

## Biopesticides: Alternatives à la lutte chimique ?

El Guilli M<sup>1</sup>., Achbani E<sup>1</sup>., Fahad K<sup>1</sup>., Jijakli H<sup>2</sup>.

<sup>1</sup>Institut National de la Recherche Agronomique Maroc

<sup>2</sup>Faculté des Sciences agronomiques de Gembloux Belgique

### Résumé

*Les interventions phytosanitaires présentent des effets néfastes sur l'environnement et favorisent le développement de souches résistantes aux matières actives utilisées. Face à ces problèmes et à l'attitude des consommateurs sensibilisés aux problèmes de santé liés aux résidus de pesticides dans les denrées alimentaires et exigeant des produits de qualité, de nouvelles stratégies de protection vis-à-vis des parasites des cultures, basée sur l'utilisation de biopesticides tentent d'émerger et visent à assurer une rentabilité pour l'agriculteur et éviter les effets négatifs sur l'environnement.*

*Parmi les travaux relatifs, à ce sujet, entrepris au niveau de l'INRA, cette communication traite ceux concernant deux secteurs d'importance économique pour le pays: les agrumes et le pommier qui sont confrontés au recours systématique à l'usage de pesticides. Nos recherches ont porté, d'une part, sur la mise au point de biopesticides à base de microorganismes contre les agents responsables des pourritures des fruits d'agrumes et de pommes en post-récolte et d'autre part sur l'exploitation des extraits naturels de plantes comme bioinsecticides contre la mouche méditerranéenne (*Ceratitis capitata*).*

### Introduction

Avec les systèmes de production agricoles intensifs, les populations des organismes nuisibles ont tendance à augmenter, ce qui accentue la gravité des dommages infligés aux cultures. Les impératifs de rentabilité qui imposent des rendements élevés et des produits de qualité, dans ces systèmes, font de la protection des plantes une activité vitale. La maîtrise de ces parasites n'est accomplie qu'au prix d'interventions phytosanitaires fréquentes. Celles-ci présentent, par contre, des effets néfastes sur l'environnement et favorisent le développement de souches résistantes. La prise de conscience du coût environnemental de ces pratiques et les craintes des consommateurs du danger que peuvent constituer les résidus de pesticides pour la santé humaine font naître un intérêt grandissant pour d'autres alternatives de lutte.

Parmi les alternatives envisagées, les laboratoires de recherche se penchent, depuis plusieurs années, sur les moyens de lutte biologiques qui visent à contrôler les agents pathogènes par des biopesticides dont un grand nombre a été développé dans différents laboratoires. Cependant, peu d'entre eux a pu franchir les dernières étapes d'homologation et de commercialisation. Comparé au nombre de molécules de synthèse, le nombre de biopesticides homologués reste très faible. De ce fait, l'emploi des biopesticides, en agriculture, constitue-t-il une option réaliste?

En effet, la lutte biologique contre les maladies des plantes en plein champ s'est avérée souvent moins efficace que la lutte chimique. La viabilité et la croissance de l'agent de lutte biologique sont très souvent dépendantes des conditions du milieu, notamment, les fluctuations climatiques telles que la température, l'humidité et les radiations UV. Ce qui se traduit par un manque de compétitivité économique des biopesticides par rapport aux pesticides de synthèse.

Cependant, certaines situations permettent à la lutte biologique de combler ses limites. La conservation des fruits constitue, en effet, un domaine d'application privilégié de la lutte biologique où elle peut être utilisée avec un minimum de risque d'échec. Ce domaine est, en fait, caractérisé par :

- Un faible nombre de nouveaux fongicides développés pour les traitements en post-récolte;
- Les paramètres importants affectant le biocontrôle, c'est-à-dire la température et l'humidité relative sont constants et sous contrôle strict;
- Le matériel végétal visé possède une haute valeur ajoutée;
- Une facilité d'application sur une surface facilement accessible.

Au niveau national, les maladies de conservation constituent une contrainte majeure surtout pour les secteurs des fruits et légumes dont certains ont une grande importance économique pour l'agriculture du pays.

Sur les agrumes, par exemple, les pourritures à *Penicillium* sont les plus fréquentes. Leurs attaques persistent durant toute la campagne agrumicole. Pour faire face à ces maladies, l'utilisation de fongicides dans les chaînes de conditionnement est devenue depuis longtemps une opération de routine. Cependant, leur utilisation intensive a été à l'origine de l'apparition de souches résistantes. En effet, *Penicillium italicum* et *P. digitatum* ont développé une résistance particulièrement aux benzimidazoles. En outre, l'utilisation intensive de l'imazalil, comme produit de remplacement, a également réduit la sensibilité de *P. digitatum* à ce fongicide. Par ailleurs, la plupart des pays importateurs d'agrumes ont adopté des législations très strictes vis-à-vis des résidus de pesticides tolérés sur les fruits en imposant des LMR de plus en plus faibles. Ainsi, le développement d'une alternative constitue une priorité pour ce secteur.

Les maladies de conservation causent des pertes, également, au niveau du secteur des pommes. En effet, la production de pommes entreposées dans les frigos subit malheureusement des détériorations suite aux problèmes phytosanitaires. Les pertes peuvent atteindre voire dépasser 30% et sont occasionnées, essentiellement, par des maladies d'origine fongique tels que *Botrytis cinerea*, *Penicillium expansum*. En outre, *P. expansum* peut produire une mycotoxine « la paturine » dangereuse pour la santé humaine.

Parmi les ravageurs suscitant beaucoup d'intérêt à l'échelle nationale et internationale: la cératite, *Ceratitis capitata*, encore appelée mouche méditerranéenne des fruits, est l'insecte qui cause le plus de dégâts aux fruits et aux légumes charnus et sa présence peut être fatale pour la production fruitière. Son danger réside surtout dans l'absence d'ennemis naturels efficaces contre cette espèce. Par conséquent, sa maîtrise au sein des vergers exige des traitements chimiques polluants, souvent à base du malathion dont les méfaits sur l'environnement sont énormes. Les traitements dirigés contre la cératite peuvent atteindre 14 par an et sont à l'origine de la présence de résidus sur les fruits. D'où l'intérêt de trouver d'autres alternatives, non polluantes, et efficaces contre la cératite.

Dans ce contexte, nos recherches ont porté sur la mise au point de biopesticides à base de microorganismes contre les agents responsables des pourritures des fruits d'agrumes et de pommes en post-récolte. Dans cette communication sont présentés également les résultats de l'utilisation d'extraits naturels de plantes (Bio-insecticides) vis-à-vis de la mouche méditerranéenne.

## Résultats et Discussion

### 1. Elaboration de biopesticides en post-récoltes des fruits d'agrumes et des pommes

Au cours de cette élaboration de biopesticides les étapes suivantes ont été étudiées:

- L'isolement et la sélection des agents de lutte biologique avec une activité de protection élevée et stable au cours du temps vis-à-vis des agents pathogènes cibles sur fruits d'agrumes et des pommes.

- La détermination des conditions de production en masse des agents de lutte biologique qui n'affectent pas leur activité de protection.
- L'étude des modes d'action des agents de lutte biologique sélectionnés
- Le développement de méthode de traçage et étude de l'écologie des agents de lutte biologique sélectionnés.
- La conduite d'essais en conditions pratiques

### 1.1 Isolement et sélection des agents de lutte biologique

L'isolement et la sélection d'un agent de lutte biologique sont les deux premières étapes qui conditionnent la réussite des étapes ultérieures du développement d'un biopesticide (Jijakli, 2003). Comme l'agent de lutte biologique devrait être adapté aux conditions qui règnent à la surface du fruit à protéger, les isollements ont été réalisés à partir de la microflore associée aux fruits. Il s'est déroulé selon la méthodologie de Wilson et al. (1993). Sur agrumes, plusieurs micro-organismes ont été isolés. Après plusieurs criblages un seul antagoniste a été retenu pour la suite des travaux. Il s'agit de la souche de levure Z1 (Figure 1).

Sur pommes, une souche est retenue, 1113-5, identifiée comme étant *Aureobasidium pullulans* (de Bary) Arn.v. pullulans (Figure 2).

L'identification des souches sélectionnées pour les deux types de fruits a été réalisée au niveau de la BCCM/MUCL, Louvain-la-neuve, Belgique.



Figure 1: Activité antagoniste de la souche Z1 sur *P. italicum* sur blessures co-inoculées de la variété *Vernia*

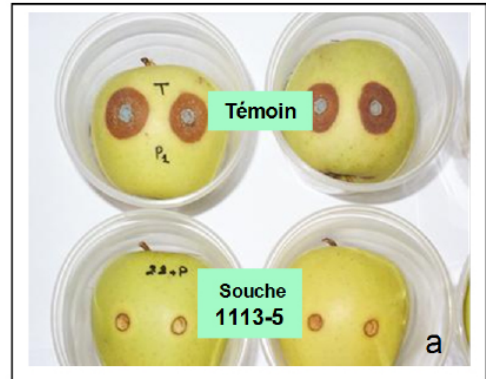


Figure 2: Activité antagoniste de la souche 1113-5 d'*A. pullulans* sur *P. expansum* sur blessures co-inoculées des pommes *Golden Delicious*.

## 1.2 Détermination des conditions de production en masse des antagonistes retenus

La production et la formulation doivent aboutir à un produit qui possède plusieurs caractéristiques essentielles: stabilité pendant le stockage, facilité de préparation et d'application avec le matériel standard dont dispose l'agriculteur. Le coût de revient devrait être compatible avec les exigences de rentabilité du producteur de la souche et de la filière de production. De ce fait, les propriétés technologiques liées à l'agent de lutte biologique devraient être évaluées et constituent, en fait, un autre critère de sélection.

### 1.2a: Pour la souche Z1

Des essais de production ont été effectués, en petit volume, sur fermenteur de capacité de 2 litres. Le milieu de culture utilisé lors de ces nouveaux essais contient en plus des sources de carbone (glucose) et d'acides aminés (extrait de levure, peptone de soja), des sels minéraux (solution de sels minéraux et des facteurs de croissances ou vitamines (solution de vitamines).

La technologie de production en feed-batch a été appliquée. En effet, ce type de culture a permis d'augmenter la productivité de fermentation production de biomasse par rapport au système batch.

### 1.2b: Pour la souche antagoniste 1113-5

Les meilleures performances de production ont été obtenues également avec une culture en mode feed-batch avec pH du milieu contrôlé à 5. La technique de séchage en lit fluidisé est exploitée pour séchage de la levure antagoniste. La température de séchage choisi c'est 30°C, la mieux favorisée par la levure et le débit d'air est de 150-60 m<sup>3</sup> h<sup>-1</sup>. Le produit final se présente sous forme de granules de 1 mm de diamètre. Une optimisation des procédés de production et formulation avec une diminution de l'humidité résiduelle (HR) du produit final séché jusqu'à 5% a été réalisée. Le suivi du maintien de la viabilité des souches a été réalisé au cours du temps de stockage à 4°C, a montré une bonne stabilité des produits. De même il y'a eu une bonne conservation de l'efficacité des produits formulés après que ils ont été évalués pour son activité antagoniste contre les agents pathogènes cibles: *P. expansum* agent de la pourriture bleue sur pommes et *P. italicum*; *P. digitatum* sur fruits d'agrumes (Tableau 1).

**Tableau 1: Evaluation de l'efficacité du produit séché à base d'*A. pullulans* 1113-5 conservé 3 mois à 4°C vis-à-vis de *P. expansum* (Essai pilot à 25°C). Lecture après 5 jours d'incubation à 25°C**

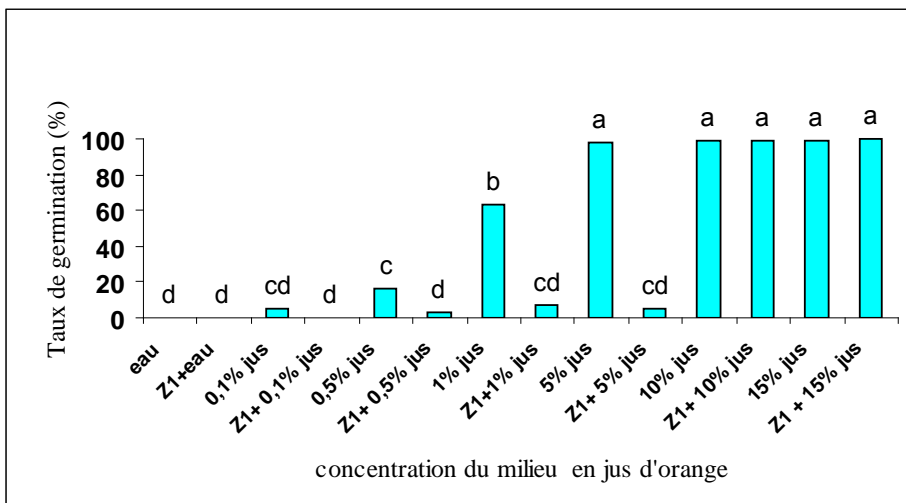
| Traitement                                      | Paramètre             | Moyenne | E-T  | % Protection |
|---|-----------------------|---------|------|--------------|
| T0 : Témoin                                     | % fruits infectés     | 85.01   | 2.49 |              |
|   | % blessures infectées | 51.71   | 3.06 |              |
| T1 : 1×10 <sup>6</sup> u.f.c. .ml <sup>-1</sup> | % fruits infectés     | 15.71   | 3.72 | 84.29        |
|   | % blessures infectées | 5.05    | 0.76 |              |
| T2 : 1×10 <sup>7</sup> u.f.c. ml <sup>-1</sup>  | % fruits infectés     | 7.85    | 1.86 | 92.15        |
|   | % blessures infectées | 2.52    | 0.80 |              |
| T3 : 1×10 <sup>8</sup> u.f.c. ml <sup>-1</sup>  | % fruits infectés     | 3.33    | 0    | 96.67        |
|   | % blessures infectées | 1.11    | 0.48 |              |

### 1.3 Etude des modes d'action

Les agents de lutte biologique exercent leur activité antagoniste par le biais d'au moins un des mécanismes d'action suivants: Compétition pour l'espace ou pour les éléments nutritifs, Antibiose, Mycoparasitisme, Induction des mécanismes de résistance chez le fruit. La connaissance des modes d'action revêt une importance cruciale pour réussir le développement d'une stratégie de contrôle biologique efficace en post-récolte et pour avoir les informations nécessaires dans le processus d'homologation.

a) Pour la souche Z1 la compétition pour les nutriments notamment les acides aminés a été mise en évidence

Pour démontrer si les agents de lutte biologique agissent par compétition pour les nutriments, nous avons utilisé la méthode de Janiesiewicz et al., (2000). L'effet de la souche Z1 sur la germination des conidies de *P. italicum* a été étudié dans un système de plaques de culture avec inserts, en utilisant un milieu au jus d'orange ou de pommes à différentes concentrations. Ce dispositif sépare physiquement les deux micro-organismes. L'agent pathogène a été mis dans un cylindre et la souche Z1 dans un puit. Ils ont été séparés par un filtre qui ne permet le passage que des nutriments. Afin de mettre en évidence la production d'éventuels composés antibiotiques par la souche Z1, une co-culture avec l'agent pathogène a été réalisée sur boîte de Pétri à deux températures d'incubation 4 et 25 °C. Le même procédé a été utilisé pour la souche Ach1113-5. La germination des spores de l'agent pathogène a été évaluée sous microscope dans un milieu de culture amendé avec différentes quantités de jus d'orange naturel. Comme c'est illustré dans la figure 3, la présence de la souche Z1 inhibe la germination des spores de l'agent pathogène. L'inhibition est levée dès qu'on ajoute du jus d'orange au milieu. Après le retrait de la souche Z1 du milieu, la germination des conidies est restaurée (Tableau 2). Ces résultats laissent supposer que cette souche agit par compétition pour les nutriments.



**Figure 3: Germination des conidies de *P. italicum* sur membrane après 24h d'incubation dans de l'eau amendée avec différentes quantités de jus d'oranges, en présence ou en l'absence de la souche Z1**

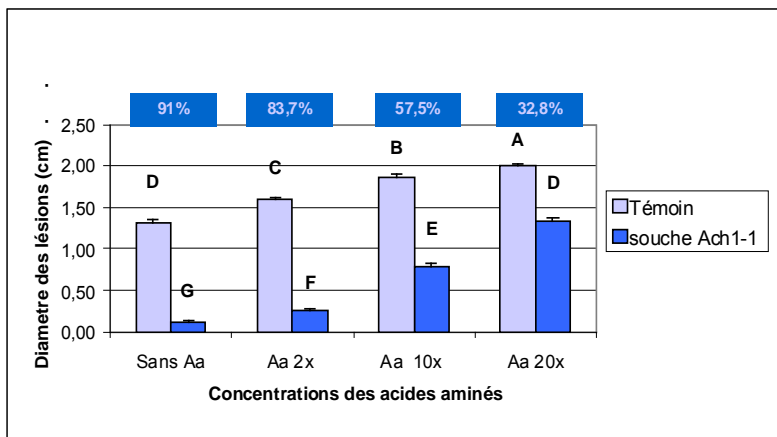
**Tableau 2: Restauration de la faculté germinative des conidies de *P. italicum***

| Traitement         | % de germination |
|--------------------|------------------|
| Eau                | 0                |
| 0.1 % jus d'orange | 16               |
| 0.5 % jus d'orange | 19               |
| 1 % jus d'orange   | 56               |
| 5 % jus d'orange   | 100              |

Pourcentage des conidies de *P. italicum* déjà mises en culture dans une suspension d'antagoniste Z1 et du jus d'orange pendant 24 heures puis remise dans de nouvelles conditions nutritionnelles.

b) Pour la souche *A. pullulans* la compétition pour les nutriments notamment les acides aminés a été mise en évidence

L'ajout d'un surplus d'éléments nutritifs exogènes aux blessures co-inoculées a significativement réduit l'activité antagoniste de la souche 1113-5. L'importance de la réduction dépend de la nature des éléments ajoutés. D'autres travaux ont étudié l'implication du mécanisme de la compétition pour la nutrition dans l'activité antagoniste d'*A. pullulans* sur pomme en appliquant dans les blessures le milieu Nutrient Yeast Dextrose Broth dont la composition ne correspond pas à celle des tissus de pomme (Lima et al., 1997; Castoria et al., 2001). Par contre, dans notre cas, on a utilisé des concentrations des acides aminés, des vitamines et des sucres correspondant respectivement à 20, 20 et 5 fois celles reportées dans les tissus de pomme (USDA nutrient database for standard reference, release 14, 2001). Selon les essais, la réduction de l'activité antagoniste de la souche 1113-5 la plus importante a été obtenue avec les acides aminés, suivis par des vitamines et en fin par des sucres. Les acides aminés paraissent ainsi être les plus impliqués dans la compétition entre l'antagoniste et le pathogène que les vitamines et les sucres, au moins dans nos conditions de travail.



**Figure 4: Effet de l'ajout des acides aminés à différentes concentrations dans les blessures des pommes sur le diamètre des lésions (cm) développées par *P. expansum* après 5 jours d'incubation en absence (témoin) et en présence d'*A. pullulans*, souche 1113-5 et les pourcentages de protection correspondant (Zone en bleue). Les objets avec les mêmes lettres ne sont pas significativement différents ( $P \leq 0.05$ )**

### 1.4 Développement de méthode de traçage et étude de l'écologie des agents de lutte biologique

L'activité de protection d'un agent de lutte biologique est influencée par les différents facteurs environnementaux. Pour pouvoir étudier l'effet de ces facteurs, le développement d'une méthode de traçage est essentiel. Le Traçage des souches antagonistes permet en outre:

- a) L'évaluation des méthodes d'application de l'antagoniste
- b) L'évaluation de l'adaptation et la survie de l'antagoniste
- c) Exigence éco-toxicologiques

Le traçage de souches antagonistes peut se faire selon deux méthodes: une méthode conventionnelle basée sur la mise au point d'un milieu spécifique (sélectif) à la souche en question et une méthode moléculaire basée sur l'identification de marqueurs moléculaires spécifiques.

a) Traçage conventionnel par la mise au point d'un milieu semi-sélectif pour la souche Z1 et la souche 1113-5

Pour la souche 1113-5: Ce travail nous a permis de retenir une combinaison dite S32 (E 0,5ppm + S 1ppm+ H 2,5ppm + ST 30ppm + C 1ppm) car elle a montré une inhibition très importante contre la microflore de l'air et les eaux de lavage provenant de pommes non traitées.

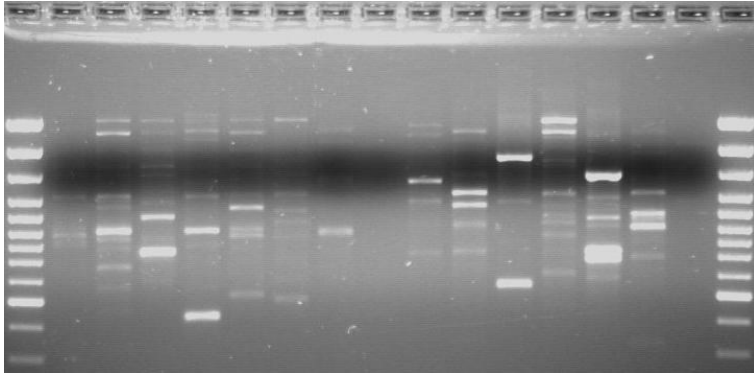
Pour la souche Z1: Le milieu semi-sélectif pour la souche de levure Z1 adopté dans notre étude contient deux matières actives: un fongicide le Thiabendazole, utilisé dans la lutte contre les maladies de post-récolte des fruits d'agrumes au Maroc, et un antibiotique: le tétracycline. Ce milieu a montré qu'il n'est pas toxique pour notre souche de levure Z1, en même temps qu'il ne permet pas le développement des autres micro-organismes (Planche 2).



**Figure 5: Milieu sélectif pour la souche Z1**

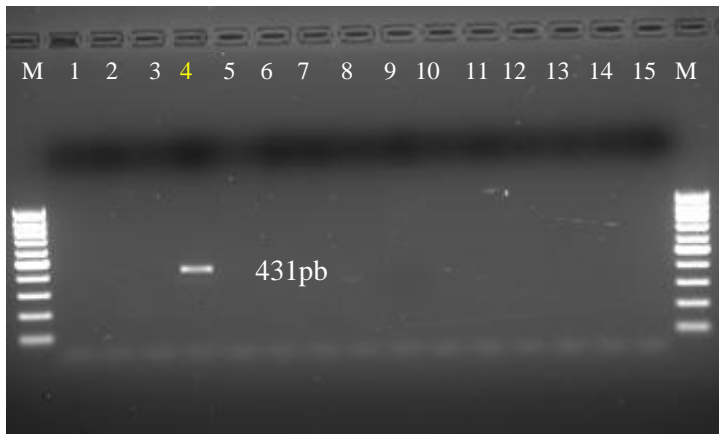
b) Traçage moléculaire

Le traçage moléculaire a permis l'identification de marqueurs RAPD relatifs à la souche 1113-5 et la conception d'un marqueur SCAR: Le marqueur moléculaire RAPD est de 431 pb spécifique à la souche 1113-5 sur les 70 amorces testées (figure 6). La bande de l'amorce en question (OPQ-03) est extraite du gel d'agarose, clonée puis séquencée.



**Figure 6: Analyse par électrophorèse sur gel d'agarose coloré au bromure d'éthidium des produits d'amplification obtenus par RAPD avec l'amorce OPQ-03 sur l'ADN génomique des souches d'*A. pullulans* étudiées. La flèche jaune indique la position de la bande spécifique**

Ach 1-1 (1); Ach 2-1 (2); Ach 2-2 (3); 1113-5 (4); 1113-10 (5); 1206-5 (6); MUCL 19360 (7); MUCL 19714 (8); MUCL 43163 (9); MUCL 7862 (10); MUCL 8724 (11); MUCL 20326 (12); MUCL 6147 (13); MUCL 22377 (14); control négatif (sans ADN) (15); M: marqueur de taille: Generuler™ 100 bp DNA ladder plus (Fermentas).



**Figure 7: Analyse par électrophorèse sur gel d'agarose coloré au bromure d'éthidium des produits d'amplification obtenus par PCR avec le couple d'amorce AQ3.1/AQ3.2 sur l'ADN génomique des souches d'*A. pullulans* étudiées. Les réactions sont réalisées à une température d'hybridation de 60°C**

Ach 1-1 (1); Ach 2-1 (2); Ach 2-2 (3); 1113-5 (4); 1113-10 (5); 1206-5 (6); MUCL 19360 (7); MUCL 19714 (8); MUCL 43163 (9); MUCL 7862 (10); MUCL 8724 (11); MUCL 20326 (12); MUCL 6147 (13); MUCL 22377 (14); contrôle négatif (sans ADN) (15); M: marqueur de taille: Generuler™ 100 bp DNA ladder plus (Fermentas)

Par ailleurs, la mise au point d'un milieu semi-sélectif pour la souche Z1 a été utilisée pour le suivi de l'évolution de la dynamique de population de la souche Z1 aux trois températures d'incubation précitées une fois qu'elle a été appliquée sur les fruits.

L'analyse des courbes de Figure 8 montre que la température de 25°C a permis de récupérer plus de colonies par rapport aux autres températures, durant tous le temps d'incubation suivie des températures 5°C et 35°C.

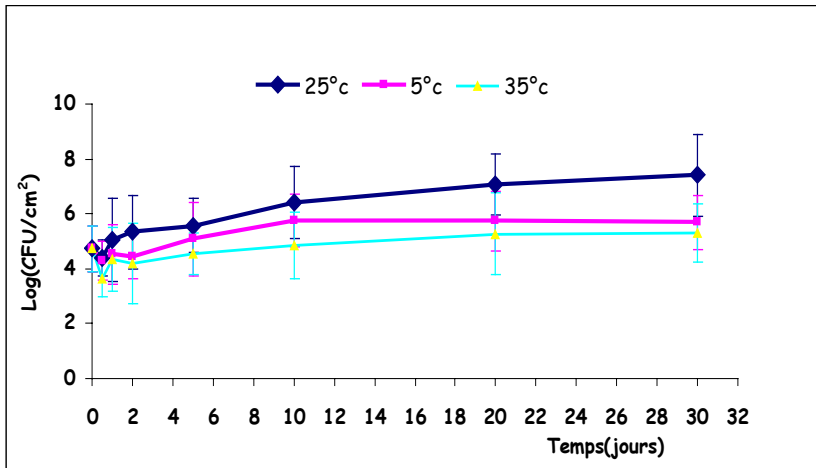


Figure 8: Effet de la température sur la colonisation de la souche de levure Z1 appliquées sur des oranges, conservées à 5°C, 25°C et 35°C.

### 1.5 Conduite d'essais en conditions pratiques

Pour les agrumes les traitements post-récolte ont lieu dans les stations de conditionnement. Les fruits subissent deux traitements un au niveau du Dencher et le second au niveau de la chaîne de conditionnement. Si le premier traitement est suivi d'un lavage intensif, c'est surtout le second traitement qui pose le problème de résidu au niveau des fruits. L'objectif, dans cette étape, est d'évaluer le comportement en conditions pratiques de la formulation en poudre mouillable de la souche Z1, dans le but de voir dans quelle mesure elle pourrait se substituer au deuxième traitement. Les fruits ont été blessés traités et inoculés artificiellement. Les essais ont été entrepris au niveau de stations de conditionnement.

Les résultats obtenus restent satisfaisants en terme du niveau de protection toutefois certains points nécessitent d'être soulignés. Les résultats varient d'un essai l'autre. Pour ce qui est de l'essai effectué à la station Delassus, le niveau de protection obtenu avec la souche Z1 est de 73.5 % alors que pour le traitement de référence (Thiabendazole) il était de 86 %. Par ailleurs l'essai réalisé chez APLAG a permis de ressortir les points suivants: Le niveau de protection réalisé par la souche Z1 est de 89 % alors que le produit de référence est de 100 %. Cependant vis-à-vis de la pourriture verte, le niveau de protection était plus faible 67 % contre 86 % chez le traitement de référence (Imazalili) pour le *P. digitatum*.

## 2. Lutte contre la cératite par des bio-insecticides

La liste des plantes douées d'une activité toxique, a été inspirée de la bibliographie et de notre savoir local. Une fois qu'on a les plantes cibles, à savoir: le piment fort: *Capsicum frutescens* L

(Bouchelta et al., 2003; Bouchelta et al., 2005a), la mélia: *Melia azedarach* (Gilkeson et Adams, 2003; Anonyme, 2006a; 2006b; 2006c), le ricin: *Ricinus communis* L., le laurier rose *Nerium oleander* L. (Bellakhdar, 1997; Aouinty et al., 2006), le chardon à glue *Atractylis gummifera*, l'ail: *Allium sativum* L., le mandragore *Mandragora autumnalis*, on a procédé à l'extraction des matières toxiques contenues dans chaque organe de chaque espèce végétale. Les pupes de la cératite ont été récupérées des fruits infestés par la cératite. Les insectes ont été multipliés dans des conditions semi-naturelles à l'intérieur du laboratoire d'entomologie. Pour l'évaluation de l'activité bio-insecticide d'extraits végétaux sur *C. capitata* Wied (1824), les tests ont été appliqués sur dix adultes d'une même cohorte, âgés d'un à trois jours (Sanna et al., 1999), d'un sex-ratio égal à l'unité, placés dans les mêmes conditions d'élevage (Adebayo et Gbolade, 1994). Une dose de 3ml de chaque produit et de chaque concentration a été mélangée avec 30g de l'alimentation de l'insecte, de façon à enrober complètement toutes les particules alimentaires avec la concentration à tester (Kiendrebeogo et al., 2006). Ces 30g d'appât ont été ensuite déposés à l'intérieur des cages, à côté d'un coton imbibé d'eau. Les interprétations des données ont été basées sur les observations des quatre premiers jours après l'émergence (de 24 à 96 heures).

### **2.1 Produits testés au champ**

Parmi la liste des bio-insecticides étudiés, deux se sont montrés efficaces vis-à-vis des adultes de la cératite dans les conditions du laboratoire, il s'agit de l'extrait de la mandragore et l'huile d'eucalyptus. Ces deux produits ont été retenus pour être essayés au champ.

L'évaluation de leur efficacité des produits en plein champ a été basée sur le suivi par piégeage et la surveillance visuelle. Dans les deux cas, la surveillance a été hebdomadaire.

### **2.2 Suivi par piégeage**

Ce suivi a été basé sur les relevés hebdomadaires du nombre de captures par piège, qui ont été comparés, à chaque fois, au seuil de 21 mâles/piège/semaine. La comparaison des captures a été également faite entre le bloc traité par l'huile d'eucalyptus et celui traité par la mandragore, d'une part, et entre ces deux blocs et ceux non traités (témoins), d'autre part. Ceci, a permis de mettre en relief l'effet de chaque traitement sur le niveau de captures des adultes par rapport aux témoins.

### **2.3 Suivi visuel**

Le suivi visuel consiste au contrôle visuel des piqûres de la cératite dès le début de la véraison jusqu'à la récolte des fruits d'agrumes. C'est un suivi qui vise l'évaluation des taux d'infestation des fruits avant et après traitement par les bio-insecticides utilisés. On a choisi, d'une manière aléatoire, dix arbres de chaque unité élémentaire, soit un total de trente arbres par bloc. Sur chaque arbre choisi, vingt fruits (cinq par orientation) ont été examinés à l'œil nu pour détecter la présence des piqûres de la cératite. Une intervention est jugée nécessaire lorsque le taux d'infestation est de 1%.

### **2.4 Résultats et discussion**

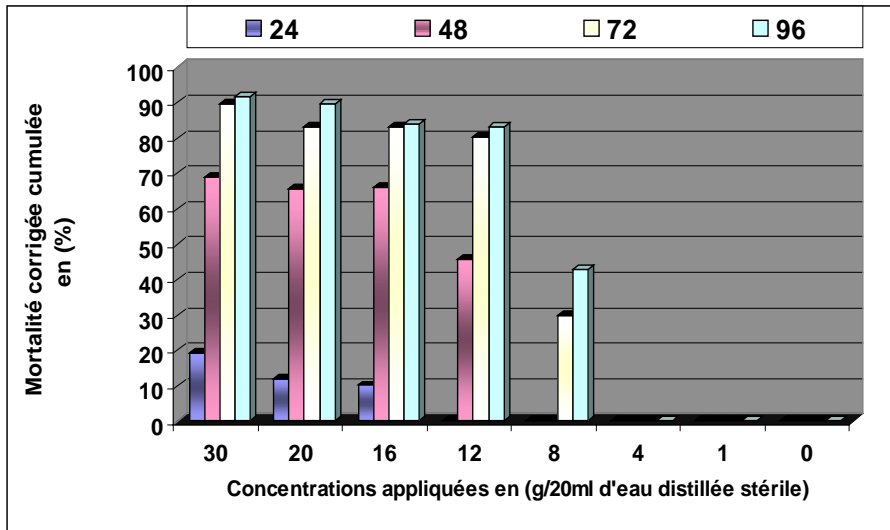
#### **2.4 a. Extraits à effets bio-insecticides vis-à-vis des adultes de la cératite**

##### *Effets bio-adulticides des racines de la mandragore*

Les deux extraits des racines de la mandragore ont manifesté une forte efficacité et une toxicité élevée vis-à-vis des imagos. En effet, au terme de l'expérimentation, l'extrait aqueux des racines de *M. autumnalis* appliqué à la concentration 1.5g/ml d'eau distillée stérile, a provoqué une efficacité avoisinant 92 %, avec une toxicité très élevée. De même, après 96 heures d'exposition, l'efficacité de l'extrait éthanolique des racines de *M. autumnalis*, appliqué à

la même concentration, a été plafonnée à 92%. Les individus empoisonnés par les deux extraits de la mandragore ont manifesté des perturbations du fonctionnement du système digestif. Ces résultats reflètent les propriétés insecticides des deux extraits testés. Ils montrent aussi, que la concentration 1.5 g/ml est idéale pour tuer la quasi totalité des cératites dans les conditions du laboratoire. Les deux extraits semblent potentiellement utilisables pour contrôler la cératite.

La mandragore est une plante endémique disponible partout au Maroc, ceci réduit les coûts de production de l'extrait aqueux de cette plante. Cependant, son efficacité vis-à-vis de la cératite ne pourrait être confirmée qu'après une étude de son effet en verger.



**Figure 9: Evolution chronologique de l'efficacité des différentes concentrations de l'extrait aqueux des racines de *M.autumnalis* vis-à-vis des imagos de *C.capitata***



**Figure 10: un gonflement de l'abdomen et blocage des excréments au niveau de l'anus chez les individus traités par l'extrait aqueux des racines de la mandragore**

### Effets bio-adulticides d'huile d'*Eucalyptus grandis*

L'huile d'*E. grandis* a été plus efficace par rapport aux deux bio-insecticides précédents. Ainsi, au bout d'un jour d'exposition, la concentration 1% a provoqué 80% de morts. Vers la fin des observations, les trois concentrations 1; 0,5 et 0,25% ont engendré respectivement 95; 80 et 65% de morts. Ces résultats, prouvent qu'à court terme la concentration 1% est idéale pour combattre les adultes avant leur maturité sexuelle. Par ailleurs, les conditions naturelles, en particulier la lumière du jour, pourraient modifier l'efficacité des huiles. Ainsi, pour s'assurer de l'innocuité de l'huile d'eucalyptus, un essai en verger a été réalisé.

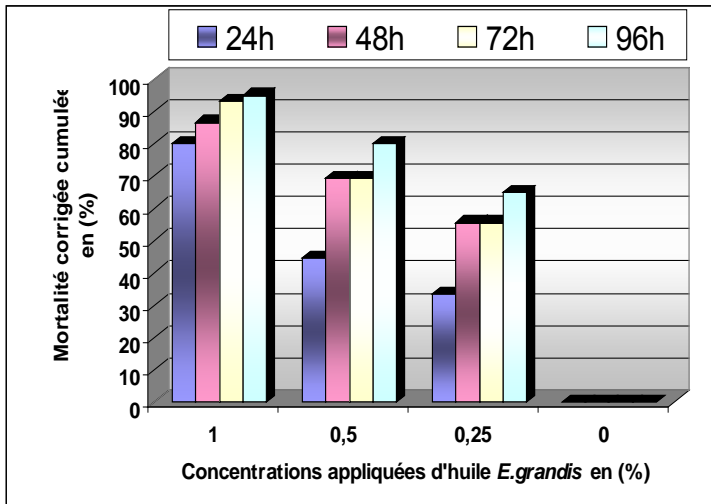


Figure 11: Evolution chronologique de l'efficacité des différentes concentrations de l'huile d'*Eucalyptus grandis* vis-à-vis des imagos de *C. capitata*

### Evaluation de l'efficacité de l'extrait aqueux des racines de la mandragore contre les adultes de la cératite en plein champ

Les résultats de l'essai de lutte par l'extrait aqueux des racines de la mandragore et l'huile d'*E. grandis* confirment leurs effets insecticides. Toutefois, l'application de l'huile d'*E. grandis* a engendré l'apparition des symptômes de phytotoxicité sur les arbres traités, ceci n'encourage pas son utilisation comme bio-insecticide contre la cératite. Par contre, à court et moyen terme, l'extrait aqueux de la mandragore pourrait avantageusement être recommandé dans un programme de gestion intégrée contre ce diptère en verger d'agrumes, surtout en situation de risque de résistance aux insecticides de synthèse.

Par ailleurs, sachant que les extraits de plantes perdent leurs activités biologiques sous les radiations solaires, les modalités d'application et l'impact des facteurs physiques sur la dégradation des composés botaniques pourraient réduire la persistance d'action de cet extrait, à long terme.

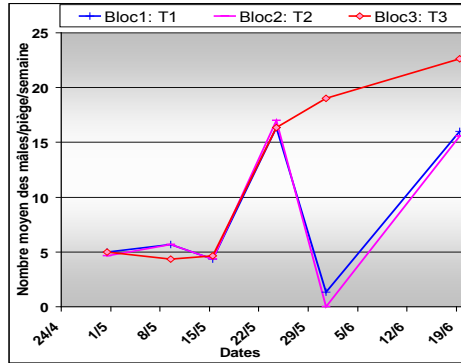


Figure 12: évolution hebdomadaire des captures des mâles dans les trois blocs durant la période allant du 24 avril jusqu'à la deuxième quinzaine de juin 2007

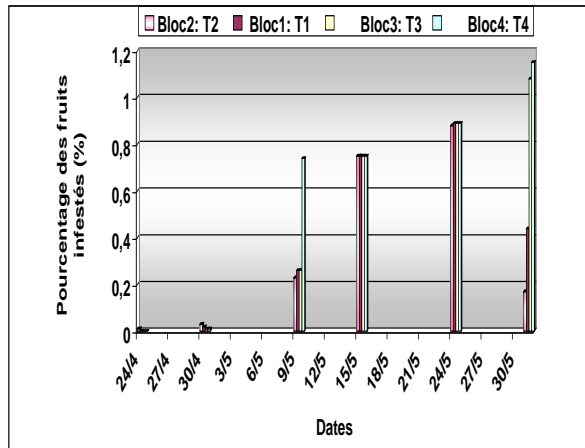


Figure 13: évolution hebdomadaire du taux d'infestation dans les quatre blocs durant la période allant du 24 avril jusqu'à la fin du mois de mai 2007

Avec: B1: T1: traitement par la bouillie des racines de la mandragore. B2: T2: traitement par la bouillie de l'huile d'Eucalyptus. B3: T3: sans traitement. B4: T4: traitement par un insecticide chimique.

## Conclusion

Dans le cadre d'une prise de conscience grandissante d'une tranche de plus en plus importante des consommateurs vis-à-vis des problèmes d'environnement et des risques entraînés par une protection chimique des plantes trop intensive, plusieurs secteurs sont contraints à recourir à des méthodes alternatives répondant aux normes imposées surtout par les marchés d'importation.

Dans ce contexte, nous avons pu sélectionner des agents de lutte biologique performants pour les agrumes et les pommes en conservation. Plusieurs étapes pour le développement de biopesticides à base de ces souches ont été franchies. Les résultats obtenus au niveau des essais pratiques ont donné des résultats satisfaisants. Pour arriver aux mêmes niveaux des fongicides de synthèse, ils nécessitent d'être améliorés. Chose qui est possible dans le cadre d'un programme de recherche sur cet axe.

Cependant, même après leur amélioration, la mise en pratique de ces biopesticides reste difficile surtout dans le contexte marocain actuel et ceci pour les raisons principales suivantes:

a. Absence d'unités industrielles intéressées par la production de biopesticides. En effet, l'investissement dans le développement de biopesticides reste handicapé par l'absence au niveau marocain de mesures pour la protection des souches microbiennes. Cette protection est régie par le traité de Budapest. Le Maroc n'est pas membre de ce traité. En outre, cette protection nécessite l'existence d'une autorité de dépôt de souches qui serait reconnue. Le dépôt des souches à l'étranger reste coûteux.

b. Homologation des biopesticides:

Pour pouvoir appliquer pratiquement ces biopesticides, leur homologation est obligatoire au Maroc mais aussi au niveau des pays d'importation des fruits traités par le biopesticide en question (traçabilité). Le dossier d'homologation nécessite un investissement lourd que seul des unités industrielles spécialisées dans le domaine puissent supporter.

L'utilisation des bio-insecticides botaniques en pratique se heurte principalement au manque de caractérisation des principes actifs qui assurent l'activité de protection. En outre, ces biopesticides peuvent également avoir des méfaits sur la faune auxiliaire. D'autres études sont nécessaires. Mais là aussi l'implication des industriels est importante.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Adebayo T.A. et Gbolade A.A., 1994. Protection of stored cowpea from *Callosobruchus maculatus* using plant product. *Insect. Sci. Applic(ed)*; 15 (2); pp: 185-189.
- Anonyme, 2006a. Insecticides naturels. Petit guide pratique. 14p.
- Anonyme, 2006b. Les biopesticides, Lenntech. 2p. <http://www.lenntech.com/français/feedbackfr.htm>.
- Anonyme, 2006c. Produits biologiques. Beaconsfield, Environnement-Pesticides (ed); 20p.
- Aouinty B., Oufara S., Mellouki F., et Mahari S, 2006. Évaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés: *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *Culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen), *Biotechnol. Agron. Soc. Environ* (ed); 10 (2); pp: 67 – 71.
- Bellakhdar J., 1997. La pharmacopée marocaine traditionnelle. Ibis Press (ed); pp: 337-338.
- Bouchelta A., Boughdad A. et Blenzar A., 2005. Effets biocides des alcaloïdes, des saponines et des flavonoïdes extraits de *Capsicum frutescens* L. (Solanaceae) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*(ed); 9 (4); pp: 259-269.
- Bouchelta A., Blenzar A., Beavougui A.J.P. et Lakhlifi T., 2003. Étude de l'activité insecticide des extraits de *Capsicum frutescens* (Solanacées) sur *Bemisia tabaci* (Gennadius) (Homoptera: Aleyrodidae). *Rev. Méd.Pharm. Afr*(ed); n°17; pp: 19-28.
- Castoria R., De-curtis F., Limi G., Caputo L., Pacifico S., De-Cicco V., 2001. *Aureobasidium pullulans* (LS-30) an antagonist of postharvest pathogens of fruits: study of its mode of action. *Postharvest boil. technol.* 22(1), 7-17.

- Gilkeson L. A. et Adams R.W., 2003. Méthodes à privilégier dans le contrôle des ravageurs IMP manual for landscape pests in BC (ed); 9P. <http://www.elp.gov.bc.ca/epd/epdpa/ipmp/ipm-manuals.htm>.
- Janisiewicz W.J., Tworowski T.J., and Sharer C., 2000. Characterizing the mechanism of biological control of postharvest diseases on fruits with a simple method to study competition for nutrients. *Phytopathology*, 90 (11), 1196-1200.
- Kiendrebeogo M., Ouedraogo A.P. et Nacoulma O.G., 2006. Activités insecticides de *Striga hermonthica* (Del.) (Scrophulariaceae) sur *Callosobruchus maculatus* (Fab.) (Coleoptera: Bruchidae). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ*; 10 (1); pp: 17–23.
- Lima G., Ippolito A., Nigro F., Salerno M. (1997). Effectiveness of *Aureobasidium pullulans* and *Candida oleophila* against postharvest strawberry rots. *Postharvest Biology and Technology*, 10, 169-178.
- Sanna G.P., Bazzord E., Moretti M.D.L et Prota R., 1999. Effects of essential oil formulations on *Certitis capitata* Wied adult flies. *JAE*(ed); n°: 123; pp: 145-149.
- Zhao Y., Tu K., Shao X., Jing W., Su Z. (2008). Effects of the yeast *Pichia guilliermondii* against *Rhizopus nigricans* on tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 49(1), 113-120.
- Zheng X., Yu T., Chen R., Huang B., Chi-Hua Wu V., 2007. Inhibiting *Penicillium expansum* infection on pear fruit by *Cryptococcus laurentii* and cytokinin. *Postharvest Biology and Technology*, 45 (2), 221-227.