

Journal of Applied Biosciences 172: 17849 – 17870
ISSN 1997-5902

Inventaire des espèces de champignons entomopathogènes associées à la cochenille farineuse du manguier *Rastrococcus invadens* (Homoptera : Pseudococcidae) dans la zone sud-soudanienne du Burkina Faso

Nébié Karim[1], Dianda Z. Oumarou[1], Ido Béli[2], Dabiré Anogmain Rémy[1]
[1]Institut de l'Environnement et de Recherches Agricoles, Direction Régionale de Recherches Environnementales et Agricoles de l'Ouest, Station de recherche de Farako-Bâ, 01 BP 910 Bobo-Dioulasso 01
[2]Ministère de l'Agriculture, des Aménagements Hydroagricoles et de la Mécanisation
Auteur correspondant : Nébié Karim, Email : nebkar87@gmail.com

Submitted on 7th February 2022. Published online at www.m.elewa.org/journals/ on 30th April 2022 **https://doi.org/10.35759/JABs.172.1**

RÉSUMÉ
Objectif : La présente étude a eu pour objectif d'identifier les champignons entomopathogènes associés à la cochenille farineuse du manguier (*Rastrococcus invadens*), un insecte ravageur d'importance économique au Burkina Faso.
Méthodologie et résultats : Les cochenilles mortes présentant des symptômes d'infection de champignons ont été collectées sur les manguiers et mises en incubation au laboratoire. La pathogénicité des champignons isolés a été testée sur *R. invadens* au laboratoire, en utilisant pour chaque espèce une concentration de 10^8 spores/ml. Six (06) espèces de champignons ont été isolées : *Aspergillus sp*. 1, *Aspergillus sp*. 2, *Alternaria sp.*, *Curvularia sp.*, *Fusarium sp.* et *Metarhizium sp*. Elles ont été toutes virulentes vis-à-vis de R. *invadens*. Les espèces *Aspergillus sp.* 1 et *Metarhizium sp.* ont causé les plus forts taux de mortalité (12,31% à 100%) avec des TL50 respectifs de 4,89 jours et 3,78 jours.
Conclusion et application des résultats : Les espèces de champignons isolées à partir des individus morts de *R. invadens* sont toutes entomopathogènes vis-à-vis de cet insecte ravageur. Au regard des taux de mortalité élevés obtenus avec *Aspergillus sp.* 1 et *Metarhizium sp*., ces deux espèces peuvent faire l'objet d'investigations complémentaires en vue de mettre au point des biopesticides efficaces contre *R. invadens*. Les souches collectées dans le cadre de cette étude peuvent être testées sur les mouches des fruits qui constituent aussi une contrainte majeure à la production de la mangue au Burkina Faso.
Mots clés : Isolat, champignon entomopathogène, cochenille, lutte biologique, Burkina Faso.

Inventory of entomopathogenic fungi species associated with the mango mealybug *Rastrococcus invadens* (Homoptera: Pseudococcidae) in the South Sudanese area of Burkina Faso

ABSTRACT

Objective: The objective of this study was to identify the entomopathogenic fungi associated with mango mealybug, an economically important insect pest in Burkina Faso.

Materials and methods: Dead mealybugs showing symptoms of fungal infection were collected from mango trees and incubated in the laboratory. The pathogenicity of the isolated fungi was tested on *R. invadens* in the laboratory, using for each species a concentration of 10^8 spores/ml. Six (06) species of fungi were isolated: *Aspergillus sp*. 1, *Aspergillus sp*. 2, *Alternaria sp*., *Curvularia sp*., *Fusarium sp*. and *Metarhizium sp*.. They were all virulent against *R. invadens*. The species *Aspergillus sp*. 1 and *Metarhizium sp*. caused the highest mortality rates (12.31% to 100%) with respective TL50s of 4.89 days and 3.78 days.

Conclusion and application of findings: The species of fungi isolated from dead individuals of *R. invadens* are all entomopathogenic on this insect pest. In view of the high mortality rates obtained with *Aspergillus sp*. 1 and *Metarhizium sp*., these two species of fungi can be more studied in view to develop biopesticides against *R. invadens*. The fungi strains collected can be tested on fruit flies, which are also a major constraint to mango production in Burkina Faso.

Keywords: Isolate, entomopathogenic fungus, mealybug, biological control, Burkina Faso.

INTRODUCTION

La mangue est le cinquième fruit le plus produit et le plus commercialisé dans le monde, après la banane, la pomme, le raisin et les agrumes. Sa production ne cesse d'augmenter et a atteint 50,64 millions de tonnes en 2017 (STATISTA, 2019). En Afrique de l'Ouest, la mangue occupe une place de choix dans l'économie des pays producteurs grâce à son exportation, notamment sur le marché européen. Les principaux pays exportateurs de mangues en Afrique de l'Ouest sont la Côte d'Ivoire, le Mali, le Burkina Faso et le Sénégal (Chalmin & Jégourel, 2017). Au Burkina Faso, la filière mangue contribue au développement socio-économique, à la sécurité alimentaire et nutritionnelle et à l'amélioration des conditions de vie des ménages. La valeur ajoutée totale de l'ensemble des sous-filières de la mangue a été de 30 milliards de FCFA en 2016 (Parrot *et al.*, 2017). Toutefois, la production est confrontée à des contraintes biotiques dont les insectes ravageurs. Les principaux insectes ravageurs sont les mouches des fruits, les cochenilles et les termites (Nébié, 2017). Parmi les cochenilles inféodées au manguier, *Rastrococcus invadens* demeure la plus importante (Nébié et al. 2016). Cet insecte ravageur originaire du sud-est de l'Asie (Moore, 1992), est apparu au Burkina Faso vers les années 2000, probablement par le biais des échanges commerciaux avec la Côte d'Ivoire (Ouédraogo, 2002). Il sévit dans la zone ouest et sud-ouest du pays où il cause d'énormes dégâts sur le manguier et d'autres fruitiers cultivés. Quarante espèces végétales appartenant à 24 familles sont infestées par *R. invadens* dans cette zone (Nébié *et al.*, 2018). En Côte-d'Ivoire, des pertes de rendement de 53% ont été rapportées en station de recherche par Hala et al. (2004). Selon les mêmes auteurs, les pertes atteignent parfois 100% en milieu paysan. Suite à son apparition au Burkina Faso, des études ont été conduites pour trouver des moyens de lutte contre *R. invadens*. A cet effet, le Thiametoxam (néonicotinoïde) et le Chlorpyriphos-éthyl (organophosphoré) évalués au champ se sont

révélés efficaces contre le ravageur mais demeurent incompatibles avec l'action des parasitoïdes (*Anagyrus mangicola* et *Gyranusoidea tebygi*) associés à *R. invadens* (Nébié, 2011). Ces deux insecticides ne peuvent être utilisés que pour circonscrire les nouveaux foyers où les ennemis naturels ne se sont pas encore établis. En outre, les études ont permis de mettre en évidence au laboratoire l'efficacité biologique d'une souche commerciale de champignon entomopathogène formulée à base de *Metharizium anisopliae* ICIPE 69 (Nébié, 2017). Les évaluations en milieu paysan ont aussi montré une bonne compatibilité de cette souche avec les parasitoïdes comparativement à l'insecticide chimique le Chlorpyriphos-éthyl (Nébié *et al.*, 2019). Cependant, le niveau de contrôle de la population de *R. invadens* par *M. anisopliae* ICIPE 69 demeure faible, probablement lié à une non adaptation de la souche aux conditions climatiques de la zone. La recherche de souches locales s'avère importante pour formuler des biopesticides adaptés aux conditions climatiques du Burkina Faso. C'est dans ce sens que la présente étude a été conduite pour identifier les espèces de champignons pathogènes de la cochenille farineuse du manguier dans la zone sud-soudanienne du pays.

MATERAILS ET METHODES

Présentation de la zone d'étude : Les travaux se sont déroulés au champ et au laboratoire. Au champ, des prospections ont été réalisées de juillet à août 2020 pour rechercher les champignons parasites de l'insecte. Ces prospections ont concerné les localités de Bobo-Dioulasso, de Bérégadougou, de Mondon et de Koloko situées toutes dans la zone soudanienne du Burkina Faso (figure 1). Le climat dans cette zone est tropical de type soudanien caractérisé par 2 grandes saisons ; l'une humide qui dure 06 mois (mai à octobre) et l'autre sèche qui s'étend de novembre à avril. La pluviométrie relativement abondante est comprise entre 800 et 1200 mm d'eau. Les températures moyennes mensuelles varient entre 24°C et 30°C avec une amplitude thermique de 5°C (Badolo, 2009). La quantité d'eau tombée du 1er janvier au 31 août 2020 à Bérégadougou, Bobo-Dioulasso et Koloko a été respectivement de 1024 mm, 834 mm et 1005 mm. Les travaux de laboratoire ont été conduits à la station de recherche de Farako-Bâ située à une dizaine de kilomètres au Sud-Ouest de la ville de Bobo-Dioulasso. Les travaux ont porté essentiellement sur l'isolement des champignons entomopathogènes et l'évaluation de leur pathogénicité sur la cochenille farineuse du manguier.

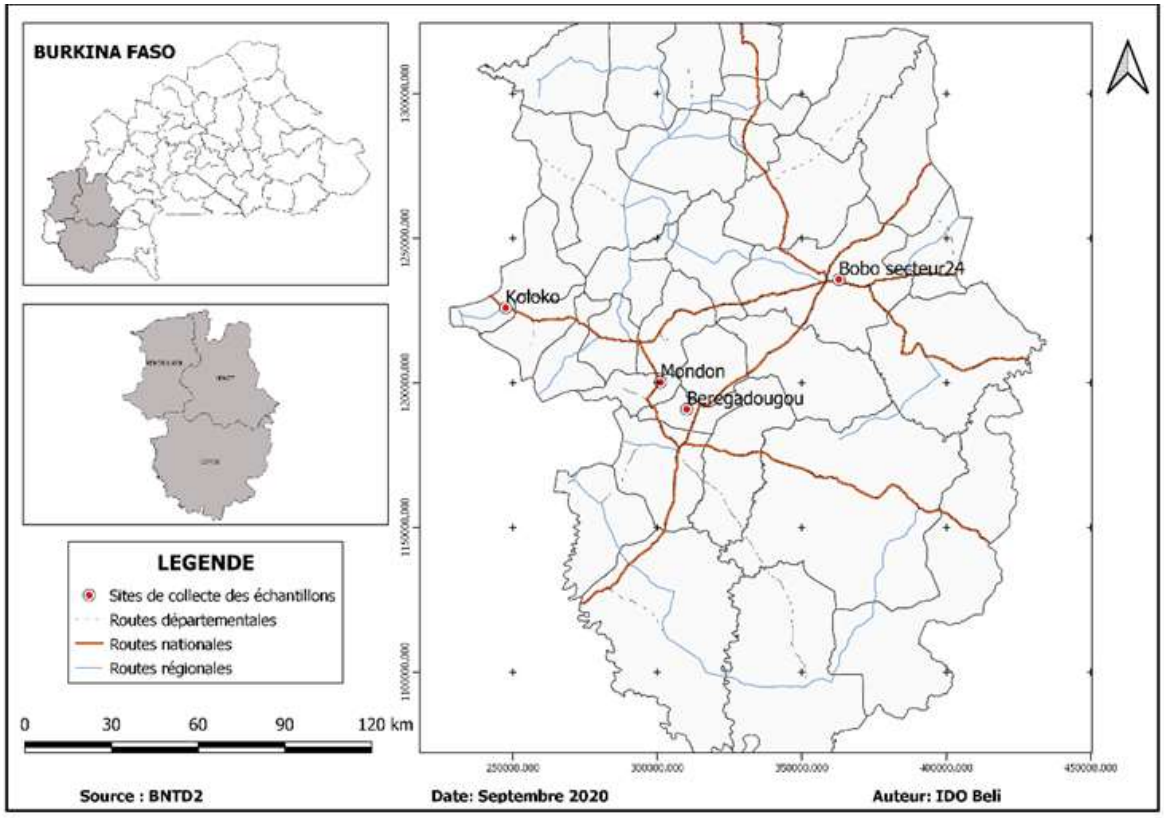


Figure 1 : Localisation des sites de collecte des cochenilles mortes

Méthodologie : L'Étude a été conduite en deux phases :

- L'inventaire des espèces de champignons entomopathogènes associés à la cochenille farineuse du manguier ;
- L'évaluation de la pathogénicité des champignons entomopathogènes sur la cochenille farineuse du manguier.

Inventaire des espèces de champignons entomopathogènes associés à la cochenille farineuse du manguier

***Prospection et collecte des cochenilles mortes* :** Les foyers d'infestation de la cochenille farineuse du manguier sont essentiellement observés dans les vergers de manguiers à proximité des agglomérations, dans les cours d'habitation ou aux abords des routes sur des manguiers isolés. Dans le cadre de cette étude, la prospection a été effectuée dans un verger de manguiers infestés par *R. invadens*, situé dans la ville de Bobo-Dioulasso. Quant aux autres localités (Bérégadougou, Koloko, Mondon), la prospection a été faite sur des manguiers infestés par *R. invadens*, situés aux abords des routes ou dans les cours d'habitation. Au cours des prospections, seules les coordonnées géographiques ont été enregistrées pour les manguiers où la collecte des cochenilles mortes a été fructueuse (Tableau 1). La collecte des cochenilles mortes a consisté à prélever de façon aléatoire, à l'aide d'une perche des rameaux feuillés sur les quadrants (Est, Ouest, Nord, Sud) des manguiers infestés par le ravageur. Le nombre de rameaux a varié

de 4 à 8 par arbre selon le degré d'infestation des manguiers. Les feuilles de chaque rameau ont été minutieusement observées pour prélever les cochenilles mortes présentant des symptômes d'infection de champignon (cochenilles recouvertes de mycélium). Les échantillons ont été conservés dans des boîtes de Pétri contenant du papier filtre humidifié avec de l'eau distillée stérile. Chaque boîte a été étiquetée avec le nom de la localité, le numéro de l'arbre et la date de collecte. Les cochenilles collectées ont été transférées au laboratoire pour incubation.

Tableau 1 : Coordonnées géographiques des manguiers sur lesquels des cochenilles mortes ont pu être collectées

Localités	Coordonnées géographiques des manguiers
Bobo-Dioulasso	11,17624° N ; 4,25626° O
	11,17606° N ; 4,25635° O
	11,17587° N ; 4,25555° O
	11,17615° N ; 4,25538° O
Bérégadougou	11,00734° N ; 4,05246° O
	11,00993° N ; 4,06123° O
Mondon	10,85222° N ; 4,81962° O
	10,85281° N ; 4,82059° O
Koloko	11,03345° N ; 5,00548° O
	11,08225° N ; 5,31045° O
	11,08043° N ; 5,31474° O
	11,08119° N ; 5,31130° O
	11,08184° N ; 5,31131° O

Ensemencement des cochenilles mortes : Les cochenilles mortes collectées sur le terrain ont été ensemencées sur deux types de supports. A cet effet, l'échantillon de cochenilles mortes collectées sur le même arbre a été divisé en deux (02) parties. Une partie a été utilisée pour l'ensemencement sur du papier buvard et l'autre partie pour celui sur le milieu de culture PDA. L'ensemencement sur le papier buvard a consisté d'abord à déposer à l'aide d'une pince, des disques stérilisés de papier buvard dans les boîtes de Pétri. Ces disques ont été légèrement humectés avec de l'eau distillée stérile. Les cochenilles mortes préalablement désinfectées respectivement dans de l'alcool à 70%, eau de javel à 1% puis rincées à l'eau distillée stérile (Saiah *et al.,* 2011) ont été découpées et déposées sur le papier de façon séparée à raison de trois (03) à quatre (04) individus par boîte. Le dépôt s'est fait avec une pince qui a été régulièrement stérilisée à la flamme à chaque fois que l'on passe d'un individu à un autre. Toutes les manipulations en lien avec l'isolement ont été réalisées en conditions aseptiques, sous la hotte, à proximité d'une flamme à bec bezen. L'ensemencement sur le milieu PDA a consisté dans un premier temps à la préparation et à la répartition du milieu dans les boîtes de Pétri et dans un second temps au dépôt des cochenilles mortes dans les boîtes. La méthode de dépôt des cochenilles sur le milieu PDA est la même que celle décrite pour l'ensemencement sur le papier buvard. A l'issue de l'ensemencement, les boîtes de Pétri ont été scellées à l'aide d'un papier scotch et mises en incubation pour des observations quotidiennes.

Incubation des boîtes ensemencées : Les boîtes de Pétri ensemencées ont été mises en incubation à la température comprise entre 25 et 28°C sous une alternance de 12 heures à la

lumière UV et 12 heures à l'obscurité pendant 7 jours. Au bout de cette durée, les conidies de chaque champignon observé ont été repiquées à l'aide d'une pipette pasteur stérile dans des boîtes de Pétri contenant préalablement du milieu de culture PDA (Dianda, 2019).

Purification des colonies fongiques : Les isolats fongiques obtenus ont fait l'objet d'une purification. A cet effet, des repiquages successifs ont été effectués sur le milieu PDA dans les conditions aseptiques et ce jusqu'à l'obtention d'un isolat pur, confirmé par les observations macroscopique et microscopique. Le repiquage a consisté à réaliser à l'aide d'un emporte-pièce, de petits disques (diamètre 5mm) dans les colonies de l'isolat à purifier. Puis, à l'aide d'une spatule, ces disques ont été déposés dans une nouvelle boîte contenant le milieu de culture PDA. L'emporte-pièce et la spatule ont été régulièrement stérilisés à la flamme avant et après la purification de chaque isolat. Des repiquages successifs ont été faits sur le milieu PDA dans les conditions aseptiques jusqu'à l'obtention des isolats purs pour l'identification morphologique.

Identification morphologique des isolats : L'identification des champignons a été faite à la loupe binoculaire et au microscope. À cet effet, les conidies et les spores de chaque isolat ont été comparées avec celles décrites dans la clé d'identification développée par Mathur & Kongsdal (2003). La comparaison a concerné d'une part les caractéristiques macroscopiques basées essentiellement sur la coloration à la face et au revers, l'aspect du mycélium ainsi que la présence ou l'absence de cloisons. D'autre part, les caractères microscopiques ont été évalués en utilisant des cultures pures âgées de 7 jours. Pour ce faire, des fragments du mycélium en fructification ont été prélevés et montés entre lame et lamelle d'un microscope optique. La forme et la couleur des spores et la présence ou l'absence de cloisons dans celles-ci ont été les caractéristiques microscopiques analysées.

Évaluation de la pathogénicité des champignons identifiés : Le test de pathogénicité a consisté à réaliser le Postulat de Koch pour vérifier que les champignons isolés à partir des cadavres de cochenilles ont été la cause de la mort de ces insectes et non des champignons saprophytes. Le test a été réalisé au laboratoire.

Dispositif expérimental : Un dispositif de type bloc complet randomisé a été mis en place pour évaluer la pathogénicité des espèces de champignons isolées à partir des cochenilles mortes. Ce dispositif était constitué de 7 traitements, à savoir le témoin et six suspensions conidiennes des champignons isolés. Pour chaque espèce de champignon, un seul isolat a été choisi pour conduire le test de pathogénicité. Les témoins ont été traités avec de l'eau distillée stérile. La concentration des suspensions utilisées a été de 10^8 spores/ml mesurée par comptage de spores à l'aide de la cellule de Malassez. Chaque traitement a été appliqué à 4 feuilles (répétitions) de *F. polita* infestées par les colonies de *R. invadens*. Chaque feuille était infestée par 14 à 43 cochenilles. Pour l'ensemble des quatre (04) répétitions, 77 à 112 cochenilles ont été inoculées.

Élevage des cochenilles au laboratoire : Les cochenilles ont été élevées sur des plants de *Ficus polita* (Moraceae). Pour ce faire, les plants ont été d'abord produits selon la méthode décrite par Nébié (2017). Cette méthode a consisté à planter des boutures de *F. polita* mesurant 20 cm de longueur dans des pots contenant de la terre préalablement stérilisée à la chaleur, à environ 120°C pendant 3 h. Les boutures ont été prélevées sur les figuiers (*F. polita*) plantés dans la ville de Bobo-Dioulasso. Après plantation, les boutures ont été placées dans un endroit ombragé sous un arbre et protégées avec une moustiquaire. Les boutures ont été régulièrement arrosées et entretenues jusqu'à l'apparition de feuilles capables d'héberger les colonies de cochenilles.

Les plants âgés de 45 jours ont été nettoyés avec l'eau de robinet et transférés dans des cages d'élevage de dimensions 60 cm x 50 cm x 50 cm. A l'aide d'une pince souple, des cochenilles femelles gravides et saines, préalablement collectées sur les manguiers dans la ville de Bobo-Dioulasso ont été déposées sur les feuilles de chaque plant. Le nombre de cochenilles par plant a varié de 20 à 30 individus. Les cochenilles souches, ainsi que les larves issues de celles-ci ont été entretenues à travers un arrosage régulier des plants jusqu'à la fin de l'étude.

Le but de l'élevage des colonies de cochenilles a été de disposer d'individus sains et adaptés aux conditions de laboratoire pour la conduite du test de pathogénicité. La température moyenne dans la salle d'élevage a varié entre 25 et 30°C, l'humidité relative de 60 à 70%. La photopériode a été régulée pour avoir 10 h d'éclairage.

Culture des colonies fongiques : Les isolats obtenus à partir des cochenilles infectées ont fait l'objet d'une multiplication sur le milieu PDA. Pour ce faire, chaque isolat a été repiqué dans deux à trois boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre. Les colonies n'ont été utilisées qu'au bout de 10 jours de culture. A cette étape, la sporulation a été induite pour certaines espèces de champignons chez lesquelles celle-ci était difficile sur le milieu PDA. L'induction de la sporulation a été réalisée par appauvrissement du milieu de culture en mélangeant 8,6g de PDA et 21 g d'agar à 800 ml d'eau distillée Il faut revoir, PDA contient aussi de l'agar, dire exactement ce qui a été fait. La solution obtenue a été homogénéisée puis, stérilisée à l'autoclave à 121 °C pendant 30 minutes.

Préparation des suspensions conidiennes : La préparation des solutions mères destinées à l'inoculation des insectes a été faite selon la méthode de Badaoui et al. (2011). Ainsi, pour chacune des espèces de champignons identifiées, 25 ml d'eau distillée stérile additionnés de tween 20 à 0,01% ont été versées sur les cultures de 2 boîtes de Pétri. A l'aide d'une spatule, les cultures ont été raclées. L'ensemble composé d'eau et des spores a été mis dans un tube à essais de 50 ml. Après une agitation manuelle de 5 à 10 minutes, la solution obtenue a été filtrée à l'aide d'un tissu de mousseline stérilisé, à mailles très fines (<1mm). La concentration en spores des suspensions obtenues a été déterminée à l'hématimètre de Malassez :

$$\boldsymbol{C} = \frac{N}{a.v} xFd$$

Avec

$\boldsymbol{C} =$ *Concentration des conidies par unité de volume* ; $\mathbf{N} =$ *nombre de spores comptées* ; $\boldsymbol{a} =$ *nombre d'unité de comptage denombrées* ; $\boldsymbol{v} =$ *volume d'une unité de comptage* ; $\boldsymbol{F} =$ *Facteur de dilution* ; $\boldsymbol{d} =$ *nombre de cellules par unité de volume*

Inoculation : L'inoculation des cochenilles avec les différentes espèces de champignons isolées a été conduite suivant la méthode de trempage décrite par Butt & Goettel (2000). Selon ces auteurs, cette méthode est la technique recommandée par l'Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO) pour évaluer la pathogénicité des champignons entomopathogènes. Ainsi, les feuilles de *F. polita* infestées par *R. invadens* ont été plongées pendant 10 secondes (Guesmi-Jouini *et al.*, 2011) dans la suspension fongique. Les feuilles ont été ensuite retirées et déposées dans des boîtes de Pétri contenant de l'agar à 1%. Avant l'inoculation, les cochenilles mortes, ainsi que les cocons vides ou pleines, trouvés sur les feuilles ont été retirées avec soin, à l'aide d'une pince souple. Après l'inoculation, les boîtes de Pétri ont été gardées dans les mêmes conditions de température et d'hygrométrie que celles dans lesquelles les insectes ont été élevés. Quant au traitement témoin, les feuilles de *F. polita* infestées de cochenilles ont été trempées dans de l'eau distillée avant d'être placées dans les boîtes de Pétri contenant de l'agar à 1%.

Suivi des infections fongiques : Les insectes inoculés, ainsi que ceux du traitement témoin ont été observés quotidiennement pendant une période de 10 jours. A chaque observation, les individus morts ont été comptés puis, retirés des feuilles. Ils ont été mis dans des boîtes de Pétri contenant du papier absorbant pour re-isolément des champignons. De même, ces observations ont permis de décrire les symptômes induits sur les cochenilles par les différentes espèces fongiques.

Ré-isolement : Le ré-isolément a eu pour but de confirmer ou d'infirmer la pathogénicité des différentes espèces de champignon testées sur les colonies de *R. invadens* suivant le postulat de Koch. Ainsi, pour chacune des espèces fongiques, 10 cochenilles ont été prélevées de façon aléatoire dans le lot des cochenilles mortes à la suite de l'inoculation avec la suspension de l'espèce fongique en question. Ces cochenilles mortes ont été désinfectées respectivement dans de l'alcool à 70% et de l'eau de javel à 1% puis rincées à l'eau distillée stérile avant d'être ensemencées dans des boîtes de Pétri contenant du milieu PDA. Les boîtes ensemencées ont été mises en incubation à la température ambiante du laboratoire. Après une semaine d'incubation les boîtes ont été observées afin de vérifier si l'espèce de champignon suspectée dans la mort de l'insecte se développera à nouveau. À cet effet, des repiquages successifs ont été effectués sur le milieu PDA dans les conditions aseptiques et ce jusqu'à l'obtention d'un isolat pur. Sur la base des caractères morphologiques, les colonies fongiques qui se sont développées ont été comparées aux cultures mères avec lesquelles l'inoculation a été faite.

Analyse statistique des données : Le tableur Excel de Microsoft office 2010 a été utilisé pour saisir et traiter les données collectées. Le traitement a consisté au calcul du taux de mortalité cumulée observée pour chaque traitement à chaque date d'observation. Il a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{M (\%)} = \frac{\text{nombre de cochenilles mortes}}{\text{nombre de cochenilles inoculées}} \text{x100.}$$

La mortalité a été corrigée suivant la formule de Abott (1925) :

$\text{MC(\%)} = \left(\frac{\text{M}-\text{Mt}}{100-\text{Mt}}\right) x100$ avec MC : mortalité corrigée ; M : taux de mortalité observée du traitement et Mt : taux de mortalité du témoin.

RÉSULTATS

Diversité spécifique et fréquence d'isolement des champignons associés à la cochenille farineuse du manguier : A l'issue des isolements, 6 espèces de champignons réparties dans 5 genres ont été identifiées. Il s'agit de *Aspergillus sp.* 1, *Aspergillus sp.* 2, *Alternaria sp.*, *Curvularia sp.*, *Fusarium sp.* et *Metarhizium sp*. La figure 1 présente les fréquences d'isolement des différentes espèces de champignons associées à *R. invadens*. Au total, 22 isolats ont été obtenus. L'espèce *Fusarium sp.* a été la plus fréquemment rencontrée sur *R. invadens* avec 40,91% de fréquence d'isolement. *Alternaria sp.* et *Metarhizium sp*. ont été les espèces les moins rencontrées avec une fréquence d'isolement de 4,55% pour chacune d'elles. Les fréquences d'isolement de *Curvularia sp.*, *Aspergillus sp.* 2 et *Aspergillus sp*. 1 ont été respectivement de 22,73% ; 18,18% et 9,09%.

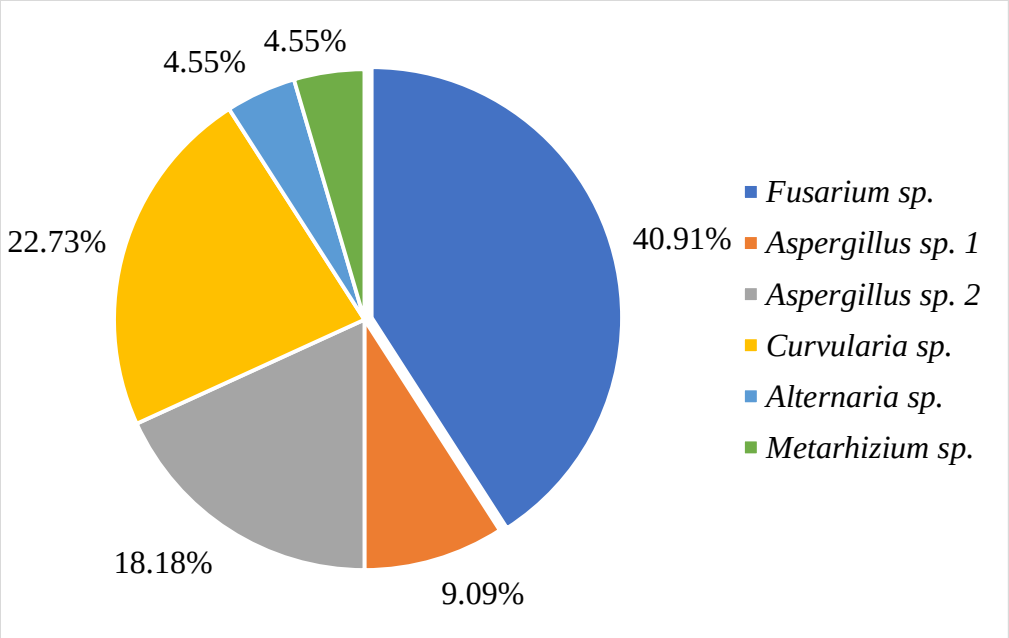


Figure 1 : Fréquences d'isolement des champignons associés à la cochenille farineuse du manguier

Caractéristiques macroscopiques et microscopiques des espèces de champignons associés à la cochenille farineuse du manguier

Espèces du genre Aspergillus : Les colonies du genre *Aspergillus* se sont caractérisées par une croissance rapide sur le milieu PDA. En effet, au bout de 24 à 48 h de culture, il a été observé des colonies plates, formées de courts filaments aériens blancs. A la maturation des spores (à partir de 48 h), les colonies deviennent vert jaune, puis vertes poudreuses chez *Aspergillus sp*. 1 tandis que chez *Aspergillus sp*. 2 elles deviennent d'abord noir jaune, puis noires avec un aspect poudreux (Planches I et II). Au verso, les colonies de ces deux espèces montrent une couleur jaune pâle. L'examen microscopique a montré que ces deux espèces de champignons ont un mycélium constitué de filaments hyalins et cloisonnés. Le genre a été caractérisé par la présence des têtes aspergillaires portées par des conidiophores dressés et non cloisonnés. Les conidiophores sont lisses et hyalins et se terminent par des vésicules de forme sphérique pour *Aspergillus sp*. 1 et globuleuse pour *Aspergillus sp*. 2. Les conidies quant à elles sont unicellulaires et souvent disposées en chaînes. Celles de *Aspergillus sp*. 1 sont de forme globuleuse à subglobuleuse et de couleur jaunâtre. Chez *Aspergillus sp*. 2, les conidies sont de forme globuleuse, echinulées et de couleur noirâtre.

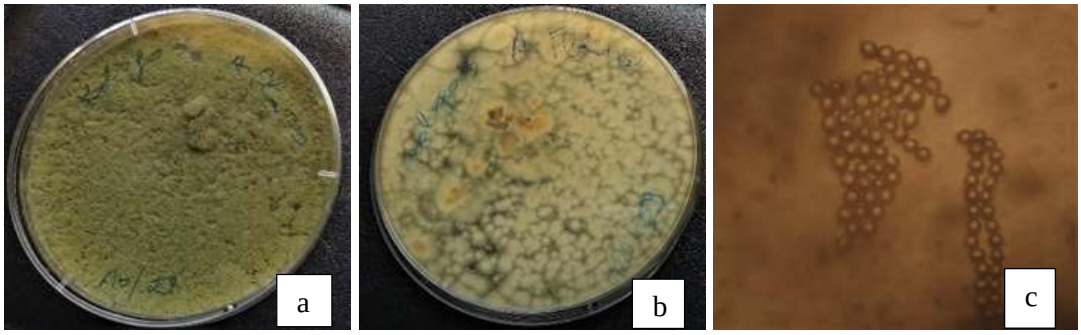


Planche I : (a) et (b) caractères culturaux de *Aspergillus sp.* 1 observés au recto et au verso 5 jours après ensemencement ; (c) conidies de *Aspergillus sp*. 1 observées au microscope x100



Planche II : (a) et (b) caractères culturaux de *Aspergillus sp*. 2 observés au recto et au verso 5 jours après ensemencement ; (c) conidies de *Aspergillus sp*. 2 observées au microscope x100

Alternaria sp. : Les colonies de *Alternaria sp.* présentent une texture cotonneuse, de couleur grise au recto et sombre au verso (Planche III, a et b). Au microscope, le thalle de *Alternaria sp.* est constitué de hyphes septés et ramifiés, de couleur brun clair. Les conidies sont pluricellulaires et sont de couleur brun olive. Elles sont ovoïdes ou piriformes avec la partie basale arrondie et la partie apicale allongée (Planche III, c). Cette dernière se prolonge en un bec filamenteux et segmenté qui est plus ou moins important. Les conidies de *Alternaria sp.* se sont caractérisées par la présence de cloisons transversales et longitudinales (ou obliques). Le nombre de cloisons transversales observé a varié de zéro à trois. Celui des cloisons longitudinales ou obliques a varié de zéro à un.

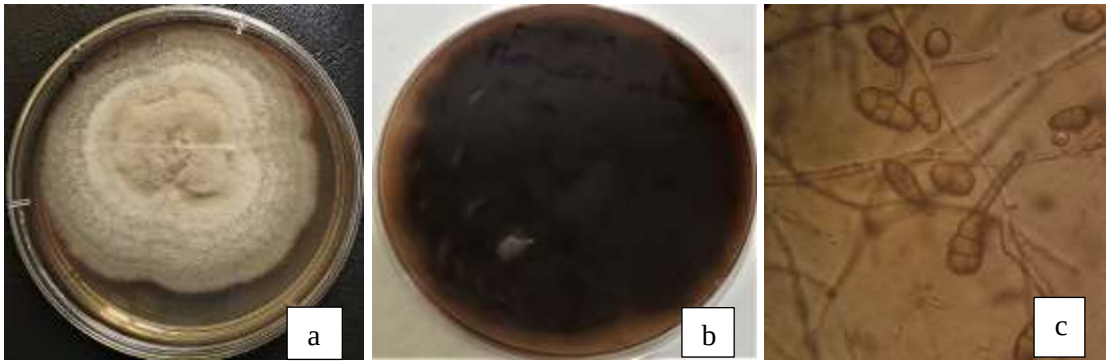


Planche III : (a) et (b) caractères culturaux de *Alternaria sp.* observés au recto et au verso 7 jours après ensemencement ; c) conidies de *Alternaria sp.* observées au microscope x100

Curvularia sp.

Curvularia sp. forme des colonies cotonneuses. Ces colonies sont d'abord grises ou brun clair puis, deviennent brun foncé au recto tout comme au verso en formant des anneaux concentriques (Planche IV, a). Au microscope, le mycélium de *Curvularia sp.* est constitué de hyphes segmentés et ramifiés de couleur brun clair. Les conidies sont pluricellulaires. Elles sont brunes, ovales et parfois recourbées au niveau de la troisième cellule (Planche IV, b). En outre, elles possèdent trois (03) cloisons transversales dans leur quasi-totalité.

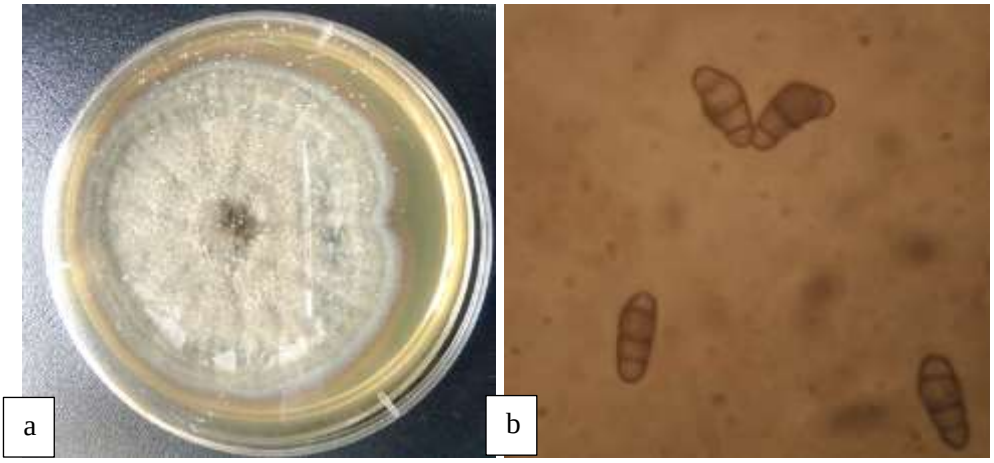


Planche IV : a) Caractères culturaux de *Curvularia sp.* observés au recto 7 jours après ensemencement ; b) conidies de *Curvularia sp.* observées au microscope x100

Fusarium sp. : Les colonies de *Fusarium sp.* se caractérisent par un mycélium cotonneux de couleur rose dans sa partie centrale et blanche au niveau des extrémités (Planche V, a). Les colonies ont l'aspect d'un cône aplati en raison d'un mycélium beaucoup plus développé dans la partie proche des fragments qui ont été repiqués, qu'au niveau de la zone frontale. Au revers, *Fusarium sp.* forme des anneaux concentriques à colorations alternées par du rose clair et du rose foncé (Planche V, b). Au microscope, le mycélium de *Fusarium sp.* est constitué de hyphes cloisonnés, ramifiés et incolores. L'espèce s'est distinguée par la présence de spores unicellulaires, ovoïdes, ellipsoïdales ou réniformes, possédant parfois des extrémités pointues (Planche V, c). En outre, les spores sont hyalines et incolores.

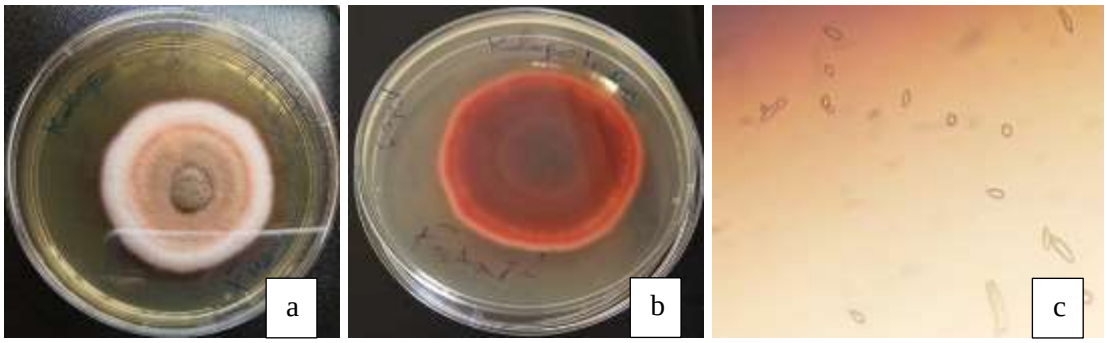


Planche V : (a) et (b) caractères culturaux de *Fusarium sp.* observés respectivement au recto et au verso 7 jours après ensemencement ; c) conidies de *Fusarium sp.* observées au microscope x40

***Metarhizium sp* :** L'analyse macroscopique a montré que *Metarhizium sp*. forme des colonies cotonneuses qui en début de croissance, se présentent sous forme de boules blanches (Planche VI, a). A maturité, les colonies montrent un fond jaune et se recouvrent d'une masse poudreuse de couleur verte. Cette masse poudreuse est en fait la fructification du champignon. En outre, les observations ont permis de noter que cette fructification débute toujours par le centre des colonies, avant de progresser vers les extrémités en formant 1 à 2 anneaux concentriques de couleur verte. La face inférieure des colonies est jaune. Au niveau microscopique, le mycélium de *Metarhizium sp*. est constitué de hyphes hyalins, cloisonnés et ramifiés. Les conidies sont hyalines, lisses et de forme cylindrique. Elles sont de couleur jaune clair et présentent parfois des côtés parallèles. Certaines d'entre elles ont un côté légèrement rétréci.

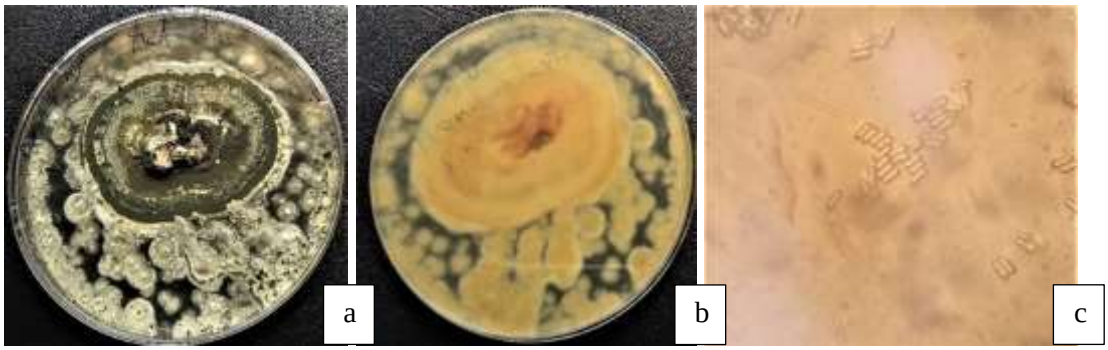


Planche VI : (a) et (b) caractères culturaux de *Metarhizium sp*. observés respectivement au recto et au verso 8 jours après ensemencement ; c) conidies de *Metarhizium sp*. observées au microscope x100

Pathogénicité des espèces de champignons isolées

Symptomatologie : Les symptômes induits par les différentes espèces de champignons sur la cochenille farineuse du manguier sont illustrés par les photos ci-dessous. Pour l'ensemble des espèces, les cochenilles infectées n'ont présenté aucun symptôme observable avant leur mort. Mais, après leur mort, les cochenilles infectées ont présenté des symptômes qui ont varié suivant l'espèce de champignon. Néanmoins, la décoloration du corps de l'insecte mort a été un symptôme commun à toutes les espèces de champignons. Les cochenilles mortes de *Aspergillus sp*. 1 se recouvraient d'un mycélium blanc peu abondant, et présentaient un corps verdâtre. Au bout de 48 à 72 heures, de nombreux filaments se terminant par des têtes verticillées de couleur verte, se dressaient du corps de l'insecte (Planche VII). Chez *Aspergillus sp*. 2, les cochenilles nouvellement mortes ont le corps noirâtre et recouvert d'un mycélium blanc, peu abondant. A partir de 48 heures après sa mort, le corps de l'insecte se désintègre (Planche VIII). Les cochenilles mortes de suites de l'infection par *Alternaria sp.* ont présenté d'abord une coloration orange avec un mycélium blanc, peu abondant. Au bout de 72 heures, le corps de l'insecte encore recouvert du mycélium blanc, noircit et se désintègre (Planche IX). *Curvularia sp.* a entrainé une lyse des cochenilles infectées avec un enroulement de mycélium blanc (Planche X). *Fusarium sp.* a provoqué une désintégration rapide du corps des cochenilles mortes tout en les enroulant d'un mycélium blanc, peu abondant. En outre, l'insecte mort a présenté une coloration rosâtre (Planche XI). Chez *Metarhizium sp*., les cochenilles mortes se sont recouvertes d'abord d'un mycélium blanc, abondant. Au bout de 48 heures, la

couleur du mycélium a viré au vert foncé (Planche XII).

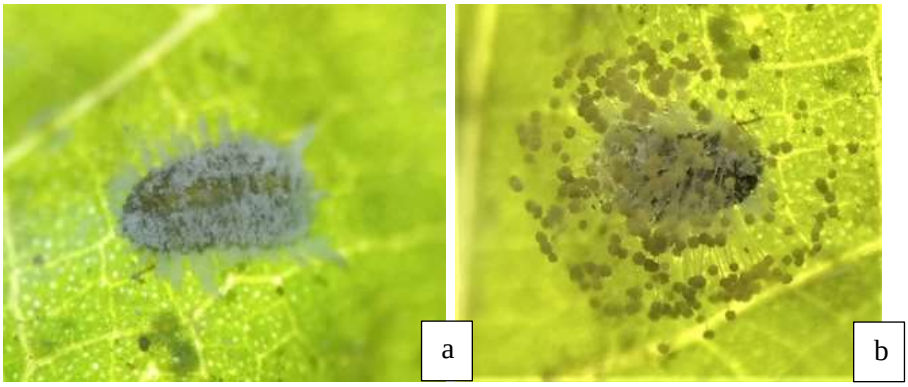


Planche VII : Symptômes de l'infection causée par *Aspergillus sp*. 1 sur *Rastrococcus invadens*, observés à la loupe binoculaire 24 h à 48 h (a) et 2 à 3 jours après sa mort



Planche VIII : Symptômes de l'infection causée par *Aspergillus sp*. 2 sur *Rastrococcus invadens*, observés à la loupe binoculaire 24 h à 48 h (a) et 2 à 3 jours après sa mort (b)

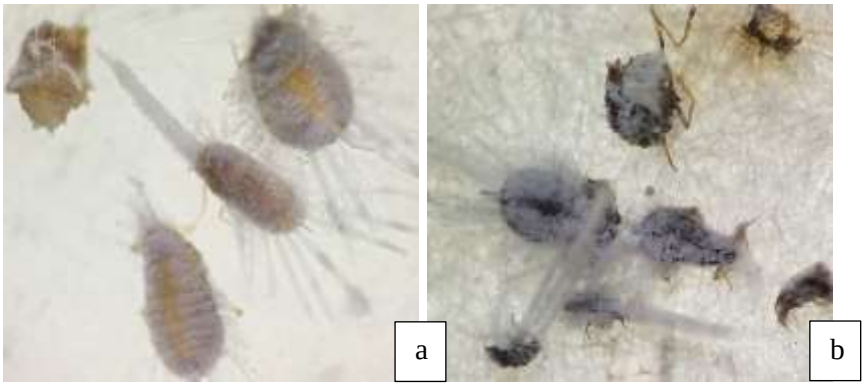


Planche IX : Symptômes de l'infection causée par *Alternaria sp.* sur *Rastrococcus invadens*, observés à la loupe binoculaire 24 h à 48 h (a) et 2 à 3 jours après sa mort (b)



Planche X : Symptômes de l'infection causée par *Curvularia sp.* sur *Rastrococcus invadens*, observés à la loupe binoculaire 24 h à 48 h (a) et 2 à 3 jours après sa mort (b)

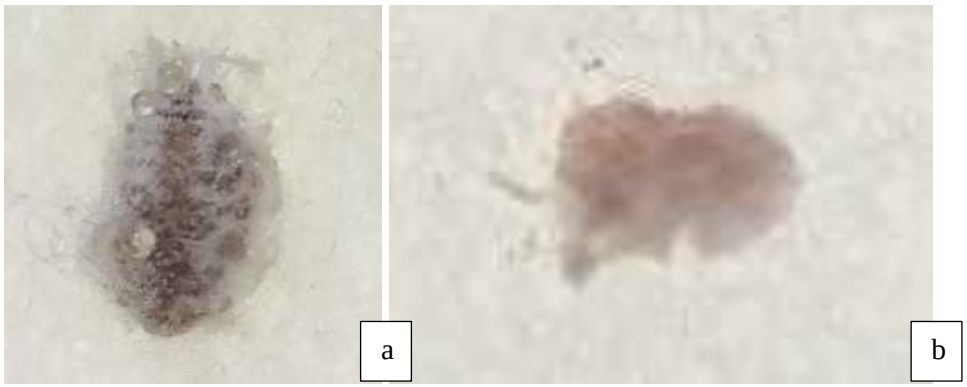


Planche XI : Symptômes de l'infection causée par *Fusarium sp.* sur *Rastrococcus invadens*, observés à la loupe binoculaire 24 h à 48 h (a) et 2 à 3 jours après sa mort (b)

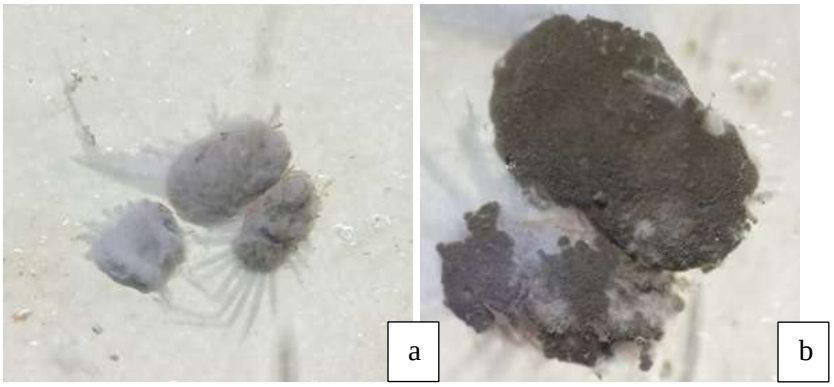


Planche XII : Symptômes de l'infection causée par *Metarhizium sp*. sur *Rastrococcus invadens*, observés à la loupe binoculaire 24 h à 48 h (a) et 2 à 3 jours après sa mort (b)

Effet des espèces fongiques isolées sur *Rastrococcus invadens* : L'effet des différentes espèces fongiques isolées sur les cochenilles est présenté dans le tableau II. Toutes les espèces de champignons testées ont provoqué la mort des cochenilles. Le taux de mortalité a varié en fonction du temps et de l'espèce fongique. Au premier jour de l'inoculation, aucune mortalité n'a été observée chez les cochenilles inoculées avec *Alternaria sp.* et *Aspergillus sp.* 2. A la même période, les autres espèces de champignons ont provoqué des taux de mortalité de 1,67% (*Fusarium sp.*) à 4,90% (*Curvularia sp.*). Les observations réalisées jusqu'au 10^{ième} jour de l'inoculation ont permis d'enregistrer des taux

de mortalité de 12,31% à 95,47% chez *Aspergillus sp*. 1 ; de 7,10% à 50,53% chez *Aspergillus sp*. 2 ; de 1,37% à 85,22% chez *Alternaria sp*. ; de 20,58% à 84,94% chez *Curvullaria sp*. ; de 13,93% à 50,66% chez *Fusarium sp*. et de 13,55% à 100% chez *Metarhizium sp.* Les espèces fongiques *Aspergillus sp.* 1 et *Metarhizium sp.* ont généralement présenté les taux de mortalité les plus élevés. L'analyse de variance a montré des différences significatives entre les espèces de champignons à partir du 3^{ième} jour jusqu'au 10^{ième} jour après l'inoculation des cochenilles au seuil de probabilité 5%. Les temps de létalité TL50 et TL100 présentés dans le tableau 3 permettent de classer les six espèces de champignons en trois groupes. Le premier groupe comporte les espèces *Metarhizium sp.* et *Aspergillus sp.* 1 avec un TL50 compris entre 3 et 5 jours et un TL100 compris entre 8 et 9,5 jours. Le deuxième groupe est représenté par *Alternaria sp.* et *Curvularia sp.* avec un TL50 compris entre 6 et 7 jours et un TL100 compris entre 11 et 14 jours. Le troisième groupe est constitué des espèces *Fusarium sp.* et *Aspergillus sp.* 2 avec un TL50 compris entre 8 et 10 jours et un TL100 compris entre 18 et 19,5 jours.

Tableau 2 : Évolution du taux de mortalité cumulée des cochenilles (*Rastrococcus invadens*) en fonction des différentes espèces de champignons entomopathogènes

Traitements	Taux de mortalité (en %) selon les fréquences d'observation après inoculation									
	24 heures	48 heures	72 heures	4 jours	5 jours	6 jours	7 jours	8 jours	9 jours	10 jours
Aspergillus sp. 1	1,79±1,03	12,31±3,87	27,19±6,18 a	41,60±5,52 a	61,58±5,55 b	69,26±4,22 b	75,90± 3,80 a	89,88±6,16 a	93,21±4,58 ab	95,47±2,67 a
Aspergillus sp. 2	0,00 ±00	8,22±1,21	7,10±3,60 ab	12,53±4,24 b	20,27±3,68 c	29,56±3,27 c	38,46±8,07 b	38,13±7,61 b	44,96±5,52 c	50,53±1,87 b
Alternaria sp	00,00±00	2,56±1,55	1,37±0,99 b	7,63±3,37 c	29,65± 1,74 c	40,82±2,08 c	55,28±2,82 ab	67,08±3,70 ab	75,71±5,82 ab	85,22±6,04 a
Curvularia sp	4,90±3,17	20,58±6,40	22,51±6,42 a	30,14±8,40 ab	30,04±8,07 c	32,42±8,76 c	39,78±9,26 b	54,32±10,03 b	67,75±9,37 bc	84,94±6,90 a
Fusarium sp	1,67±1,67	13,93±6,71	24,32±8,91 a	30,71±8,76 ab	36,27±10,84 bc	41,83±9,31 c	46,39±9,48 ab	43,57±11,42 b	44,05±9,66 c	50,66±10,16 b
Metarhizium sp.	2,86±1,65	13,55±3,27	31,16± 5,86 a	59,93±9,18 a	95,31± 4,69 a	100,00±0,00 a	100,00±0,00 a	100,00±00 a	100,00±0,00 a	100,00±00 a
F value	1,23	1,89	4,10	7,55	18,82	22,71	13,36	11,06	12,47	14,5
Pr (>F)	0,33	0,14	0,011*	0,0005***	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***	<0,0001***

*= significatif, ***= très hautement significatif. Dans la même colonne les moyennes ± erreur standard portant la même lettre ne sont pas significativement différentes au seuil de probabilité 5% selon le test de Kruskall-Wallis.

Tableau 3 : Équations de régression, coefficients de régression et valeurs des TL50 et TL100 chez *Rastrococcus invadens* en fonction des espèces de champignons

Espèces de champignons	Équations de régression et coefficients de régression	TL50 (jours)	TL100 (jours)
***Aspergillus sp.* 1**	y = 11,1x – 4,3133 R^2 = 0,9639	4,89	9,39
***Aspergillus sp.* 2**	y = 5,7829x – 6,83 R^2 = 0,9751	9,82	18,47
Alternaria sp.	y = 10,677x – 22,191 R^2 = 0,9581	6,76	11,44
Curvularia sp.	y = 7,5206x – 2,6253 R^2 = 0,9064	6,99	13,64
Fusarium sp.	y = 4,8521x + 6,6533 R^2 = 0,8678	8,93	19,23
Metarhizium sp.	y = 11,809x + 5,3307 R^2 = 0,7965	3,78	8,01

DISCUSSION

Au total, six (06) espèces de champignons ont été isolées à partir des cochenilles mortes collectées sur les manguiers. Sur la base des caractéristiques morphologiques, ces espèces ont été identifiées comme étant *Aspergillus sp*. 1, *Aspergillus sp*. 2, *Alternaria sp.*, *Curvularia sp.*, *Fusarium sp.* et *Metarhizium sp*. Saiah et al. (2011) a aussi isolé à partir de la mineuse des agrumes *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera) les espèces *A. niger*, *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.* et *Metarhizium sp.* De même, la présence des champignons entomopathogènes *A. flavus*, *A. niger*, *Fusarium sp.* et *M. anisopliae* sur *Brachytrupes megacephalus* (Orthoptera, Gryllinae) a été mise en évidence par les travaux de Lakhdari *et al.* (2015). Le genre Metarhizium comprend un nombre important d'espèces entomopathogènes communément isolées à partir d'insectes (Pedro & Condido, 1997, Aby *et al.*, 2009) et à partir du sol (Tarasco *et al.*, 2016). En Inde, une espèce du genre Curvularia en l'occurrence *Curvularia lunata* a été isolée par Singh et al. (1991) à partir d'individus de *Nezara viridula* (Heteroptera), un insecte ravageur de *Vigna unguiculata*. Néanmoins, il est important de souligner que l'isolement des espèces appartenant au genre Curvularia à partir d'insectes serait un fait inhabituel. De même, à l'étape actuelle des connaissances, l'isolement à partir de *R. invadens* des six (06) espèces mentionnées dans les résultats de la présente étude devrait être considéré comme nouveau. En effet, les espèces fongiques qui ont été jusque-là isolées à partir de ce ravageur sont *Hirsutella cryptosclerotium* (Fernandez-garcia, 1990) et *Neozygites fumosa* (Keller, 1997). L'identification des espèces isolées a été faite par comparaison de leurs caractéristiques (macroscopiques et microscopiques) à celles décrites dans les travaux antérieurs. Ainsi, la description des espèces appartenant aux genres Aspergillus, Alternaria et Curvularia faite dans le cadre de la présente étude est conforme à celle faite dans la clé d'identification développée par Mathur & Kongsdal (2003). Les aspergillus se sont caractérisés par la présence des têtes aspergillaires, à l'examen microscopique des colonies. En effet, sur les filaments végétatifs, prennent naissance des filaments dressés non cloisonnés. Ces derniers appelés conidiophores se terminent par des vésicules de forme sphérique pour *Aspergillus sp*. 1 et globuleuse pour *Aspergillus sp*. 2. Les

caractéristiques (macroscopiques et microscopiques) de ces deux espèces respectives sont similaires à celles de *Aspergillus flavus* et *Aspergillus niger*. Les études de biologie moléculaire viendront confirmer leur identité. *Alternaria sp.* s'est caractérisé par la présence de conidies pluricellulaires polymorphes, possédant à la fois des cloisons transversales et longitudinales ou obliques, et un bec filamenteux qui est segmenté. Les caractéristiques de *Alternaria sp.* illustrées par la présente étude sont similaires à celles de *A. alternata* (*A. aborescens*) décrites par Mathur & Kongsdal (2003). Ces auteurs ont montré que *A. alternata* produit des conidies polymorphes de couleur brun olive, possédant des cloisons transversales et obliques et un bec plus ou moins long. Les isolats de *Curvularia sp.* présentent des caractéristiques microscopiques semblables à celles des isolats de *Curvularia aeria* obtenus par Kusai et al. (2015). L'observation des caractères microscopiques de *Fusarium sp.* a montré que celui-ci produit en abondance des micro-conidies ovoïdes, ellipsoïdales ou réniformes et très peu de macroconidies. Tivoli (1988) rapporte que *F. oxysporum* est caractérisé par la présence abondante de micro conidies ellipsoïdales. Les isolats de *Fusarium sp.* obtenus lors de la présente étude pourraient alors appartenir à l'espèce *F. oxysporum*. Chez *Metarhizium sp.*, les résultats ont révélé que celui-ci produit une masse conidienne de couleur vert foncé. Ses conidies, de couleur jaune clair sont hyalines et cylindriques avec des parois lisses. Les caractéristiques macroscopiques et microscopiques de *Metarhizium sp*. mises en évidence par les résultats de cette étude sont similaires à celles de *Metarhizium anisopliae*, observées par Driver et al. (2000) et Benserradj (2014). Driver et al. (2000), dans leur étude sur la révision taxonomique de Metarhizium rapportent que des souches de *M. anisopliae*, isolées des scarabées (Coléoptères) en Australie produisaient des spores cylindriques et une couche conidienne abondante et de couleur verte en culture. Les résultats du test in vitro sur la pathogénicité ont montré que toutes les six (06) espèces de champignons ont causé la mort des cochenilles. En outre, le test de ré-isolement a permis de confirmer leur pathogénicité vis-à-vis de *R. invadens*. La comparaison des effets des différentes espèces fongiques sur les cochenilles a révélé que *Metarhizium sp*. et *Aspergillus* sp. 1 ont été les espèces les plus virulentes avec des TL50 respectifs de 3,78 jours et 4,89 jours. En revanche, *Fusarium sp.* et *Aspergillus sp*. 2 ont été les espèces les moins virulentes avec respectivement des TL50 de 8,93 jours et 9,82 jours. Ces résultats sont contraires à ceux de Saiah et al. (2011) qui ont montré qu'en adoptant la technique d'inoculation par trempage, *Fusarium sp.* provoque sur les larves de *P. citrella* un taux de mortalité plus élevé que celui de *M. anisopliae* (73,68 % contre 45%). Les mêmes auteurs rapportent qu'avec la technique d'inoculation par injection, *M. anisopliae* est plus virulente que *Fusarium sp.* Ces résultats pourraient être expliqués par le mode d'action des différentes espèces en lien avec l'anatomie de *R. invadens*. La faible virulence de *Fusarium sp.* et *Aspergillus sp*. 2 serait la résultante d'un mode d'action mécanique employé par ces espèces de champignons. Saiah et al. (2011) ont d'ailleurs mis en exergue le mode d'action mécanique de *A. niger*, *Alternaria sp.* et *Fusarium sp.*. De même, Singh et al. (1991) indiquent que *C. lunata* agit en provoquant des lésions sur l'abdomen des insectes infectés. Les résultats de ces deux derniers travaux cités expliquent la désintégration du corps des individus infectés par *A. niger*, *Alternaria sp.*, *Fusarium sp.* et *Curvularia sp.* qui a été mise en évidence par la présente étude. Saiah et al. (2011) ajoutent que l'action mécanique de *Alternaria sp.* est conjuguée à une action enzymatique. Parallèlement, Moore (1992) rapporte que l'exosquelette des insectes de la

famille des Pseudococcidae à laquelle appartient *R. invadens* constitue une barrière physique qui les protège contre les insecticides de contact. Cette structure pourrait aussi défavoriser l'adhésion des spores des champignons à la cuticule de l'insecte, une étape fondamentale dans le cycle de l'infection des champignons entomopathogènes (Ferron *et al.*, 1993). En revanche, la virulence élevée et rapide de *Metarhizium sp*. (TL100 = 8,01 jours) s'expliquerait par sa compatibilité avec certains composés présents chez les insectes. Ces composés sont les acides gras, les acides aminés et les glucosamines qui se trouvent dans l'épicuticule de l'insecte (Shahid *et al.*, 2012). De même, Douglas et al. (2001) indiquent qu'à la phase de dissémination du cycle de l'infection des champignons entomopathogènes *M. anisopliae* produit des composés toxiques non enzymatiques tels que les destruxines (DTX) et les cytochalasmes qui lui permettent de surmonter les mécanismes de défense de l'hôte et de proliférer. *Metarhizium sp*. présente un avantage comparatif par rapport aux autres espèces de champignons entomopathogènes isolés. Plusieurs souches de l'espèce *Metarhizium anisopliae* ont été identifiées pour lutter contre d'autres insectes ravageurs du manguier notamment les mouches de fruits (Sookar, 2013). La souche du Burkina Faso pourrait faire l'objet d'une formulation en vue de lutter de façon durable contre la cochenille farineuse du manguier et les mouches des fruits.

CONCLUSION ET APPLICATION DES RESULTATS

La présente étude a permis d'isoler et d'identifier sur la base des caractères morphologiques 6 espèces de champignons à partir de cochenilles mortes. Il s'agit de *Aspergillus sp*. 1, *Aspergillus sp*. 2, *Alternaria sp.*, *Curvularia sp.*, *Fusarium sp.* et *Metarhizium sp*.. Le test de pathogénicité a montré que chacune des espèces isolées cause une mortalité significative sur la cochenille farineuse du manguier. Au moins 50% des cochenilles meurent au bout de 4 à 10 jours après inoculation, en fonction des espèces de champignons. La pathogénicité de ces différentes espèces fongiques contre *R. invadens* a été confirmée par le test de ré-isolément selon le postulat de Koch. Une étude est en cours pour renforcer la collection des souches et caractériser au plan moléculaire l'ensemble des isolats obtenus. La pathogénicité des isolats de chacune des espèces de champignons sera évaluée en vue d'identifier les souches les plus virulentes contre *R. invadens*. Cette étude prendra en compte les mouches des fruits qui constituent l'une des principales contraintes de production de la mangue au Burkina Faso.

REMERCIEMENTS

Les auteurs remercient le Centre Écologique Albert Schweitzer (Suisse) qui a entièrement financé cette étude.

RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abbot WB, 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. Journal of economic entomology 18 : 265-267.

Badaoui MI, Berkani A, Lotmani B, 2010. Les entomopathogènes autochtones, nouvel espoir dans le contrôle biologique de *Tuta absoluta* Meyrick 1917 (Lepidoptera : Gelechiidae) en Algérie. Entomologie faunistique 63 : 165-169.

Benserradj O, 2014. Évaluation de *Metarhizium anisopliae* à titre d'agent de lutte biologique contre les larves de moustiques. Thèse de Doct., Univ Constantine 1, Rép. Algérienne Démocratique et Populaire, 165 p.

Butt TM. and Goettel MS, 2000. Bioassays of Entomogenous Fungi. In : Navon A. and Ascher KRS., Eds., *Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes*, CAB International, Wallingford, UK, 141-195 pp.

Chalmin P. and Jégourel Y, 2017. L'Afrique et les marchés mondiaux de matières premières. Ed. Economica et OCP policy center, Paris, France, 250 p.

Dianda ZO, 2019. Caractérisation des agents pathogènes associés au dessèchement du manguier et essai de méthode de lutte contre la maladie au Burkina Faso. Thèse Doct., Univ. Joseph KI-ZERBO, Ouagadougou, Burkina Faso, 246 p.

Driver F, Milner RJ, Trueman JWH, 2000. A taxonomic revision of Metarhizium based on a phylogenetic analysis of rDNA sequence data. Mycological research 104 : 134-150.

Fernandez-Garcia E, 1990. Use of the fungal pathogen *Hirsutella cryptosclerotium* Sp. Nov. for the biocontrol of *Rastrococcus invadens* (Pseudococcidae). Thesis of Doctor, University of London, Imperial College London, England, 167 p.

Ferron P, Fargues J, Riba G, 1993. Les champignons, agents de lutte microbiologique contre les ravageurs. In : Fraval A. (ed.) La lutte biologique. Dossier de la cellule Environnement de l'INRA n°5, Paris, France, 62-92 pp.

Inglis GD, Goettel M, Butt T, Strasser H, Jackson C, Magan N, 2001. Use of hyphomycetous fungi for managing insect pests, In : Butt TM, Jackson C, Magan N. (eds). *Managing Insect Pests with Hyphomycetous, Fungi as Biocontrol Agents*. CAB International, Wallingford, UK, 23-69 pp.

Guesmi-Jouini J, Boughalleb-M´hamdi N, Ben Halima-Kamel M, 2011. Etudes préliminaires sur les champignons entomopathogènes des pucerons de l'artichaut en Tunisie. Entomologie Faunistique 63: 171-181.

Hala N, Kehe M, Allou K, 2004. Incidence de la cochenille farineuse du manguier *Rastrococcus invadens* Williams, 1986 (Homoptera : Pseudococcidae) en Côte d'Ivoire. Agronomie africaine 16 : 29-36.

Keller S, 1997. The genus Neozygites (Zygomycetes, Entomophthorales) with special reference to species found in tropical regions. Sydowia 49 : 118-146.

Kusai NA, Azmi MMZ, Zulkifly S, Yusof MT, Mohd Zainudin NAI, 2015. Morphological and molecular characterization of Curvularia and related species associated with leaf spot disease of rice in Peninsular Malaysia. Rendiconti lincei 27 : 205-214.

Lakhdari W, Doumandji MB, Dahliz A, Doumandji S, Bouchikh Y, M'lik R, Soud A, Hammi H, 2015. Essai de lutte biologique contre *Brachytrupes megacephalus*, Lefebvre, 1827 (Orthoptera : Gryllinae) par l'utilisation des champignons entomopathogènes. Revue des bios ressources 5 : 37-49.

Mathur SB, Kongsdal O, 2003. Common laboratory seed health testing methods for detecting fungi. International Seed Testing Association, Bassendorf, Switzerland, 425 p.

Moore D, 1992. Lutte biologique contre la cochenille farineuse du manguier. In : Markham RH, Wodageneh A, Agboola S. (eds.). Manuel de lutte biologique, tome 2 : Etudes de cas de lutte biologique en Afrique. IITA/CLBAB, Cotonou, Bénin, 95-125 pp.

Nébié K, 2011. Impact des traitements insecticides sur la cochenille farineuse du manguier [*Rastrococcus invadens* williams (Homoptera : Pseudococcidae)] et son cortège

parasitaire au Burkina Faso. Mémoire de Master Protection et Amélioration des Plantes, Univ. Ouagadougou, Ouagadougou, Burkina Faso, 64 p.

Nébié K, 2017. Écologie de la cochenille farineuse du manguier *Rastrococcus invadens* Williams (Homoptera : Pseudococcidae) et recherche de moyens de lutte biologique contre cet insecte ravageur à l'Ouest du Burkina Faso. Thèse Doct., Univ. Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, 183 p.

Nébié K, Nacro S, Ouédraogo Y, Dakouo D, Otoidobiga LC, 2016. Inventory and distribution of mango mealybugs species in Western Burkina Faso : relative abundance and population fluctuation. Advances in Entomology 4 : 191-199.

Nébié K, Nacro S, Dabiré AR, Otoidobiga LC, 2019. Compared effects of *Metarhizium anisopliae* ICIPE 69 and Chlorpyriphos-ethyl on the mango mealybug, *Rastrococcus invadens* Williams (Homoptera : Pseudococcidae) and its parasitoids in western Burkina Faso. International Journal of Biological and Chemical Sciences 12 : 2738-2752.

Nébié K, Nacro S, Otoidobiga LC, Dabiré AR, Somda I, 2018. Host plants of the mango mealybug *Rastrococcus invadens* Williams (Homoptera : Pseudococcidea) in Western Burkina Faso. International Journal of Current Advanced Research 7 : 8762-8767.

Ouédraogo SN, 2002. Étude diagnostique des problèmes phytosanitaires du manguier (*Mangifera indica* L.), de l'oranger (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) et du mandarinier (*Citrus reticulata* Blanco) dans la province du Kénédougou. Mémoire d'Ingéniorat de Développement Rural, Univ. Polytechnique de Bobo-Dioulasso, Bobo-Dioulasso, Burkina Faso, 95 p.

Parrot L, Biard Y, Kabré E, Klaver D, Vannière H, 2017. Analyse de la chaine de valeur mangue au Burina Faso. Rapport pour la Commission Européenne, DG DEVCO, 174 p.

Pedro HC, Candido SA, 1997. Entomopathogenic fungi associated with natural populations of the Moroccan Locust *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg) (Orthoptera : Gomphocerinae) and other Acridoidea in Spain. Biocontrol science and technology 7 : 357-364.

Saiah F, Bendahmane BS, Benkadda MY, Berkani A, Lakhdari W, Kolai N, 2011. Isolement de champignons entomopathogènes à partir de Phyllocnistis citrella Stainton (Lepidoptera : Gracillariidae). Entomologie faunistique 63 : 199-202.

Shahid A, Rao AQ, Bakhsh A, Husnain T, 2012. Entomopathogenic fungi as biological controllers : New insights into their virulence and pathogenicity. Archives of biological sciences, Belgrade 64 : 21-42.

Singh SM, Pathak S, Kulkarni N, Naidu J, Dubey V, 1991. First report of phaeohyphomycosis of *Nezara viridula* Linn. (Insecta : Heteropteran) caused by *Curvularia lunata*. Mycopathologia 116 : 37-43.

Sookar P, 2013. Study of two potential entomopathogenic fungi, *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* for the biocontrol of fruit flies (Diptera : Tephritidae) of economic importance in Mauritius. Doctor of Philosophy, Univ. Mauritius, Mauritius, 224 p.

Tarasco E, Bievre CD, Papierok B, Poliseno M, Triggiani O, 2016. Occurrence of entomopathogenic fungi in soils in Southern Italy. Entomologica 31 : 157-166.

Tivoli B, 1988. Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de Fusarium rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement. Agronomie 8 : 211-222.