}conidies/ml. Le volume nécessaire pour pulvériser une section de plants de vigne a été estimé à 32.6 ml.

3.2.3.5. Pulvérisation

Afin de suivre l'effet des applications multiples sur les populations nymphales de la punaise terne dans la culture de la vigne. Quatre pulvérisations ont été réalisées sur une base hebdomadaire durant les quatre semaines de l'expérience. On a utilisé un pulvérisateur à dos (SRS 600, SHURflo, CA, Etats-Unis) avec une buse d'arrosage fournissant une pression à 50 ml/min (figure 3.1). Les pulvérisations ont été réalisées le matin afin de limiter l'effet des

radiations ultraviolettes. Elles ont ainsi été réalisées des journées ou les risques des précipitations était minimale afin d'éviter le lessivage des produits appliqués. Durant les expériences au terrain, les températures moyennes minimales et maximales ont été de 15.6 (T_{min}) ± 3.4 et 26.4°C (T_{max}) ± 3.2. Le cumul des précipitations a été de 119 mm et l'intensité lumineuse a été de 19.62 $MJ/m^2/d$ ± 6.36 (voir annexe 1).

3.2.3.6. Échantillonnage des feuilles de vignes

Afin d'évaluer la persistance de l'activité insecticide et la viabilité des conidies de *B. bassiana* sur les feuilles de vigne. Les feuilles ont été récoltées à partir des sections de plants traités par *B. bassiana* et le cyhalothrin-λ. L'échantillonnage a été réalisé trois fois par semaine (jour 0, 3 et 6) suite à la pulvérisation des produits. À chaque période d'échantillonnage, cinq feuilles de chaque section de plants traitées ont été prélevées aléatoirement. Deux feuilles ont été utilisées pour les épreuves biologiques sur les insectes permettant de suivre la persistance de l'activité insecticide et les trois autres ont servi à l'évaluation de la viabilité des conidies de *B. bassiana*, (CFU, *Colony Forming Unit*). Les échantillons ont été conservés dans des sacs de plastique à 4°C et à la noirceur jusqu'à leur utilisation.

3.2.3.7. Évaluation de la persistance de l'activité insecticide

Pour évaluer l'activité insecticide des préparations à base *de B. bassiana* et du cyhalothrin-λ, les feuilles prélevées ont été mises dans des boîtes de Pétri, dans lesquelles avaient été placés des papiers filtres humides. Afin de garder la turgescence des feuilles, chaque boîte était munie d'un tube pouvant contenir une solution d'eau et dans lequel la tige de la feuille a été insérée. Quinze adultes de *L. lineolaris* ont été déposés sur chaque feuille. Les boites de Pétri étaient ensuite scellées par du parafilm et incubées dans une chambre environnementale à 25°C, 16L : 08D et 60 % HR (figure 3.2). Après 6 jours, la mortalité des insectes a été évaluée.

3.2.3.8. Évaluation de la viabilité des conidies de *B. bassiana*

La viabilité des conidies de *B. bassiana* sur les feuilles de vigne a été déterminée en suivant la technique décrite par Inglis *et al.* (1993). Des disques de 3 cm de diamètre ont été

découpés sur les feuilles traitées avec les préparations à base de *B. bassiana*. Ces disques ont été mis dans des tubes Eppendorf contenant une solution de phosphate de potassium (pH=7) et du Tween 0.1 %. Afin de permettre le détachement des conidies du feuillage, les tubes ont été placés deux heures dans un agitateur rotatif à 120 rpm. Le liquide récolté a été dilué (1/50) et un aliquote de 50 µl de la suspension a été étalé sur un milieu sélectif (17.50 g de oatmeal agar, 2.50 g de agar, 0.45 g de dodine, 2.50 mg de cristal violet, 0.20 g de pénicilline et 0.50 g de streptomycine dans 500 ml d'eau distillée) (Chase *et al.,* 1986). Le dénombrement des colonies a été réalisé après 8 jours (figure 3.3).

3.2.4. Suivi de la survie des populations nymphales de la punaise terne suite aux pulvérisation de *B. bassiana*

3.2.4.1 Dispositif expérimental

Cette expérience avait pour objectif de déterminer l'effet des différents traitements à base de *B. bassiana* sur la survie des populations nymphales de la punaise terne dans les vignobles. Les expériences ont été réalisées sur le même dispositif expérimental décrit à la section 3.2.3.1. Les différences portent essentiellement sur le type de prélèvements réalisés.

3.2.4.2 Échantillonnage des insectes

L'échantillonnage des insectes a été effectué aux jours 0, 3 et 6 après chaque application pour les quatre semaines de l'expérience. Les insectes ont été recueillis en utilisant la technique de frappe sur trois plants de vigne. Trois frappes ont été effectuées sur chaque plant de vigne et une seule pour chaque grappe selon la technique décrite par Noubar *et al.,* (2003). Les insectes ont été récupérés dans un contenant de plastique de 2L. Les mêmes plants ont été échantillonnés durant les quatre semaines de l'expérience. Les insectes récoltés ont été identifiés et dénombrés.

3.2.4.3 Observation de l'infection par *B. bassiana*

Afin de confirmer l'infection par *B. bassiana* au sein des insectes récoltés, les nymphes de la punaise terne récoltée sur les différentes parcelles ont été placées individuellement dans des boîtes de Pétri contenant un papier filtre humide. Elles étaient scellées avec du parafilm

et placées, durant dix jours, dans des conditions de croissance de 25°C, 60 % HR et à l'obscurité afin de permettre la sporulation de conidies. Les insectes ont été examinés après dix jours afin de vérifier la présence de la muscardine (croissance fongique) caractérisant l'infection par *B. bassiana*.

3.2.5 Analyses statistiques

Lors des expériences réalisées sur le terrain, les analyses statistiques ont été réalisées à l'aide du logiciel statistique JMP v 5.0 (SAS Institute, 1996). Un modèle statistique a été utilisé en se basant sur une analyse de variance (anova à plusieurs critères de classification : bloc, traitement, application (Arrosage des produits) et récolte (Jours d'échantillonnage)). Le test de Tukey-kramer a été effectué afin de comparer les traitements. Les conditions d'application de l'Anova telles que la normalité et l'homoscédasticité ont été vérifiées.

Tableau 3.1 Répartition aléatoire des différents traitements dans le dispositif à blocs aléatoire implanté sur des parcelles de vigne *Vitis Vinifiera* variété Chancellor de la ferme expérimentale de Frelighsburg d'Agriculture et Agroalimentaire Canada.

		Blocs		
		1	2	3
Traitements	1	INRS-IP 5 x 10^{11} conidies/ha	Témoin (Formulation seule)	cyhalothrin-λ
	2	INRS-CFL 5 x 10^{13} conidies/ha	INRS-CFL 5 x 10^{11} conidies/ha	INRS-IP 5 x 10^{11} conidies/ha
	3	INRS-IP 5 x 10^{13} conidies/ha	cyhalothrin-λ	INRS-CFL 5 x 10^{13} conidies/ha
	4	cyhalothrin-λ	INRS-IP 5 x 10^{11} conidies/ha	Témoin (Formulation seule)
	5	Témoin (Formulation seule)	INRS-CFL 5 x 10^{13} conidies/ha	INRS-IP 5 x 10^{13} conidies/ha
	6	INRS-CFL 5 x 10^{11} conidies/ha	INRS-IP 5 x 10^{13} conidies/ha	INRS-CFL 5 x 10^{11} conidies/ha

Figure 3.1. Application des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* à des concentrations de 5×10^{11} et 5×10^{13} conidies/ha sur les parcelles de vignes à l'aide d'un pulvérisateur à dos.

Figure 3.2. Incubation des adultes de la punaise terne dans des boîtes de Pétri contenant des feuilles de vigne traitées par *Beauveria bassiana* et le cyhalothrin-λ.

Figure 3.3. Formation de colonies de *Beauveria bassiana* sur milieu sélectif. Le matériels a été récupérer a partie des feuilles de la vigne traitée par *Beauveria bassiana.*

3.2.6 Activité insecticide des conidies de *B. bassiana* et du cyhalothrin-λ sur *L. lineolaris*

Le test de Shapiro-Wilk ($p = 0.3373$) sur la distribution du nombre d'insectes morts a montré que la normalité est bien respectée. De plus, l'analyse visuelle des résidus indique que l'homoscédasticité est également respectée (voir annexe 2).

3.2.7 Persistance des conidies de *B. bassiana* sur les feuilles de vigne.

La vérification des conditions de normalité montre que le nombre de conidies n'est pas distribué normalement. Ainsi, les données ont été analysées suite à une transformation en racine carrée. Finalement, le test de Shapiro-Wilk montre que le nombre de conidies était distribué normalement ($p = 0.0845$). L'analyse visuelle des résidus indique que l'homoscédasticité est également respectée (voir annexe 3).

3.2.8 Suivi de la survie des populations nymphales de la punaise terne suite aux pulvérisation de *B. bassiana*

Les données de la survie des populations nymphales ont été transformées en racine carrée par le test de Shapiro-Wilk. Cette transformation a permis de montrer que les données sont distribuées normalement ($p= 0.8580$) (voir annexe 4).

3.3 Résultats

3.3.1 Activité insecticide de *B. bassiana* et du cyhalothrin-λ sur *L. lineolaris*.

Les résultats de la mortalité des adultes de *L. lineolaris* exposés aux deux isolats de *B. bassiana* et au cyhalothrin-λ montrent des variations significatives de l'activité insecticide (ANOVA, $N= 672$; $R^2= 0.96$; $df = 215$; $F= 24.0991$; $p< 0.001$). Les résultats ont démontré qu'il y a une différence significative de la variabilité d'un traitement par rapport aux autres pour les quatre applications ($p< 0.0001$; tableau 3.1). Ainsi, les mortalités observées chez les adultes de la punaise terne dans les parcelles du témoin étaient inférieures à 16 %. Par contre, elle atteignait 99,16 % chez les insectes exposés au cyhalothrin-λ. Pour les quatre applications, on a observé des variations significatives de l'activité insecticide des deux isolats de *B. bassiana* et du cyhalothrin-λ ($p<0.0001$; Tableau 3.2). Nos résultats ont

démontré aussi qu'il n'y avait aucune différence significative entre les patrons de l'activité insecticide des deux isolats de *B. bassiana* et du cyhalothrin-λ sur les adultes de *L. lineolaris* pour les quatre applications (p = 0,9471; Tableau 3.2)

L'analyse plus fine des résultats a démontré une diminution significative de l'activité insecticide des deux isolats de *B. bassiana* et du cyhalothrin-λ sur *L. lineolaris* en fonction du temps (figure 3.4 A, B, C et D). À partir des feuilles échantillonnées des plants traités au premier jour des applications (récolte1), on n'a pas constaté de différence significative entre les mortalités provoquées par les deux isolats à une concentration de 5×10^{11} conidies/ha, (Tukey HSD; p = 0.0623). Par contre, on a observé une différence significative entre les mortalités causées par les deux isolats à une concentration de 5×10^{13} conidies/ha, (Tukey HSD; p<.0001). De plus, une différence significative a été observée entre les mortalités causées par le cyhalothrin-λ et les deux isolats de *B. bassiana* (Tukey HSD; p<0.05).

Au troisième jour suivant l'application (récolte 2), on n'a pas constaté de différence significative entre les mortalités provoquées par les deux isolats, aux concentrations de 5×10^{11} et 5×10^{13} conidies/ha, (Tukey HSD; p = 0.1328). Aucune différence significative n'a été observées entre la mortalité provoquée par le cyhalothrin-λ et l'isolat INRS-CFL à une concentration de 5×10^{13} conidies/ha, 6 jours suivant leurs application (récolte 3) (Tukey HSD; p = 0.2310).

Afin de déterminer l'activité insecticide de *B. bassiana* et du cyhalothrin-λ, des adultes de *L. lineolaris* ont été exposés au feuillage de la vigne traité et incubés en conditions de laboratoire. En fonction du temps d'incubation, les résultats ont démontré une augmentation importante de la mortalité des adultes de la punaise terne exposés aux isolats INRS-IP et INRS-CFL de *B. bassiana* et au cyhalothrin-λ par rapport au témoin (figure 3.5 A, B et C) (résultats complémentaire, voir annexe 5, 6 et 7). L'évolution de la mortalité des adultes de *L. lineolaris* causée par les deux isolats de *B. bassiana* et le cyhalothrin-λ diffère significativement entre les récoltes 1, 2 et 3 (Tukey HSD; p<0.0001). Pour les quatre applications, les résultats ont démontré que les isolats de *B. bassiana* ont causé des mortalités très élevées après 6 jours d'incubation. Le cyhalothrin-λ quand à lui a provoqué une mortalité plus rapide que les deux isolats de *B. bassiana*. Les insectes morts par *B. bassiana* ont montré

3.3.2 Persistance des conidies de *B. bassiana* sur les feuilles de vigne.

Pour l'ensemble des résultats, l'application des conidies des isolats INRS-IP et INRS-CFL de *B. bassiana* au champ de vignes a montré une variation significative de la persistance de celles-ci en fonction du temps (ANOVA, N= 672; R^2= 0.96; df = 215; F= 24.0991; p< 0.001). Les résultats ont démontré qu'il y a une différence significative entre les traitements pour les quatre applications (p< 0.0001; tableau 3.3). Pour les quatre applications, on a observé des variations significatives de la persistance des conidies des deux isolats de *B. bassiana* entre les récoltes 1, 3 et 6 suivant l'application (p< 0.0001; tableau 3.3). Par contre, nos résultats ont démontré qu'il n'y avait aucune différence significative entre les patrons de persistance des conidies des deux isolats de *B. bassiana* pour les quatre applications (p = 0.0899; tableau 3.3) et ce malgré une variation dans les conditions climatiques (figure 3.6).

L'analyse plus fine des résultats a démontré une diminution significative du nombre de conidies des isolats INRS-IP et INRS-CFL de *B. bassiana* en fonction du temps pour les quatre applications (p<0.001) (figure 3.6 A, B, C et D). Les populations de colonies formées (CFU) associées aux différentes préparations de *B. bassiana,* ont été à leur maximum au premier jour d'application (récolte 1) pour les quatre applications. Après 3 jours, on a remarqué une diminution du nombre des conidies de 67, 54, 57 et 55 % pour les préparations des isolats INRS-IP et INRS-CFL aux concentrations 5 x 10^{11} et 5 x 10^{13} conidies/ha respectivement (figure 3.6. A). Ces diminutions ont été de 95, 97, 95 et 88 % après 6 jours. Nos résultats ont démontré que les conidies des deux isolats de *B. bassiana* appliquées au champ peuvent persister et infecter les adultes de *L. lineolaris* plus de 6 jours sur les feuilles de la vigne. Cependant, au premier jour d'application (récolte 1) et après trois jours (récolte 2), on n'a pas constaté de différence significative entre le nombre de conidies des deux isolats aux mêmes concentrations durant les quatre applications (Tukey HSD; p = 0.09315). Une différence significative a été notée entre les concentrations 5 x 10^{11} et 5 x 10^{13} conidies/ha du même isolat (Tukey HSD; p< 0.0001). Au sixième jour (récolte 3), aucune différence significative n'a été observée entre les concentrations 5 x 10^{11} conidies/ha et 5 x 10^{13} conidies/ha des deux isolats de *B. bassiana* (Tukey HSD; p = 0.6183).

significative n'a été observée entre les concentrations 5 x 10^{11} conidies/ha et 5 x 10^{13} conidies/ha des deux isolats de *B. bassiana* (Tukey HSD; p = 0.6183).

3.3.3 Suivi de la survie des populations nymphales de la punaise terne suite aux pulvérisation de *B. bassiana*.

Le suivi des populations nymphales de la punaise terne par la technique de frappe communément utilisée pour le dépistage a montré une diminution significative du nombre de nymphes vivantes en fonction du temps (Anova, N = 353; R^2 = 0.758562; df = 86; F = 9.0968; p<0.001) (figure 3.7). La population des nymphes a été à son maximum avant la première application. Après 3 jours, on a remarqué une diminution du nombre de nymphes de 44, 56, 43, 59 %, respectivement, pour les isolats INRS-IP et INRS-CFL aux concentrations 5 x 10^{11} conidies/ha et 5 x 10^{13} conidies/ha. Dans le cas du cyhalothrin-λ, une diminution de la population des nymphes de 78 % est observée. À partir du sixième jour, on a constaté de faibles diminutions des populations nymphales pour tous les traitements. Durant les quatre semaines de l'expérience, on a remarqué que le nombre de nymphes vivantes diffèrait statistiquement d'une application à l'autre (p< 0.001; tableau 3.4). Par conre, les populations nymphales dans les parcelles traitées avec *B. bassiana* et le cyhalothrin-λ ne diffèrent pas significativement de celles des témoins (Tukey HSD; p = 0.0829).

Tableau 3.2. Analyse de variance de l'activité insecticide des différents traitements avec les isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* et avec le cyhalothrin-λ sur les adultes de *Lygus lineolaris*.

Source de variation	DF	Somme des carrés	F	Pr> F
Blocs	2	12,70238	1,6861	0,1705
Traitements	5	100,93452	6,6989	<0.0001
Applications	3	798,03571	105,9287	<0.0001
Récoltes	2	395,69643	78,7852	<0.0001
Applications*Récoltes	6	482,51786	32,0239	0,0306
Applications*Traitements	15	62,92262	1,3920	0,1354
Applications*Récoltes*Traitements	30	74,14881	0,8202	0,7586
Récoltes*Traitements	10	37,63690	1,2490	0,2501
Erreur	249	625,2976		

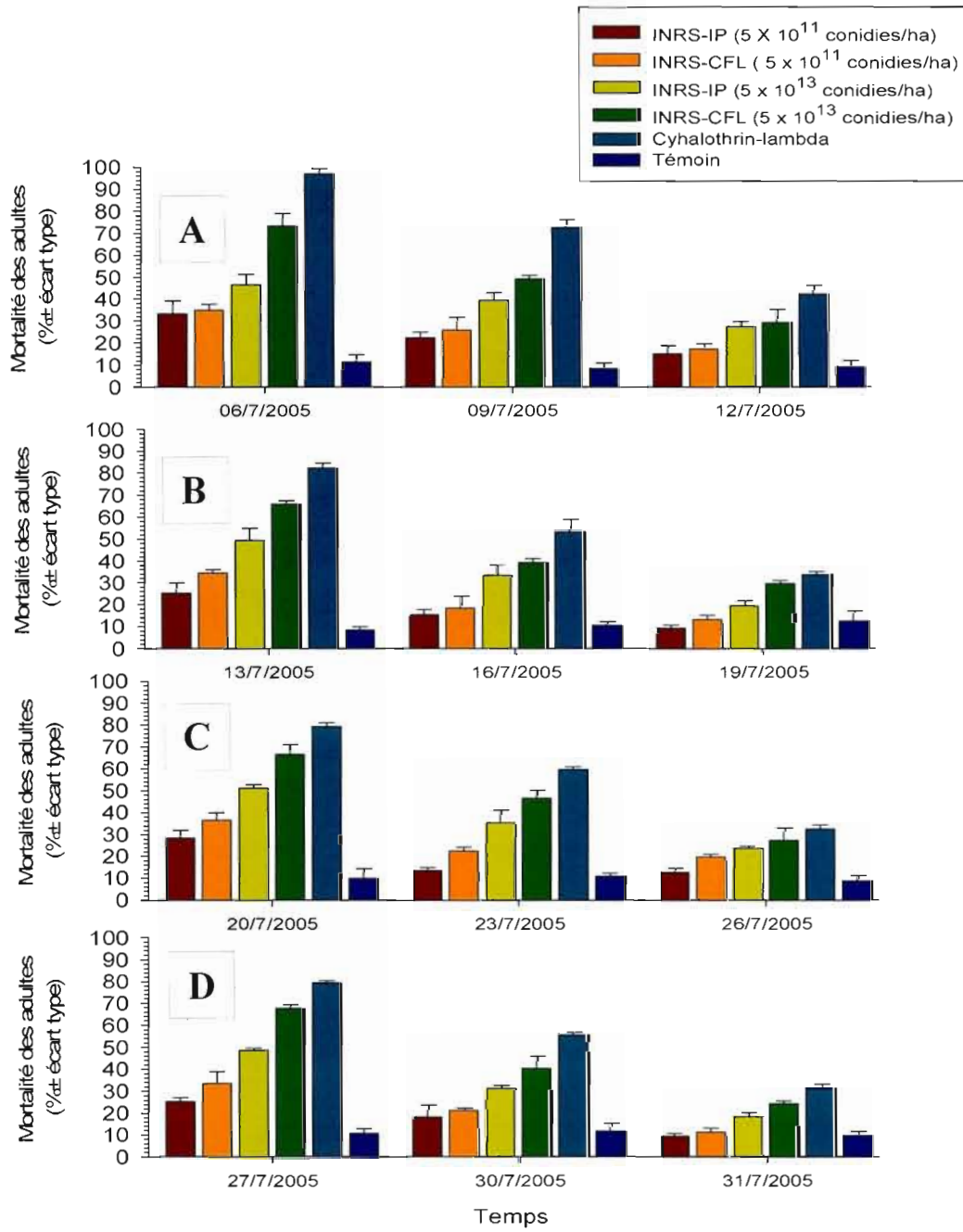


Figure 3.4. Activité insecticide des conidies des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* et du cyhalothrin-λ contre les adultes de *Lygus lineolaris* sur les feuilles de vignes échantillonnées aux jours 0, 3 et 6 suivant les quatre applications (A : Application 1 (06/7/05); B : Application 2 (13/7/05); C : Application 3 (20/7/05) et D : Application 4 (27/705)

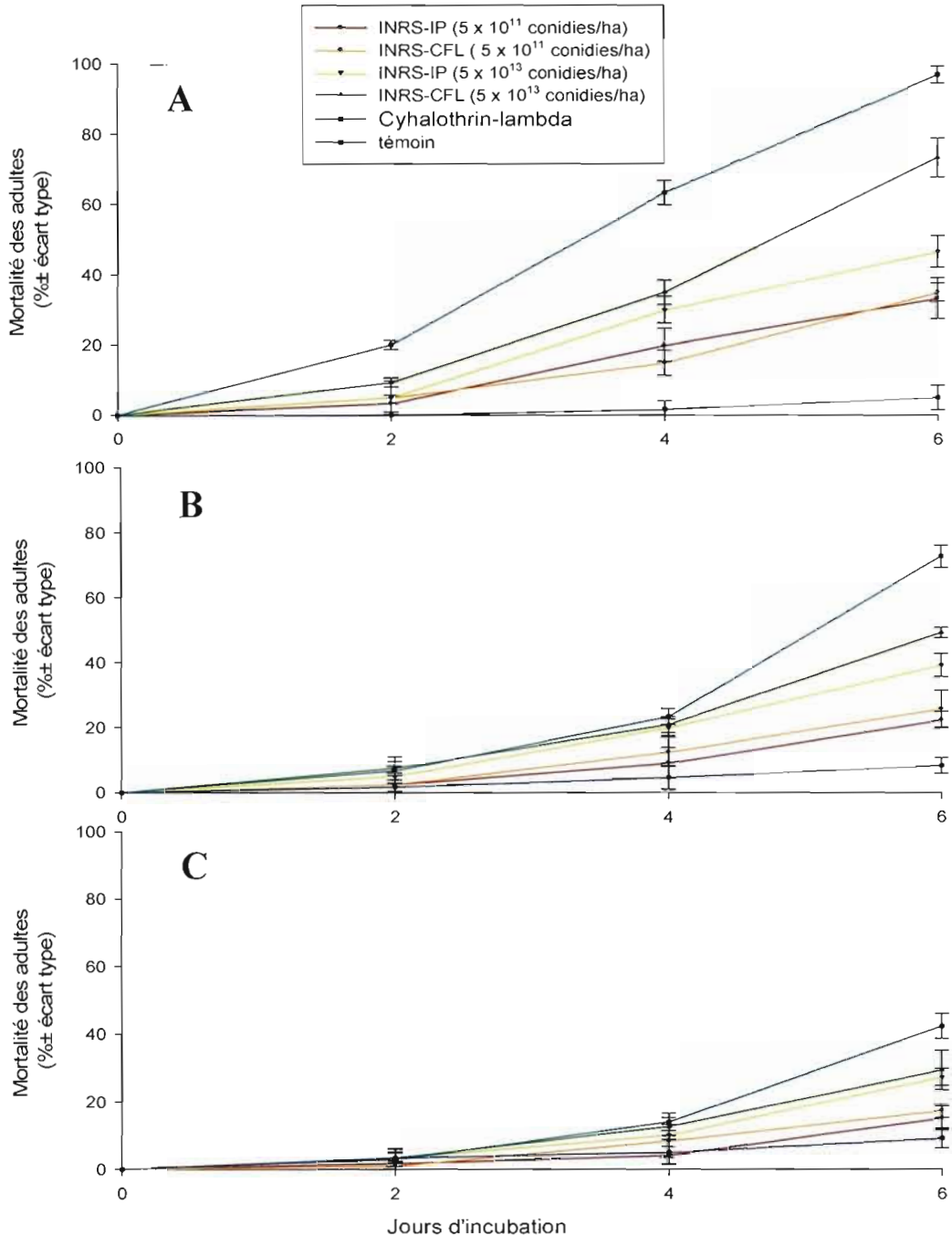


Figure 3.5. Mortalité des adultes de *Lygus lineolaris* exposés aux feuilles traitées par les isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* et par le cyhalothrin-λ (A : récolte 1; B : récolte 2 et C : récolte 3).

Tableau 3.3. Analyse de variance de la persistance des conidies des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* sur les feuilles de vignes.

Source de variation	DF	Somme des carrés	F	Pr> F
Blocs	2	88,12	0,8463	0,4310
Traitements	3	13547,05	44,8748	<0.0001
Récoltes	2	285775,35	1419,953	<0.0001
Applications	3	0,94	0,0031	0,0899
Applications*Récoltes	6	96,60	6,1600	0,02169
Applications*Traitements	9	12,88	4,0142	0,0125
Applications*Récoltes*Traitements	18	494,80	22,2732	<0.0001
Récoltes*Traitements	6	15614,10	25,8610	<0.0001
Erreur	377	37936,92		

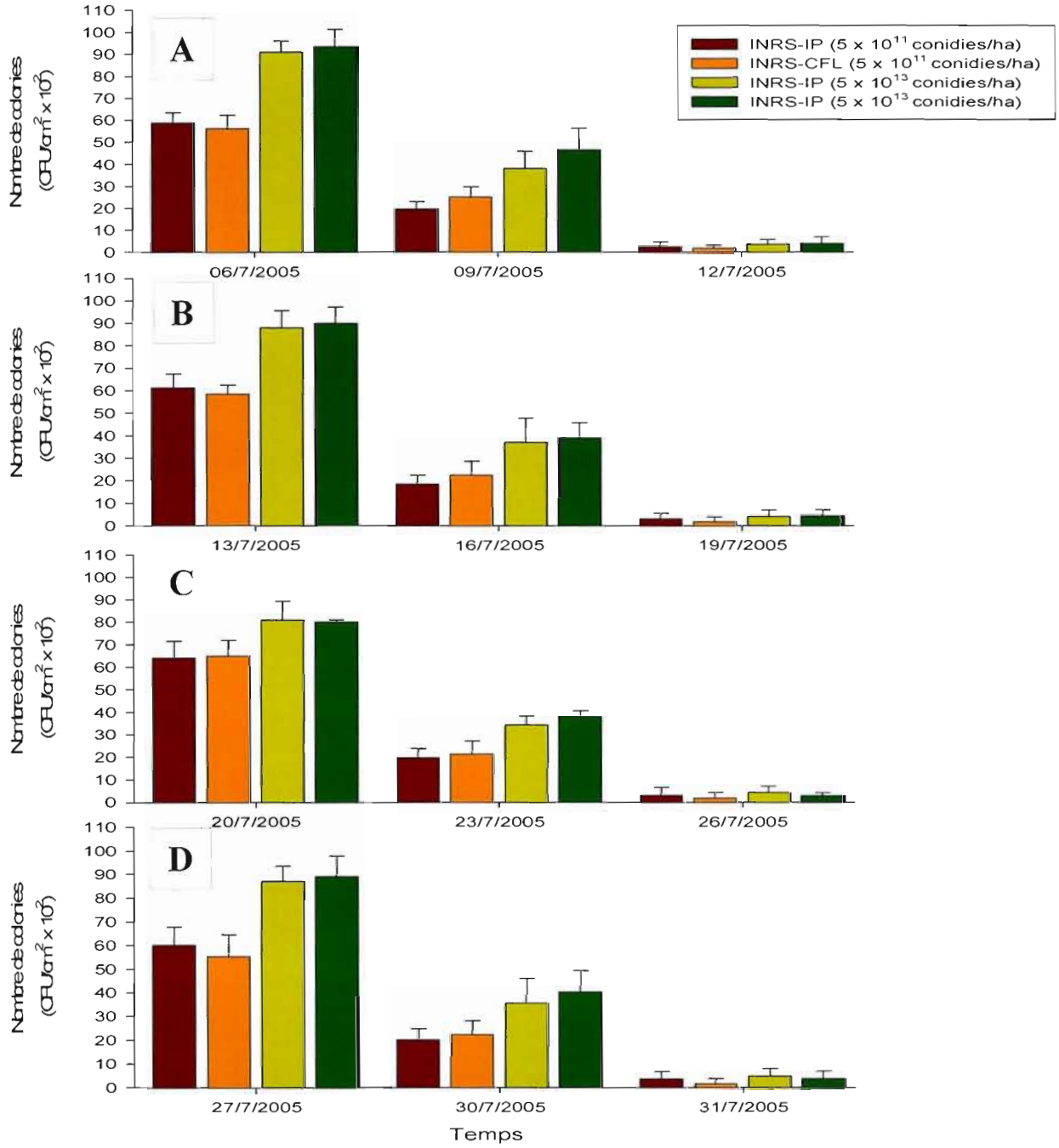


Figure 3.6. Persistance des conidies des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* sur le feuillage de la vigne en fonction du temps (A : Application 1(06/07/05); B : Application 2 (13/07/05); C : Application 3 (20/07/05) et D : Application 4 (27/07/05)).

Tableau 3.4. Analyse de variance du nombre de nymphes de *Lygus lineolaris* dépistées à partir des plants traités par les isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* et par le cyhalothrin-λ en fonction du temps.

Source de variation	DF	Somme des carrés	F	Pr> F
Blocs	2	5,0729	1,6113	0,2011
Traitements	5	1813,2873	230,3845	<.0001
Applications	3	0,5766	0,1221	0,9471
Récoltes	2	680,6176	216,1871	<0.0001
Applications*Récoltes	6	22,2061	2,3511	0,0306
Applications*Traitements	15	15,8576	4,6716	0,0125
Applications*Récoltes*Traitements	30	73,8141	1,5631	0,0328
Récoltes*Traitements	10	252,0387	16,0112	<0.0001
Erreur	356	560,3938		

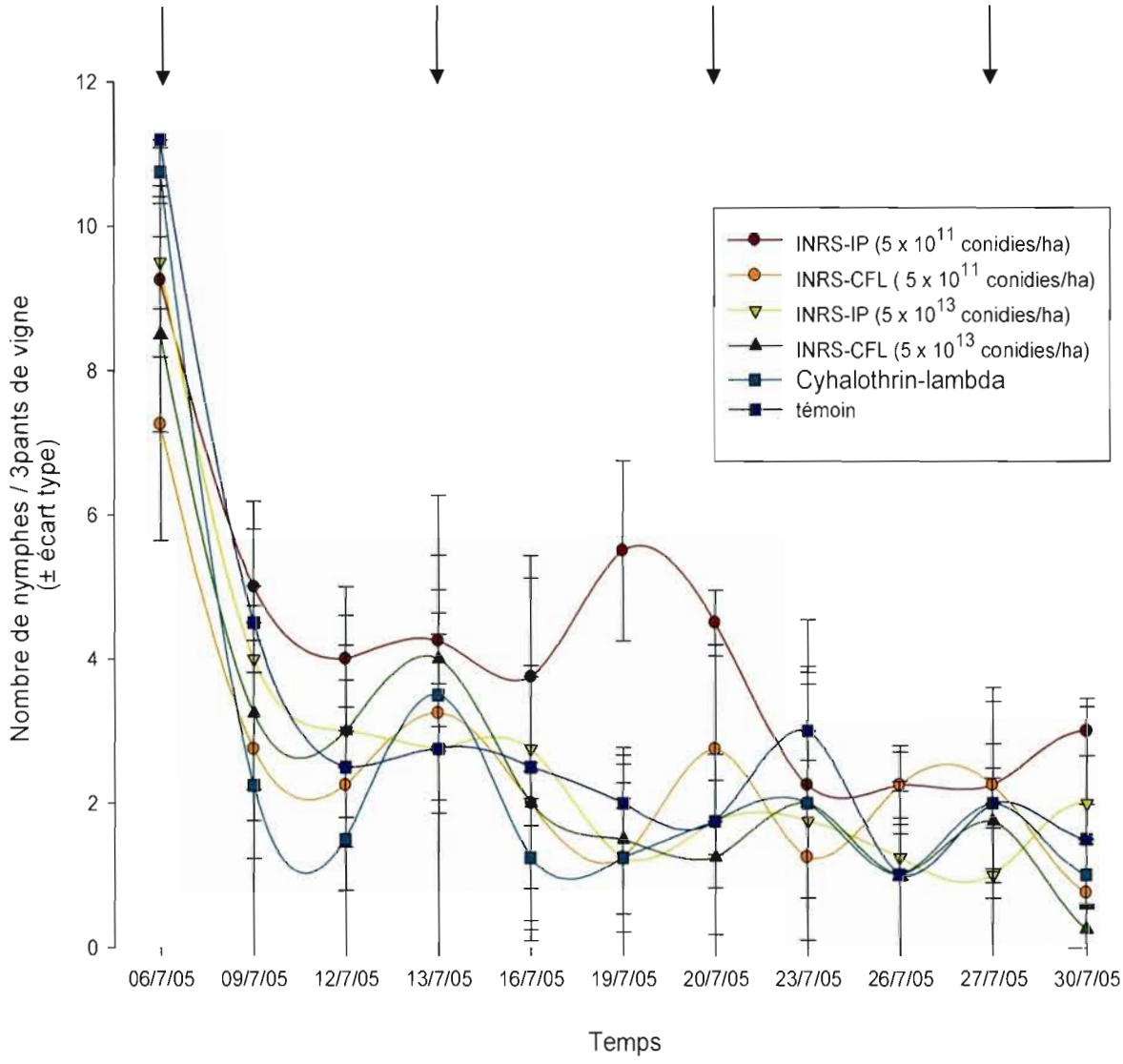


Figure 3.7. Nombre de nymphes de *Lygus lineolaris* dépistées à partir des plants traités par les isolats INRS-CFL et INRS-IP de *Beauveria bassiana* et cyhalothrin-λ en fonction du temps, (⟶ Application).

3.4 Discussion

Les conidies des isolats INRS-IP et INRS-CFL de *B. bassiana* appliquées au champ peuvent persister et infecter les adultes de *L. lineolaris* plus de 6 jours sur les feuilles de la vigne. Cependant, les insecticides chimiques sont reconnus pour provoquer une mortalité plus élevée que la plupart des mycètes entomopathogènes (Cheng *et al.*, 2004). Ceci pourrait expliquer les tendances observées lors de nos expériences avec le cyhalothrin-λ qui est capable de provoquer des mortalités supérieures à celles causées par les isolats de *B. bassiana*. Dans les champs de sarrasin, l'effet pathogène de *B. bassiana* et du cyhalothrin-λ a été évalué contre les adultes de la punaise terne (Mostafa et Holliday, 2004). Ces chercheurs ont observé une diminution significative des adultes de *L. lineolaris* dans les parcelles traitées par le cyhalothrin-λ par rapport à celle traitées par *B. bassiana*. Cependant, les résultats de notre étude ont démontré qu'il n'y avait aucune différence statistiquement significative entre zzles mortalités d'insectes provoquées par l'isolat INRS-CFL à une concentration de 5 x 10^{13} conidies/ha et du cyhalothrin-λ. De plus, ils indiquent qu'il y n'avait aucune différence significative entre les patrons de mortalités provoquées par cet isolat durant les quatre semaines d'application. Ceci suggère que l'application multiple de l'isolat INRS-CFL à une concentration de 5 x 10^{13} conidies/ha pourrait être un outil intéressant à intégrer dans les pratiques phytosanitaires visant le contrôle des populations de la punaise terne dans les vignobles. D'ailleurs, cette approche a récemment été démontrée en culture de fraises (Sabbahi *et al.*, 2008a). En effet, des applications multiples sur une base hebdomadaires de cet isolat de *B. bassiana* à une concentration de 1 x 10^{13} conidies/ha ont provoqué une diminution significative des populations nymphales de la punaise terne.

Il est reconnu qu'en conditions de terrain, la plupart des mycètes entomopathogènes, mettent quelques jours avant de tuer leur hôte. En laboratoire, Sabbahi *et al.* (2008a) ont obtenu des mortalités supérieure à 90 % des adultes de *L. lineolaris* après 6 jours, lorsque ces derniers étaient soumis à une concentration de 1 x 10^{8} conidies/ml de *B. bassiana*. En fraisière, cette mortalité était d'environ 70 % après 8 jours, suite à une application du même isolat de *B. bassiana* à une concentration de 1 x 10^{13} conidies/ha. L'application des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *B. bassiana* sur le feuillage de la vigne à des concentrations de 5 x 10^{13} conidies/ha a causé des mortalités supérieures à 67 % chez les adultes de *L. lineolaris*

après 6 jours suivant leurs l'application. Alors que dans les conditions de laboratoire, l'inoculation des adultes de *L. lineolaris* avec *B. bassiana* à une concentration de 1 x 10^6 conidies/ml a provoqué des mortalités supérieures à 86 % après 5 jours d'incubation. Ces résultats viennent confirmer les observations faites par d'autres travaux de recherche (Steinkraus et Tugwell, 1997, Kouassi *et al.*, 2002, Sabbahi *et al.*, 2008a).. La différence de la susceptibilité de *L. lineolaris* durant les expériences réalisées au laboratoire et sur le terrain est probablement due aux facteurs abiotiques tels que la température, les précipitations, les UV et l'humidité relative. De nombreuses études ont démontré que le potentiel infectieux des champignons entomopathogènes comme agents de lutte biologique est influencé par les rayons ultraviolet (Gardner *et al.*, 1977; Daoust et Pereira, 1986a; Jarrod et Robert, 2005), la température (Roberts et Campbell, 1977; Doberski, 1981) et l'humidité relative (Ramoska , 1984; Jeffrey, 2005).

Durant les quatre semaines de l'expérience, on n'a pas constaté de différences significatives entre les mortalités provoquées par les deux isolats aux mêmes concentrations. Ceci suggère que les deux isolats de *B. bassiana* ont probablement un effet pathogène semblable sur les adultes de la punaise terne dans les conditions environnementales. Nos résultats indiquent que le taux de mortalité des insectes exposés aux préparations à base de *B. bassiana* et au cyhalothrin-λ diminue en fonction du temps. Ces résultats traduisent probablement une diminution du nombre des conidies de *B. bassiana* et des résidus actifs du cyhalothrin-λ sur les feuilles de vigne. McCoy *et al.*, (1990) ont démontré que les conditions climatiques telles que les précipitations peuvent provoquer le lessivage des conidies de *B. bassiana*. Les mêmes auteurs ont aussi démontré que la lumière du soleil affecte la persistance des conidies sur le feuillage et peut directement influencer la composition génétique. Bien qu'il n'y ait aucune information qui a été documentée concernant la demi-vie du cyhalothrin-λ sur les feuilles de la vigne. Il est fort probable que la diminution des résidus actifs de ce produit est due aussi aux facteurs biotiques.

Les résultats montrent que la population des colonies (CFU) des isolats de *B. bassiana* diminue en fonction du temps. Inglis *et al.*, (1993) ont observé que la population des colonies formées de *B. bassiana* a diminué de 47 et de 81%, respectivement, sur les feuilles de luzerne et de blé, quatre jours suivant l'application. Les conidies de *B. bassiana* peuvent

persister et infecter les adultes de *L. lineolaris* plus de 4 jours sur les feuilles de coton dans les conditions environnementales (Snodgrass et Elzen, 1994). Comme indiqué précédemment, cette diminution des populations de conidies semble être associée à leur exposition aux facteurs abiotiques. Selon Ignoffo (1992), le problème majeur de l'utilisation des microchampignons entomopathogènes est leur faible persistance sur le feuillage. Le nombre de conidies de *B. bassiana* a diminué de plus de 75 % après 4 jours sur les feuilles de luzerne et de blé (Inglis, *et al.*, 1993). Les rayons ultraviolets sont le principal facteur limitant la viabilité des conidies sur le feuillage. En effet, Cagani et Svercell (2001) ont démontré que ces rayons avaient une incidence indirecte et significative sur la mortalité des larves d'*Ostrinia nubilalis* (ravageur de maïs) exposées aux conidies de *B. bassiana*. Dans ce cas, l'auteur indique que les rayons ultraviolets interfèreraient sur les propriétés physiologiques des champignons. L'humidité semble aussi affecter la persistance et la survie des champignons entomopathogènes. La plupart de ces mycètes exigent au moins 95 % de l'humidité relative à la surface de l'insecte afin de germer (Hallsworth et Magan, 1999).

Il est généralement admis que la demi-vie des conidies de *B. bassiana* était de 2 à 5 jours en conditions naturelles (Gardner *et al.*, 1977). L'évaluation de la performance en champ d'un isolat (MK 2001) de *B. bassiana* sur deux cultures (laitue et céleri) ayant une différence substantielle dans leur architecture, a révélé une persistance des conidies de plus de 26 jours sur le feuillage. Nos résultats ont démontré qu'une activité insecticide des isolats INRS-IP et INRS-CFL de *B. bassiana* est maintenue jusqu'au sixième jour suivant leurs application sur les feuilles de vigne. Ceci supporte les résultats obtenus par Sabbahi *et al.* (2008a) qui démontraient que les conidies de *B. bassiana* peuvent persister et infecter les punaises jusqu'à 6 jours sur les feuilles de fraises. Durant les quatre semaines d'application, on n'a pas constaté une différence significative entre les patrons de persistance des conidies de *B. bassiana* sur les feuilles de vigne. À notre connaissance, c'est la première étude menée sur l'application des isolats de *B. bassiana* d'une façon hebdomadaire en vignobles. Cependant, le fait d'observer des conidies de *B. bassiana* après 6 jours constitue un résultat intéressant et supporte les applications multiples comme pratique phytosanitaire pour contrôler les populations de la punaise terne dans les vignobles.

Le suivi des populations nymphales de la punaise terne par la technique de frappe (dépistage) montre qu'il y a une diminution significative du nombre de nymphes vivantes en fonction du temps. Ces résultats suggèrent que *B. bassiana* peut être utilisé pour le contrôle des populations de la punaise terne. Cependant, les populations nymphales dans les parcelles traitées avec *B. bassiana* et le cyhalothrin-λ ne diffèrent pas significativement des parcelles témoins. L'approche utilisée peut expliquer en partie l'absence de variation. En effet, le dépistage des nymphes sur les mêmes plants à plusieurs reprises au cours de l'expérience entraîne une diminution de la population nymphale dans toutes les parcelles (traitées et non traitées) rendant difficile l'établissement d'effet significatif des traitements sur la densité des insectes.

Durant les quatre semaines de l'expérience, on constate que le nombre de nymphes vivantes diffère statistiquement d'une application à l'autre. Plusieurs facteurs peuvent influencer l'abondance des individus au sein d'une population de la punaise terne. Lors d'un suivi des populations sur le terrain, le passage du stade nymphal au stade adulte peut causer une diminution de l'abondance des nymphes de la même génération. Les déplacements de l'insecte sur une grande échelle (migration), la disponibilité des ressources (quantitatives et qualitatives) et les facteurs abiotiques sont les principaux éléments responsables de la régulation de la dynamique de populations de l'insecte (Huffaker *et al.*, 1984). L'activité circadienne d'un insecte, responsable des variations temporelles de sa distribution sur la plante-hôte, peut aussi affecter l'homogénéité entre les dénombrements effectués à différentes heures de la journée (Southwood, 1978; Traoré *et al.*, 1998). Des variations irrégulières dans la distribution de l'insecte compliquent la mise au point d'un programme d'échantillonnage et son dénombrement (Southwood, 1978). Ces résultats pourraient conduire à réaliser le dépistage de la population nymphale d'une façon aléatoire et pas sur les mêmes plants.

Dans la culture de fraises, Kovach et Greg (1996) ont démontré qu'il n'y avait pas une diminution significative des populations nymphales de *L. lineolaris* après l'application d'une formulation à base de l'isolat GHA de *B. bassiana* à un taux de 1.1 Kg/ha. De plus, l'application de *B. bassiana* n'a pas pu réduire efficacement les populations nymphales et adultes de *L. hesperus* dans les champs de luzerne (Noma et Strikler, 1999). La faible

efficacité de *B. bassiana* sur le terrain est probablement due aux interactions entre les caractéristiques physiologiques du champignon et les conditions environnementales pouvant affecter sa virulence (Liu *et al.*, 2003a). Par contre, Snodgrass et Elzen (1994) ont observé une réduction de 53.8 % de la population nymphale de la punaise terne une semaine après l'application d'une formulation à base de *B. bassiana*, Naturalis-L (Troy Biosciences, Phoenix, AZ), à un taux de 1,1 L/ha dans les champs de luzerne. De plus, les applications hebdomadaires de *B. bassiana* à une concentration de 1 x 10^{13} conidies/ha ont provoquées une diminution significative des populations nymphales de la punaise terne dans la culture de fraises (Sabbahi *et al.*, 2008a). En utilisant la même approche en vignobles, nos résultats ont aussi démontré une diminution de la population nymphale de la punaise terne en fonction du temps. Ces résultats suggèrent que les applications multiples peuvent être considérées dans une stratégie de protection phytosanitaire contre les populations de *L. lineolaris* en champs de la vigne.

3.5 Conclusion

En conclusion, notre étude démontre l'activité insecticide et la persistance des conidies de *B. bassina* pour le contrôle des populations de la punaise terne dans les vignobles. Les résultats indiquent que les deux isolats (INRS-CFL et INRS-IP) peuvent persister et infecter *L. lineolaris* jusqu'à 6 jours dans les conditions environnementales. Nos résultats démontrent aussi que l'application multiple de l'isolat INRS-CFL à une concentration de 5x10^{13} conidies/ha pourrait être un outil intéressant à intégrer dans les pratiques phytosanitaire visant le contrôle des populations de la punaise terne dans les vignobles. Le suivi des populations nymphales de la punaise terne par la technique de frappe (dépistage) montre qu'il y a une diminution significative du nombre de nymphes vivantes en fonction du temps. Ces résultats suggèrent que *B. bassiana* peut être utilisé pour le contrôle des populations de la punaise terne. Cependant, des expériences plus avancées doivent être réalisés afin de développer des formulations à base de *B. bassiana* plus résistante aux conditions environnementales, notamment en vignoble.

Conclusion générale :

En conclusion, notre étude démontre l'activité insecticide et la persistance des conidies de *B. bassina* dans une optique de lutte contre les populations de la punaise terne dans la culture de vigne. Les résultats indiquent que les deux isolats (INRS-CFL et INRS-IP) peuvent persister et infecter *L. lineolaris* jusqu'à 6 jours dans les conditions environnementales. Nos résultats démontrent aussi que les applications multiples peuvent être considérées dans une stratégie de protection phytosanitaire contre les populations de la punaise terne en champs de la vigne. Cependant, des expériences plus avancées doivent être réalisés afin de développer des formulations à base de *B. bassiana* plus résistante aux conditions environnementales, notamment en vignoble.

L'utilisation des micro-organismes entomopathogènes, comme agents de lutte biologique contre les insectes nuisibles, connaît une hausse remarquable ces dernières décennies à cause de problèmes environnementaux majeurs tels que, la pollution des écosystèmes et surtout la résistance de nombreux insectes aux pesticides chimiques. L'acuité et la nécessité de trouver des alternatives de lutte efficaces contre les insectes nuisibles autres que la lutte chimique, nous ont poussés à explorer de nouvelles avenues avec le microchampignon entomopathogène *B. bassiana.* Plusieurs études ont démontré le potentiel insecticide de *B. bassiana.* Il peut être utilisé contre différents insectes ravageurs appartenant à plusieurs ordres (Greathead *et al.,* 1994; Todorova *et al.,* 1996; Todorova *et al.,* 2002a; Kouassi *et al.,* 2002, Tadela et Pringle, 2003; Cornia *et al.,* 2004 et Sabbahi et al., 2008aa).

Nous avons commencé les études d'évaluation de l'activité insecticide des isolats INRS-CFL et INRS-IP de *B. bassiana* par des épreuves biologiques sur les adultes et les nymphes de la punaise terne, *L. lineolaris.* Le calcul des paramètres de pathogénicité, entre autres la CL_{50}, CL_{90} et la TL_{50}, TL_{90}, ont révélé une susceptibilité des adultes et des nymphes de *L. lineolaris* aux deux isolats de *B. bassiana.* Les isolats INRS-IP et INRS-CFL de *B. bassiana* on montrées un potentiel insecticide intéressent contre les adultes et nymphes de la punaise terne dans les conditions contrôlées. Leur utilisation en champ pour la répression de ce ravageur pourrait être envisageable dans les programmes de lutte biologique ou de lutte intégrée.

En vignobles, les essais on été réalisés afin de faire un suivi de la persistance et de l'activité insecticide des conidies de deux isolats de *B. bassiana* et du cyhalothrin-λ sur les feuilles de la vigne. Les résultats ont démontré que les mortalités des adultes de *L. lineolaris* provoquées par l'isolat INRS-CFL de *B. bassiana* ne différent pas statistiquement de celles causées par le cyhalothrin-λ. Ceci nous laisse suggérer d'utiliser une formulation à base de ce microchampignon à une concentration de 5×10^{13} conidies/ha pour lutter contre les populations de la punaise terne en vignobles. Nos résultats semblent être intéressants pour l'implémentation en champ de programme de lutte biologique ou de lutte intégrée car une concentration de 5×10^{13}conidies/ha est relativement faible et économiquement faisable. De plus, nous avons aussi démontré que l'activité insecticide des isolats INRS-IP et INRS-CFL de *B. bassiana* est maintenue jusqu'au sixième jour post application. Nous nous sommes aussi interrogés sur la rémanence des conidies de *B. bassiana* sur les feuilles de la vigne. La persistance insecticide de *B. bassiana* a provoqué une diminution significative des populations nymphales de la punaise terne en fonction du temps. Les résultats suggèrent aussi que les applications multiples peuvent être considérées dans une stratégie de protection phytosanitaire contre les populations de la punaise terne en champs de la vigne. L'ensemble de nos résultats servira de base au développement d'un outil de lutte biologique acceptable du point de vue environnemental et efficace pour le contrôle des populations de la punaise terne en vignoble. De plus, cet outil appliqué dans cette culture peut également servir à la protection d'autres cultures d'importance au Québec contre les attaques de la punaise terne.

Le développement d'un insecticide biologique à base de *B. bassiana* permettra d'accroître la productivité des cultures de la vigne tout en réduisant les impacts négatifs liés à l'usage d'insecticides chimiques. A notre connaissance, c'est la première étude exhaustive menée sur les isolats de *B. bassiana* à partir des épreuves biologiques au laboratoire jusqu'à la validation des résultats au champ de vigne. Cependant, d'autres travaux devront être réalisés pour optimiser l'emploi de cet agent entomopathogène, notamment au niveau des concentrations qui devront être utilisées au champ et de l'élaboration d'une formulation assurant une grande persistance des conidies sur le feuillage. Pour ma part, je reste convaincu que la lutte microbiologique utilisant le microchampignon entomopathogène *B. bassiana* est une issue prometteuse et viable comparativement à la lutte chimique. Toutefois,

l'opérationnalisation concrète nécessite la poursuite des démarches pour l'homologation au Canada de l'utilisation en champ des microchampignons entomopathogènes

Références

Agriculture et Agroalimentaire Canada (2003). **Les fruits: situation et tendances au Canada en 2002-2003 pommes, fruits tendres, raisins et petits fruits.** Direction générale des services à l'industrie et aux marches. Ottawa (Ontario).

Andersen, S.O. 1979. **Biochemistry of insecte cuticle.** Annual Review of entomol, 24: 29-61.

Beauverie, J. 1911. **Notes sur les Muscardines. Sur une muscardine du ver à soie, non produite par le Botrytis bassiana.** Étude du Botritys effusa sp. nov. Rapp. Comm. administrative du lab. d'études de la soie, Lyon, 14: 5-31.

Bidochka, M.J., Miranpuri, G.S. et Khachatourians, G. 1993. **Pathogenicity of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin toward Lygus bug (Hem., Miridae).** J Appl. Entomol. 115: 313-317.

Boivin, G.G., Mailloux, R.O., Paradis et Pilon, J.G. 1981. **Fluctuations saisonnières des populations de punaises ternes sur certaines mauvaises herbes.** Ann. Soc. Québec, 26: 159-169.

Boivin, G. et Stewart, R. K. 1982. **Phénologie et comportement biologique de cinq espèces de Mirides phytophages (Hemiptera ; Miridae) dans une pommeraie du sud-ouest du Québec.** Ann. Soc. Ent. Québec, 27: 148-157.

Bostanian, N.J. 1994. **The tarnished plant bug and strawberry production.** Agriculture and Agri-Food Can. Res. Branch Tech. Bull. 19004-1E. 28p

Borror, D. J., Triplehorn, C.A et Johnson, N.F. 1989. **An introduction to the study of insects.** 6th Edition. Saunders College Publishing. Philadelphia, PE (USA). 875 p.

Boucias, D. G. et Pendland, J.C. 1991. **Attachment of mycopathogens to cuticule: The initial event of mycosis in anthropod host. In: The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals.** G. T. Cole and H. C. Hoch (eds.), Plenum, New York, 101-128.

Burges, D.H. 1998. **Formulation of mycoinsecticides. In: Formulation of microbial biopesticides: benefical microorganisms, nematodes and seed treatments.** Ed. by Burges HD, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 31-185.

Butt, T.M. 2002. **Use of entomogenous fungi for the control of insect pests.** In: The Mycota Agricultural Applications. Ed. by Kempken F, Springer, Berlin, 111-134.

Caccia, R., Remund, U., Boller, E. et Baillod, M. 1988. **La punaise terne verte de la vigne dans le vignoble de la suisse italienne**. Revue Suisse Vitic. Arboric. Hortic, 12: 275-279.

Cagani, L. et Sversel, M. 2001. **The influence of ultraviolet light on pathogenicity of entomopatogogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin to the European corn Borer, *Ostrinia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae)**. J Central Eur Agric, 2: 3-4.

Carignan, C., Boivin, G. et Stewart, R. K. 1995. **Development biology and morphology of perestinus digoneutis loan (Hymenoptera: Barconidae: Euphorinae).** Bio-control, 553-560.

Cermak, P. et Walker, G.M. 1992. **La punaise terne: un ravageur important de la fraise.** Fiche technique. 05/92. Agdex: 232/620.

Chaput , J et Uyenaka, J. 1998. **Dégâts de la punaise terne sur les cultures légumières en Ontario**. Fiche Technique. 06/98. Agdex: 250/625.

Chase AR, Osborne LS, Ferguson VM, 1986. **Selective isolation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and Metarhizium anisopliae from an artificial potting medium.** Florida Entomol. 69: 285-292.

Cheng, Z.Y., Gordon, L., Snodgrassa et Ming, S.C. 2004. **Enhanced esterase gene expression and activity in a Malathion resistant strain of the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris*.** Insect Biochemistry and Molecular Biol, 34: 1175-1186.

Cleveland, T.C. et Furr, R.E., 1979. **Toxicity of methyl parathion applied topically to tarnished plant bug**. J. Georgia Entomol. Soc. 15: 304–307.

Cleveland, T.C., 1985. **Toxicity of several insecticides applied to tarnished plant bug**. J. Entomol. Sci, 20: 95–97.

Cliche, M. 1969. **La culture de la vigne**. Conférence présentée le 5 avril 1969 à la société d'horticulture et D'Écologie eu nord de Montréal. Copyright © 1969. ITA-St Hyacinthe.

Coderre, D et Vincent, C. 1992. **La lutte biologique : toile de fond de la situation**. In : La lutte biologique. Vincent, C et Coderre, D (eds.). Gaëtan morin, 3-16.

Cornia, M.B. et Beatriz, M.D. 2004. **Pathogenicity of hyphomycètes fungi against *Cyclocephala signaticollis*.** Bio-Control 00: 1-8, 2004. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands.

Crosby, C.R. et Leonard, N.D. 1914. **The tarnished plant bug**. Cornell Bulletin 346. 462-525.

Daoust, R.A. et Pereira. R.M. 1986a. **Stability of entomopathogenic fungi *Beauveria. bassiana* and *Metarhizium anisopliae* on beetle-attracting tubers and cowpea foliage in Brazil**. Environ. Entomol. 15: 1237-1243.

Daoust, R.A. et Pereira. R.M. 1986b. **Survival of Beauveria bassiana (Deuteromycetes: Moniliales) conidia on cadavers of cowpea pests stored outdoors and in laboratory in Brazil.** Environemental Entomol. 15: 642-647

Dara, S.K., Mcguire, M.R., Kaya, H.K. 2007. **Isolation and evaluation of beauveria bassiana (deuteromycotina: hyphomycetes) for the suppression of glassy-winged sharpshooter, homalodisca coagulata (homoptera: cicadellidae).** Journal of Entomological Science. 42: 56-65.

Dixon W.N. et Fasulo, T.R. 2001. **Capse terni, lineolaris de Lygus (Palisot de Beauvois) (Insecta : Heteroptera : Miridae).** Fla. Dept. Agric. & Consumer Serv Division of Plant Industry. DPI Entomology Circular 32.

Doberski, J. W. 1981. **Comparative laboratory studies on three fungal pathogens of the elm bark beetle Scolytus scolytus: Effect of temperature and humidity on infection by *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and Paecilomyces farinosus.** J. Invertebr. Pathol. 37: 195-200.

Dowd, P.F et Vega, F.E. 2003. **Autodissemination of Beauveria bassiana by Sap Beetles (Coleoptera: Nitidulidae) to Overwintering Sites.** Biocontrol Science and Technology. 13: 65-75

Dubois, J.M. et Deshaies, L. 1997. **Guides de vignobles du Québec : sur la route des vins.** Les presses de l'Université laval. (QC). 297p.

El-Sinary, N.H. et Rizk, S.A, 2007. **Entomopathogenic Fungus, *Beauveria bassiana* (Bals.) and Gamma Irradiation Efficiency Against the Greater Wax Moth, *Galleria melonella* (L.).**.2: 13-18,.American-Eurasian Journal of Scientific Research.

Faria, M. et Wraight, S.P. 2001. **Biological control of *Bemisia tabaci* with fungi**. Crop Protection. 20, 767-778.

Feng, M.G. et Johnson J.B. 1990. **Relative virulence of six isolates of *Beauberia bassiana* (Fungi:Hyphomycetes) on the Russian wheat aphid, *Diuraphis noxia* (Homoptera: Aphididae).** Enviro Entomol, 19: 785-790

Feng, M.G, Chen, B et Ying, S.H. 2004. **Trials of Beauveria bassiana, Paecilomyces fumosoroseus and imidacloprid for management of Trialeurodes vaporariorum (Homoptera: Aleyrodidae) on greenhouse grown lettuce.** Biocontrol Science and Technology. 14:531-541.

Ferron, P., Fargues, J. et Riba, G. 1991. **Les champignons agents de lutte microbiologique contre les ravageurs**. In Handbook of applied mycology, 2: 237-270

Fleury, D., Pare, J. et Vincent, C. 2003. **Identification histologique des lésions causées sur l'influorescence de *Vitis vinifera* L. (Vitacées) par *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Heteroptera : Miridae).** Revue de Cytologie et biologie végétales le Botaniste, 26: 8-18.

Firlej, A. et Vanoosthuyse, F. 2001. **La lutte intégrée et l'exemple de la punaise translucide: Un auxiliaire prometteur pour la pomiculture au Québec.** Vertigo - La revue en sciences de l'environnement sur le WEB, Vol 2 No 2.

Funt, R.C., M.A. Ellis et C. Welty. 2002. **Midwest small fruit pest management handbook.** The Ohio State University Bulletin #861. Chapter 4. p. 1-4.

Galet, P. 2000. **Précis de viticulture.** 7ème Édition. JF Impression, Saint-Jean de Védas (France). 608p

Gardner, W. A., M. R. Sutton et R. Noblet. 1977. **Persistence of Beauveria bassiana, Nomuraea necatrix on soybean foliage.** Environ. Entomol. 6: 616-618.

Gaugler, R. L. et Lashomb, J. 1989. **Stability and efficacity of *Beauveria bassiana* soil inoculations.** Environ. Entomol. pp.18: 412-418.

Gleason, M., Zriba, N., Elenz, R. N., Obrycki, J. J. et Lewis, D.R. 1999. **Field evaluation of Mycotrol (*Beauveria bassiana*) and physical barriers for control of tarnished plant bug (*Lygus lineolaris*) in day-neutral strawberries.** In day-neutral strawberries. Strawberry IPM Update 4: 1-3.

Goettel, M.S., Inglis, G.D. 1997. **Fungi: Hyphomycetes.** In Manual of Techniques in Insect Pathology. Ed. by Lacey, L. A. San Diego, CA: Academic Press, 213–249.

Goettel, M.S. 1992. **Biological control of locusts and grasshoppers.** Wallingford, UK: C.A.B. International, 122-130.

Granett, J., Walker, M.A., Kocsis, L. et Omer, A.D. 2001. **Biology and management of grape phylloxera.** Annu. Rev. Entomol, 46: 387-412.

Greathead, D.J., Kooyman, C., Launois-Luong, M. H., et Popov, G.B. 1994. **Les ennemis naturels des criquets du Sahel.** Collection Acridologie Opérationnelle N8 CILSS/DFPV, Niamey, 12625.

Groden, E., Lockwood, J.L. 1991. **Effects of soil fungistasis on *Beauveria bassiana* and its relationship to disease incidence in the Colorado potato beetll. *Leptinotarsa decemlineata*, in Michigan and Rhode Island soils.** J. Invertebr. Pathol. pp. 57: 7-76.

Hallsworth et Magan, K.E. 1999. **Hallsworth and N. Magan, Water and temperature relations of growth of three entomogenous fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*,** J. Invertebr. Pathol, 261–266.

Harlan, J.R. 1992. **Crops et Man**. 2nd Edition. American Society of Agronomy. Madison, WI. 284 p.

Hastuti, B.S., Glare T.R. et Chapman, R. B. 1999. **Effect of temperature and humidity on the susceptibility *of Parosis charybdis* to *Beauveria bassiana***. Proc. 52nd N.Z. Plant Protection Conf, 103-107.

Hatting, J.L., Wraight, S.P et Miller, R.M. 2004. **Efficacy of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) for Control of russian wheat aphid (Homoptera: Aphidae) on resistant wheat under field condition.** Biol, Sc, Technol. 14: 459-473.

Hegedus, D.D., Pfeifer, T.A., Mulyk, D.S. et Khachatourians, G.G. 1998. **Characterization and structure of the mitochondrial small rRNA gene of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana***. Genome, 41: 471. 476.

Hoffman, C.J. et Dennehy T.J. 1987. **Assessing the risk of grape berry moth attack in New York vineyards.** New York's Food and Life Sciences Bulletin # 120: 1-4. 120, 1987. 0362 - 0069.

Hughes, S.J. 1953. **Conidia, conidiophores and classification**. Can Jf Bot, 31: 577-659.

Humber, R.A. 1997. **Fungi—preservation. In Manual of techniques in insect pathology**. Edited by L. Lacey. Academic Press, London. 269–279.

Huffaker, C.B., Dahlsten, D.L., Janzen, D.H.,et Kennedy, G.G. 1984. **Insect influences in the regulation of plant populations and communities.** Ecoll entomol, In Huffaker, C. B. and Rabb, R. L. (eds.), Ecol Entomol. John Wiley et Sons, NY, 659-691.

Inglis, D.G., Goettel, M.S et Jonhson, D.L. 1993. **Persistence of the entomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana*, on phylloplanes of crested wheatgrass and alfalfa**. Biol. Control, 3: 258-270.

Inyang, E.N., T.M. Butt, A. Beckett and S. Archer, 1999a. **The effect of crucifer epicuticular waxes and leaf extracts on the germination and infectivity of *Metarhizium anisopliae* conidia**. Mycol. Res, 103: 419–426.

Ignoffo, C.M. 1992. **Environmental factors affecting persistence of entomopathogens.** Florida. Entomologist, 75: 516–525.

Jarrod, E.L. et Robert W.B. 2005. **Coating Beauveria bassiana* with lignin for protection from solar radiation and effects on pathogenicity to Lygus lineolaris (Heteroptera: Miridae).** Biocontrol Science and Technology, 15: 309-320.

Jeffrey, C.L. 2005. **Low humidity, moderate temperature, and desiccant dust favour efficacy of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes: Moniliales) for the lesser grain borer, *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bruchidae).** Biological Control, 34: 180–186.

Johnson, D.L., Goettel, M.S., Bradley, C., Bradley, van der Paauw, H. et Maiga, B. 1992. **Field tests of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* against grasshoppers**. in Mali, West Africa, July, 1990. In: Biological control of locusts and grasshoppers.Ed. by Lomer CJ, Prior C, CAB International, Wallingford, 296-310.

Jourdheuil, P., Grison, P et Fraval, A. 1991. **La lutte biologique: Aperçu historique.** Dossier de la Cellule environnement de l'INRA, 5 : 11-35.

Keller, S et Zimmermann, G. 1989. **Mycopathogens of soil insects**. In Wilding, N., N. Collins, N. M.Hammond, P. M. Webber, and J. F. Webber (eds.), Insect-Fungus Interactions. Academic Press, London, p. 240-269.

Kelton, L. 1982. **Plant bugs on fruit corps in Canada (Heteroptera: Miridae)**. Monograph No, 24. Research Branch Agriculture Canada, Ottawa.

Khattat, A.R et Stewart, R.K.1977. **Development and survival of *Lygus lineolaris*** Exposed to Diffeent laboratory Rearing Conditions. Ann. Entomol. Soc. Am, 70: 274-78.

Khachatourians, G.G. 1992. **Virulence of five *Beauveria* strains, Paecilomyces farinosus and *Verticillium lecanii* strains against the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*.** J. invertebr. Pathol, 59: 212–214.

Kouassi M, Coderre D, Todorova S, 2003. **Effect of Plant Type on the Persistence of *Beauveria bassiana*.** Biocontrol Sci. Technol, 13: 415-427

Kouassi, M., Coderre, D et Todorova, S.I. 2002. **Relative Performance of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin (Deuteromycotina: Moniliale) and the insecticide cygon (Dimethoate) in field control of the tarnished plant bug *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera: Miridae)**. J Entomol Sci, 38:359–367

Kovach, J. et Greg, K 1996. **Using *Beauveria bassiana* to manage tarnished plant bug in strawberries**. Strawberry IPM Update. 3(2) 7–8.

Lasnier. J., Martin, T., Noubar, J., Bostanian., Charles Vincent, C., Henri, G. et Laurent L. 2000. **Les insectes ravageurs de la vigne au Québec**. Bulletin technique Agriculture et Agroalimentaire Canada (http://res2.agr.ca/stjean/publication/web/ravageur-pest_f.htm).

Lipa, J.J. 1975. **White muscardines (Beauveria sp.).** In an outline of insect pathology. Foreign Sci. Publ. Dept NCSTEI, Warsaw, Poland. 139-142.

Liu, H, Skinner, M., Parker, B.L., Brownbridge, M. 2002a. **Pathogenicity of Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae (Deuteromycotina: Hyphomycetes), and other entomopathogenic fungi against *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae).** J. Econ. Entomol. 95: 675-681.

Liu, H., Skinner, M., Brownbridge, M. et Parker, L.B. 2003a. **Characterization of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates for management of tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae).** J. Inv. Pathol. 82:139 – 147.

Liu, H., Skinner, M. et Parker, B.L. 2003b. **Bioassay method for assessing the virulence of *Beauveria bassiana* against tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Hem, Miridae).** J. Appl. Entomol. 127: 299-304.

Liu, H et Bauer, L.S. 2006. **Susceptibility of Agrilus planipennis (Coleoptera: Buprestidae) to Beauveria bassiana and Metarhizium anisopliae. J. Econo. Entomol.** 99: 1096-1103.

Liu, H et Bauer, L.S. 2008a. **Microbial control of emerald ash borer, *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) with *Beauveria bassiana* strain GHA: Greenhouse and field trials.** Biological control. 45: 124-132.

Liu, T., Wang, T., Duan, Y.X et Wang, X. 2008b. **Nematicidal activity of culture filtrate of *Beauveria bassiana* against *Meloidogyne hapla*. World**. J. Microbiol. Biotechnol. 24: 113-118.

Logette, L.1995. **La vigne et le Vin**. Cité des sciences et de l'industrie: Manufacture. -267-, Larousse agricole / Jean-Michel Clément. - 384 p.

Luz, C., Tigano , M.S., Silva, I.G., Cordeiro, C.M. et Salah, M.A. 1989. **Selection of *B. bassiana* and *Metarhizium anisopliae* Isolates to Control *Triatoma infestans*.** Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro. 93: 839-846.

Magalhaes, B.P., Butt T.M., Humber, R.A., Shields, E.J. et Roberts, D.W. 1989. **Formation of aprressoria in vitro by the entomopathogenic fungus *Zoophthora radicans* (Zygomycetes: entomophtorales).** J. Inv. Pathol. 55: 284-288.

Mario, C. 1996. **La culture de la vigne**. Ecological agriculture projects. 21: 637-644

Martinson, T., Bernard, D.G et Taft, T.J. 1998. **Impact of *Taedia scrupeus* (Hemiptera: Miridae) feeding on cluster developement in concord grapes**. J. Econ. Entomol. 91: 507-511.

Martinson, T.E., Hoffman, C.J., Dennehy, T.J., Kamas, J.S. et Weigle, T. 1991. **Risk assessment of grape berry moth and guidelines for management of the eastern grape leafhopper**. New York's Food and Life Sciences Bulletin # 138: 1-10.

McCoy, A., Quintela, E.D. et Faria, M. 1990. **Environnemental Persistance of Entomopathogenic Fungi**. In, New direction in biological control. R.R. Baker and P.E. Dunn (eds), A.R. Liss, New York.p. 139-159

McGuire, M.R., Hudson, N., Ballard, D. et Delfin, M. 2001. **Prevalence of a Fungal Pathogen of *Lygus Hesperus* in the San Joaquin Valley**. USDA-ARS, Western Integrated Cropping Systems Research Unit, Shafter, CA.

McGuire, M.R., Leland, J.E. 2006. **Field trials of Beauveria bassiana against Lygus spp. in California and Mississippi. National Cotton** Council Beltwide Cotton Conference. p. 1389-1392.

Michaud, O.D. 1986. **The establishment of economic thresholds for the green apple bug, *Lygocoris communis* (Knight) and tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera: Miridae) in apple orchards in southwestern Quebec.** M.Sc. thesis, Macdonald College, McGill University, Montreal.

Miranpuri, G.S. et Khachatourians, G.G. 1991. **Infection site of the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in the larvae of the mosquito *Aedes a*egypti**. Entomol Experimentalist et Applicata. 59: 19-27.

Moore, D. et. Caudwell, R.W. 1997. **Formulation of entomopathogens for the control of grasshoppers and locusts**, Mem. Entomol. Soc. Can. 171, pp. 49–67.

Mostafa, A.M. et Holliday, N.J. 2004. **Management of *Lygus bugs* (Hemiptera: Miridae) in buckwheat using Matador® (cyhalothrin-λ) and Botanigrard ES® (*Beauveria bassiana*)**. Poster paper, the 2004 ESA Annual Meeting, Salt Lake City, Utah, U.S.A

Nguyen, N., Christian, B., Hans-Michael, P. et Gisbert. Z. 2007. **Laboratory investigations on the potential of entomopathogenic fungi for biocontrol of Helicoverpa armigera (Lepidoptera: Noctuidae) larvae and pupae.** Biocontrol Science and Technology. 17 : 853-864.

Noma, T., et K. Strickler. 1999. **Factors affecting *Beauveria bassiana* for control of lygus bug (Hemiptera: Miridae) in alfalfa seed fields.**. J. Agric. Urban Entomol. 16: 215-233.

Noubar, J., Bostanian., Vincent, V., Goulet, H., Lesage, L., Lasnier, J., Bellemare, J. et Mauffette, Y. 2003. **The Arthropod Fauna of Quebec Vineyards with Particular Referenceto Phytophagous Arthropods.** J. Econ. Entomol. 96: 1221-1229.

Omer, A.D., Granett, J. et Shebelut, C.W. 1999. **Effect of attack intensity on host utilization in grape phylloxera**. Crop Protection. 18: 341-347.

Pendland, J.C. 1982. **Resistant structures in the entomogenous hphomycete, *Nomuraea rileyi*: an ultra structural study**. Can. J. Bot. 60: 1569-1576.

Pfeifer, T.A. et Khachatourians, G.G. 1993. **Electophoretic karyotype of the entomophatogenic deuteromycete *Beauveria bassiana***. J. Inv. Pathol. 61, 231-235.

Poprawski, T.J et Wraight, S.P. 2000. **Application and evaluation of entomopathogens in vegetable row crops: Potato**. In: Field manual of techniques in invertebrate pathology. Ed. by Lacey LA,Kaya HK, Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 371-388.

Ramoska, W. A. 1984. **The influence of relative humidity on *Beauveria bassiana* infectivity and replication in the ching bug, Blissus leucopterus**. J. Invertebr. Pathol. 43: 389-394.

Rancourt, B., Vincent, C. et Oliveira, D. 2000. **Circadian Activity of *Lygus lineolaris* (Hemiptera: Miridae) and Effectiveness of Sampling Technique in Strawberry Fields**. J. Econ. Entomol. 93: 1160-1166.

Rancourt, B., Vincent, C. et Oliveira, D. 2003. **Field evaluation of efficacy and persistance of an insect Vacuum Device against the tarnished plant bug (Hemiptera: Miridae) in a Day-Neutral Strawberry field**. J. Eco. Entomol. 96: 1276-1289.

Ridgway, R. L et Gyrisco, G. 1960. **Studies of the biology of the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris***. J. Econ. Entomol. 53: 1063-1065.

Richard, C. et Boivin, G. 1994. **Maladies et ravageurs des cultures légumières au Canada**. La société d'entomologie du Canada.V. Société Canadienne de phytopathologie. IV 590.

Roberts, D. W. et A. S. Campbell. 1977. **Stability of entomopathogenic fungi**. Misc Publ. Entomol Soc. Am. 10: 19-76.

Sabbahi, R; Merzouki, A et Guertin, C. 2008a. **Efficacy of *Beauveria bassiana* against the strawberry pests, *Lygus lineolaris*, *Anthonomus signatus* and *Otiorhynchus ovatus***. J. Appl. Entomol. In presse.

Sabbahi, R; Merzouki, A et Guertin, C. 2008b. **Efficacy of *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. against the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* L., in strawberries**. J. Appl. Entomol. 2:124-134.

Saccardo, P.A. 1886. **Sylloge fungorum omnium huscusque coynitroum**. Pavia 4.

SAS Institute, 1996: **SAS/STAT User's Guide, Version 6.12. North Carolina**: SAS Institute.

Silvy, C. et Riba, G. 1989. **Biopesticides contre maladies, insectes, mauvaise herbe**. Dossier de l'environnement N° 19, 157-201.

Slaymaker, P.H et Tugwell, N.P. 1982. **Low-labor method for rearing the tarnished plant bug (Hemiptera:Miridae).** J. Econ. Entomol. 75: 487-488.

.

Snodgrass GL, Elzen GW, 1994. **Efficacy of Naturalis-L for adults and nymphs of the tarnished plant bug in cotton.** Proceedings/Beltwide Cotton Conferences, Memphis. 2: 1103-1104.

Snodgrass G.L, 1996. **Insecticide resistance in field population of tarnished plant bug (Hetroptera: Miridae) in cotton in the Mississippi Delta.** J. Econ. Entomol. 89, 1053-1059.

St Leger, R.J. 1993. **Biology and mechanisms of insect-cuticule invasion by deuteromycete fungal pathogens**. In: Parasites and pathogens of insects (Vol. 2). Beckage NE, Thompson SN, Federici BA (eds.). Academic Press Inc., New York, USA. 211-225.

Starnes, R. J; Liu, C. L. et Marone P. G. 1993. **History, use and future of microbial insecticides**. Am. Entomol. 39: 83-91.

Southwood, T.R.E. 1978. **Ecological methods with particular reference to the study of insect populations, 2nd ed.** Chapman and Hall, London. 524 pp.

Statistique canada. 2002. **Production de fruits et légumes**. Catalogue 22-003-XIB. Vol. 71. # 1. ISSN 1480-7602.

Statistique Canada. 2006. **De la vigne à la coupe : la production de raisins et du vin au Canada.** No 11-621-MIF2006049 au catalogue, ISSN : 1707-0511

Steinkraus, D.C. et N.P. Tugwell, 1997. ***Beauveria bassiana* (Deuteromycotina: Moniliales) Effects on *Lygus lineolaris* (Hemiptera:Miridae).** J. Entomol. Sci. 32: 79-90

Stewart, R.K. et Khoury. 1976. **The biology of *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) (Hemiptera: Miridae) in Québec**. Ann. Entomol. Soc. Québec. 21: 52-63.

Subramanian, C.V. 1983. **Hyphomycetes: taxonomy and biology**. Accademic Press. New York, 28p.

Tadela, T. et Pringle, K.L. 2003. **Food consumption by *Chilo partellus* (Lepdidoptera: Peralidae) larvae infected with *Beauveria basssiana* and *Metharizium anisopliae* and effects of feeding natural versus artificial diets on mortality and mycosis.** J. Inv. Pathol. 84: 220-225.

Talaei, H.R; Kharazi, P.A; Goettel, M. et Mozaffari, J. 2006. **Variation in virulence of Beauveria bassiana isolates and its relatedness to some morphological characteristics**. Biocontrol. Sci. Technol, 525-534.

Takuji, N et Strickler, K, 2000. **Effects of *Beauveria bassiana* on *Lygus hesperus* (Hemiptera: Miridae) feeding and oviposition**. Environ. Entomol. 29: 394–402.

Talbot, P.H.B. 1971. **Principes of Fungal Taxonomy**. Mac Millian, Press, London.78p

Todorova, S,I., Côté J.C., Martel, P. et Coderre, D. 1994. **Heterogeneity of two *Beauveria bassiana* strains revealed by biochemical tests, protein profiles and bioassays on *Leptinotarsa decemlineata* (Col: Coccinelidae) larvae**. Entomophaga. 39: 159-169.

Todorova, S.I., Côté, J.C. et Coderre, D. 1996. **Evaluation of the effects two *Beauveria bassiana* (Balsamo) vuillemin srtains on the development of *Coleomegilla maculatae lengi* Timberlake (col, Coccinellidae)**. J. Appl. Ent. 120: 159-163.

Todorova, S.I. 1998. **Caratérisation et utilisation de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin dans les programmes de lutte biologique**. Thèse de Doctorat. Université du Québec à Montréal.

Todorova, S.I., Cloutier, C., Côté, J.C. et Coderre, D. 2002a. **Pathogenicity of six isolates of *Beauveria bassiana* (balsamo) vuillemin (Deuteromycotina, hyphomycetes) to *Perillus bioculatus* (Hem: Pentatomidae)**. J. Appl. Ent. 126: 182-185.

Todorova, S.I., Coderre, D., Côté, J.C. et Vincent, C. 2002b. **Screening of *Beauveria bassiana* (Hyphomycetes) isolates against *Choristoneura rrosaceana* (Lepidoptera : Tortricidae)**. Cand. Entomol. 134 : 77-84.

Traoré, D., Vincent, C. et R.K. Stewart 1998. **Circadian activity of Smicronyx guineanus Voss and Sm. umbrinus Hustache (Coleoptera:Curculionidae), potential biocontrol agents of Striga hermonthica (Del.)Benth. (Scrophulariaceae) in Burkina Faso (West Africa).** Ins. Sci. Applic.18: 205 210.

Trudel, R., Lavaller, R., Guertain, C., Cote, C., Todorova, S., Alfaro, R. et Kope H. 2007. **Potentiel de Beauveria bassiana (Hyphomycetes: Moniliales) pour le contrôle du charançon du pin blanc, Pissodes strobi (Col., Curculionidae). J. App.Entomol. 8 :90-97**

Vey, A.J., Fargues, J. et Robert, P., 1982. **Histological and ultrastructural studies of factors determining the specificity of pathotypes of the fungus Metarhizium anisopliae for scarabeid larvae**. Entomophaga 27: 387-397.

Viaud, M., Couteaudier, Y., Levis, C. et Riba, G. 1996. **Genome organization in *Beauveria bassiana*: electrophoretic Karyotyp gene mapping, and toleomeric fingeropint**. Fungal Genet. Biol. 20: 175-183.

Vincent, C. et Lachance, P. 1993. **Evaluation of a tractor-propelled vacuum device for the management of tarnished plant bug populations in strawberry plantations.** Environ. Entomol. 22 : 1103-1107.

Vincent, C et Panneton, B. 2001. **Les méthodes de luttes physiques comme alternatives aux pesticides**. Vertigo, la revue en sciences de l'environnement sur le WEB, Vol 2 No 2. http://www.vertigo.uqam.ca/vol2no2/art4vol2n2.

Vincent, C., Lasnier, J et Bostanian, N. J. 2002. **La viticulture au Québec**. Comptes rendus issues des résultats non-publiés de projets de recherche, sur les différents ravageurs de la culture de la vigne (*Bostanian et al.*, 1997-2000).

Wayne, N.D. 1989. **The tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Palisot de Beauvois) in conifer nurseries (Heteroptera: Miridae)**. Entomol Circular No.320. 98-101p.

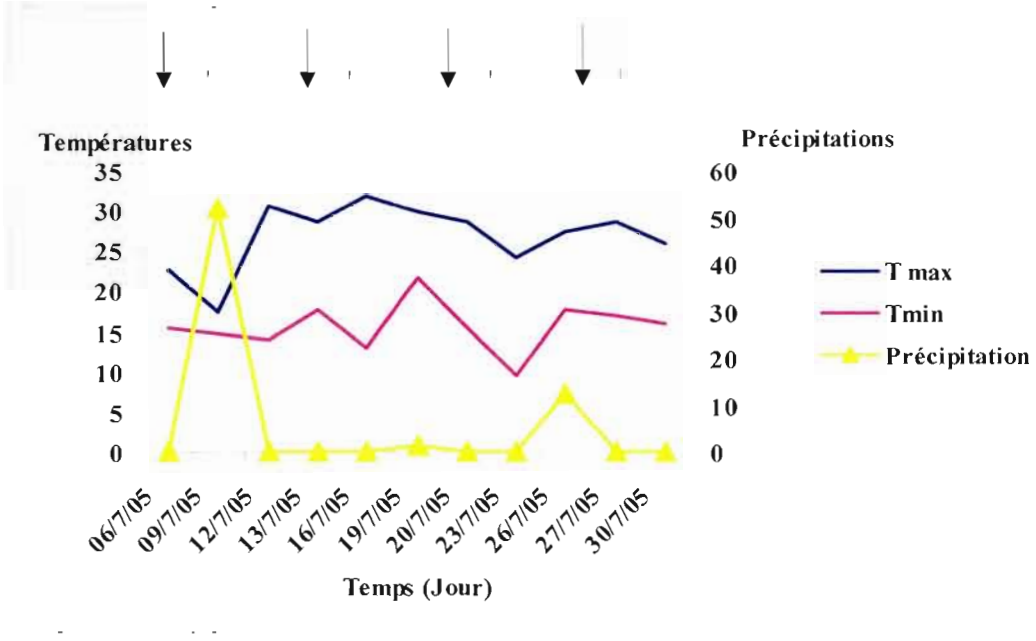
Weiser, J. 1972. ***Beauveria* Vuill**. In. Nemoci hmyzu. Naklad. Ceskoslov. Akademie, parapha. 361-377p.

Wraight, R. J. et Roberts, D. W. 1987. **Insect control effort with fungi**. Devel. Industr. Microbiol. 28: 77-87.

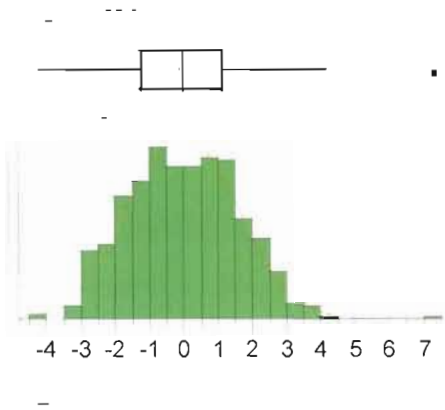
Young, O.P. 1986. **Host Plants of the tarnished plant bug, *Lygus lineolaris* (Heteroptera: Miridae).** Ann . Entomol. Soc. Am. 79: 747-762.

Zerouala, L. 2006. **La culture de la vigne au Québec. Agriculture, Pêcheries et Alimentation.** http://www.agrireseau.qc.ca/petitsfruits/documents. 227p

Annexe



Annexe 1. Variation des paramètres (précipitations et températures) en fonction du temps durant les quartes semaines de l'expérience (⟶ Application).

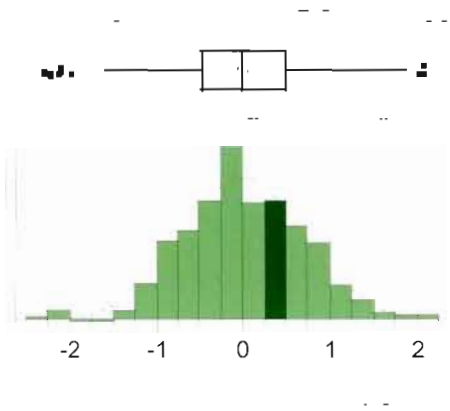


Goodness-of-Fit Test

Shapiro-Wilk W Test

W	Prob<W
0,984513	**0,3373**

Annexe 2. Vérification des conditions de normalité de l'activité insecticide des conidies de *B. bassiana* et du cyhalothrin-λ sur *L. lineolaris* par le teste de Shapiro-Wilk.

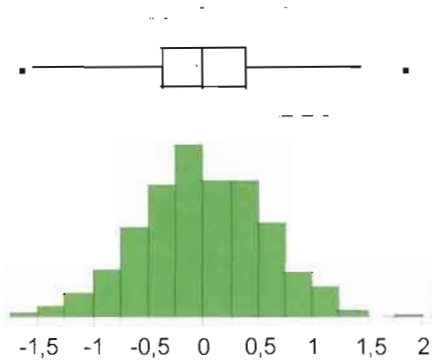


Goodness-of-Fit Test

Shapiro-Wilk W Test

W	Prob<W
0,981061	**0,0845**

Annexe 3. Vérification des conditions de normalité de la persistance des conidies de *B. bassiana* sur les feuilles de vigne par le teste de Shapiro-Wilk.

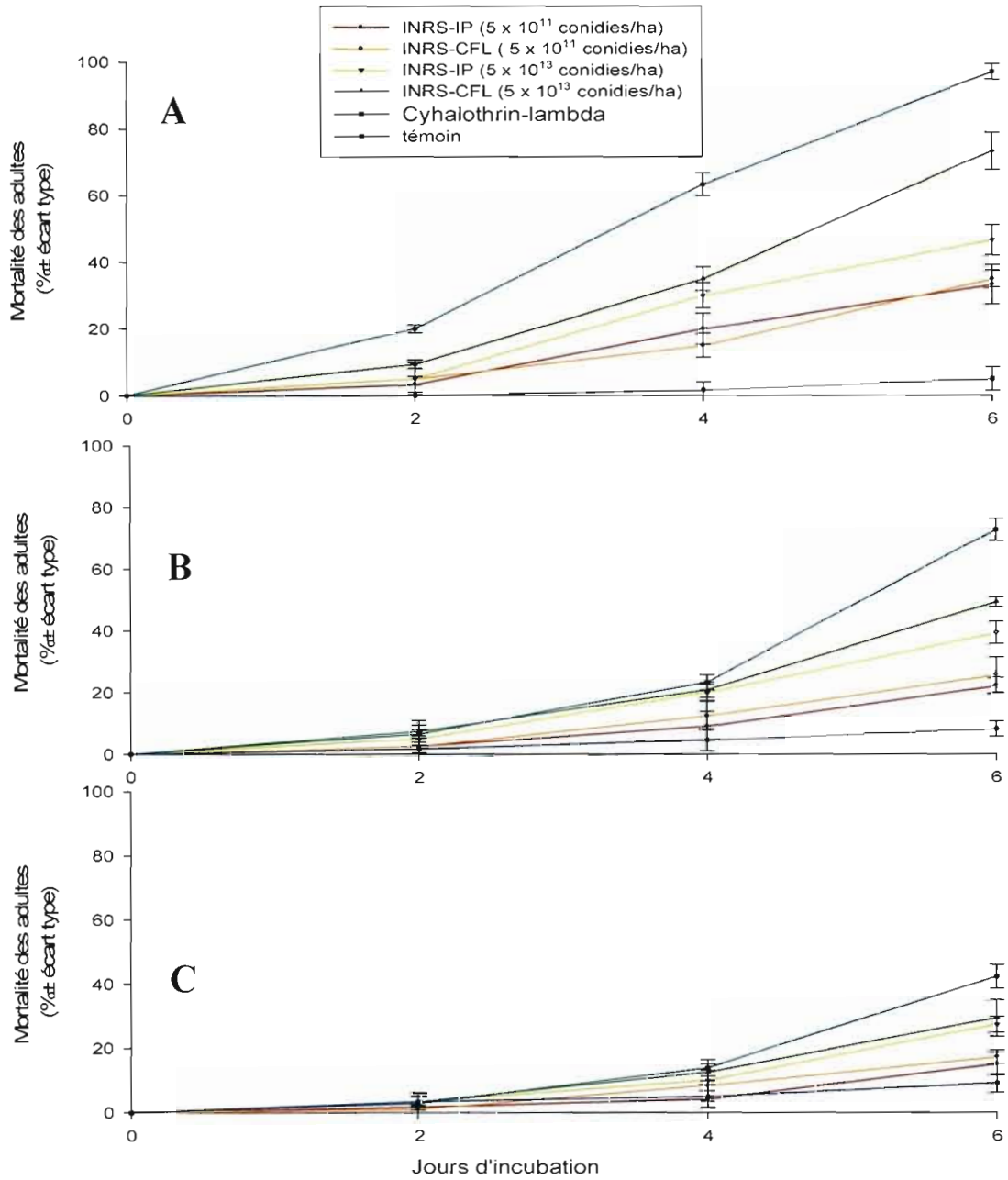


Goodness-of-Fit Test

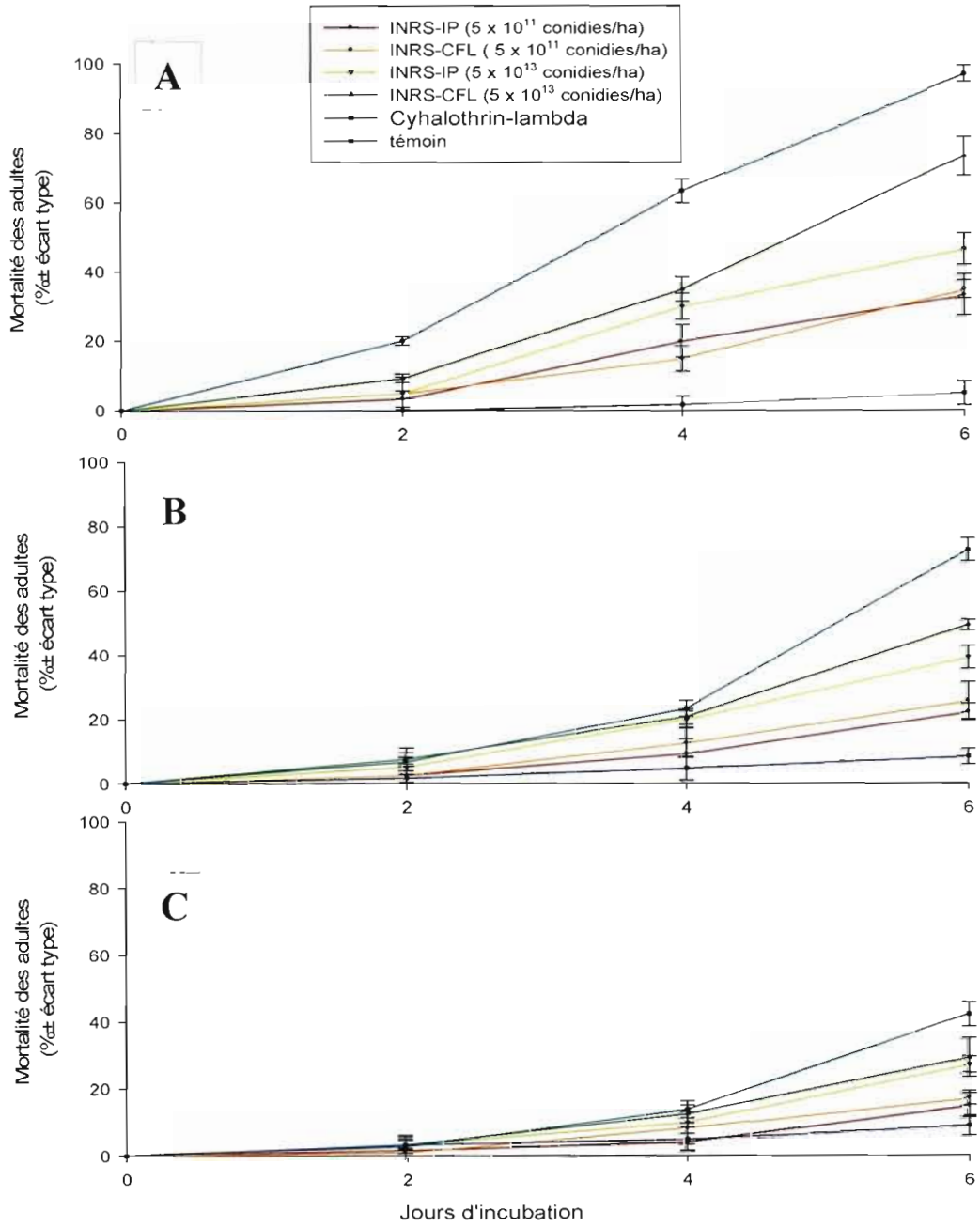
Shapiro-Wilk W Test

W	Prob<W
0,988252	**0,8580**

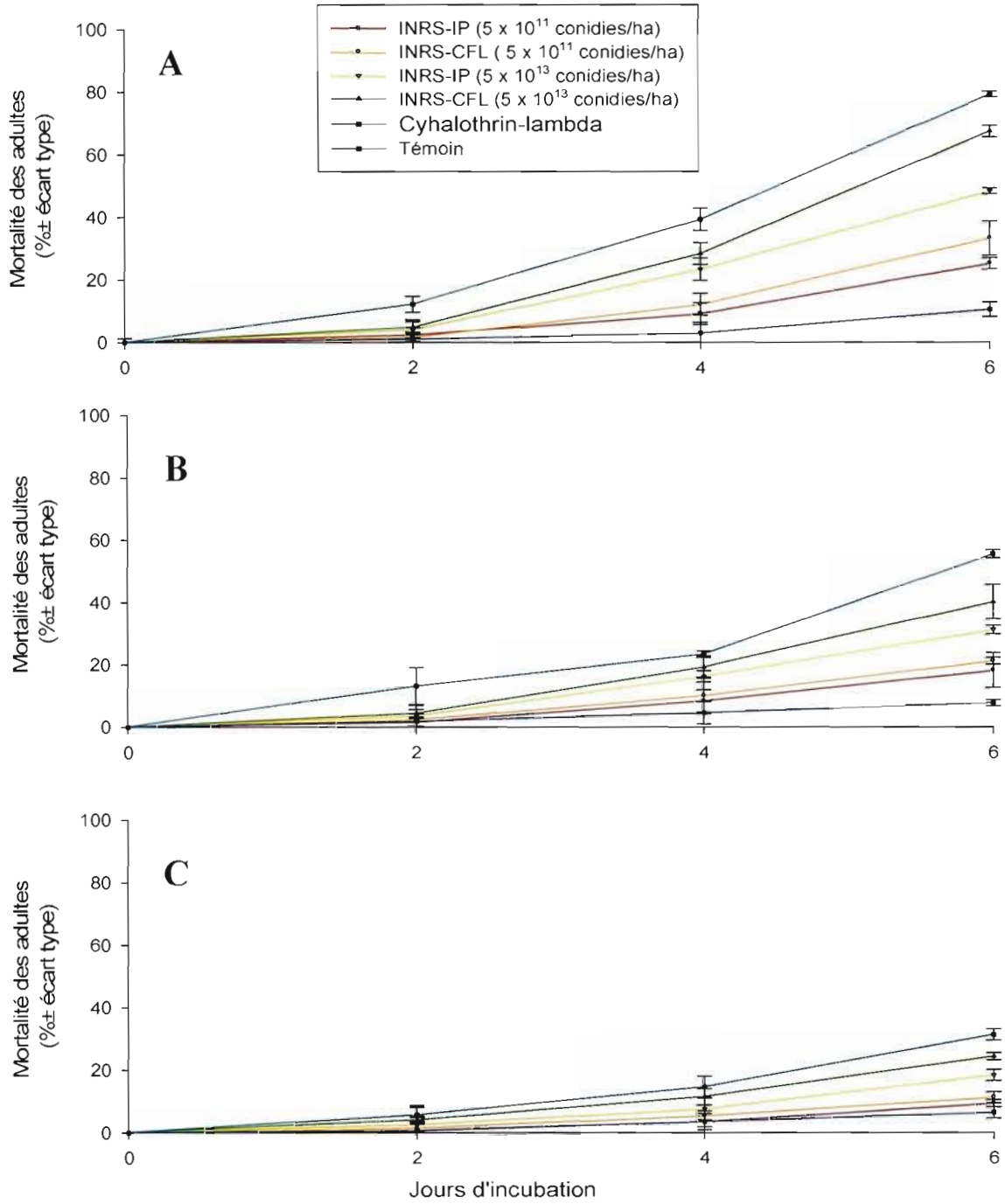
Annexe 4. Vérification des conditions de normalité du suivi de la survie des populations nymphales de la punaise terne suite aux pulvérisation de *B. bassiana* par le teste de Shapiro-Wilk.



Annexe 5. Mortalité des adultes de *Lygus lineolaris* exposés aux feuilles traitées par les isolats INRS-CFL et INRS-IP de *B. bassiana* et par le cyhalothrin-λ durant la semaine 2 (A : récolte 1; B : récolte 2 et C : récolte 3).



Annexe 6. Mortalité des adultes de *Lygus lineolaris* exposés aux feuilles traitées par les isolats INRS-CFL et INRS-IP de *B. bassiana* et par le cyhalothrin-λ durant la semaine 3 (A : récolte 1; B : récolte 2 et C : récolte 3).



Annexe 7. Mortalité des adultes de *Lygus lineolaris* exposés aux feuilles traitées par les isolats INRS-CFL et INRS-IP de *B. bassiana* et par le cyhalothrin-λ durant la semaine 4 (A : récolte 1; B : récolte 2 et C : récolte 3).