

**Sujet de stage de M2**  
**Année 2014 - 2015**

**Titre : Caractérisation de la structure de la communauté de champignons entomopathogènes du genre *Beauveria* dans des parcelles de canne à sucre**

*Beauveria* est un genre qui regroupe des espèces cosmopolites, d'origine tellurique, entomopathogènes facultatives, que l'on trouve également sous forme saprophyte et endophyte. Les champignons entomopathogènes sont employés depuis longtemps en tant que bio insecticide pour contrôler des insectes nuisibles pour l'agriculture. Avec ceux du genre *Metarhizium*, les champignons du genre *Beauveria* font partie de ceux qui sont les plus utilisés en tant que mycoinsecticides.

Introduit à la Réunion dans les années 70 depuis Madagascar, le coléoptère *Hoplochelus marginalis* (Coleoptera: Melolonthidae) a rapidement causé des dégâts économiques importants sur la culture majoritaire de l'île, la canne à sucre. La lutte contre ce ravageur reposait, au début de l'invasion, sur un insecticide de synthèse. Parallèlement, un bio-insecticide, le Betel<sup>®</sup>, a été développé à partir d'un champignon du genre *Beauveria* isolé de *H. marginalis* dans sa zone d'origine. Depuis 1996, le Betel<sup>®</sup> est systématiquement appliqué à la plantation dans toute la sole cannière réunionnaise. Ce dispositif de lutte biologique est probablement un exemple unique au monde au regard des surfaces traitées et de la durée du traitement.

Depuis près d'une dizaine d'années, l'insecticide de synthèse est interdit et la lutte ne repose plus que sur le bio-insecticide. Néanmoins dans ce nouveau contexte, les recrudescences de *H. marginalis* semblent plus fréquentes, ce qui inquiète la filière canne à sucre et interroge sur l'efficacité de la lutte.

L'efficacité d'un myco-insecticide est dépendante de sa pathogénicité. Mais l'efficacité de ces agents de lutte biologique dans un environnement donné dépendra de la compatibilité de ce milieu avec leur écologie qui est dépendante de facteurs biotiques (présence d'hôtes, communauté microbienne agoniste antagoniste.....) et abiotiques (nature du sol, températures...). Ces facteurs vont influencer leur persistance dans l'environnement et leur pathogénicité. L'étude des communautés dans un agro-écosystème peut fournir des informations utiles pour la gestion des organismes de bio-contrôle afin d'augmenter l'efficacité et la durabilité de la lutte biologique.

Le laboratoire en collaboration avec les partenaires de la filière canne à sucre développe un projet d'observatoire de la durabilité de la lutte biologique à base de *Beauveria* contre *Hoplochelus marginalis*. Ce réseau observatoire a pour objectif de suivre l'évolution des populations de la souche commerciale de *Beauveria* sp. utilisée pour le contrôle biologique mais aussi des communautés autochtones de *Beauveria*. Plusieurs outils moléculaires ont été développés au laboratoire et permettront d'identifier la souche utilisées pour la lutte ainsi que les autres isolats de *Beauveria*. Après un état des lieux (T-1) avant inoculation des parcelles avec le Betel<sup>®</sup> à la plantation (T0), l'évolution des populations sera suivie annuellement.

L'objectif du stage sera de caractériser la structure de la communauté de champignons entomopathogènes du genre *Beauveria* dans des parcelles de canne à sucre à T-1. Ce stage doit permettre à l'étudiant d'appréhender des techniques de microbiologie, de biologie moléculaire et génétique des populations.

## **Tâche 1 : Prospections dans les parcelles de canne à sucre**

### *Objectifs :*

Collecter des souches de champignons entomopathogènes et plus particulièrement les *Beauveria* dans les parcelles du réseau observatoire de la durabilité

### *Réalisation :*

- Collecte d'échantillons de terre, isolement sur milieu semi sélectif, piégeage des souches sur insecte (*Galleria mellonella*), purification (monospore), mise en collection des souches.

## **Tâche 2 : Génotypage**

### *Objectifs :*

Caractérisation de la diversité des espèces et souches issues de la prospection.

### *Réalisation :*

- Observation microscopique
- Caractérisations MaldiTof-MS
- Extraction d'ADN de la collection
- Génotypage microsatellites
- séquençage de gènes ou portions de gènes permettant le positionnement taxonomique des souches

### **Organisme d'accueil :**

UMR 53 Peuplement Végétaux et Bio-agresseurs en Milieu Tropical, Saint-Pierre, la Réunion

### **Encadrement des stagiaires :**

Laurent Costet ([laurent.costet@cirad.fr](mailto:laurent.costet@cirad.fr))

Isabelle Soustrade

**Partenaire industriel :** Natural Plant Protection SA et Betel Réunion SAS (groupe Arysta LifeScience)