

Monitoring, caractérisation moléculaire et lutte biologique contre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae)

Auteur : Cokola, Cuma Marcellin

Promoteur(s) : Francis, Frédéric

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master de spécialisation en production intégrée et préservation des ressources naturelles en milieu urbain et péri-urbain

Année académique : 2018-2019

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/8077>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

Monitoring, caractérisation moléculaire et lutte biologique contre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera : Noctuidae)

COKOLA CUMA MARCELLIN

**TRAVAIL DE FIN D'ETUDES PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MASTER DE SPECIALISATION EN PRODUCTION INTEGREEE ET PRESERVATION DES
RESSOURCES NATURELLES EN MILIEU URBAIN ET PERI-URBAIN**

ANNEE ACADEMIQUE 2018-2019

PROMOTEUR: FREDERIC FRANCIS

« Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique de Gembloux Agro-Bio Tech. »

« Le présent document n'engage que son auteur »

Monitoring, caractérisation moléculaire et lutte biologique contre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera : Noctuidae)

COKOLA CUMA MARCELLIN

**TRAVAIL DE FIN D'ETUDES PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MASTER DE SPECIALISATION EN PRODUCTION INTEGREEE ET PRESERVATION DES
RESSOURCES NATURELLES EN MILIEU URBAIN ET PERI-URBAIN**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2018-2019

PROMOTEUR: FREDERIC FRANCIS

DEDICACE

A mes parents BISHIKWABO CHUMA Richard et KUSHINGANINE M'NAMURUSHA Léontine

A vous mes frères et sœurs, Sylvie, Yvette, Douce, Eric, Justin Badesire, Christian et Lydie

A mes cousins et cousines

A la famille CHABWINE et TEGANYI

Aux Professeurs Katcho KARUME, BISIMWA BASENGERE Espoir et Gustave MUSHAGALUSA NACHIGERA

A la faculté des sciences agronomiques et environnement de l'Université Evangélique en Afrique (UEA)

REMERCIEMENTS

La réalisation de ce mémoire ne serait possible sans l'effort conjugué de plusieurs personnes à qui je voudrais témoigner toute ma gratitude.

Je voudrais dans un premier temps remercier, mon directeur de mémoire Monsieur Frédéric Francis, pour avoir accepté la direction de ce mémoire et avoir mis à ma disposition les ressources dont j'avais besoin. Votre patience, votre disponibilité et surtout vos judicieux conseils, ont contribué à alimenter ma réflexion.

Je remercie sincèrement l'académie de recherche et d'enseignement supérieur (ARES) pour avoir financé mon séjour en Belgique. Particulièrement à Lindsay Lebeau pour l'accueil au sein de la faculté de Gembloux Agro-Bio Tech.

J'adresse mes sincères remerciements à tout le corps professoral, administratif de l'université de Liège en général et en particulier ceux de la faculté de Gembloux Agro-Bio Tech et de l'ISIA Gembloux pour la formation et les services reçus. L'enseignement de qualité dispensé au cours de ce programme a su nourrir mes réflexions et a représenté une profonde satisfaction intellectuelle, merci donc aux enseignants-chercheurs.

Je remercie de manière particulière le responsable de notre programme et président du jury, Monsieur Jijakli pour l'organisation de ce programme. A Monsieur Franck Delvigne pour la lecture de ce mémoire et pour m'avoir donné accès au laboratoire de microbiologie au TERRA. Je remercie Monsieur Rudy Caparros pour la lecture de ce mémoire. L'acquisition des pièges utilisés dans cette étude n'a été possible qu'avec votre implication.

A l'Université Evangélique en Afrique pour avoir accepté ma mise en disponibilité afin de suivre cette formation. A ma famille pour le soutien moral et spirituel.

Je remercie sincèrement Cathy pour son implication et son encadrement lors de l'isolement de mes souches. A Sébastien pour l'identification de mes souches de bactéries. Je remercie sincèrement Gaston Amzati pour avoir grandement facilité mes analyses statistiques.

Je voudrais exprimer ma reconnaissance envers les membres de l'unité d'entomologie fonctionnelle et évolutive. A Jeannine Bortels et Catherine Willaume pour l'accueil au sein de l'unité. A Grégoire Noel et Nicolas Poncelet pour l'encadrement lors de mes analyses moléculaires. Je salue l'esprit de tolérance qui vous a caractérisé. A Nicolas Leroy pour avoir surveillé l'élevage de *Spodoptera frugiperda* avant mon retour de stage. A Arnaud Segers pour son soutien dans l'identification des insectes. A Junior Corneille Fingu pour l'encadrement dans la préparation de mes solutions de champignons et sa disponibilité à chaque fois que j'avais une question particulière qui me tourmentait.

Aux amis et collègues qui ont participé à la collecte de données sur terrain. A Victoire Aganze pour avoir partagé le même appartement durant notre séjour à Gembloux. Enfin à tous les collègues de l'UEA et du Master PPRN 2018-2019 avec qui l'on a vécu ensemble en Belgique.

RESUME

La chenille légionnaire (*Spodoptera frugiperda*) constitue à l'heure actuelle le ravageur le plus important des cultures du maïs, du sorgho, du coton, du riz à travers le monde. Un état des lieux et un système de surveillance ont été réalisés afin de déterminer les hôtes alternatives, l'abondance des individus ainsi que les ennemis naturels de *S. frugiperda* à l'Est de la République Démocratique du Congo. Les investigations ont été conduites dans deux milieux : en basse altitude (Plaine de la Ruzizi) et en moyenne altitude (Kabare). Des pièges à phéromones contenant 98% Z9-14:OAc et 2% Z7-12:OAc ont été utilisé pour collecter les adultes de *S. frugiperda*. Ensuite, la méthode PCR-RFLP du COI a été utilisé pour la détermination de l'identité des souches présentes dans ces régions. Aussi, des expériences sur le contrôle biologique de *S. frugiperda* ont été également initiées. Trois souches de champignons entomopathogènes (un *Aspergillus flavus* et deux *Beauveria bassiana*) et une souche commerciale de *Bacillus thuringiensis* ont été testées contre le deuxième stade larvaire de *S. frugiperda* et sur deux sources de nourriture. Les résultats indiquent une incidence plus élevée en basse (67.3%) qu'en moyenne altitude (57.2%). Le degré d'attaque est moyen dans ces deux milieux et varie entre 5,10 et 6,65 selon l'échelle de Davis. Un total de 51 individus adultes de *S. frugiperda* ont été capturés dans ces régions dont 39 proviennent de la basse altitude et 12 en moyenne altitude. Les cultures du maïs et du sorgho sont attaquées par ce ravageur dans ces régions. L'analyse PCR-RFLP du COI confirme bien l'existence de deux souches de *S. frugiperda* dans la plaine de la Ruzizi. A l'issu des tests effectués, des mortalités de 15.3%, 17.7% et 16.4% respectivement pour les souches de *A. flavus*, de *B. bassiana* B115 et GHA, ont été enregistrées. Pour la souche de Bt, une mortalité de 100% a été enregistrée. Plusieurs ennemis naturels locaux de *S. frugiperda* ont été identifiés en terme de prédateurs, parasitoïdes, bactéries et champignons entomopathogènes et certains constituent des candidats potentiels pour le contrôle biologique de *S. frugiperda*.

Mots-clés : *Spodoptera frugiperda*, Surveillance, caractérisation moléculaire, lutte biologique

ABSTRACT

Fall Armyworm (FAW, *Spodoptera frugiperda*) is currently the most important pest of maize, sorghum, cotton and rice crops throughout the world. A survey and monitoring was carried out to determine alternative hosts, abundance of adults and natural enemies of FAW in Eastern DR Congo. Investigations were conducted in two agro-ecological zones: low altitude (Ruzizi plain) and medium altitude (Kabare). White Delta Pheromone traps were used, containing 98% Z9-14:OAc and 2% Z7-12:OAc. The COI PCR-RFLP method was used to determine the identity of strains present in these regions. Experiments on the biological control of *S. frugiperda* have also been initiated. Three strains of entomopathogenic fungi (one *Aspergillus flavus* and two *Beauveria bassiana*) and one commercial strain of *Bacillus thuringiensis* were tested against the second instar larvae of *S. frugiperda* feed on two food sources. The results indicate a higher incidence at low (67.3%) than at medium altitude (57.2%). The average of the score damage indicates the medium damage in both media ranges between 5.10 and 6.65 according to Davis scale. A total of 51 *S. frugiperda* adults were caught in these areas, 39 of which came from low altitude and 12 from medium altitude. Maize and sorghum crops were attacked by this pest in these regions. The COI PCR-RFLP analysis confirms the presence of two strains of *S. frugiperda* in the Ruzizi plain. At the end of the biological tests carried out, mortality of 15.3%, 17.7% and 16.4% respectively for the *A. flavus*, B115 and GHA *B. bassiana* strains were recorded. For the *Bt* strain, a mortality of 100% was recorded. Several local natural enemies of *S. frugiperda* have been identified as predators, parasitoids, bacteria and entomopathogenic fungi and represents potential candidates for the biological control against *S. frugiperda*.

Keywords: *Spodoptera frugiperda*, Monitoring, molecular characterization, biological control

LISTE DES ABREVIATIONS

16S rRNA	: 16S ribosomal Ribonucleic acid
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AFLP	: Amplified fragment length polymorphism
BLAST	: Basic Local Alignment Search Tool
bp	: base pair
Bt	: <i>Bacillus thuringiensis</i>
CABI	: Centre for Agriculture and Bioscience International
CAID	: Cellule d'analyse des indicateurs de développement
CIAT	: centre international d'agriculture tropicale
CIMMYT	: International Maize and Wheat Improvement Center
COI	: cytochrome oxydase mitochondriale I
CS	: corn strain (souche du maïs)
dNTP	: désoxynucléoside triphosphate
DSP	: Delley Seed Plant
DTW	: Delta White Trap
EFSA	: European Food Safety Authority
FAO	: Food and Agriculture Organisation
FAW	: Fall ArmyWorm
HR	: humidité relative
IITA	: International Institute for Tropical Agriculture
IPM	: Integrated Pest Management
LBA	: Lysogeny Broth Agar
LR Chi²	: Likelihood Ratio Chi-square
MSD	: Minimum Significant Difference
NCBI	: National Center for Biotechnology Information
NPV	: Nucléopolyhedrovirus
OEPP/EPPO	: Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes/European and Mediterranean Plant Protection Organization
PBAN	: Pheromone Biosynthesis Activating Neuropeptide
PCR	: Polymerase Chain Reaction
PDA	: potato dextrose agar
PPRN	: Production intégrée et préservation des ressources naturelles en milieu urbain et péri-urbain
RFLP	: Restriction Fragment length polymorphism
RPM	: Revolutions Per Minute
RS	: rice strain (souche du riz)
TERRA	: Teaching and Research Centre
UEA	: Université Evangélique en Afrique

TABLE DE MATIERES

INTRODUCTION	1
1. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE	3
1.1. <i>Spodoptera frugiperda</i>	3
1.1.1. Taxonomie	3
1.1.2. Origine et distribution	3
1.1.3. Biologie et morphologie	4
1.1.4. Ecologie	8
1.1.5. Cultures attaquées et moyens de lutte	8
1.2. Surveillance et Caractérisation moléculaire de <i>Spodoptera frugiperda</i>	9
1.2.1. Monitoring	9
1.2.2. Caractérisation moléculaire de <i>Spodoptera frugiperda</i>	11
1.3. Contrôle biologique de <i>Spodoptera frugiperda</i>	14
1.3.1. Généralités sur le contrôle biologique contre les insectes	14
1.3.2. Les ennemis naturels de <i>Spodoptera frugiperda</i>	15
2. OBJECTIFS ET INTERETS DE L'ETUDE	21
3. MATERIELS ET METHODES	22
3.1. Milieux d'étude	22
3.2. Matériels et méthodes	24
3.2.1. Monitoring	24
3.2.2. Surveillance et collectes de données sur la situation actuelle de la chenille dans les cultures	26
3.2.3. Identification des microorganismes colonisant les larves de <i>Spodoptera frugiperda</i>	27
3.2.4. Conduite de l'élevage de <i>Spodoptera frugiperda</i>	30
3.2.5. Caractérisation moléculaire	31
3.3.5. Tests biologiques sur <i>Spodoptera frugiperda</i>	32
3.3.5. Cartographie du milieu et Analyse statistique des données	35
4. RESULTATS ET DISCUSSIONS	36
4.1. Résultats	36
4.1.1. Etat de lieu et Surveillance de <i>Spodoptera frugiperda</i> à l'Est de la RD Congo	36
4.1.2. Identifications des ennemis naturels de <i>Spodoptera frugiperda</i>	41
4.1.3. Elevage de <i>Spodoptera frugiperda</i>	44

4.1.4. Caractérisation moléculaire de <i>Spodoptera frugiperda</i>	48
4.1.5. Contrôle biologique de <i>Spodoptera frugiperda</i>	49
4.2. Discussion	51
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES	57
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	59
ANNEXES.....	75

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Climat adapté à <i>Spodoptera frugiperda</i> , modélisé globalement à l'aide du logiciel CLIMEX par Du Plessis et al. (2018)	4
Figure 2 : Marques caractéristiques de <i>Spodoptera frugiperda</i> (Visser, 2017)	6
Figure 3 : Modèles de variation sur les ailes chez l'adulte de <i>Spodoptera frugiperda</i> (Visser, 2017).....	7
Figure 4: Cartographie du milieu d'étude. Source : COKOLA CUMA Marcellin	24
Figure 5 : schéma de la technique d'échantillonnage de <i>Spodoptera frugiperda</i>	26
Figure 6 : Disposition des larves de <i>Spodoptera frugiperda</i> dans la boite de Pétri et sur culture du maïs en pot lors des essais toxicologiques avec les agents entomopathogènes	33
Figure 7: incidence de <i>Spodoptera frugiperda</i> en fonction de l'altitude.....	36
Figure 8: Incidences des cultures attaquées par <i>Spodoptera frugiperda</i> à l'Est de la RD Congo	37
Figure 9: Relation entre plusieurs paramètres observés sur l'épidémiologie illustrée pour <i>Spodoptera frugiperda</i>	38
Figure 10 : Influence du stade développement des cultures sur l'incidence de <i>Spodoptera frugiperda</i>	39
Figure 11 : Influence du nombre de larves de <i>Spodoptera frugiperda</i> par superficie sur les stades de développement des cultures	40
Figure 12: Degré de défoliation causé par <i>Spodoptera frugiperda</i> et calculé selon l'échelle de Davis.....	40
Figure 13 : Nombre moyen d'adultes de <i>Spodoptera frugiperda</i> capturés en fonction de l'altitude	41
Figure 14 : Potentiels champignons entomopathogènes de <i>Spodoptera frugiperda</i> isolés à partir des cadavres	43
Figure 15 : Evolution des émergences des adultes de <i>Spodoptera frugiperda</i> pendant la mise en place des élevages au laboratoire	44
Figure 16 : production moyenne de larves, de chrysalides et mortalité larvaire de <i>Spodoptera frugiperda</i> lors de la mise en place des élevages	45
Figure 17: Cycle de développement de <i>Spodoptera frugiperda</i>	46
Figure 18 : Fécondité de <i>Spodoptera frugiperda</i> : nombre d'œufs par masse et par jour (A) et nombre de masses d'œufs pondues par jour (B).....	47
Figure 19: gels d'électrophorèse de la digestion des produits PCR des échantillons de <i>Spodoptera frugiperda</i> adultes par l'enzyme Mspl du COI	48
Figure 20: Effets de différentes souches de champignons entomopathogènes sur la mortalité de <i>Spodoptera frugiperda</i>	49
Figure 21 : Efficacité de <i>Bacillus thuringiensis</i> contre <i>Spodoptera frugiperda</i>	50

LISTE DES TABLEAUX

<i>Tableau 1: Parasitoïdes et prédateurs de Spodoptera frugiperda repartis en ordre et en famille.....</i>	16
<i>Tableau 2: caractéristiques des localités relatives à l'installation des pièges sur le terrain....</i>	25
<i>Tableau 3: caractéristiques morphologiques des cadavres de Spodoptera frugiperda trouvés sur les feuilles du maïs (voir annexe 5).....</i>	27
<i>Tableau 4 : composition des milieux de culture pour les champignons infestant les cadavres de Spodoptera frugiperda</i>	28
<i>Tableau 5 : Ennemis naturels de Spodoptera frugiperda identifiés à la famille</i>	42
<i>Tableau 6 : Espèces et souches de bactéries identifiées à partir des cadavres de Spodoptera frugiperda.....</i>	43
<i>Tableau 7 : caractéristiques des stades de développement de Spodoptera frugiperda</i>	46
<i>Tableau 8 : Identité et localisation des souches de Spodoptera frugiperda relatives aux individus collectés à l'Est de la RD Congo.....</i>	49
<i>Tableau 9 : Effet combiné de souches et de source de nourriture sur la mortalité de Spodoptera frugiperda</i>	50

LISTE DES ANNEXES

Annexe 1 : Photographie Spodoptera frugiperda dans la plaine de la Ruzizi	75
Annexe 2 : Ennemis naturels de Spodoptera frugiperda dans la plaine de la Ruzizi	75
Annexe 3 : Photographie Spodoptera frugiperda dans le territoire de Kabare	76
Annexe 4 : Images des ennemis naturels de Spodoptera frugiperda dans le territoire de Kabare	76
Annexe 5 : Cadavres de Spodoptera frugiperda infectés par des microorganismes entomopathogènes	77
Annexe 6: Photographie monitoring de Spodoptera frugiperda à l'Est de la RD Congo	77
Annexe 7: échelles d'évaluation visuelle des dommages de <i>S. frugiperda</i> sur le maïs en phase de développement (Davis et al., 1992)	78
Annexe 8 : Indicateurs d'évaluation de la sévérité des attaques de Spodoptera frugiperda sur la culture du maïs selon Davis et al. (1992)	78

INTRODUCTION

La chenille légionnaire, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797), est un insecte polyphage, originaire d'Amérique tropicale et subtropicale (Ayala et al., 2013 ; FAO, 2018 ; Sharanabasappa et al., 2018). Depuis 2015, ce ravageur n'a été signalé dans aucune autre partie du monde à part l'Amérique (Shylesha et al., 2018). Identifiée pour la première fois en Afrique centrale et de l'Ouest (Goergen et al., 2016) ; à l'heure actuel, cet insecte est reparti dans presque tout le continent Africain à l'exception du Maghreb (FAO, 2018b ; EPPO, 2019). Cependant, sa présence est également signalé sur le continent asiatique (Sharanabasappa & Kalleshwaraswamy, 2018 ; Shylesha et al., 2018 ; EPPO, 2019 ; CABI, 2019).

Spodoptera frugiperda attaque plus de 80 cultures de différentes espèces, ce qui en fait l'un des ravageurs les plus dommageables pour les cultures (Prasanna et al., 2018 ; FAO, 2018). Alors qu'il a une préférence pour le maïs (Abrahams et al., 2017), principal aliment de base de la population d'Afrique Subsaharienne (Sibiya et al., 2013 ; Ekpa et al., 2018) ; il peut également attaquer nombreuses autres cultures importantes, y compris le sorgho, le riz, la canne à sucre, le chou, la betterave, l'arachide, le soja, l'oignon, les herbes de pâturage, le mil, la tomate, la pomme de terre et le coton (Van der Gaag & Van der Straten, 2017 ; Prasanna et al., 2018).

Selon Day et al. (2017) ; Toepfer et al. (2018), les pertes occasionnées par *Spodoptera frugiperda* sont de l'ordre de 8.3 à 20.6 millions de tonnes de maïs chaque année en l'absence de méthodes de lutte efficaces pour les 12 plus gros producteurs du maïs en Afrique. Pour le cas de la RD Congo, les pertes sur la culture du maïs peuvent atteindre ~ 633.000 tonnes/an (Day et al., 2017). Pour les autres cultures attaquées, notamment les cultures maraîchères, les pertes demeurent inconnues. Cependant, se basant sur les caractères morphologiques, il est possible de confondre les dégâts de *Spodoptera frugiperda* à ceux d'autres espèces de légionnaires comme *S. exempta*, *S. exigua*, *S. littoralis*, *Helicoverpa spp.* (Abrahams et al., 2017 ; Toepfer et al., 2018). L'identification du bioagresseur constitue un élément capital dans la prise de décision en termes de stratégies de gestion (Gibb, 2015).

Les études conduites par Pashley (1988a, b) ont permis de distinguer deux souches de *S. frugiperda* ; celle du maïs (*Zea mays* L.) et celle du riz (*Oryza sativa* L.). Ces deux souches sont morphologiquement identiques (Meagher et al., 2013 ; Nagoshi et al., 2015), mais peuvent être différenciées par caractérisation moléculaire via les marqueurs moléculaires (Levy et al., 2002 ; Meagher & Gallo-Meagher, 2003 ; Nagoshi et al., 2006 ; Arias et al., 2011 ; Nagoshi et al., 2012 ; Cano-Calle et al., 2015 ; Cock et al., 2017). Ces marqueurs moléculaires permettent non seulement la caractérisation, mais aussi, ce sont des bons indicateurs du polymorphisme de la population (Menozzi, 2000 ; Nagoshi et al., 2012). Lu et al. (1994) ; Levy et al. (2002) ; Meagher & Gallo-Meagher (2003) ; Nagoshi et al. (2006) ; Lewter & Szalanski

(2007), ont utilisé la RFLP pour différencier les souches de *S. frugiperda*, morphologiquement identiques mais vivant sur des plantes différentes. Selon Gagnon (2005), l'utilisation des marqueurs moléculaires à base d'ADN est efficace également pour identifier les parasites, les virus, les bactéries ou autres organismes à l'intérieur d'un insecte.

L'identification de la souche est importante parce que les recherches (Lopez-Edwards et al., 1999 ; Hall et al., 2005 ; Vélez et al., 2013) ont montrés de différences biologiques, comportementales, toxicologiques et génotypiques de l'hôte vis-à-vis de souches (Meagher & Gallo-Meagher, 2003). La distribution des souches de *S. frugiperda* dans différents habitats constitue la principale caractéristique permettant de les distinguer par utilisation des pièges à phéromones et la collecte des larves (Meagher et al., 2013). Les pièges à phéromones pour le contrôle de *S. frugiperda* ont été expérimentés depuis bien longtemps (Tumlinson et al., 1986 ; Mitchell et al., 1985 ; Sekul & Cox, 1967). Ils permettent de surveiller les populations d'insectes (Knodel & Petzoldt, 1995 ; Ahmad & Kamarudin, 2011), car la pression des ravageurs varie d'une région à une autre et dans le temps (Cruz et al., 2012). En effet, vu l'ampleur des dégâts et les pertes économiques occasionnées par *Spodoptera frugiperda*, les agriculteurs font directement recours aux produits chimiques de synthèse (Carvalho et al., 2013 ; Bateman et al., 2018). Non seulement à cause de la résistance vis-à-vis de certains insecticides (Yu, 1991 ; Tong et al., 2013 ; Ahmad & Mehmood, 2015 ; Gutiérrez-Moreno et al., 2018), des effets sur les organismes non cibles notamment les ennemis naturels (Tang et al., 2010 ; Roubos et al., 2014), mais aussi des effets sur l'environnement (Bernardes et al., 2015 ; Kibria, 2016) ; l'emploi des pesticides en agriculture devient de plus en plus limitée. Le recours à des méthodes alternatives, et plus particulièrement l'utilisation de la lutte biologique pour le contrôle des bioagresseurs, est en pleine expansion.

Le développement et l'utilisation des ennemis naturels (prédateurs, parasitoïdes et agents pathogènes contre les insectes nuisibles) ont pris de l'élan au cours des dernières décennies (Sree & Varma, 2015). Les champignons entomopathogènes (*Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Nomuraea rileyi*) pour le contrôle de *Spodoptera frugiperda* ont été utilisés dans plusieurs études (Virgen et al., 2013 ; Thomazoni et al., 2014 ; Khan & Ahmad, 2015 ; Rivero-Borja et al., 2018). L'efficacité la plus élevée de *B. bassiana* sur *S. frugiperda* a été évaluée à 44.5% (Thomazoni et al., 2014). Domenico et al. (2009) ont testé *Nomuraea rileyi* pour le contrôle de *S. frugiperda*. L'efficacité a été évaluée jusqu'à 80%. *Bacillus thuringiensis* a attiré l'attention pour contrôler *Spodoptera frugiperda* en raison de son efficacité. Le taux de mortalité jusqu'à 100% a été obtenu par Polanczyk et al. (2000). Andaló et al. (2010) ont testé plusieurs espèces de *Steinernema* et *Heterorhabditis* pour contrôler *S. frugiperda*. Le taux de mortalité a été respectivement de 100% et 97.6%. Barrera et al. (2011) ; Vieira et al. (2012) ; Virgen et al. (2013), ont isolé le nucléopolyhedrovirus (NPVs) infectant les larves de *Spodoptera frugiperda*. Les insectes ennemis naturels de *Spodoptera frugiperda* ont été identifiés en différentes familles et espèces (Wheeler et al., 1989 ; Molina-Ochoa et al., 2003 ; Jourdie et al., 2008 ; Lopez et al., 2018).

1. REVUE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. *Spodoptera frugiperda*

1.1.1. Taxonomie

La position taxonomique de la légionnaire d'automne (FAW, soit Fall Army Worm en anglais) se présente de la manière suivante selon EFSA et al. (2017) ; Myers et al. (2019) ; CABI (2019) :

Embranchement: Arthropoda
Classe: Insecta
Ordre: Lepidoptera
Superfamille : Noctuoidea
Famille: Noctuidae
Genre: Spodoptera
Espèce: *Spodoptera frugiperda*

L'ordre des Lépidoptères constitue le troisième ordre d'insectes le plus abondant en termes de nombre d'espèces après les Coléoptères et les Diptères (Zhang, 2011). La superfamille des Noctuoidea comprend 6 familles : celles des Oenosandridae, Notodontidae, Erebidae, Euteliidae, Nolidae et Noctuidae. La famille Noctuidae comprend 1.089 genres et 11.772 espèces (Zhang, 2011). D'après les études morphologiques et moléculaires récentes, Lafontaine & Fibiger (2006) ont proposé une définition plus compréhensive de la famille des Noctuidae, qui ajoute les sous-familles Nolinae, Strepsimaninae, Arctiinae, Lymantriinae et Erebinae à celles qui sont plus traditionnellement incluses dans les Noctuidae. Cependant, la faune mondiale du genre *Spodoptera* a été révisée. Sa phylogénie a été construite sur base des relations cladistiques (y compris larves et adultes) de 30 espèces (Pogue, 2002) ; tandis que l'Organisation Européenne et Méditerranéenne pour la Protection des Plantes, EPPO (2015) fournit une clé d'identification basée sur les caractéristiques morphologiques des adultes.

1.1.2. Origine et distribution

Anciennement appelé *Laphygma frugiperda* (Luginbill, 1928), *S. frugiperda* est originaire des régions tropicales et subtropicales de l'hémisphère occidental d'Amérique, des États-Unis à l'Argentine. On le trouve couramment dans les caraïbes, y compris Porto Rico (Capinera, 2001). Signalé pour la première fois en Afrique centrale et de l'Ouest en 2016 (Goergen et al., 2016) comme une espèce invasive ; à l'heure actuelle, presque tous les pays du continent Africain signalent sa présence à l'exception du Maghreb (FAO, 2018b ; EPPO, 2019). Sa distribution sur le continent Africain a été modélisée par utilisation d'un indice d'adéquation environnementale (Abrahams et al., 2017). En 2018, cette espèce a également été signalée sur le continent asiatique, plus précisément en Inde (Shylesha et al., 2018 ; Sharanabasappa & Kalleshwaraswamy, 2018 ; EPPO, 2019). Aussi, pour modéliser sa distribution potentielle à travers le monde, le logiciel CLIMEX intégrant le modèle d'espèces "Wet Tropical", a été utilisé par Du Plessis et al. (2018) comme point de départ.

Deux indices sont pris en compte dans cette modélisation : l'indice écoclimatique (**EI**) et l'indice de croissance (**GI**) (Baker et al., 2011). Les résultats du modèle CLIMEX permettent d'affiner la modélisation préliminaire présentée dans Abrahams et al. (2017), en définissant les régions où les populations persistantes et éphémères peuvent avoir un impact sur la production, et en incluant également un traitement explicite des effets de l'irrigation sur la distribution potentielle du ravageur.

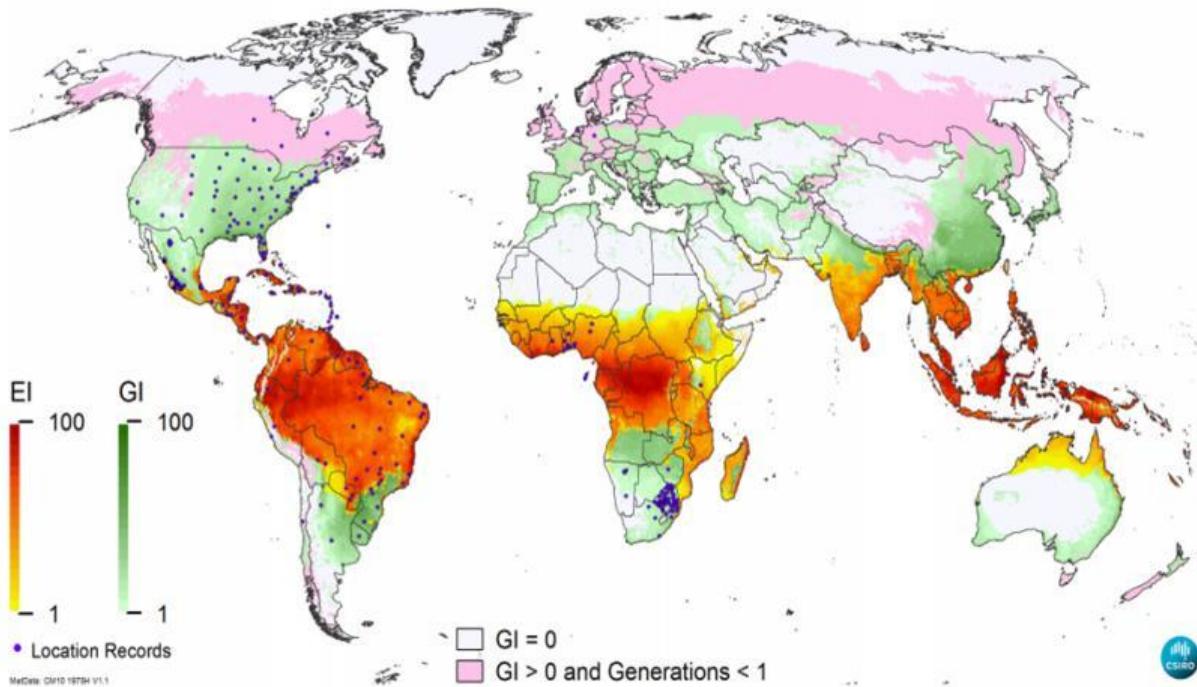


Figure 1 : Climat adapté à *Spodoptera frugiperda*, modélisé globalement à l'aide du logiciel CLIMEX par Du Plessis et al. (2018)

1.1.3. Biologie et morphologie

L'ordre des Lépidoptères constitue l'un des ordres les plus importants chez les insectes en termes de nombre d'espèces à travers le monde. Il contient des papillons de jour et de nuit. Ils se caractérisent tous par des écailles sur les ailes qui se détachent lorsqu'ils sont manipulés (Kondidie, 2011). De nombreuses espèces de l'ordre des Lépidoptères sont des ravageurs économiquement importants qui se nourrissent de plantes, de grains entreposés ou de tissus (Sree & Varma, 2015). Les espèces faisant partie de l'ordre des Lépidoptères, sont des insectes à métamorphose complète c.à.d. que le développement complet de l'insecte inclut 4 stades dont l'œuf, les larves (pour le cas de *S. frugiperda*, six stades larvaires sont visibles), la chrysalide et l'insecte adulte ou imago.

Le nom commun pour le genre *Spodoptera* est "Army Worm", en raison du comportement de nombreuses espèces qui se déplacent en masse d'un endroit à un autre lors de la recherche d'hôtes préférés (Pogue, 2002). Environ la moitié des 30 espèces de *Spodoptera* ont été considérées comme des ravageurs des cultures dont *S. frugiperda* en constitue pour

le moment la plus importante à travers le monde. Le cycle complet de *S. frugiperda* est en moyenne de 30 jours lorsque les conditions sont sèches ($25\pm1^{\circ}\text{C}$ et $70\pm10\%$ d'humidité relative) (Busato et al., 2005) ; conditions favorables pour sa croissance et son développement. Cependant, ce cycle peut atteindre 60 jours au printemps et en automne, et 80 à 90 jours en hiver (Capinera, 2014 ; Prasanna et al., 2018). Le nombre de générations présentes dans une zone varie en fonction de l'apparition et de la dispersion des adultes. La migration saisonnière est un facteur important dans son cycle biologique. A cet effet, *S. frugiperda* est considéré comme l'un des ravageurs des cultures le plus mobile de l'hémisphère occidental parmi les espèces de noctuelles (Kondidie, 2011). Selon Luginbill (1928), la capacité à la diapause n'est pas observée chez *S. frugiperda*.

- Le stade œuf

L'œuf de *S. frugiperda* a la forme de dôme. Sa base est aplatie et l'œuf s'incurve vers le haut jusqu'à un point largement arrondi à l'apex (Capinera, 2001 ; Prasanna et al., 2018). L'œuf mesure environ 0,4 mm de diamètre et 0,3 mm de hauteur (Luginbill, 1928 ; Capinera, 2014 ; EPPO, 2015). Le nombre d'œufs par masse varie entre 150 et 200 (CABI, 2019). La production totale d'œufs par femelle est en moyenne d'environ 1500 avec un maximum de l'ordre de 2000 (Capinera, 2014). Les œufs sont déposés en masse sur les feuilles, principalement sur la face inférieure, mais aussi sur la face supérieure et sur les tiges. Les femelles peuvent recouvrir les œufs d'une matière duveteuse, couverture dense d'écaillles ou de soies provenant de l'abdomen des imagos (Hardke et al., 2015 ; Du Plessis et al., 2018). Des masses d'œufs sans cette couverture de soies peuvent également être rencontrées. Les œufs peuvent être de couleurs crème, verts ou bruns, mais la couleur blanchâtre de la couverture par les écaillles s'observe facilement sur les feuilles vertes. Environ 12 h après la ponte, les œufs semblent bruns et deviennent presque noirs juste avant l'éclosion larvaire. Ce stade dure entre 2 et 3 jours (Capinera, 2001 ; FAO, 2018).

- Le développement larvaire

Ce stade est contrôlé par la combinaison de la température et de l'alimentation, et dure de 14 à 21 jours (CABI, 2019). Lors de l'éclosion, les nouveau-nés consomment la masse d'œufs dont ils sont issus. Les larves se dispersent ensuite dans toutes les directions et commencent à se nourrir des organes végétaux rencontrés (Hardke et al., 2015). Il est cependant difficile de distinguer les espèces de *Spodoptera* à ce stade. Il faudra attendre jusqu'au niveau du deuxième ou troisième stade larvaire pour les distinguer. A cet effet, six stades larvaires sont observables chez *S. frugiperda*. La tête d'une larve récemment éclos est plus grosse que le reste de son corps. En plus, les soies (villoosités) sont très visibles sur tout le corps (Guzmán Prada et al., 2018). Au deuxième, mais surtout au troisième stade, la surface dorsale du corps devient brunâtre et les lignes latérales blanches commencent à se former. Du quatrième au sixième stade, la tête est brun rougeâtre, tachetée de blanc, et le corps brunâtre porte des lignes subdorsales et latérales blanches. La largeur des capsules de tête varie d'environ 0,35 à 2,6 mm respectivement pour les stades 1 à 6. Les larves atteignent des

longueurs d'environ 1,7 à 34,2 mm respectivement durant ces stades successifs (Capinera, 2001).

Les taches surélevées se produisent dorsalement sur le corps, elles sont habituellement de couleur foncée et portent des épines. La tête de la larve mature est marquée d'un "Y" blanc inversé (Capinera, 2014 ; Visser, 2017 ; Sharanabasappa et al., 2018 Sharanabasappa et al., 2018 ; Prasanna et al., 2018 ; FAO, 2018) et l'épiderme de la larve est rugueux ou de texture granuleuse lorsqu'on l'examine de près (Figure 1). Il est également possible de trouver deux couleurs (orange et noire) au niveau de la tête à partir du troisième stade larvaire. Cette variation des couleurs au niveau des trois derniers stades (L4 à L6) est fonction du régime alimentaire et d'autres facteurs (Hardke et al., 2015). Selon Kondidie (2011), il y a une période d'alimentation active et une période d'inactivité pour chaque stade larvaire avant chaque mue. D'après les études de Pitre et Hogg (1983), le temps de développement larvaire a été évalué à 3,3 ; 1,7 ; 1,5 ; 1,5 ; 2,0 et 3,7 jours respectivement pour les stades 1 à 6, lorsque ces dernières étaient élevées à une température moyenne de 25°C. Dès lors, l'identification du genre *Spodoptera* se basant sur le stade larvaire s'avère être de plus en plus compliquée au vu de la ressemblance des stades larvaires entre les espèces (EPPO, 2015). *S. frugiperda* présente certaines caractéristiques le distinguant des autres espèces telles que démontrées par Visser (2017) sur la figure 2. Le stade larvaire dure en moyenne de 14 à 22 jours (Capinera, 2001 ; Prasanna et al., 2018 ; FAO, 2018).

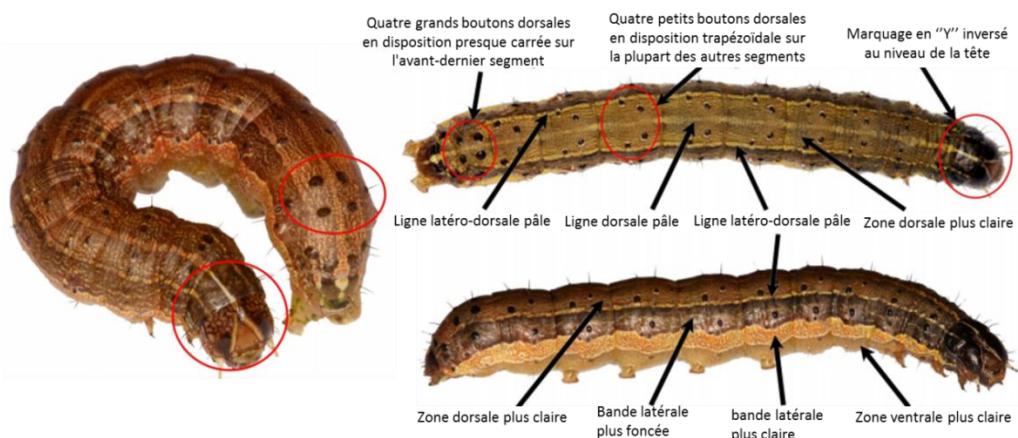


Figure 2 : Marques caractéristiques de *Spodoptera frugiperda* (Visser, 2017)

- La chrysalide

Généralement, ce stade se réalise dans le sol à une profondeur de 2 à 8 cm. Lorsque le sol est trop dur, les larves peuvent s'enchevêtrer dans des débris de feuilles et d'autres matériaux à la surface du sol (Luginbill, 1928 ; Capinera, 2001). La couleur de la chrysalide est brun rougeâtre et elle mesure de 14 à 18 mm de longueur et environ 4,5 mm de largeur (Capinera, 2001). La durée de ce stade est fortement influencée par la température. Plus les conditions sont favorables, plus la durée du stade est raccourcie. Chez *S. frugiperda*, la diapause n'est pas observée à ce stade comme chez nombreuses espèces appartenant au

même ordre (Luginbill, 1928). Au niveau de la chrysalide, il est possible de distinguer déjà le mâle et la femelle à partir de la distance entre l'ouverture génitale et la fente anale. La distance entre les deux est plus grande chez la femelle que chez le mâle (Luginbill, 1928 ; Sharanabasappa et al., 2018). La durée moyenne de ce stade est de 7 à 13 jours.

- L'insecte adulte

L'envergure de l'adulte de *S. frugiperda* est de 32 à 40 mm (Capinera, 2001). Des différences morphologiques apparaissent entre les sexes chez *S. frugiperda* (Figure 3). Chez le mâle, l'aile antérieure est ombragée, généralement grise et brune, avec des taches triangulaires blanches à l'extrémité (zone apicale) et près du centre de l'aile ; tandis que chez la femelle elle est moins nettement marquée, allant d'un brun grisâtre uniforme à une marbrure fine de gris et de brun (Capinera, 2001 ; Hardke et al., 2015 ; Shylesha et al., 2018). L'aile postérieure est blanc argenté avec un bord étroit et foncé chez le mâle tout comme chez la femelle (Capinera, 2001 ; Sharanabasappa et al., 2018). Le dimorphisme sexuel est clairement visible chez les papillons adultes de *S. frugiperda* (Shylesha et al., 2018). D'après les études de Sharanabasappa et al. (2018), les périodes de pré-oviposition, de ponte et d'après-ponte varient respectivement de 3 à 4 jours, de 2 à 3 jours et de 4 à 5 jours. Généralement, les adultes de *S. frugiperda* ne sont actifs que peu avant le coucher du soleil, au moment où la lumière commence à s'estomper. Ils se nourrissent principalement du nectar de diverses plantes (Luginbill, 1928). Ils restent cependant cachés sous le feuillage (dans les débris végétaux, à l'intérieur des feuilles verticillées) (Capinera, 2001 ; Visser, 2017). Ils ne sont jamais rencontrés sur de vieilles feuilles (Visser, 2017).

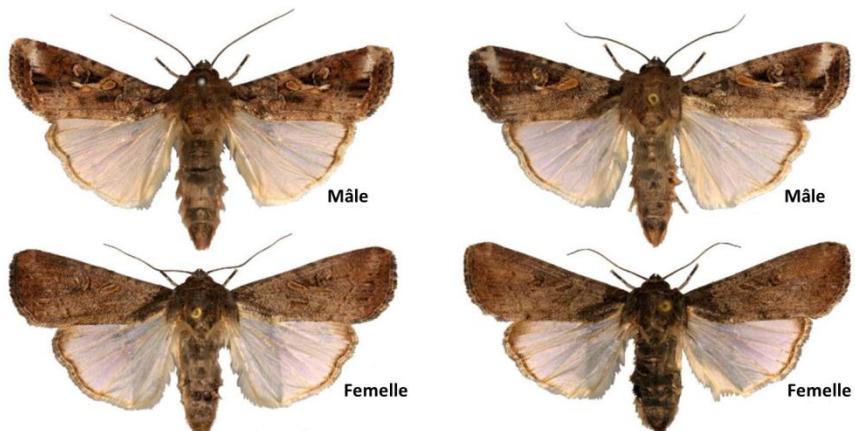


Figure 3 : Modèles de variation sur les ailes chez l'adulte de *Spodoptera frugiperda* (Visser, 2017)

La durée moyenne de survie chez les adultes est de 10 jours (Capinera, 2001). Selon Luginbill (1928), deux facteurs influencent la longévité des adultes : il s'agit de la nourriture et de la température. Cependant, se basant sur les caractères morphologiques des adultes de *S. frugiperda*, des confusions surgissent toujours dans l'identification morphologique des espèces du genre *Spodoptera*. Par exemple, les mâles adultes sont souvent confondus avec *S. ornithogalli* (Guenée) et les femelles avec *S. exigua* (Pogue, 2002 ; Hardke et al., 2015 ;

EPPO, 2015). Pour les différencier, il faut recourir à l'analyse des organes génitaux. Ceux des mâles de *S. ornithogalli* diffèrent de ceux de *S. frugiperda* par le double lobe coremata et le clavus plus grand et plus large. La valve est également moins large que chez *S. frugiperda*. Les organes génitaux femelles de *S. exigua* diffèrent de ceux de *S. frugiperda* par le corpus bursae et le signum allongés (EPPO, 2015).

1.1.4. Ecologie

De par son origine, il est possible d'identifier les niches écologiques de *S. frugiperda*. Etant une espèce tropicale et subtropicale, il s'adapte bien aux régions chaudes à travers le monde (CABI, 2019). La température constitue un paramètre très important pour la croissance et le développement de *S. frugiperda*. Plusieurs études ont montré que le temps de développement de l'œuf, des larves et des nymphes diminue avec la température jusqu'à 35°C (Hogg et al., 1982 ; Busato et al., 2005). A partir de la modélisation faite par Du Plessis et al. (2018), la température minimale (ou de base), la température optimale la plus basse, la température optimale la plus haute, la température maximale ainsi que le degré jour pour *S. frugiperda* ont été estimées respectivement à 12°C, 25°C, 30°C, 39°C et 600°C. Valdez-Torres et al. (2012) ont signalé une température minimale de 8.7°C et une température maximale de 39, 8°C. López et al. (2019) ont déterminé des températures similaires : minimale de 10.9°C ainsi que 559.1°C degrés jours requis pour le développement de *S. frugiperda*. Luginbill (1928) a signalé que la température de 0°C tue tous les stades biologiques de développement chez *S. frugiperda* ainsi que leur plante hôte. La fécondité et la longévité de l'insecte adulte sont les plus élevées entre 21 et 25°C (Barfield & Ashley, 1987). Selon Early et al. (2018), l'importance de l'humidité et des précipitations est complexe. Les précipitations et l'irrigation ont un effet négatif direct sur la survie des larves et des nymphes. Day et al. (2017) ont constaté que les précipitations dans les périodes les plus humides et les températures annuelles les plus froides étaient des variables importantes.

1.1.5. Cultures attaquées et moyens de lutte

L'existence de deux souches permet de distinguer deux catégories de principales cultures attaquées par *S. frugiperda*, toutes étant des Poaceae. Il s'agit du maïs d'une part, et d'autre part du riz et des herbes fourragères (Pashley, 1988b ; Cano-Calle et al., 2015). A cela s'ajoute le sorgho et la canne à sucre (CABI, 2019) ainsi que le coton (Hardke et al., 2015). Selon Prasanna et al. (2018) ; FAO (2018), *S. frugiperda* peut également attaquer d'autres cultures que celles déjà citées. Les études conduites par Casmuz et al. (2010), ont permis de mettre à jour les plantes-hôtes de *S. frugiperda* : 186 espèces végétales appartenant à 42 familles ont été notées : les Poaceae (35,5%), les Fabaceae (11,3%), les Solanaceae et les Asteraceae (4,3%), les Rosaceae et les Chenopodiaceae (3,7%), les Brassicaceae et les Cyperaceae (3,2%). Les études récentes réalisées par Montezano et al. (2018) ont signalé 353 espèces de plantes attaquées par *S. frugiperda*, réparties dans 76 familles ; principalement les Poaceae (106), les Asteraceae (31) et les Fabaceae (31). Cette étude s'est basée sur une littérature approfondie et des études complémentaires au Brésil.

Aussi, FAO (2018) ; CABI (2019), proposent plusieurs méthodes de gestion intégrée des ravageurs pour contrôler *S. frugiperda*. Il s'agit de méthodes culturelles, agroécologiques (Midega et al., 2018 ; Harrison et al., 2019), chimiques, le monitoring par piégeage des adultes à l'aide des phéromones (Rojas et al., 2004 ; Malo et al., 2018), l'utilisation de bio pesticides (Polanczyk et al., 2000 ; Andaló et al., 2010 ; Virgen et al., 2013 ; Rivero-Borja et al., 2018 ; Akutse et al., 2019), la résistance variétale, l'utilisation des ennemis naturels de *S. frugiperda* (Molina-Ochoa et al., 2003 ; Meagher et al., 2016 ; Sisay et al., 2018 ; Lopez et al., 2018) et l'utilisation de certains extraits des plantes (CABI, 2019).

1.2. Surveillance et Caractérisation moléculaire de *Spodoptera frugiperda*

1.2.1. Monitoring

Selon Prasanna et al. (2018), le monitoring consiste à surveiller activement la présence, l'état des populations et les déplacements d'un ravageur à l'intérieur d'une zone géographique donnée. Cette surveillance remplit quatre fonctions selon Howse (1998) : la détection des éclosions, l'établissement des temps d'émergence des insectes adultes, la cartographie de la répartition et l'évaluation des changements dans l'abondance. Pour attirer un congénère, plusieurs espèces de Lépidoptères utilisent des phéromones sexuelles (Cardé & Haynes, 2004). Ces dernières sont des composés émis par des individus d'un sexe et qui attirent les membres du sexe opposé, ce qui entraîne la localisation de l'émetteur et, par conséquent, l'accouplement (Baker, 1989 ; Ganai et al., 2017). Selon Howse (1998) ; Laurent & Frérot (2007), les pièges à phéromones présentent de grands avantages : ils sont peu coûteux en termes de production et de transport, ne nécessitent pas de source d'énergie, sont faciles à utiliser et surtout, sont très sélectifs avec un effort réduit de tri et d'identification lors des collectes.

Les phéromones des Lépidoptères ont été les premières à faire l'objet d'une vaste étude et comprennent une large gamme de molécules et espèces impliquées essentiellement sur base de l'effet sur les individus femelles (Ganai et al., 2017). Le site de bio synthèse est situé au niveau de l'abdomen, entre le huitième et le neuvième segment. Chez les papillons de nuit par exemple, la glande phéromonale se trouve habituellement sous forme de cellules épidermiques modifiées (Rafaeli & Jurenka, 2003 ; Jurenka, 2004). Une taxonomie ainsi qu'une vue d'ensemble des phéromones des Lépidoptères ont été étudiées par Ando et al. (2004). Les phéromones assez variées ont été identifiées selon leurs structures chimiques sur base de près de 530 espèces de femelles papillons de nuit et ont été classés en groupe du type I (75%), du type II (15%) et divers (10%).

a) Phéromones sexuelles chez *Spodoptera frugiperda*

Pendant la parade nuptiale, les femelles font sortir leur glande phéromonale et exposent la surface de la glande au vent, qui distribue la phéromone femelle dans l'environnement (Tamaki, 1985). Pour détecter le signal émis par les femelles et y répondre, les mâles possèdent des antennes sensibles qui permettent de percevoir ces phéromones (Mafraneto

& Cardé, 1994). Les phéromones chez les femelles de *S. frugiperda* ont été étudiées par Sekul & Cox (1965). Les études de Sekul et Sparks (1967) ont permis à l'aide d'un essai comportemental au laboratoire d'identifier une réponse d'accouplement avec le (Z)-9-tetradecenyl acétate (Z9-14:OAc). Les tests ultérieurs de Mitchell & Doolittle (1976) ; Sparks (1980), ont montré que ce composé était inefficace pour les études sur le terrain. Sekul et Sparks (1967) ont isolé et identifié un deuxième composé, le (Z)-7-dodecenyl acétate (Z7-12:OAc), qui, utilisé seul ou avec de petites quantités de Z9-14:OAc, constituait une source efficace d'odeurs pour capturer les mâles de *S. frugiperda* dans des pièges collant (Jones & Sparks, 1979). Un autre type de phéromone a été trouvé, le (Z)-11-hexadecenyl acétate (Z11-16:OAc), mais est considéré comme un composé mineur avec une fonction comportementale inconnue (Unbehend, 2013a). Aussi, Mitchell et al (1983) ont suggéré que des quantités assez importantes de Z9-14:OAc (5-10mg/septum) soient utilisées pour son efficacité et le temps d'utilisation sur terrain a été évalué à une ou deux semaines. Tumlinson et al. (1985) ont démontré que le Z9-14:OAc et le Z7-12:OAc sont nécessaires pour une activité optimale des mâles et que leur mélange constitue une meilleure formulation phéromonale pour capturer les mâles de *S. frugiperda*.

Selon la composition des phéromones sexuelles des femelles, deux souches de *S. frugiperda* ont été identifiées (Groot et al., 2008). Lima & McNeil (2009) ; Unbehend et al. (2014), ont étudié trois principales composantes des phéromones présentes dans les extraits glandulaires chez les femelles de *S. frugiperda* pour les deux souches (riz et maïs). Il s'agit du (Z)-9-tetradecenyl acétate (Z9-14:OAc), du (Z)-11-hexadecenyl acétate (Z11-16:OAc) et du (Z)-7-dodecenyl acétate (Z7-12:OAc). Selon Lima & McNeil (2009), les concentrations et les proportions relatives des composés variaient considérablement d'une souche à une autre, en fonction de l'âge de la femelle et du moment où les glandes ont été extraites pendant la scotophase, soit la période d'obscurité du cycle quotidien. Unbehend et al. (2014) suggèrent que les deux souches présentent des différences plutôt géographiques que spécifiques à la souche dans leur réponse aux leurres à phéromones, et que les différences régionales de communication sexuelle pourraient causer une différenciation entre les populations. Batista-Pereira et al. (2006) indiquent que le (E)-7-dodecenyl acétate (E7-12:Ac) est un composant actif des phéromones sexuelles chez les femelles de *S. frugiperda* au Brésil.

b) Piégeage de *Spodoptera frugiperda*

Plusieurs études ont été menées afin de tester certains pièges pour capturer les mâles de *S. frugiperda*. Malo et al. (2001) ont évalués des phéromones commerciales et des pièges pour capturer les mâles de *S. frugiperda*. L'interaction entre les deux facteurs, pièges et leurres, a été importante en fonction des années de capture. Une étude similaire a été menée par Meagher et al. (2013) par utilisation de pièges appâtés contenant quatre formulations phéromonales commerciales incluant de 2 à 4 composantes pour capturer les mâles de *S. frugiperda*. Tous les pièges ont capturés les deux souches de *S. frugiperda* mais au fil des années et des endroits, la souche du maïs a été plus capturée que celle du riz dans tous les pièges. Malo et al. (2018) ont testé l'effet de la conception, de la taille et de la

couleur des pièges sur la surveillance des mâles de *S. frugiperda* dans les cultures de maïs au Mexique. Aussi, Mitchell et al. (1989) ont démontré l'importance de tenir compte des repères visuels, en l'occurrence la couleur, dans la conception des pièges à phéromones pour *S. frugiperda*. Sept modèles de pièges phéromonaux ont été testés par Tingle & Mitchell (1975) pour capturer *S. frugiperda* et *S. exigua*. Le piège fait à base d'un réseau électrique a capturé plus de mâles de ces deux espèces que le reste des pièges (Mitchell, 1979). Le réseau électrique consiste en une grille cylindrique constituée de tiges en acier inoxydable avec une électrode allumée par une source d'énergie électrique. Le piège est appâté par une phéromone sexuelle distribuée à partir d'une fiole en polyéthylène suspendue au centre de la grille. Les insectes abattus sont recueillis dans un sac en plastique contenant un insecticide comme agent tueur (Mitchell et al., 1972). La hauteur de l'emplacement du piège au-dessus du sol influence également l'efficacité de capture d'insectes (Malo et al., 2004) ainsi que la vitesse du vent, la température et l'humidité relative (Rojas et al., 2004).

1.2.2. Caractérisation moléculaire de *Spodoptera frugiperda*

a) Différences génétiques entre les souches de *Spodoptera frugiperda*

Depuis plus de 30 ans, l'existence de deux souches de *S. frugiperda* est bien connue : celle du maïs (souche C) et celle du riz (souche R) (Pashley, 1986 ; Pashley, 1988a, b). Ces deux souches sont morphologiquement identiques (Vélez-Arango et al., 2008 ; Nagoshi et al., 2015), ce qui rend difficile la détermination sans ambiguïté sans recours aux méthodes moléculaires (Nagoshi & Meagher, 2004). Se basant sur leur développement sur les plantes, la première a été retrouvée sur le maïs, le sorgho et le coton tandis que la seconde sur le riz et les graminées fourragères (Pashley, 1988b ; Cano-Calle et al., 2015).

Selon Pashley (1988b), ces souches peuvent être discriminées suite aux profils d'ADN mitochondriaux générés après utilisation d'enzymes de restriction. Les deux souches divergent également dans les fréquences alléliques de plusieurs enzymes glycolytiques (Pashley, 1985). La souche C du maïs peut être subdivisée en deux sous-groupes géographiquement divisés (type FL et type TX) en fonction des différences de fréquence des haplotypes mitochondriaux (Nagoshi et al., 2007b ; Nagoshi et al., 2015). Le profil de type TX (Texas) se trouve dans la plus grande partie de l'hémisphère occidental, le type FL (Florida) étant limité à la Floride et aux Caraïbes, ainsi que des populations qui migrent de la Floride pour infester annuellement la côte Est des Etats-Unis (Nagoshi et al., 2017a). Selon Nagoshi et al. (2019), les infestations sur le continent Africain sont identifiées comme étant originaires de la Floride et des régions de caraïbes.

Les études conduites par Pashley et al. (1985) ont permis de caractériser génétiquement à l'aide de méthodes électrophorétiques, les populations de *S. frugiperda*, pour déterminer les modes de croisement et identifier les sources potentielles à partir desquelles les migrants entrent chaque année dans le Sud-Est des Etats-Unis. Ces études ont été complétées par

Lewter et al. (2006) pour investiguer la structure génétique de *S. frugiperda* à partir de 608 paires de base des gènes du cytochrome oxydase mitochondriale I et II et sur une région de 562 paires de bases du gène nucléaire ITS-1. A l'heure actuelle, les polymorphismes génétiques constituent la méthode la plus fiable pour identifier les souches (Nagoshi et al., 2007a ; Nagoshi et al., 2017b). Les haplotypes mitochondriaux sont les plus couramment utilisés, ceux définis par les polymorphismes du gène de la sous-unité I du cytochrome oxydase (COI) étant les mieux caractérisés (Lu et al., 1992 ; Levy et al., 2002 ; Nagoshi et al., 2006).

La spécificité de la souche a été démontrée par Nagoshi et al. (2006) pour des populations en Floride, au Texas, au Mississippi, en Géorgie et en Caroline du Nord, avec des sites spécifiques Acil et SacI pour la souche du riz et BsmI et Hinfl rejoignant un site Mspl déjà caractérisé pour le diagnostic de la souche du maïs. Ces quatre sites peuvent être détectés par la digestion d'un seul fragment d'amplification PCR de 568 paires de bases (bp), mais l'utilisation de deux enzymes digérés séparément, a permis de déterminer avec précision et rapidité, l'identité des souches. L'analyse génétique du gène de la cytochrome oxydase (COI) mitochondriale provenant de populations de souches de maïs prélevées en Floride, a permis d'identifier deux sites nucléotidiques polymorphes dans la souche de maïs, générant quatre sous-groupes haplotype : CS-h1, CS-h2, CS-h3 et CS-h4 (Nagoshi et al. 2007b). Lu & Adang (1996) ont identifié des schémas de restriction de l'ADNmt polymorphe (BstNI, Hinfl, et Mspl) à l'aide de 25 endonucléases de restriction pour différencier les souches de *S. frugiperda*. Le modèle Mspl était le plus distinctif puisque la taille moléculaire de chaque fragment d'ADN différait entre les souches.

Aussi, Cano-Calle et al. (2015) ont identifié les souches de *S. frugiperda* sur plusieurs cultures en Colombie à l'aide de la PCR-RFLP (polymerase chain reaction - restriction fragment lenght polymorphism) de la sous-unité I du cytochrome oxydase (COI) et la PCR du gène FR (fall armyworm rice strain) pour la souche du riz (RS). Une étude similaire a été conduite par Vélez-Arango et al. (2008). Les résultats ont permis de différencier trois populations de *S. frugiperda* : le biotype du maïs avec l'enzyme Mspl du gène COI, le biotype du riz, composé d'individus ayant généré des produits d'amplification supérieurs à 500 bp avec le marqueur FR, et enfin un groupe d'individus classés comme "hybrides" entre ces marqueurs. Lu et al. (1994) ont cloné et caractérisé sept unités monomères d'une séquence d'ADN répétée, appelée FR, qui se trouve exclusivement dans le génome des individus de la souche du riz. Les unités FR de 189 bp sont organisées en tandem en réseaux de plus de 30 kb. Les séquences FR étaient censées être exclusives à la souche du riz. Cependant, Nagoshi & Meagher (2003) ont isolé des séquences homologues dans un sous ensemble de la population de la souche de maïs, indiquant que la distinction entre les souches de riz et de maïs est causée par des différences dans le nombre de copies et l'organisation du génome plutôt que simplement la présence ou l'absence de FR.

L'identification sur le continent Africain par Goergen et al. (2016) a permis de détecter la présence d'au moins deux haplotypes distincts dans les échantillons prélevés sur le maïs au Nigeria et São Tomé, et suggère des introductions multiples sur le continent Africain. Par l'utilisation de l'ADNmt COI et du gène Tpi (triose phosphate isomérase) du chromosome Z, Nagoshi et al. (2017b) ont confirmé que les spécimens de *S. frugiperda* appartenaient principalement au sous-groupe qui infeste de préférence le maïs et le sorgho dans l'hémisphère occidental. La configuration de l'haplotype mitochondrial était la plus semblable à celle que l'on trouve dans la région des Caraïbes et la côte Est des Etats-Unis, identifiant ces populations comme la source d'origine probable des infestations au Togo. De plus, une analyse génétique a été effectuée par Nagoshi et al. (2018) pour confirmer l'identification de *S. frugiperda*, déterminer l'identité de la souche hôte et identifier les polymorphismes qui peuvent distinguer les populations africaines géographiquement séparées, par utilisation de l'ADNmt COI et du gène Tpi. Des comparaisons entre les haplotypes trouvés dans les différents sites africains et ceux prévalant dans l'hémisphère occidental ont été utilisées pour extrapoler les sources migratoires probables et l'ampleur des mouvements des populations de *S. frugiperda*. Un désaccord a été observé entre les marqueurs COI et Tpi. Selon Nagoshi et al. (2019), l'infestation africaine peut représenter une nouvelle population hybride aux caractéristiques comportementales potentiellement incertaines.

b) Marqueurs moléculaires utilisés dans l'identification des souches de *Spodoptera frugiperda*

Pour répondre à la question des croisements potentiels entre populations, plusieurs marqueurs moléculaires ont été utilisés parce que les allozymes, l'ADNmt et les marqueurs d'ADN nucléaire n'offraient pas un pouvoir de résolution suffisant pour discriminer entre les hypothèses alternatives de faible fréquence d'hybridation et le chevauchement génétique attendu entre deux populations étroitement liées (Hoy, 2013). Les enzymes de restriction utilisées en RFLP ont été identifiées dans l'ADN génomique et correspondaient aux deux souches de *S. frugiperda* par comparaisons des allozymes (Lu et al., 1992). Un polymorphisme de l'enzyme de restriction Mspl a été identifié, et a permis de diagnostiquer l'identité de la souche et pour lequel une méthode de détection basée sur la PCR a été développée (Levy et al., 2002). Lewter et Szalanski (2007) ont également mis au point une méthode PCR-RFLP pour analyser une région de 611 bp de l'ADNmt COI-COII afin de distinguer *S. frugiperda* de six autres espèces des Noctuidae. Cette méthode a permis d'obtenir le diagnostic des espèces en 1 jour. Meagher et Gallo-Meagher (2003) ont utilisé à la fois les techniques RFLPs et la PCR-RFLP à l'aide d'un gène mitochondrial (COI). Elles ont permis de distinguer les deux souches de *S. frugiperda* mais la PCR-RFLP était plus robuste.

L'AFLP-PCR (Amplified fragment length polymorphism-PCR) a été évaluée pour déterminer des marqueurs génétiques uniques pour chacune des populations et aussi permettre de détecter une hybridation (Hoy, 2013). La majorité de la variabilité génétique se situe à

l'intérieur des populations et non entre les populations, ce qui indique un flux génétique mineur et suggère que *S. frugiperda* dans l'hémisphère occidental est une population qui se croise (Clark et al., 2007). Des observations similaires ont été notées chez Nagoshi et al. (2019) pour les populations Africaines. Pour résoudre la question d'hybridation, McMichael et Prowell (1999) ont suggéré que les données de l'AFLP soient combinées avec des marqueurs mitochondriaux et des allozymes, pour résoudre la question de l'hybridation. Ensuite, Arias et al. (2011) ont utilisé les premiers marqueurs microsatellites de *S. frugiperda* (SSR : simple sequence repeats). Ils ont généré 192 marqueurs microsatellites et examiné 15 individus de huit isofamilles prélevés dans trois zones géographiques. Parmi les 125 meilleurs marqueurs, 103 présentaient un maximum de deux allèles par échantillon, ce qui en fait des candidats idéaux pour les études génétiques des populations. Aussi, Pavinato et al. (2013) ont développé six marqueurs microsatellites pour *S. frugiperda*. Outre l'efficacité plus faible pour obtenir des loci SSR, les six microsatellites étaient polymorphes et suffisamment discriminants pour les études génétiques de *S. frugiperda*. Enfin, Queiroz et al. (2016) ont utilisé un marqueur mitochondriale basé sur la NADH déshydrogénase 1 (ND1). Le dendrogramme produit par les 20 amorces RAPD évaluées, a permis de démontrer une corrélation entre le profil génétique et le comportement alimentaire chez *S. frugiperda*.

1.3. Contrôle biologique de *Spodoptera frugiperda*

1.3.1. Généralités sur le contrôle biologique contre les insectes

Les agriculteurs modernes utilisent des insecticides synthétiques pour lutter contre les insectes ravageurs des cultures (Carvalho et al., 2013 ; Bateman et al., 2018). La lutte chimique est l'une des méthodes les plus efficaces et les plus rapides pour réduire la population de ravageurs. Néanmoins, plusieurs problèmes liés à l'utilisation excessive et aveugle des pesticides pendant de longues périodes sont évoqués. Il s'agit principalement du risque de contamination de l'environnement (Bernardes et al., 2015 ; Kibria, 2016), de la perte de biodiversité (Roubos et al., 2014), le développement de populations de ravageurs résistants aux insecticides, la résurgence, l'apparition de ravageurs secondaires (Ahmad & Mehmood, 2015 ; Gutiérrez-Moreno et al., 2018), l'augmentation des apports sur les produits chimiques et les dangers toxicologiques dus à l'accumulation des résidus de pesticides dans la chaîne alimentaire. A cet effet, l'utilisation des pesticides chimiques pour la lutte contre les bioagresseurs devient limitée. Le recours à des méthodes alternatives aux pesticides chimiques comme la gestion intégrée des pestes, est en pleine expansion. La gestion intégrée des bioagresseurs combine à la fois les méthodes culturales, biologiques et chimiques de façon efficace, écologique et socialement acceptable (Gray et al., 2009). Les biopesticides sont développés à partir de micro- ou macro-organismes dont les plantes et animaux qui peuvent intervenir dans le cycle de vie des insectes ravageurs de manière à minimiser les dégâts sur les cultures (Maronne, 2009). Les agents de lutte biologique utilisés à cette fin comprennent les parasites/parasitoïdes et les prédateurs ou les champignons, les

bactéries, les nématodes et les virus qui causent la mortalité des ravageurs et sont qualifiés d'ennemis naturels de ces derniers (Sree & Varma, 2015).

1.3.2. Les ennemis naturels de *Spodoptera frugiperda*

a) Macro-organismes

Plusieurs ennemis naturels de *S. frugiperda* repartis en prédateurs, parasites et parasitoïdes ont été identifiés par les chercheurs à travers le monde. Les études bibliographiques réalisées par Ashley (1979) en Amérique du Nord et du Sud ont révélé 53 espèces de parasitoïdes de *S. frugiperda* appartenant à 43 genres et 10 familles, dont les familles Braconidae, Ichneumonidae et Tachinidae représentaient respectivement 16, 19 et 47 % des genres et 15, 17 et 53 % des espèces. Ensuite, Molina-Ochoa et al. (2003) ont signalé 150 espèces de parasitoïdes et de parasites de *S. frugiperda* en Amérique et dans le bassin des Caraïbes, appartenant à 14 familles dont neuf chez les Hyménoptères, quatre chez les Diptères et une chez les nématodes. Hoballah et al. (2004) ont identifié 10 espèces d'Hyménoptères appartenant à 5 familles. *Telenomus remus* Nixon (Hymenoptera : Platygastridae) est reconnue comme étant un parasitoïde des œufs de *S. frugiperda* et a été testé par Gutiérrez-Martínez et al. (2012) pour contrôler *S. frugiperda*. *Cotesia marginiventris* Cresson (Hymenoptera: Braconidae) et *Chelonus insularis* Cresson (Hymenoptera: Braconidae) ont été ciblés par Meagher et al. (2016) comme étant les principaux parasitoïdes des œufs de *S. frugiperda*. Aussi, *Meteorus laphygmae* Viereck (Hymenoptera: Braconidae), *Chelonus insularis* Cresson et *Cotesia marginiventris* Cresson ont été cités par López et al. (2018) comme étant les parasitoïdes les plus abondants au Nord du Sinaloa. Le premier rapport sur les ennemis naturels parasitoïdes de *S. frugiperda* en Afrique a été réalisé par la FAO, en particulier par Sisay et col (2018) puis complété par Kenis et al. (2019).

Les prédateurs de *S. frugiperda* sont des auxiliaires entomophages généralistes qui attaquent de nombreuses autres espèces de chenilles. Cependant, bon nombre se nourrit des œufs et des trois premiers stades larvaires. D'après l'étude de Wyckhuys & O'Neil (2006), les prédateurs de *S. frugiperda* appartiennent aux familles d'insectes telles que les Formicidae, les Carabidae et les Pentatomidae. Shylesha et al. (2018) ainsi que FAO (2018), ont identifié les Forficulidae comme prédateurs importants de *S. frugiperda*. Certaines espèces de Coccinellidae comme *Harmonia axyridis* peuvent également s'attaquer à *S. frugiperda* (Dutra et al., 2012). Silva et al. (2013) ont aussi identifié *Eriopis connexa* comme étant un prédateur potentiel pour le contrôle de *S. frugiperda*. Les parasitoïdes et prédateurs de *S. frugiperda* déjà identifiées à travers le monde comme des ennemis naturels de *S. frugiperda* sont présentés (tableau 1).

Tableau 1: Parasitoïdes et prédateurs de *Spodoptera frugiperda* repartis en ordre et en famille

Ordre	Famille	Espèce	Références
Parasitoïdes			
Hymenoptera	Braconidae	<i>Cotesia marginiventris</i> Cresson	Hoballah et al. (2004) ; Meagher et al. (2016) ; López et al. (2018) ; FAO (2018)
		<i>Cotesia icipe</i>	Sisay et al. (2018)
		<i>Meteorus laphygmae</i> Viereck	Hoballah et al. (2004) ; López et al. (2018)
		<i>Chelonus insularis</i> Cresson	Hoballah et al. (2004) ; Gabriela Murúa et al. (2009) ; Rios-Velasco et al. (2011) ; Virgen et al. (2013) ; Meagher et al. (2016) ; López et al. (2018) ; FAO (2018)
		<i>Homolobus truncator</i> Say	Hoballah et al. (2004)
		<i>Aleiodes laphygmae</i> Viereck	Hoballah et al. (2004)
		<i>Glyptapanteles cretonoti</i> Viereck	Shylesha et al. (2018)
	Ichneumonidae	<i>Campoletis grioti</i> Blanchard	Gabriela Murúa et al. (2009)
		<i>Campoletis sonorensis</i> Cameron	Hoballah et al. (2004) ;
		<i>Ophion flavidus</i> Brullé	Hoballah et al. (2004) ; Gabriela Murúa et al. (2009)
		<i>Campoletis chlorideae</i> Uchida	Shylesha et al. (2018)
		<i>Pristomerus spinator</i> Fabricius	Hoballah et al. (2004)
		<i>Hyposoter sp.</i>	Virgen et al. (2013)
		<i>Diapetimorpha introita</i> Cresson	Molina-Ochoa et al. (2003)
		<i>Charops ater</i> Szépligeti	Sisay et al. (2018)
	Trichogrammatidae	<i>Trichogramma atopovirilia</i> Oatman & Platner	Hoballah et al. (2004) ; FAO (2018)
	Eulophidae	<i>Euplectrus platyhypenae</i> Howard	Hoballah et al. (2004)
	Platygastridae	<i>Telenomus remus</i> Nixon	Wheeler et al. (1989) ; Gutiaérrez-Martanez et al. (2012) ; FAO (2018) ; Kenis et al. (2019)
Diptera	Tachinidae	<i>Archytas marmoratus</i> Townsend	Virgen et al. (2013) ; Ordóñez-García et al. (2015) ; FAO (2018)
		<i>Archytas incertus</i>	Gabriela Murúa et al. (2009)

		Macquart <i>Incamyia chilensis</i> Aldrich	Gabriela Murúa et al. (2009)
Prédateurs			
Coleoptera	Coccinellidae	<i>Coleomegilla sp.</i>	Hoballah et al. (2004) ; FAO (2018)
		<i>Harmonia axyridis</i> Pallas	FAO (2018)
		<i>Eriopis connexa</i> Germar	Tavares et al. (2010) ; Silva et al. (2013)
	Carabidae	<i>Calosoma granulatum</i> Perty	FAO (2018)
Dermoptera	Forficulidae	<i>Doru sp.</i>	Hoballah et al. (2004) ; Pasini et al. (2007) ; Shylesha et al. (2018) ; FAO (2018) ;
Heteroptera	Reduviidae	<i>Zelus longipes</i> Linnaeus	Hoballah et al. (2004) ; FAO (2018)
		<i>Castolus sp.</i>	Hoballah et al. (2004)
	Pentatomidae	<i>Podisus sagitta</i> Fabricius	Hoballah et al. (2004)
		<i>Podisus nigrispinus</i> Dallas	Zanuncio et al. (2008)
	Anthocoridae	<i>Orius sp.</i>	Hoballah et al. (2004)
Hymenoptera	Formicidae	<i>Solenopsis geminata</i> , <i>Pheidole radoszkoskii</i>	Perfecto (1991)
	Vespidae	<i>Polistes spp.</i>	Held et al. (2008)

b) Micro-organismes

Les champignons entomopathogènes

Les champignons entomopathogènes sont des organismes qui ont évolué pour coloniser les insectes. Ils comprennent un large éventail d'espèces fongiques différentes du point de vue morphologique, phylogénétique et écologique (Araújo & Hughes, 2016). La taxonomie des champignons entomopathogènes a été décrite notamment par Samson et al. (1988) puis modifiée suite à l'utilisation de techniques moléculaires et d'analyses phylogénétiques classiques (Hibbett et al., 2007). Ces outils ont permis de mieux comprendre les liens génétiques qui permettent de relier les formes asexuées (anamorphes) des champignons à leurs formes sexuées (téléomorphes) (Blackwell et al., 2006). Les ascomycètes et les basidiomycètes représentent des groupes très importants (Kirk et al., 2008). Les principaux champignons entomopathogènes appartiennent aux ordres des hypocréales (Ascomycètes) et des entomophorales (Zygomycètes) (Humber, 2012). Vega (2018) a réalisé une revue bibliographique de 85 articles couvrant 109 études individuelles sur les champignons entomopathogènes ; impliquant 12 espèces de six genres fongiques et 38 espèces végétales cultivées de 19 familles dont le maïs, le haricot commun et la tomate ont été les plus étudiées.

Une des caractéristiques importantes chez les insectes est la présence d'exosquelette chitineux et la cuticule ; ce qui permet à la grande majorité des champignons entomopathogènes de pénétrer dans le corps de l'insecte (Khan et Ahmad, 2015). La

majorité des champignons tuent leurs hôtes avant le début de la production de spores (ils sont donc appelés hémibiotrophes). Certains d'entre eux, en particulier dans le phylum Entomophthoromycota (entomophthorales), sporulent à partir du corps vivant de leurs hôtes (ils sont appelés biotrophes) (Roy et al., 2006). Par contre, chez les hypocréales entomopathogènes, les cadavres restent souvent intacts pendant de longues périodes et le mycélium externe est visible (Inglis et al., 2012). C'est le cas par exemple des genres *Beauveria* et *Metarhizium* qui sont connus pour croître à l'intérieur de leur hôte sous forme de corps de levure se multipliant par bourgeonnement (Prasertphon & Tanada, 1968 ; Araújo & Hughes, 2016 ;). Une clé d'identification des champignons entomopathogènes a été proposée par Humber (2012). Selon Inglis et al. (2012), divers facteurs peuvent déterminer ou influencer la sensibilité d'un hôte à l'infection par ces champignons, parmi lesquels les facteurs environnementaux sont à considérer (Vega et al., 2012). Un des paramètres environnementaux le plus important est la température. Kaur (2009) a déterminé que les champignons entomopathogènes testés contre *S. exigua* étaient plus virulents à 25°C et 30°C qu'à 20°C.

Les champignons entomopathogènes pour le contrôle des espèces du genre *Spodoptera* ont été isolés à partir du sol et des insectes infectés à travers le monde. *Beauveria bassiana* est connu comme étant très efficace et constitue le champignon entomopathogène le plus courant et le plus répandu à travers le monde pour le contrôle des insectes (Khan et Ahmad, 2015). Ruiz-Nájera et al. (2013) ont isolé *Nomuraea rileyi* à partir de 38 cadavres larvaires de *S. frugiperda*. Aussi, Akutse et al. (2018) ont isolé 20 champignons entomopathogènes parmi lesquels 14 souches de *Metarhizium anisopliae* et 6 souches de *B. bassiana* ont fait l'objet d'essais de leur efficacité contre les œufs ainsi que les larves de deuxième stade de *S. frugiperda*. Thomazoni et al. (2014) ont démontré une efficacité la plus élevée (44.5%) pour une souche de *B. bassiana* dans le contrôle du troisième stade larvaire de *S. frugiperda*. Kaur (2009) a déterminé que la concentration de 10^8 conidies/ml était la dose la plus efficace de champignons entomopathogènes plutôt que celles de 10^7 et 10^6 . La susceptibilité des insectes contre les champignons entomopathogènes diminue avec l'augmentation de l'âge des larves (Pandey & Hasan, 2009 ; Asi et al., 2013). Un taux de mortalité de 80 % a été observé chez les larves de *S. frugiperda* par Domenico et al. (2009) en utilisant *N. rileyi*. Enfin, Romero-Arenas et al. (2014) ont évalué la mortalité de *S. frugiperda* dans des conditions de laboratoire par utilisation des diverses concentrations de conidies d'une souche indigène et une souche commerciale de *M. anisopliae*. La mortalité la plus élevée soit 72.5% a été enregistrée chez la souche indigène tandis que l'équivalent de 32.5% considéré comme faible a été obtenu chez la souche commerciale. Wright et al. (2010) ont rapporté que toutes les espèces de lépidoptères ravageurs de cultures légumières, étaient susceptibles à *B. bassiana* tout en signalant que *S. frugiperda* était le moins susceptible.

Les bactéries entomopathogènes

Les bactéries entomopathogènes sont retrouvées partout dans le monde et dans divers habitats (Rodrigues, 2011 ; Fisher & Gaczyński, 2012). Les bactéries infectent les insectes

principalement par ingestion et le tube digestif, et moins souvent par l'œuf, le tégument et la trachée. Ils peuvent également pénétrer dans l'insecte par l'intermédiaire de parasitoïdes et de prédateurs (Tanada & Kaya, 1993). La plupart des bactéries chez les insectes, sont confinées dans le tube digestif. Cependant, peu de bactéries sont relativement pathogènes pour les insectes hôtes et ont fait l'objet d'une attention particulière à cause de leur potentiel à contrôler les ravageurs des cultures (Priest, 2000). Dans le tube digestif, les bactéries produisent des enzymes (par exemple : lécithinase, protéinase et chitinase) qui agissent sur les cellules de l'intestin moyen et permettent aux bactéries de pénétrer dans l'hémocoele (Tanada & Kaya, 1993). *Bacillus thuringiensis* (*Bt*) est caractérisé par la production des protéines toxiques (Cry, Cyt et Vip) envers les insectes (Rodrigues, 2011 ; Sree & Varma, 2015).

Les procaryotes sont divisés en deux groupes, qui sont reconnus sur base de la séquence d'ARN ribosomique 16S. Il s'agit des Archaea, contenant des bactéries qui partagent avec les eucaryotes des caractéristiques de réplication, de transcription et de traduction de l'ADN ; et des eubactéries ou vraies bactéries (Jurat-Fuentes & Jackson, 2012). Les bactéries entomopathogènes sont classées dans la catégorie des Eubactéries. Elles sont divisées en trois groupes sur base de la présence et la structure des parois cellulaires : les bactéries à paroi cellulaire de type Gram négatif (Gracilicutes), à paroi cellulaire de type Gram positif (Firmicutes) et les bactéries sans paroi cellulaire (Tenericutes) (Jurat-Fuentes & Jackson, 2012). Les bactéries entomopathogènes les plus connues sont celles de la classe des bacilles (Fisher & Garczynski, 2012). Le genre *Bacillus* est le plus prometteur pour le contrôle biologique contre les insectes (Tanada & Kaya, 1993). Fisher & Garczynski (2012) ont classé quelques bacilles bien connus en trois principales familles (Bacillaceae, Paenibacillaceae et Planococcaceae) comprenant 21 espèces. Ces bactéries utilisent divers facteurs de virulence parmi lesquels les toxines, les exoenzymes et les hémolysines sont bien documentées (Sree & Varma, 2015). Paniagua Voirol et al. (2018) ont comparé les études du microbiome de 30 espèces de Lépidoptères. Les familles Enterobacteriaceae, Bacillaceae et Pseudomonadaceae étaient les plus répandues parmi les espèces.

Les bactéries entomopathogènes pour le contrôle de *S. frugiperda* ont été étudiées. La famille Bacillaceae étant la mieux caractérisée. Polanczyk et al. (2000) ont testé 4 souches de *Bt* pour contrôler *S. frugiperda* avec des efficacités atteignant 100%. Les études de Polanczyk & Alves (2005) ont montré que *Bt* affecte les paramètres biologiques (poids des larves et des chrysalides femelles, la ponte et la fécondité) de *S. frugiperda*. Gichuhi et al. (2019) ont étudié la composition, l'abondance et la diversité des microbiomes associés aux spécimens larvaires et adultes de *S. frugiperda* au Kenya par séquençage à haut débit du gène bactérien 16S rRNA. La protéine Cry de *Bt* a été utilisée efficacement en Amérique pour le contrôle de *S. frugiperda*. Des résistances de ce dernier face à cette protéine ont été signalées (Vélez et al., 2013 ; Farias et al., 2014 ; Dangal & Huang, 2015). Botha et al. (2019) fournit les premières données sur l'efficacité de *Bt* pour le contrôle de *S. frugiperda* en Afrique.

Les nématodes et virus entomopathogènes

Les nématodes et les virus entomopathogènes ont été étudiés comme des agents de lutte pour le contrôle de certains insectes ravageurs des cultures. Les nématodes sont des parasites obligatoires de certaines espèces d'insectes et plus particulièrement *S. frugiperda* et sont associés à certaines bactéries symbiotiques (Waterfield et al., 2009 ; Salvadori et al., 2012). Ces nématodes sont regroupés dans deux principales familles : Steinernematidae et Heterorhabditidae (Sree & Varma, 2015 ; Mohan, 2015). Andaló et al. (2010) ont utilisé une espèce de *Steinerinema* et une espèce d'*Heterorhabditis* pour le contrôle de *S. frugiperda*. L'efficacité a été évaluée jusqu'à 100% de mortalité larvaire. Negrisoli et al. (2012) ont utilisé trois espèces de nématodes entomopathogènes regroupés dans deux genres (*Steinerinema* et *Heterorhabditis*) pour contrôler *S. frugiperda* en association avec certains insecticides. Les recherches sur l'utilisation des virus comme agents entomopathogènes se focalisent sur les baculovirus (Sree & Varma, 2015). Pour le contrôle de *S. frugiperda*, le nucléopolyhedrovirus (NPVs) ont été les plus étudiés (Barrera et al., 2011 ; Vieira et al., 2012 ; Virgen et al., 2013). L'efficacité de NPV est évaluée en fonction de l'occlusion polyédrique du corps (POB) (Rao et al., 2015). Les études conduites par Escribano et al. (1999) ont démontré que les valeurs de la DL₅₀ d'un isolat à base de NPV (Sf-NIC) augmentaient avec le stade larvaire chez *S. frugiperda* de $2.03 \cdot 10^5$ OBs/ml pour le deuxième stade et $1.84 \cdot 10^8$ OBs/ml pour le cinquième stade.

2. OBJECTIFS ET INTERETS DE L'ETUDE

L'objectif global est de contribuer au monitoring, à la caractérisation moléculaire et à la lutte biologique contre la chenille légionnaire (*Spodoptera frugiperda*, J.E. Smith) à l'Est de la RD Congo. Cette étude présente un intérêt au sens où elle constitue un moyen pour mettre à la disposition du monde scientifique et du paysan congolais de cette région des informations nécessaires pour le contrôle efficace de *S. frugiperda*. Actuellement, il n'existe aucune donnée chiffrée par rapport à la situation de ce ravageur dans le pays. Très peu d'études sur l'utilisation des pièges à phéromones pour le contrôle des ravageurs existent dans cette région. En plus, les études dans le domaine de la biologie moléculaire et de la lutte biologique contre les bioagresseurs constituent un challenge pour des productions durables au niveau des exploitations familiales paysannes. Il existe pourtant dans le contexte proprement Africain et de la RD Congo en particulier, une large gamme de possibilités liées à la diversité végétale et animale qu'il serait important d'exploiter et de valoriser dans le cadre des méthodes alternatives de contrôle des bio-agresseurs tels que *S. frugiperda*.

Pour se faire, plusieurs objectifs spécifiques sont ciblés, à savoir :

- Déterminer l'incidence ainsi que la répartition de *Spodoptera frugiperda* dans les cultures (vivrières ou maraîchères) à travers l'approche de monitoring, par utilisation de pièges à phéromones ;
- Déterminer l'identité de la (les) souche(s) de *S. frugiperda* présente(s) dans la province du Sud-Kivu par l'utilisation d'outils moléculaires ;
- Identifier les ennemis naturels (prédateurs, parasitoïdes et microorganismes entomopathogènes) de *S. frugiperda* présents à l'Est de la RD Congo ;
- Mettre en place un élevage standardisé et approprié afin de mener les expérimentations sur le contrôle biologique de *S. frugiperda* ;
- Evaluer l'efficacité de quelques agents de lutte biologique pour le contrôle de *S. frugiperda* en conditions contrôlées.

3. MATERIELS ET METHODES

3.1. Milieux d'étude

Cette étude a été menée selon deux approches. Premièrement, il s'agit d'une investigation de terrain durant laquelle le monitoring a été effectué. Les échantillons d'insectes ont été prélevés pour une caractérisation morphologique et moléculaire ultérieure. Le monitoring et le prélèvement des échantillons de la chenille ont été effectués d'une part en basse altitude (Plaine de la Ruzizi), couvrant à la fois deux territoires (Walungu et Uvira) et d'autre part, en moyenne altitude (Kabare) dans deux zones agro-écologiques affectées par les attaques de *S. frugiperda*. Les coordonnées géographiques de ces milieux ont été prélevées à l'aide des GPS MAP 64s du type Garmin pour la cartographie. Dans ces zones, le maïs constitue une des principales cultures et occupe une place considérable dans l'alimentation de la population. La cartographie de ces milieux est présentée (Figure 4). L'unité d'entomologie fonctionnelle et évolutive de la faculté de Gembloux Agro-Bio Tech, Université de Liège, a constitué la deuxième approche, au laboratoire où l'identification des insectes collectés et de leurs ennemis naturels, l'élevage de *S. frugiperda*, les essais expérimentaux (tests biologiques) ainsi que les analyses moléculaires ont été effectués.

a) La plaine de la Ruzizi

La plaine de la Ruzizi est répartie entre trois pays, la RD Congo, le Rwanda et le Burundi. Elle est comprise entre 2°42' et 3°24' de latitude Sud et entre 29°00' et 29°22' de longitude Est. Sa superficie est de l'ordre de 1750km² (Byavu et al., 2000). L'altitude est comprise entre 850m au Nord à 773m au niveau du lac Tanganyika (Vancoppenolle et al., 1984) et peut atteindre jusqu'à 1000m au niveau de Kamanyola. Pour ce qui est de la partie Congolaise, la plaine de la Ruzizi est située dans la province du Sud-Kivu, à l'Est de la RD Congo et s'étend sur deux territoires (Walungu et Uvira), sur les huit que compte la province. La dénomination plaine de la Ruzizi est issue de son relief et de son emplacement le long de la Rivière Ruzizi, qui relie le lac Kivu au lac Tanganyika. Dans le territoire de Walungu (1800 km²), le groupement de Kamanyola a été considéré, tandis que dans le territoire d'Uvira (3146 km²), les groupements de Katogota et Luvungi ont été sélectionnés.

Le climat de la plaine est du type Aw4 selon la classification de Koppen et est caractéristique des régions semi-arides. Le régime pluviométrique est bimodal : d'octobre à janvier et de février à mai (Vancoppenolle et al., 1984). Les précipitations moyennes annuelles sont de l'ordre de 800-1000mm pour 130-150 jours de pluie (Byavu et al., 2000). La température moyenne annuelle varie entre 17 et 30°C. Les sols sont sableux à argilo-sableux avec des teneurs variables en argile et en matière organique (Muhindo, 2015). Grâce à ces caractéristiques, la plaine de la Ruzizi est une région à fort potentiel agricole.

b) Territoire de Kabare

Le territoire de Kabare est situé à 2° 30' de latitude Sud et 28° 48' de longitude Est, à l'extrême Est de la RD Congo, dans la province du Sud-Kivu, sur les rives Ouest du lac Kivu. Sa superficie est de 1960 km². Son altitude varie entre 1460 et 3000 m au sommet de hautes montagnes (l'altitude à Mulume Munene atteint 3000m et la plus basse atteint 1420m) (CAID, 2017). Une partie du parc national de Kahuzi-Biega (PNKB) est située dans ce territoire. Le Territoire de Kabare est limité au Nord par le territoire de Kalehe, au Sud par le Territoire de Walungu, à l'Est par la ville de Bukavu, le lac Kivu d'un côté (Nord-Est) et le Rwanda par la rivière Ruzizi de l'autre côté. A l'Ouest par le Territoire de Shabunda (CAID, 2017). C'est l'un de huit territoires que compte la province du Sud-Kivu. Il est composé de deux collectivités: La collectivité de Kabare et la collectivité de Ninja (prononcé Nindja). La collectivité de Kabare est subdivisée en 14 groupements que sont Cirunga (ou Chirunga), Bugobe, Kagabi, Bushumba, Bushwira, Irhambi-Katana, Mudaka, Bugorhe, Miti, Luhiji, Mudusa, Lugendo, Mumoshö et Ishungu. Cette étude s'est déroulée dans cinq groupements à savoir Bushumba, Irhambi-Katana, Mudaka, Bugorhe et Miti.

Le climat dans le territoire de Kabare est du type tropical humide, influencé en grande partie par le parc national de Kahuzi Biega. C'est un climat tropical de haute altitude de type Aw3 avec le mois le plus sec ayant des précipitations inférieures à 60 mm selon la classification de Koppen (Muhindo, 2015). Deux saisons sont retrouvées : la saison sèche qui dure trois mois (de juin à août) et la saison pluvieuse 9 mois (de septembre à mai). La saison pluvieuse est repartie en deux saisons culturelles : de septembre à janvier (saison A) et de février à juin (saison B). Toutefois, des perturbations dans le calendrier agricole sont observées ces dix dernières années à cause de la variabilité climatique. Les précipitations annuelles sont de l'ordre de 1500mm. La température moyenne annuelle oscille entre 19 et 20°C avec des extrêmes situés entre 15 et 25°C (Wils et al., 1986). Le sol est argileux avec un pH, un taux de saturation en base et une capacité d'échange cationique relativement faibles (Muhindo, 2015).

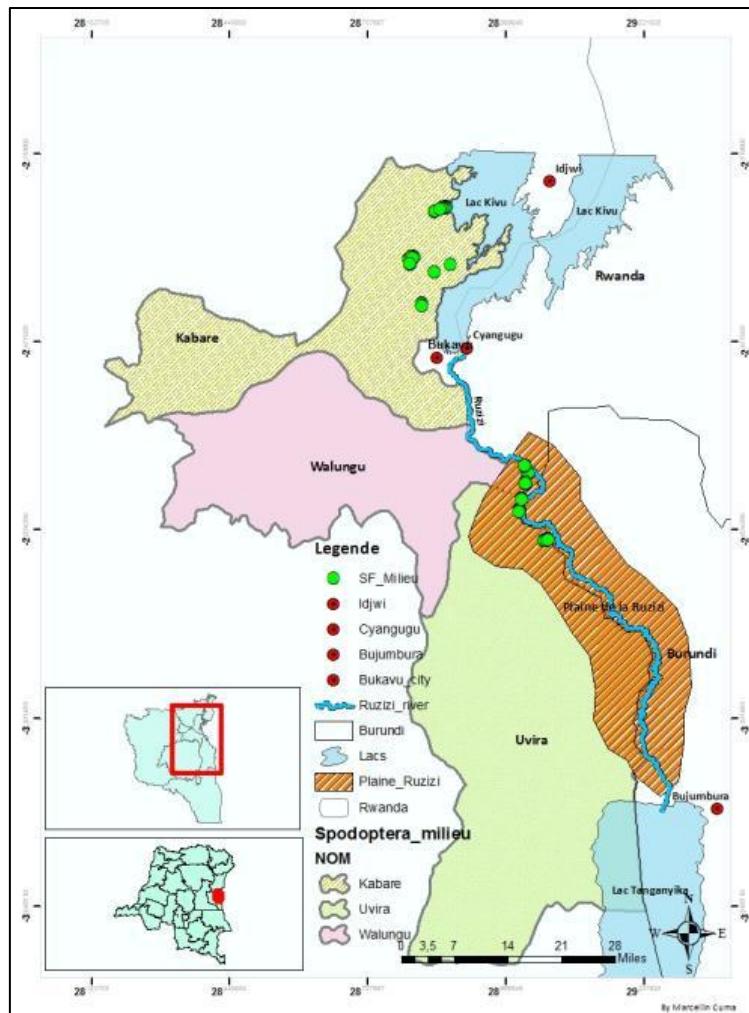


Figure 4: Cartographie du milieu d'étude. Source : COKOLA CUMA Marcellin

3.2. Matériels et méthodes

3.2.1. Monitoring

a) Installation des pièges

Les pièges à phéromone du type White Delta Trap (DTW) de 27cm×17cm×10.5cm (longueur, largeur et hauteur) ont été utilisés pour capturer les mâles de *Spodoptera frugiperda*. Ces pièges ont été obtenus à partir de Pherobank (Wageningen) et sont composés de 98 % Z9-14:OAc (300 microgrammes) et 2% Z7-12:OAc (6 microgrammes) par septum et donc par piège. Pour déterminer la densité des populations ainsi que les souches, les pièges ont été installés dans deux zones : en basse et en moyenne altitude, deux régions où l'incidence de ce ravageur est la plus observée. Cela nous a permis d'évaluer la variabilité d'attaque entre ces deux régions ainsi que l'abondance des individus dans les différents pièges.

Dans chaque zone, trois pièges ont été placés dans les exploitations vivrières et un autre dans les exploitations maraîchères, ce qui fait un total de quatre pièges/zone. La surveillance de ces pièges se faisait chaque semaine pour compter et identifier les insectes capturés. Après identification morphologique par utilisation de la loupe binoculaire et de la clé d'identification proposée par l'EPPO (2015), les adultes capturés de *S. frugiperda* ont été placés dans des flacons en polystyrène de 50 ml contenant de l'éthanol dénaturé à 70%.

Tableau 2: caractéristiques des localités relatives à l'installation des pièges sur le terrain

Milieu	N° Piège	Emplacement	Altitude (m)	Latitude	Longitude
Basse altitude (Plaine de la Ruzizi)	I	Luvungi	883	S -2°51'16.7"	E 29°02'21.5"
	II	Luvungi	905	S -2°49'58.7"	E 29°01'23.2"
	III	Kamanyola	930	S -2°44'46.4"	E 29°00'23.2"
	IV	Kamanyola	973	S -2°42'15.3"	E 28°59'52.1"
Moyenne altitude (Kabare)	I	Kashusha	1717	S -2°18'54.9"	E 28°47'49.1"
	II	Buhandahanda	1660	S -2°15'39.3"	E 28°50'03.9"
	III	Murhesa	1574	S -2°22'57.5"	E 28°47'31.2"
	IV	Kamavuha	1570	S -2°23'45.3"	E 28°48'41.9"

b) Echantillonnage des larves

Afin de déterminer l'influence des ennemis naturels, particulièrement les champignons et les bactéries entomopathogènes sur la population de *S. frugiperda*, des transects ont été tracés dans les exploitations paysannes contenant du maïs et du sorgho en moyenne et basse altitude dans la province du Sud-Kivu, Est de la RD Congo durant la période du 22 mars au 13 mai 2019. Les échantillons de chenilles présentant des aspects anormaux (détérioration des larves, changement de couleur, présence de mycose, cadavres,...), ont été collectés dans les champs et ont été placés dans des tubes Eppendorf de 1.5 ml. Au total 21 cadavres ont été prélevés lors des observations. Ces derniers présentaient des symptômes caractéristiques de l'infection par certains microorganismes entomopathogènes (champignons et bactéries). Lors des observations, des informations sur l'utilisation de produits chimiques ont été collectées afin de faire un lien entre leur usage dans l'exploitation agricole pour le contrôle de *S. frugiperda* et la mortalité observée des larves dans les champs. Les parcelles dans lesquelles une pulvérisation de produits chimiques a été effectuée pour le contrôle de *S. frugiperda*, ont été écartées.

c) Inventaire et échantillonnage des prédateurs et parasitoïdes de *Spodoptera frugiperda*

Les prédateurs ainsi que les parasitoïdes de *S. frugiperda* visualisés dans les champs ont été photographiés à l'aide d'un appareil Samsung Galaxy S8 SM-G950F (voire photos en annexe),

collectés et placés dans des flacons en polystyrène de 50 ml contenant de l'éthanol à 70%, puis identifiés jusqu'au niveau de la famille par utilisation de la loupe binoculaire et de la clef d'identification de Delvare & Aberlenc (1989). Les insectes difficilement capturables ont été photographiés tandis que ceux faciles à capturer ont été placés dans des flacons en polystyrène de 50 ml contenant l'éthanol à 70%. Ces derniers ont été identifiés au laboratoire d'entomologie fonctionnelle et évolutive à Gembloux Agro-Bio Tech.

3.2.2. Surveillance et collectes de données sur la situation actuelle de la chenille dans les cultures

Une enquête-observation a été réalisée dans les exploitations agricoles à l'Est de la RD Congo, afin d'établir un état des lieux des attaques de *S. frugiperda* sur les cultures en basse (Kabare) et en moyenne altitude (Plaine de la Ruzizi). Au total, 120 champs ont été visités, soit 60 champs pour chaque zone agro-écologique. Trois critères ont permis de dicter le choix des champs : premièrement la présence de la chenille dans le champ, deuxièmement le type de culture et en dernier lieu la superficie du champ (minimum 10 are). Au total 3 groupements dans le territoire de Kabare, un groupement dans le territoire de Walungu et 2 groupements dans le territoire d'Uvira, ont constitué les milieux d'observations et de la collecte des larves et d'adultes de *S. frugiperda*. Dans chaque champ, sept quadrats de 5m x 4m chacun ont été mis en place (Figure 5) à l'aide d'un décamètre et visualisés par des piquets. La répartition des quadrats dans le champ s'est faite selon la technique d'échantillonnage en W (Zehnder, 2010 ; McGrath et al., 2018).

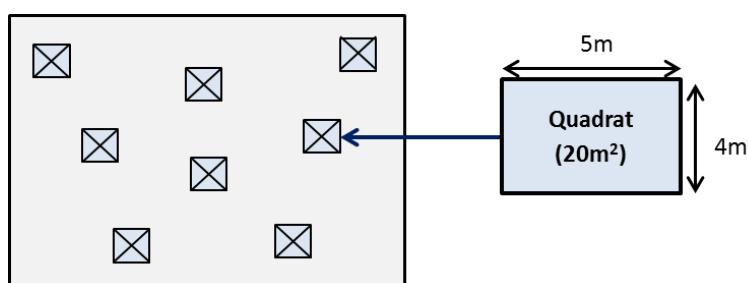


Figure 5 : schéma de la technique d'échantillonnage de *Spodoptera frugiperda*

Paramètres observés dans le Quadrat

Les observations dans le quadrat ont portées sur :

- ✓ L'incidence du bioagresseur sur les cultures : déterminée en fonction du nombre de plantes attaquées sur le total de plantes dans la superficie délimitée ;
- ✓ Le nombre de larves par plante et par superficie délimitée : il s'agit de compter le nombre de larves dans la parcelle en fonction du nombre de larves présentes dans chaque pied de maïs ;

- ✓ Le nombre de lésions par feuille par comptage. Sur dix plantes de maïs, toutes les feuilles présentant des lésions pour chaque plante, ont été considérées. Une moyenne par cinq plantes a été calculée ;
- ✓ Le nombre de feuilles attaquées par plante en commençant par les feuilles nouvellement déployées (feuilles enroulées) jusqu'au feuilles verticillées ;
- ✓ Le degré d'attaque ou sévérité a été déterminé sur base d'une échelle de cotation proposé par Davis et al. (1992).

Les indicateurs de l'échelle d'évaluation des dommages sur les feuilles de maïs causés par *S. frugiperda* sont présentés en annexe 8. L'évaluation visuelle des dommages peut être effectuée en fonction du nombre et de la taille des lésions sur les feuilles. L'échelle d'évaluation ou de classification des dégâts sur les feuilles de maïs a été subdivisée en trois classes. Le score de 0 à 4 est considéré comme faible, de 5 à 7 considéré comme moyen et de 8 à 9 considéré comme élevé.

3.2.3. Identification des microorganismes colonisant les larves de *Spodoptera frugiperda*

Les cadavres de larves de *S. frugiperda* ont été différenciés en deux groupes de microorganismes potentiellement entomopathogènes selon les aspects qu'ils présentaient. Cette différenciation s'est faite selon Lacey & Solter (2012). Le cadavre atteint d'une infection fongique présentait la caractéristique de la présence de spores dans ou sur le corps de la larve atteinte. Les larves infectées de champignons étaient durcies et non pas molles comme pour les infections bactériennes. Les larves soupçonnées d'une infection bactérienne présentaient une couleur noire à leurs faces inférieures. Une synthèse des caractéristiques morphologiques des cadavres de *S. frugiperda* collectés dans le milieu d'étude est présentée (Tableau 3).

Tableau 3: caractéristiques morphologiques des cadavres de *Spodoptera frugiperda* trouvés sur les feuilles du maïs (voir annexe 5)

N° échantillon	Milieu	Coordonnées géographiques		Caractéristiques
1	Katogota	S -2,797666	E 28,996055	Deux larves en petits morceaux secs
6	Kamanyola	S -2,708777	E 29,003472	Larve avec des spores de champignon de couleur verte et blanche (larve momifiée)
15	Katana	S -2,234277	E 28,832388	Larve avec des spores de couleur blanche recouvrant complètement la larve
20	Kamanyola	S -2,703388	E 28,995861	Larve de couleur verte humidifiée
21	Murhesa	S -2,327083	E 28,796972	Larve sèche de couleur grise, découpée en morceaux

Préparation des milieux et mise en culture

Après avoir catégorisé les échantillons, deux types de milieux de cultures ont été préparés au niveau du laboratoire de microbiologie, au centre de recherche TERRA de Gembloux Agro-Bio Tech. Il s'agit de LBA (Lysogeny Broth Agar ou incorrectement milieu Luria-Bertani Agar) et de PDA (Potato Dextrose Agar). Le chloramphénicol a été utilisé comme antibiotique dans les milieux PDA. 0.4g/l de chloramphénicol ont été solubilisés dans 4 ml d'éthanol pur et ajoutés au milieu PDA après autoclavage à 121°C. La composition de ces deux milieux est reprise dans le tableau 4.

*Tableau 4 : composition des milieux de culture pour les champignons infestant les cadavres de *Spodoptera frugiperda**

PDA	LBA
100g/l de pomme de terre	10g/l de Tryptone
20g/l de dextrose	5g/l de l'extrait de levure
15g/l d'agar	1g/l de NaCl
1l d'eau distillée	15g/l d'agar 1l d'eau distillée

Préparation des échantillons

Une solution d'eau peptonée a été préparée pour faciliter les dilutions. 5g de NaCl, 1g de peptone et 1g de Tween 80 ont été mélangés dans 1l d'eau distillée et stérilisés à 121°C dans l'autoclave. 9ml de cette solution ont été placés dans des petits tubes d'H₂O peptonée à l'aide d'une dispensette de 1-10 ml. Les cadavres de larves de *S. frugiperda* présentaient deux aspects : humide ou sec. Compte tenu de cela, 3 ml de l'eau peptonée ont été ajoutés dans chaque tube à eppendorf contenant les cadavres de *S. frugiperda*. La dissection s'est réalisée sur boites de Pétri à l'aide d'un scalpel. Le jus obtenu a été vortexé et utilisé comme solution initiale lors de la mise en culture.

Mise en culture

La méthode de dilution a été utilisée lors la mise en culture. Deux dilutions (10⁻² et 10⁻³) ont été réalisées sur base de la solution initiale (10⁻¹) ; où 1ml de la solution initiale a été ajouté dans 9ml d'eau peptonée. La mise en culture a été effectuée dans des boites de Pétri. 100µl de la solution initiale (10⁻¹) et de chaque solution diluée (10⁻² et 10⁻³) ont été étalées sur le milieu de culture à l'aide d'un râteau stérile. Les boites ont été placées dans un incubateur à 25°C. Pour le cas des champignons, les morceaux de larves constitués de spores ont été directement étalés sur milieu gélosé (PDA).

Observations et croissance des bactéries et champignons

Les observations sur la croissance ont été effectuées après 24h. Les colonies des bactéries ont été observées après 48h à température ambiante du laboratoire. Ainsi, les croissances bactériennes ont été isolées pour constituer des cultures pures. En ce qui concerne les champignons, les boites ont été placées dans l'incubateur à 25°C. Les observations microscopiques des structures bactériennes, nous ont permis d'observer certaines structures sous forme de bacilles. Tandis que pour les champignons, le mycélium a été observé. Pour stimuler la production des spores, le mycélium a été repiqué sur le milieu réalisé à base d'eau et d'agar (water agar). Le milieu est composé de 20g d'agar dans 1l d'eau distillée.

Identification des bactéries colonisant les larves de *Spodoptera frugiperda*

Six souches de bactéries ont été obtenues lors de la mise en culture sur base des caractéristiques morphologiques (couleur et croissance sur milieu de culture). Ces dernières ont été placées dans des fioles de 100 ml contenant 30 ml de milieu LB liquide et incubées pendant 24h dans un incubateur-agitateur à 25°C. 10 ml de la culture ont été placés dans des flacons de 15 ml et centrifugés pendant 10 minutes à 4000 rpm. La solution obtenue a été diluée 20×. La densité optique (D.O) obtenue à 595nm au spectrophotomètre a été de 4,74 – 3,92 – 5,6 – 6,24 – 5,26 et 4,94, respectivement pour les souches de 1 à 6. Le pH obtenu dans les fioles était de 8,43 – 7,77 – 8,40 – 8,46 – 8,35 et 8,48 pour ces souches. 1,5 ml de ces solutions ont été placés dans des tubes à eppendorf de 2ml pour les extractions d'ADN. Les solutions restantes ont été mélangées dans du glycérol stérile à 20% et conservées dans des cryotubes de 1,5 ml à -80°C.

L'ADN a été extrait à l'aide du Kit Genejet Genomic DNA Purification K0721. Le dosage de l'ADN a été réalisé au Nanodrop (Invitrogen). Les amorces 8F (5'-AGAGTTGATCCTGGCTCAG-3') et 1492R (5'-GGTTACCTTGTGTTACGACTT-3') ont été utilisées pour l'amplification de la séquence du gène 16S rRNA. Les expériences PCR ont été réalisées dans un volume total de 25µl sur ± 50ng d'ADN et contenaient 5µl de 5× Q5 Reaction Buffer, 0,5µl de dNTPs (10mM), 1,25µl de l'amorce 8F, 1,25 µl de l'amorce 1492R, 1µl d'ADN, 0,25µl de Q5 High-Fidelity DNA Polymerase (New England BioLabs), 5µl de 5× Q5 High GC Enhancer et 10,75µl d'H₂O exempte de nucléase. Le cycle PCR suivant a été utilisé pour l'amplification dans un thermocycler : dénaturation initiale à 98°C pendant 30 secondes; 35 cycles à 98°C pendant 10 secondes, 50-72°C pendant 30 secondes et 72°C pendant une minute ; et une extension finale à 72°C pendant 2 minutes.

La purification des produits PCR a été effectuée à l'aide du Kit Monarch™ DNA Gel Extraction 250 Preps (Référence : T1020L). L'élution a été réalisée dans 25µl, et 20µl ont été envoyés au séquençage entre 10 et 50ng/µl chez GATC Eurofin Genetics. Les séquences obtenues ont été importées dans le programme SnapGene Viewer. Les séquences à partir de 850 bp jusqu'à 1210 bp pour chaque souche, ont été comparées aux séquences de gènes

d'ARNr 16S de référence par analyse BLAST sur le site Web du NCBI (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Les séquences du gène 16S de l'ARNr ont été déposées dans GenBank (voir lien ci-dessus).

3.2.4. Conduite de l'élevage de *Spodoptera frugiperda*

Pour étudier l'effet des agents de lutte biologique notamment les champignons et les bactéries entomopathogènes, un élevage a été mis en place. La souche de *S. frugiperda* attaquant principalement le maïs, a été élevée dans les installations du centre de recherche TERRA de la faculté de Gembloux Agro-Bio Tech plus précisément au laboratoire de confinement biologique (ou de quarantaine) des espèces considérées comme invasives. L'élevage a débuté avec un total de 60 chrysalides de *S. frugiperda*, obtenues du Professeur N. Volkoff de l'Université de Montpellier (France). Les adultes qui ont émergés, ont été placés dans des cages de vol de 45×45×45cm. Les larves et les chrysalides ont été placées dans une cage d'élevage (90×45×45cm) contenant des boîtes en plastique (23,5cm × 14,5cm × 8,0cm). Les boîtes pour les larves contenaient 50 g de diète artificielle tandis que les chrysalides ont été placées à l'intérieur des boîtes uniquement avec du papier absorbant comme substrat. Les adultes ont été mis dans une cage de vol contenant une solution de saccharose à 10% dans une boîte de pétri et en présence des papiers absorbant comme substrats de ponte. Les masses d'œufs ont été récoltées et placées dans des boîtes en plastique. La diète artificielle utilisée provient de Frontier Scientific Services. La température moyenne ainsi que l'humidité relative lors de l'élevage ont été maintenues à 24±1°C et HR 50±5%, avec une photopériode de 18/6h (lumière/obscurité).

Préparation de la diète et mise en place de l'élevage

La préparation consiste à chauffer 900ml d'eau distillée à 100°C. 19g d'agar et 144g de diète sèche artificielle, spécifique pour les Lépidoptères sont mélangés dans un bêcher de 1000ml. La diète ainsi préparée est conservée à 4°C jusqu'à utilisation. La surveillance de l'élevage s'effectuait régulièrement pour l'alimentation des larves en nourritures, le changement du substrat dans chaque boîte ainsi que pour la récolte des œufs dans la cage de vol. A partir du sixième stade larvaire, le suivi a consisté à vérifier dans chaque boîte de différentes transformations des larves en chrysalides.

Paramètres en étude pendant l'élevage

- Production larvaire par semaine :** ce paramètre a été évalué en fonction du nombre d'adultes placés dans les cages de pontes et des œufs collectés. Les œufs ont été séparés pour chaque semaine de ponte dans des boîtes en plastique. Les larves qui ont émergées ont été comptées à partir du troisième stade de développement ;
- Taux de mortalité larvaire :** évalué en fonction du nombre de larves de troisième stade contenus dans chaque boîte et le nombre de chrysalides formées ;

- **Emergence des adultes** : en fonction du sexe ratio et le nombre de jours d'émergence ;
- **Cycle de développement** : à partir du stade œuf, le cycle de développement a été déterminé. Les œufs récoltés à différents moments ont été séparés dans des boites en plastique et leur durée a été déterminée à partir des nouveau-nés qui ont été placées dans des boîtes de Pétri contenant 10g de diète artificielle. Pour chaque stade de développement, la durée (en jours), le poids (en g), la taille (en mm) ont été déterminés. La durée de différents stades larvaires a été évaluée sur base des mues successives (présence de la capsule céphalique à l'intérieur de la boite). Le poids a été déterminé sur cinq individus à l'aide d'une balance de précision de 120 g tandis que la taille a été mesurée à l'aide d'un papier millimétré.
- **Oviposition** : les adultes de *S. frugiperda* ont été placés dans des cages synchrones (30x30x30cm) pour suivre leur oviposition. Quatre sexes ratio (1mâle/1 femelle ; 1 mâle/2 femelles ; 2 mâles /2 femelles ; 2 mâles/3 femelles) ont été considérés dans cette étude. La période de pré-oviposition a été déterminée à partir de l'émergence des adultes et les premières pontes. Les paramètres mesurés ont été les masses d'œuf et le nombre d'œufs par masse d'œufs par jour. Le comptage des œufs s'est effectué au binoculaire.

3.2.5. Caractérisation moléculaire

Préparation d'insectes

Les échantillons d'insectes capturés (51 individus adultes de *S. frugiperda*) ont été soumis à une dissection. La partie thoracique a été utilisée pour l'extraction de l'ADN. Les insectes ont été placés sur boite de Pétri stérile et disséqués par utilisation d'un scalpel stérilisé au bec bunsen. Ensuite, les thorax ont été lavés trois fois avec l'eau autoclavée et placés dans des tubes Eppendorf de 1,5ml. Après dissection, les tubes Eppendorf ont été placés à -20°C jusqu'à utilisation. Deux billes stériles ont été ajoutées dans chaque tube Eppendorf. Les tubes ont été plongés dans un bac à frigolite contenant l'azote liquide pendant 5 minutes, avant d'être broyé à l'aide d'un broyeur MM400 Retsch pendant 9 minutes.

Extraction de l'ADN

L'ADN génomique a été extrait par utilisation d'un Kit d'extraction d'ADN (QIAGEN DNeasy Blood & Tissue). Un protocole normalisé a été suivi tout au long des manipulations. Pour augmenter la concentration de l'ADN, 50µl du tampon d'élution ont été utilisés. L'ADN extrait a été conservé à -20°C. Le contrôle-qualité de l'ADN a été réalisé par les tests de Qubit, au Qubit™ fluoromètre et au NanoDrop ND-1000 Spectrophotomètre.

PCR et amplifications

Les ADN extraits ont été utilisés pour les PCR par utilisation des amorces spécifiques JM76 5'-GAGCTGAATTAGG(G/A)ACTCCAGG-3' et JM77 5'-ATCACCTCC(A/T)CCTGCAGGATC-3' pour

générer des fragments correspondant aux différents gènes. La concentration moyenne de l'ADN pour tous les échantillons a été ramenée à 20ng/μl par la méthode de dilution. La réaction PCR a été réalisée dans un volume total de 25μl. Les produits PCR étaient constitués de 2,5μl de 10× Buffer MgCl₂, 0,75μl de MgCl₂ (50 mM), 0,5μl de l'amorce JM76, 0,5μl de l'amorce JM77, 0,5μl de dNTP, 0,1μl de Taq ADN polymérase, 19,15μl d'H₂O distillée et 1μl d'ADN. L'amplification des produits PCR a été effectuée au thermocyclyer selon le protocole de Levy et al. (2002). Le processus commence par deux minutes à 94°C, puis 35 cycles de ce qui suit : une minute à 94°C, 45 secondes à 66°C, deux minutes à 72°C. Après les 35 cycles, les réactions ont été maintenues à 72°C pendant 10 minutes.

Cytochrome oxydase mitochondriale I PCR-RFLP

L'enzyme de restriction endonucléase Mspl a été utilisé pour digérer les produits d'ADN amplifiés par PCR. Le volume total pour cette réaction a été de 50μl. Ce volume est un mélange d'1μl de l'enzyme de restriction, 3μl d'ADN amplifié par PCR, 5μl de 10× NEBuffer et 41μl d'H₂O distillée. Les échantillons ont ensuite été incubés au thermocyclyer à 37°C pendant toute la nuit. Les profils d'enzyme de restriction ont été visualisés sur un gel à 1,5% d'agarose en électrophorèse.

3.3.5. Tests biologiques sur *Spodoptera frugiperda*

Espèces fongiques et préparation de suspensions conidiennes

Trois souches de champignons entomopathogènes ont été testées pour le contrôle de *S. frugiperda*. Ces souches ont déjà été testées pour le contrôle biologique d'autres espèces d'insectes. Il s'agit de la souche B115 de *Beauveria bassiana*, obtenue à partir de l'IITA (Benin), la souche commerciale GHA de *Beauveria bassiana* et *Aspergillus flavus*, obtenues à partir de l'unité d'entomologie fonctionnelle et évolutive. La souche d'*A. flavus* a déjà été testé sur les pucerons, les larves de *Tuta absoluta* et les syrphes (Lognoul, 2018) et s'avère être un candidat potentiel pour le contrôle biologique de *S. frugiperda*. Ces champignons ont été cultivés sur un milieu gélosé (Potato Dextrose Agar) à 25 ± 1°C. Les conidies ont été récoltées en ajoutant 5 ml de l'eau avec 5% de tween 80 et en grattant avec un épandeur. Deux dilutions de ×10 et ×100 ont été effectuées pour la détermination de la concentration des spores dans les solutions diluées par la formule $C_1V_1=C_2V_2$, où C_1 est la concentration initiale, V_1 est le volume requis pour la dilution de l'aliquote originale, C_2 est la concentration souhaitée et V_2 est le volume final souhaité. Les suspensions ont été vortexées pendant 15 secondes et déposées sur les cellules de Neubauer. Le comptage des spores a été effectué au microscope. Cela nous a permis de déterminer la concentration de conidies à 10⁸/ml pour les trois souches.

Espèce bactérienne et préparation de la solution bactérienne

Une souche commerciale composée de 54% de *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki*, stam ABTS-351B a été testée pour le contrôle biologique de *S. frugiperda*. Trois doses ont été testées à savoir : 10g/l (D1), 15g/l (D2) et 30g/l (D3) correspondant respectivement à 0.5 kg/ha, 1kg/ha et 1.5 kg/ha.

Dispositif expérimental des tests toxicologiques et structure des traitements

Pour évaluer l'efficacité des agents de lutte biologiques dans le contrôle de *S. frugiperda*, des essais ont été mis en place dans une chambre dont la température et l'humidité relative ont été maintenues à $25\pm1^{\circ}\text{C}$ et $75\pm5\%$. Un dispositif en blocs complètement randomisés a été adopté avec deux facteurs en étude. Il s'agit notamment des agents de lutte biologique (champignons et bactérie) et la source de nourriture. Les agents de lutte biologique comprennent trois modalités comme signalé précédemment tandis que la source de nourriture pour *S. frugiperda* correspond à deux types d'application de l'agent entomopathogène: soit une diète artificielle, soit sur plants de maïs d'un mois. Les essais ont été réalisés dans des boites de Pétri et sur des plants de maïs cultivés dans des pots (Figure 6). Il était prévu d'appliquer les formulations de champignons par pulvérisation sur les plantes et de déposer les larves ensuite mais les volumes de certaines productions fongiques dans le temps imparti n'ont pas été suffisants pour conduire l'expérience comme initialement conçue.

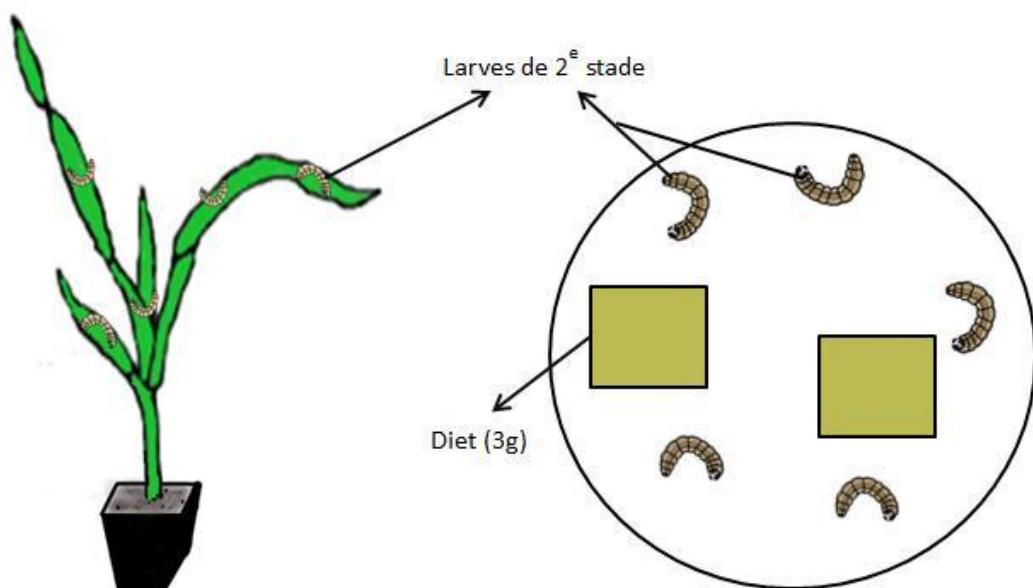


Figure 6 : Disposition des larves de *Spodoptera frugiperda* dans la boîte de Pétri et sur culture du maïs en pot lors des essais toxicologiques avec les agents entomopathogènes

Culture du maïs

Le maïs a été cultivé selon les exigences du plan expérimental et dans toutes les bonnes conditions agronomiques requises dans la production de maïs, pour une croissance vigoureuse de la culture. Le terreau universel a été utilisé comme substrat de culture, composé de tourbe blonde, de tourbe noire, de chaux et d'engrais. Ce terreau a été placé dans des petits pots en plastique de 7×7×8cm. La variété hybride utilisée était la Delprim (endosperme jaune-orangé), obtenue à partir de Delley Seed Plant (DSP). 15 jours après la germination, un engrais d'une composition de 12-8-16 (N-P-K) a été appliqué pour une croissance optimale de la plante et un développement sain des racines.

Conduite des essais

Un total de 63 boîtes de Pétri et 21 cages de 90×45×45cm ont été utilisées. Dans chaque boîte de Pétri, 5 larves de deuxième stade ont été soumises aux traitements, soit 15 larves par répétition, pour un total de 315 larves placées dans des boîtes de Pétri. Dans chaque cage, trois plantes ont été placées avec 5 larves par plante, pour un total de 315 larves également. Ainsi, le nombre total de larves utilisées pour les tests était de 630. Chaque boîte de Pétri contenait deux morceaux de diète artificielle pour *S. frugiperda* (6g) préalablement préparée. Deux méthodes proposées par Inglis et al. (2012) ont été appliquées. Tout d'abord, la méthode d'immersion pour les souches de champignons pour qu'ils pénètrent à l'intérieur de l'insecte à travers l'exosquelette et la cuticule. L'objectif est de mettre la larve en contact direct avec les spores de champignons. La méthode par aspersion a été utilisée pour la bactérie. 15 ml ont été pulvérisés sur chaque plante tandis que les gouttes de la solution bactérienne (0.5ml) ont été déposées sur la diète à l'intérieur de chaque boîte de Pétri. Le traitement des insectes a commencé d'abord par le témoin non inoculé avec les souches de champignons et la bactérie ; et a consisté à plonger les larves et asperger la source de nourriture avec une solution contenant de l'eau avec 5% de Tween 80. Les autres traitements ont été poursuivis avec chaque fois le rinçage des boîtes et des matériels avec de l'éthanol à 100% et de l'eau distillée. Les boîtes et les plants ainsi traités ont été transférés dans une chambre de culture à une température de 25±1°C et une humidité relative de 75±5%.

Paramètre d'études

Le taux de mortalité a été évalué sur base de la formule d'Abbott (Abbott, 1925) :

$$P = \frac{C - T}{C} \times 100$$

Où P est le pourcentage estimé d'insectes tués par l'agent entomopathogène seul ; C le pourcentage d'insectes témoins vivants et T le pourcentage des insectes traités qui vivent après la période expérimentale.

3.3.5. Cartographie du milieu et Analyse statistique des données

Les coordonnées géographiques du milieu d'étude ont été collectées à l'aide du GPSMAP 64s du type Garmin. Pour la cartographie, le logiciel ArcMap 10.3.1 a été utilisé. Les données de base pour le monitoring, l'élevage ainsi que les tests biologiques, ont été enregistrées dans Microsoft office Excel 2010, ainsi que pour la réalisation des graphiques. Le logiciel R version 3.6.0 a été utilisé pour les analyses statistiques. Les données de monitoring ont été soumises au test de normalité de Shapiro et Wilk. A chaque fois que les données ne sont pas distribuées normalement, le modèle de Poisson a été appliqué au seuil de signification de 5% ($p\leq 0.05$) et à un intervalle de confiance de 95%. Pour les données d'élevage, les statistiques descriptives ont été appliquées. Une analyse de la variance (ANOVA) à deux facteurs a été appliquée pour les données des tests biologiques au seuil de signification de 5% ($p\leq 0.05$). Lorsqu'une différence significative entre les traitements est révélée, le test de séparation des moyennes de Tukey HSD a été appliqué au seuil de signification de 5% ($p\leq 0.05$).

4. RESULTATS ET DISCUSSIONS

4.1. Résultats

4.1.1. Etat de lieux et Surveillance de *Spodoptera frugiperda* à l'Est de la RD Congo

La figure 7 présente la variation de l'incidence de *Spodoptera frugiperda* en fonction de l'altitude au seuil de signification de 5% selon le modèle de Poisson.

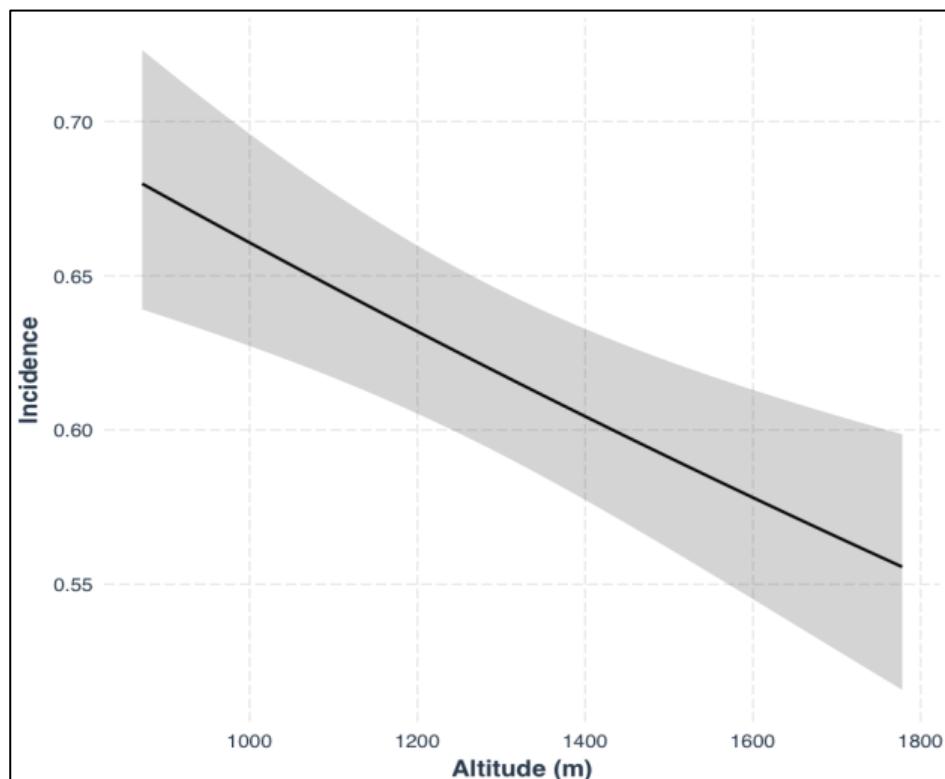


Figure 7: incidence de *Spodoptera frugiperda* en fonction de l'altitude

L'incidence de *Spodoptera frugiperda* a varié très significativement selon que la zone de basse ou de moyenne altitude soit considérée ($p < 0.001$, $LR\ Chi^2 = 14,28$). La valeur moyenne en basse altitude est de 0.673 (67.3%) en comparaison avec la moyenne altitude (0.572 soit 57.2%). La droite indique que l'incidence est à sa valeur la plus élevée lorsque nous nous situons à des altitudes inférieures à 1000m et diminue au fur et à mesure de l'augmentation de l'altitude.

L'incidence de *S. frugiperda* par rapport aux cultures attaquées en comparaison de l'altitude selon le modèle de Poisson est présentée (Figure 8).

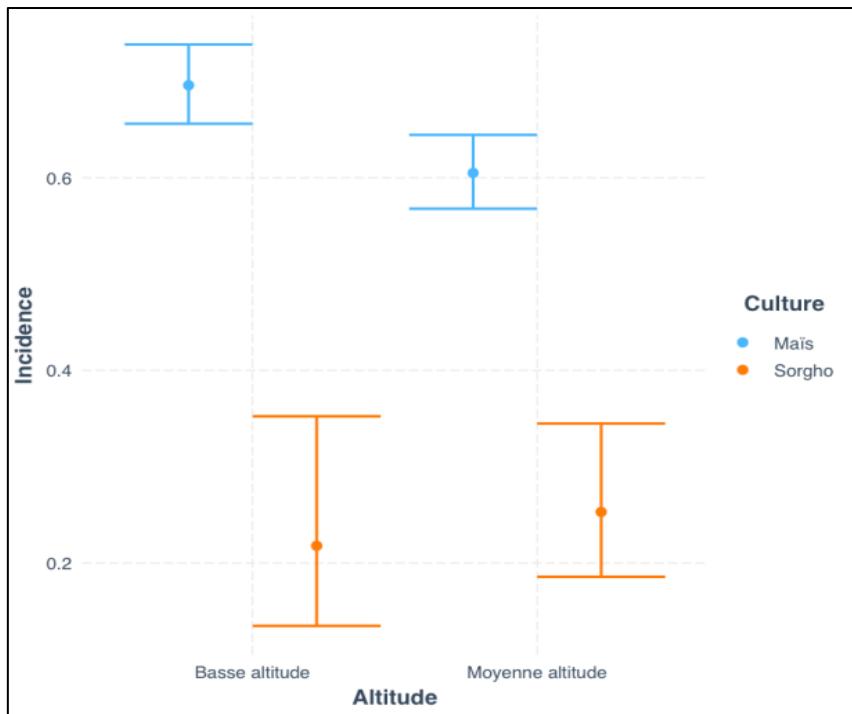


Figure 8: Incidences des cultures attaquées par *Spodoptera frugiperda* à l'Est de la RD Congo

Deux cultures sont principalement attaquées par *Spodoptera frugiperda* à l'Est de la RD Congo. Il s'agit du maïs et du sorgho. En effet, des différences hautement significatives ont été observées entre les deux cultures ($p < 0,001$ LR $\chi^2 = 87,61$). La culture la plus attaquée étant le maïs (65%) tandis que l'incidence est de 24.1% pour le sorgho. Une différence très hautement significative a été observée en fonction de l'altitude pour les deux cultures ($p = 0.001$, LR $\chi^2 = 87,61$). Le maïs est beaucoup plus attaqué en basse qu'en moyenne altitude (70.1% contre 60.3%). Contrairement au maïs, le sorgho est plus attaqué en moyenne qu'en basse altitude (26.5% contre 21.03%). Cela est dû à la fréquence de champs de sorgho dans les deux milieux (deux en basse altitude contre 4 en moyenne altitude).

Paramètres épidémiologiques des attaques de *Spodoptera frugiperda*

Différents paramètres sont ciblés et présentés (Figure 9) : le lien entre l'incidence et le nombre de larves par superficie (A) ; l'incidence et le nombre de larves par plante (B) ; le nombre de feuilles attaquées et le nombre de larves par plante (C) ; et le nombre de lésions par feuille et le nombre de larves par superficie (D). Le modèle de Poisson a permis d'associer un paramètre à l'autre au seuil de signification de 5%.

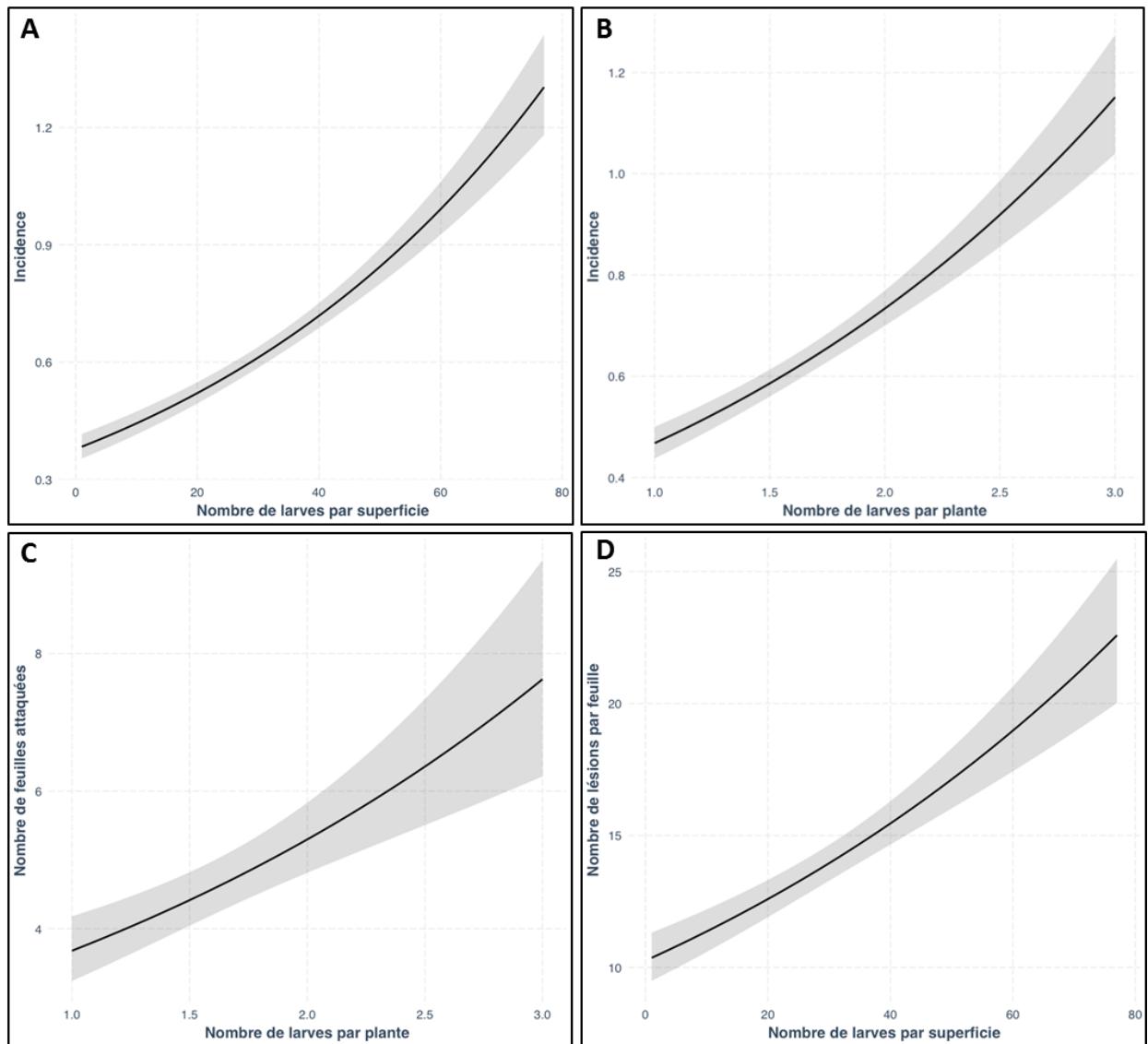


Figure 9: Relation entre plusieurs paramètres observés sur l'épidémiologie illustrée pour *Spodoptera frugiperda*

Une relation hautement significative a été observée entre l'incidence et le nombre de larves par superficie (Figure 9A, $p < 0,001$, $LR\ Chi^2 = 230,38$). L'incidence augmente au fur et à mesure de l'augmentation du nombre de larves par superficie. Des observations similaires ont été notées entre le nombre de larves par plante et l'incidence (Figure 9B). Le nombre de larves par plante a influencé de manière hautement significative l'incidence ($p < 0,001$, $LR\ Chi^2 = 150,47$). Il existe un lien entre le nombre de feuilles attaquées et le nombre de larves retrouvées par plante. La relation observée (Figure 9C) est hautement significative ($p < 0,001$, $LR\ Chi^2 = 25,61$). Le nombre de feuilles attaquées augmente en fonction du nombre de larves sur chaque plante. Le nombre de larves par superficie influence de manière hautement significative le nombre de lésions par feuille (Figure 9D, $p < 0,001$, $LR\ Chi^2 = 68,76$). Plus il y a un nombre élevé de larves, plus le nombre de lésions augmente.

Il existe une relation positive entre l'incidence et le stade de la culture, le nombre de larves par superficie délimitée et le stade de la culture selon le modèle de Poisson (Figures 10 et 11).

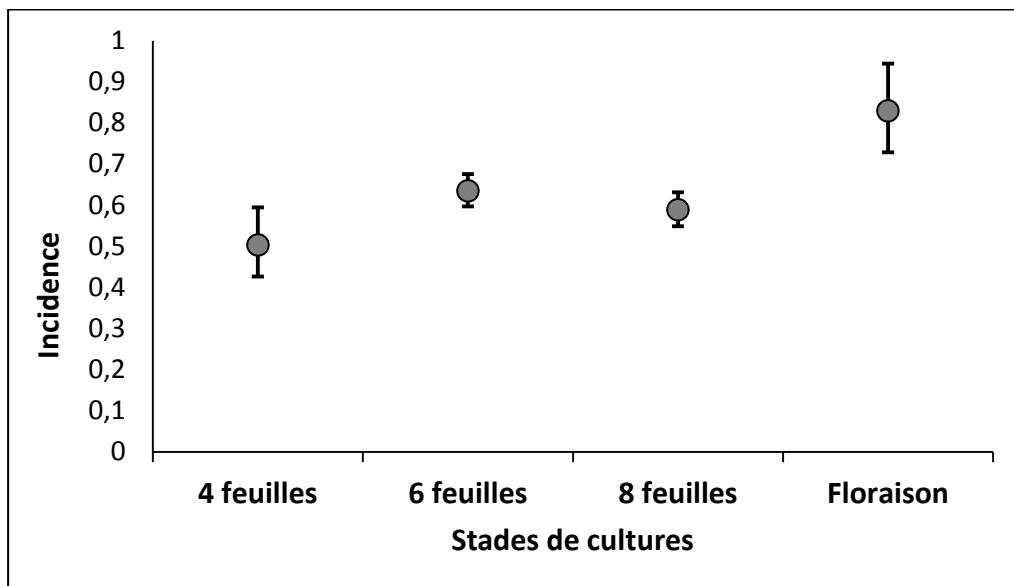


Figure 10 : Influence du stade développement des cultures sur l'incidence de *Spodoptera frugiperda*

L'incidence de *S. frugiperda* est influencée significativement par le stade 6 feuilles en comparaison au stade 4 feuilles (Figure 10, $p = 0.010$, $LR \ Chi^2 = 26,85$). Cependant, une différence hautement significative ($p < 0,001$, $LR \ Chi^2 = 26,85$) est observée entre la valeur de l'incidence au stade 4 feuilles (50.3%) et à la floraison (82.9%). Cette différence de stades de culture est observée à cause de la variabilité climatique qui perturbe le calendrier agricole dans les deux milieux. Cela coïncide directement avec les stades de développement du bioagresseur qui cause des dégâts significatifs aux cultures. Une différence non significative a été observée entre le stade 6 et 8 feuilles ($p = 0.089$, $LR \ Chi^2 = 26,85$).

La relation entre le stade de culture et le nombre de larves par superficie est présentée (Figure 11).

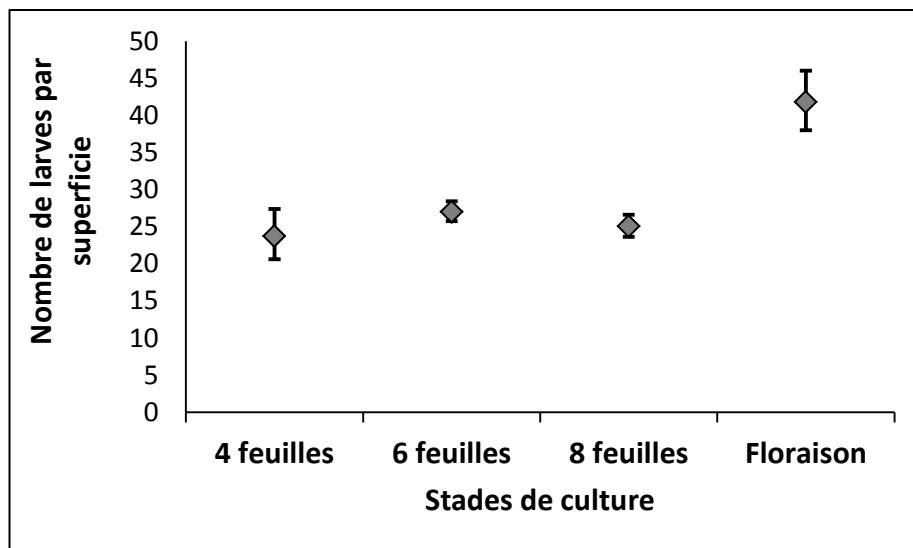


Figure 11 : Influence du nombre de larves de *Spodoptera frugiperda* par superficie sur les stades de développement des cultures

Des observations similaires sont observées (Figure 12) : le nombre de larves par superficies a été beaucoup plus observé à la floraison (41,8) comparativement au stade 4 feuilles (23,7). La différence est hautement significative par comparaison au stade 4 feuilles ($p < 0,001$ LR $\chi^2 = 78,24$). Aucune différence significative n'a été observée en termes de nombre de larves par superficie entre le stade 6 feuilles et 8 feuilles en comparaisons au stade 4 feuilles, avec des valeurs de probabilité respectivement de 0.092, 0.484 (LR $\chi^2 = 78,24$).

Sur base de l'échelle de cotation de Davis et al. (1992), les degrés d'attaque de *S. frugiperda* sont présentés (Figure 12).

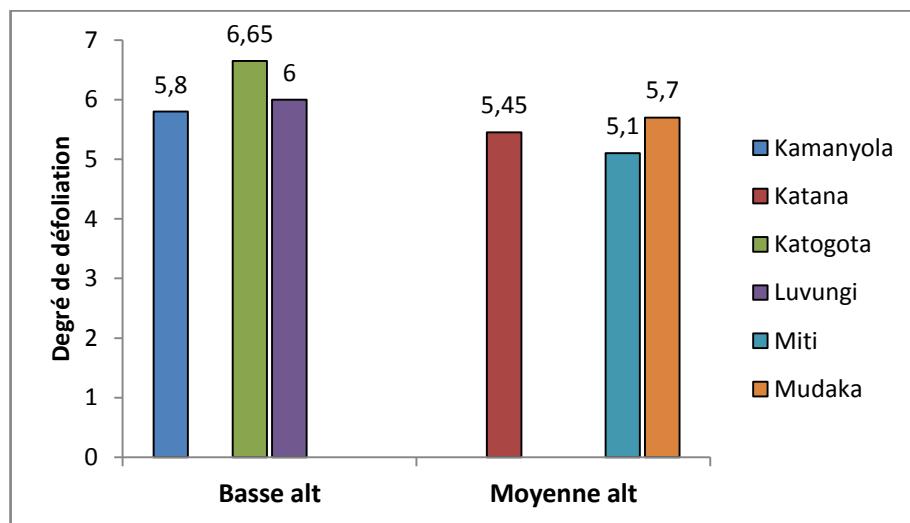
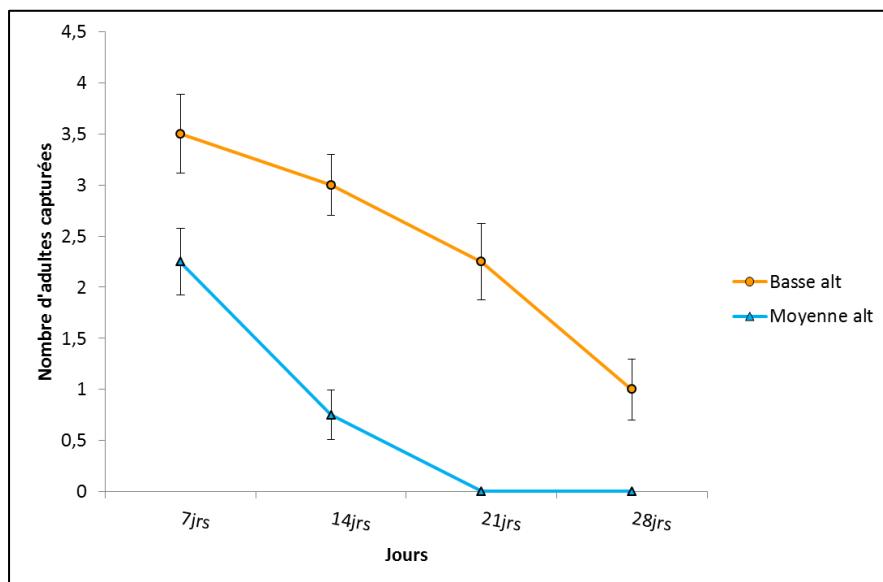


Figure 12: Degré de défoliation causé par *Spodoptera frugiperda* et calculé selon l'échelle de Davis

Le degré de défoliation en basse tout comme en moyenne altitude a été évalué comme étant moyen, se situant entre 5 et 7.

Surveillance des populations de *Spodoptera frugiperda* à l'Est de la RD Congo

La surveillance des populations de *Spodoptera frugiperda* à l'aide des pièges à phéromone a permis de collecter plus d'individus en basse altitude (Figure 13).



*Figure 13 : Nombre moyen d'adultes de *Spodoptera frugiperda* capturés en fonction de l'altitude*

Le nombre moyen d'adultes capturés diminue en fonction du temps que ça soit en basse ou en moyenne altitude jusqu'à une valeur de 0. Cependant, en comparaison de ces deux milieux, le nombre d'adultes capturés dans les pièges est plus élevé en basse altitude comparativement à la moyenne altitude. La somme étant de 39 individus en basse altitude contre 12 en moyenne altitude ; soit un total de 51 individus capturés. Le maximum étant de $3,5 \pm 0,38$ individus capturés par semaine pour un minimum d' $1 \pm 0,29$ individu en basse altitude. En moyenne altitude, un maximum de $2,25 \pm 0,32$ individus a été atteint. A la troisième et quatrième semaine, aucun adulte n'a été capturé en moyenne altitude.

4.1.2. Identifications des ennemis naturels de *Spodoptera frugiperda*

a) Prédateurs et parasitoïdes de *Spodoptera frugiperda*

Les ennemis naturels de *S. frugiperda* considérés comme auxiliaires entomophages dans la culture du maïs sont présentés (Tableau 5). Ces ennemis sont regroupés en ordre et en famille pour les deux types de zones investiguées, selon en basse et en moyenne altitude.

Tableau 5 : Ennemis naturels de *Spodoptera frugiperda* identifiés à la famille

Ordre	Famille	Plante hôte	Latitude	Longitude	Statut
Basse altitude					
Coleoptera	Coccinellidae	Maïs	S -2,85247	E 29,04841	Prédateur
	Chrysomelidae	Maïs	S -2,85236	E 28,04877	Prédateur
	Curculionidae	Maïs	S -2,8518	E 29,04805	Prédateur
Dermoptera	Forficulidae	Maïs	S -2,85233	E 29,04613	Prédateur
Hymenoptera	Formicidae	Maïs	S -2,85125	E 29,85125	Prédateur
	Vespidae	Maïs	S -2,8533	E 29,04619	Prédateur
Diptera	NI*	Maïs	S -2,85116	E 29,04936	Potentiel parasitoïde
	NI*	Maïs	S -2,8533	E 29,04619	Potentiel parasitoïde
	NI*	Maïs	S -2,74888	E 29,00644	Potentiel parasitoïde
Hemiptera	Reduviidae	Maïs	S -2,74888	E 29,00644	Prédateur
Homoptera	Cercopidae	Maïs	S -2,8523	E 29,04911	Potentiel prédateur
Moyenne altitude					
Coleoptera	Coccinellidae	Maïs	S -2,32775	E 28,78638	Prédateur
	Curculionidae	Maïs	S -2,31636	E 28,79519	Prédateur
	Carabidae	Maïs	S -2,32761	E 28,78838	Prédateur
	Chrysomelidae	Maïs	S -2,37472	E 28,79419	Prédateur
	Cicindelidae	Maïs	S -2,4048	E 28,80836	Prédateur
Dermoptera	Forficulidae	Maïs	S -2,31177	E 28,79125	Prédateur
Hymenoptera	Formicidae	Maïs	S -2,31525	E 28,79697	Prédateur
	NI*	Maïs	S -2,31391	E 28,79155	Potentiel Parasitoïde
Diptera	NI*	Maïs	S -2,3123	E 28,79588	Potentiel parasitoïde
	NI*	Maïs	S -2,32152	E 28,78563	Potentiel parasitoïde
	NI*	Maïs	S -2,31783	E 28,79225	Potentiel parasitoïde
Homoptera	Cercopidae	Maïs	S -2,31697	E 28,79377	Potentiel prédateur

NI* : non identifié

Au total, 6 ordres et 10 familles ont été identifiés comme ennemis naturels potentiels de *S. frugiperda* retrouvés uniquement sur la culture du maïs comme plante hôte. Plusieurs espèces de l'ordre des Diptères ainsi qu'une espèce d'Hyménoptère n'ont pas été identifiées car il n'a pas été possible de les capturer. La majorité des auxiliaires identifiés sont des prédateurs généralistes et les parasitoïdes sont les moins représentés. Les familles des Coccinellidae, Curculionidae, formicidae, Cercopidae, Chrysomelidae et Forficulidae ont été présentes en basse comme en moyenne altitude.

b) Microorganismes entomopathogènes de *Spodoptera frugiperda*

Souches de bactéries identifiées par l'analyse 16S rRNA

L'identification des bactéries colonisant les larves de *S. frugiperda* a été réalisée par méthode moléculaire et en utilisant la comparaison avec la méthode BLAST (Tableau 6).

Tableau 6 : Espèces et souches de bactéries identifiées à partir des cadavres de *Spodoptera frugiperda*

N°	Nom	Souche	% identification
1	<i>Bacillus velezensis</i>	FZB42	99.9
2	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	DSM 30198	100.0
3	<i>Pseudomonas taiwanensis</i>	DSM 21245/BCRC 17751	99.6
4	<i>Bacillus pumilis</i>	NBRC 12092	100.0
5	<i>Pseudomonas palleroniana</i>	CFBP 4389	99.8
6	<i>Klebsiella varicola</i>	F2R9	100.0

Six souches bactériennes ont été identifiées. Les résultats de l'analyse 16S rRNA ont permis d'identifier parmi les six souches potentielles, une seule souche entomopathogène, utilisée dans le contrôle biologique contre les insectes. Il s'agit de la souche *Pseudomonas taiwanensis* DSM 21245/BCRC 17751. Les souches FZB42 de *Bacillus velezensis* et la souche NBRC12092 sont réputées pour le contrôle biologique de certaines maladies chez les plantes.

Champignons entomopathogènes

Sur base des caractéristiques présentées (Tableau 4), deux souches potentielles de champignons entomopathogènes ont été isolés (Figure 14).



Figure 14 : Potentiels champignons entomopathogènes de *Spodoptera frugiperda* isolés à partir des cadavres

En effet, la croissance mycélienne a été la plus observée pour ces deux champignons sur le milieu PDA sans aucune production de spores au cours de trois semaines après la mise en culture. Cette situation n'a pas facilité leur identification. Ces champignons ont été repiqués plusieurs fois sur ce même milieu pour stimuler la sporulation.

4.1.3. Elevage de *Spodoptera frugiperda*

Emergence des adultes, production larvaire et des chrysalides

L'émergence des adultes a été observée sur 18 jours avec chaque fois des différences en termes de nombre entre les mâles et les femelles (Figure 15). Ainsi, un total de 180 adultes pour une seule génération a été enregistré au cours de l'élevage dont 107 femelles et 86 mâles. A partir du troisième jour jusqu'au treizième jour, il s'observe des fluctuations entre l'émergence des mâles et des femelles. Au quatorzième jour (deuxième semaine), le nombre de femelles était plus élevé que les mâles (13 individus contre 2), ce qui affecte la production larvaire à la troisième et quatrième semaine telle que démontrée à la figure 16.

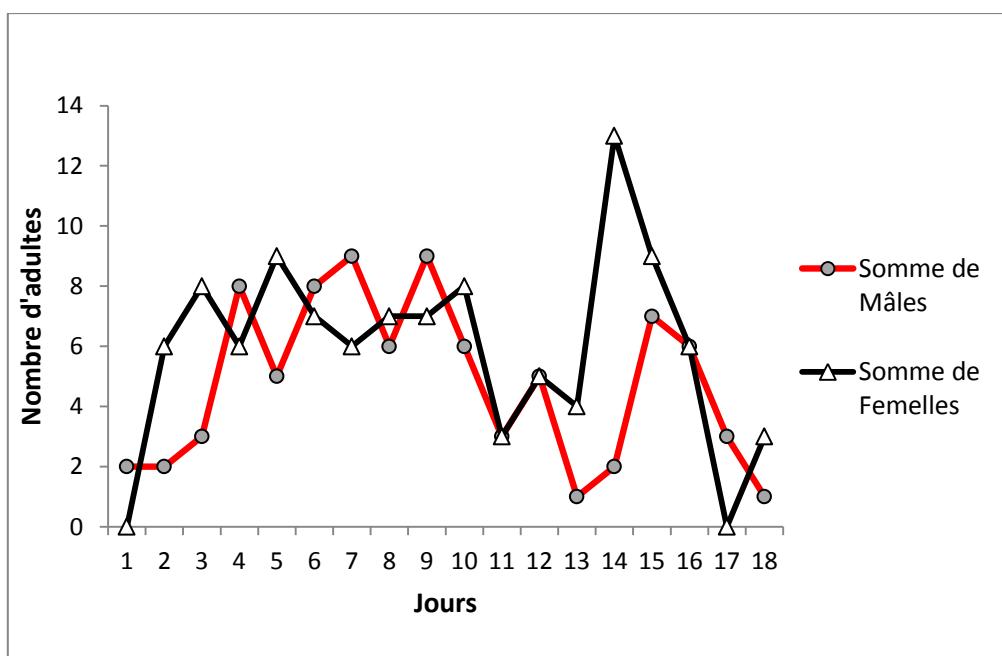


Figure 15 : Evolution des émergences des adultes de *Spodoptera frugiperda* pendant la mise en place des élevages au laboratoire

La production moyenne en larves de deuxième stade et des chrysalides ainsi que les taux de mortalité observés pendant l'élevage sont présentés (Figure 16).

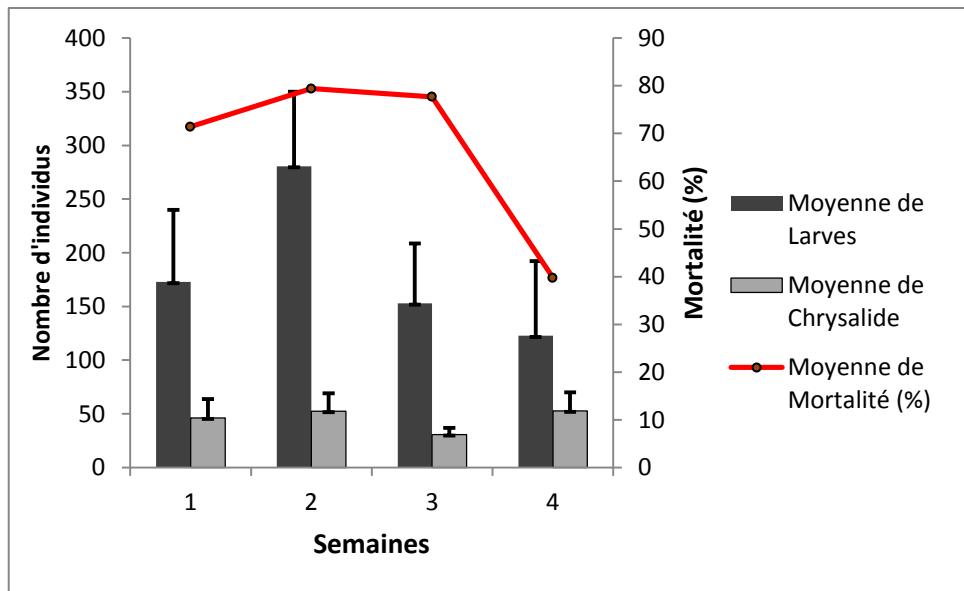


Figure 16 : production moyenne de larves, de chrysalides et mortalité larvaire de *Spodoptera frugiperda* lors de la mise en place des élevages

La moyenne des larves a été évaluée pendant 4 semaines. La plus grande production larvaire a été observée à la deuxième semaine avec une moyenne de $280,5 \pm 69,50$ larves de deuxième stade tandis que la production moyenne à la quatrième semaine est de $122,6 \pm 69,55$ larves de deuxième stade. La production larvaire à la première et à la troisième semaine étant intermédiaire. Cependant, des mortalités ont été observées au cours de l'élevage, surtout à partir du quatrième stade larvaire. Cela affecte la production en chrysalide. Un taux de mortalité jusqu'à 79,3% a été observé à la deuxième semaine où il y a eu une grande production larvaire. Ce taux de mortalité est lié à la densité des larves dans les boîtes, accentuant le phénomène de cannibalisme observé chez *S. frugiperda*. A la quatrième semaine, 39,0% de mortalité larvaire sont observés à une densité de 122,6 larves par boîte. Cette mortalité n'est pas seulement due au cannibalisme mais aussi lors de la transformation de la larve en chrysalide. Dans certains cas, cette transformation est incomplète et la chrysalide n'est pas formée.

Cycle de développement de *Spodoptera frugiperda*

Un schéma illustratif du cycle de développement de *S. frugiperda* est présenté (Figure 17).

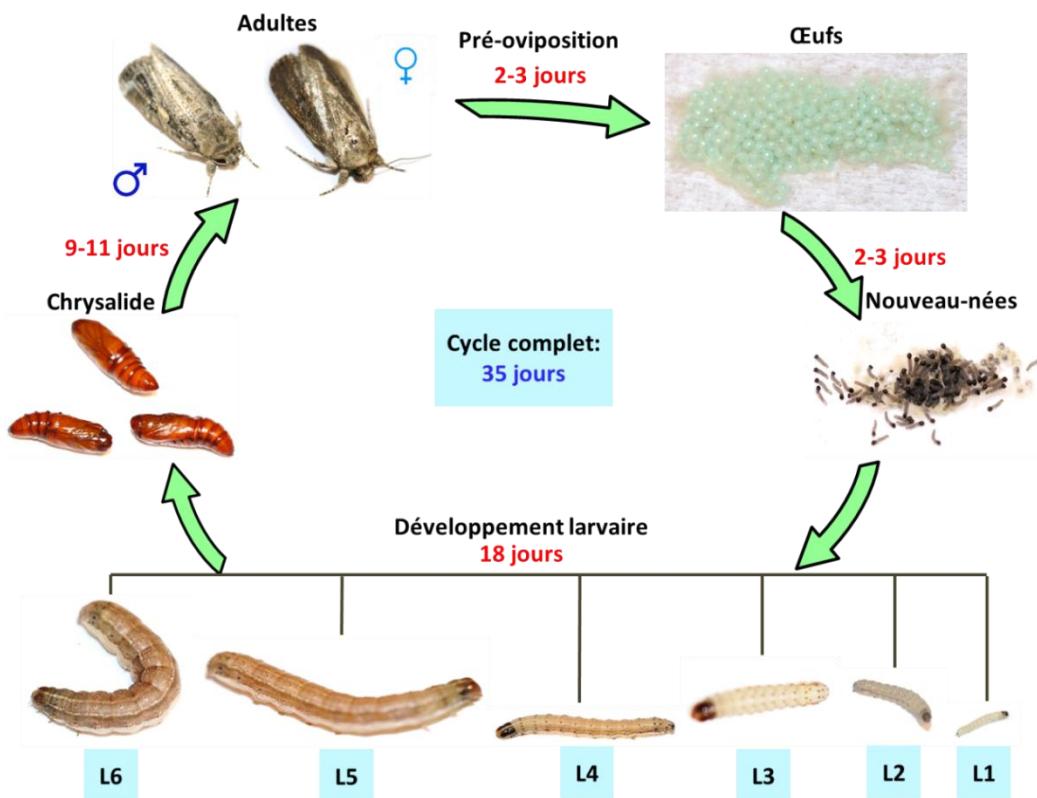


Figure 17: Cycle de développement de *Spodoptera frugiperda*

Dans les conditions de température et d'humidité relative de $24 \pm 1^\circ\text{C}$ et $50 \pm 5\%$, le cycle complet de développement de *S. frugiperda* a été évalué à 35 jours. Six stades larvaires sont observés. Les caractéristiques de chaque stade de développement sont présentées (Tableau 7).

Tableau 7 : caractéristiques des stades de développement de *Spodoptera frugiperda*

Stade	Durée (jours)	Poids (mg)	Taille (mm)
Œufs	$2,72 \pm 0,46$	-	-
L1	$3,55 \pm 0,51$	$0,64 \pm 0,18$	$3,0 \pm 0,0$
L2	$1,39 \pm 0,50$	$3,02 \pm 0,88$	$5,2 \pm 0,4$
L3	$1,55 \pm 0,51$	$13,7 \pm 2,39$	$9,2 \pm 0,8$
L4	$3,16 \pm 0,51$	$67,3 \pm 10,9$	$13,6 \pm 0,5$
L5	$2,55 \pm 0,70$	$139,9 \pm 21,8$	$22,4 \pm 1,5$
L6	$6,05 \pm 0,80$	$548,1 \pm 73,5$	$34,6 \pm 1,1$
Chrysalide	$10,27 \pm 1,02$	$217,2 \pm 37,1$	$15,4 \pm 2,1$
Adulte	$11,83 \pm 0,38$	$129,0 \pm 24,0$	$18,0 \pm 1,2$

Si l'on considère chaque stade de développement séparément, à partir du stade L6 jusqu'à l'adulte, la durée est de 27 jours. Ces trois stades sont les plus longs en termes de durée de vie. Le développement larvaire de manière générale est réalisé en 18 jours. Le sixième stade larvaire représente le stade de développement le plus dangereux compte tenu de son poids

et de sa taille. La longévité des adultes a été évaluée à ~ 12 jours dans lesquels 2 à trois jours représentent la période de pré-oviposition. Cependant, les stades L2 et L3 présentent des durées de vie relativement courtes avec une moyenne de 1,5 jours.

Fécondité chez *Spodoptera frugiperda*

La capacité de ponte chez *S. frugiperda* a été évaluée en fonction des conditions d'élevage et de quatre sex-ratios. Les résultats sont rapportés sur le nombre d'œufs par jour ainsi que le nombre de masses d'œufs déposés par jour (Figure 18).

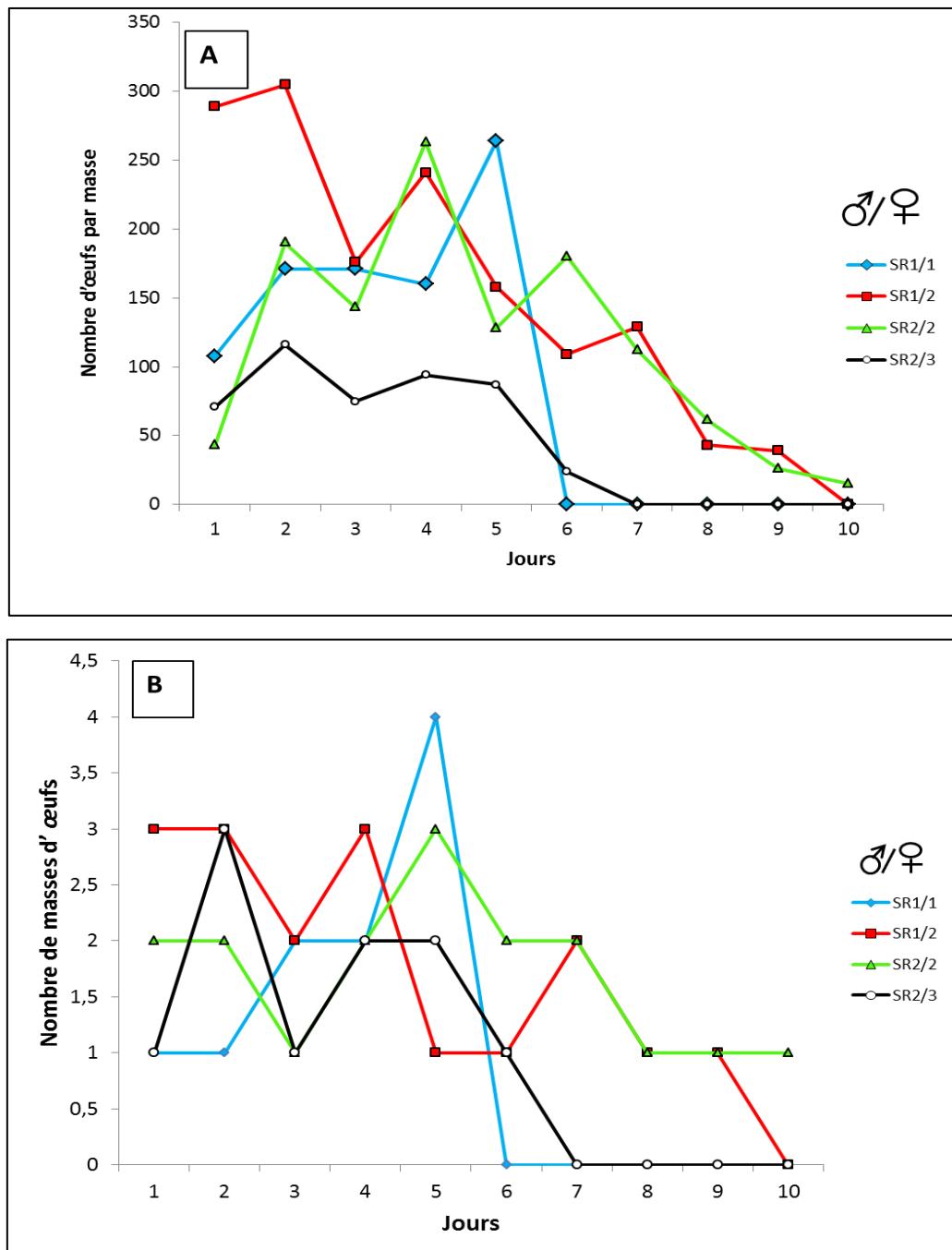


Figure 18 : Fécondité de *Spodoptera frugiperda* : nombre d'œufs par masse et par jour (A) et nombre de masses d'œufs pondues par jour (B)

Des fluctuations sont observées entre les quatre sex-ratios en termes de nombre d'œufs et de masse d'œufs déposés. La capacité de ponte par individu est de 874 œufs et le nombre de masses d'œufs est de 10 au maximum par génération avec une moyenne de $174,8 \pm 35,6$ œufs par masse dans les conditions de température de $24 \pm 1^\circ\text{C}$, d'humidité relative de $50 \pm 5\%$ et d'une photopériode de 18h/6h. La majorité d'œufs est déposée les six premiers jours. Le sexe ratio de 2/2 a été la meilleure combinaison en termes de production d'œufs dès le premier jour d'observation (305 œufs). La plus faible production en œufs a été enregistrée pour le sexe ratio de 2/3.

4.1.4. Caractérisation moléculaire de *Spodoptera frugiperda*

Un test a été réalisé sur 13 échantillons d'adultes précédemment collectés à l'aide des pièges à phéromones et confirme bien la présence de deux souches de *S. frugiperda* (Riz et Maïs) dans le milieu d'étude (Figure 19) suite à la visualisation sur gel électrophorèse des résultats de la PCR-RFLP du COI de *S. frugiperda*.

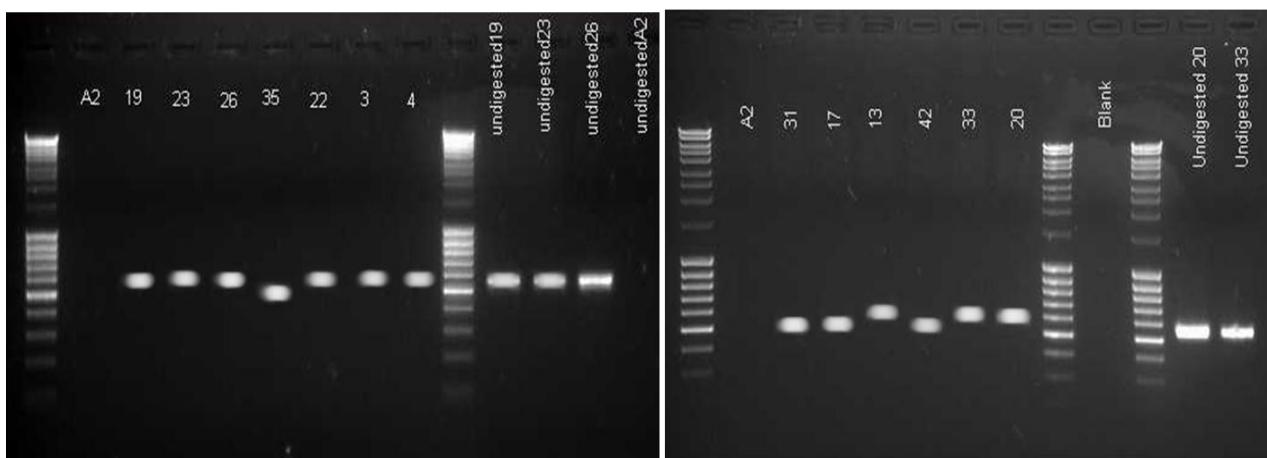


Figure 19: gels d'électrophorèse de la digestion des produits PCR des échantillons de *Spodoptera frugiperda* adultes par l'enzyme *MspI* du COI

La différenciation de ces deux souches a été réalisée sur base du nombre de la longueur de fragment en terme de paires de base et la digestion des produits PCR amplifiés par l'enzyme *MspI*. Les produits non digérés représentent la même taille de l'ADN (569 bp) et constituent la souche riz tandis que ceux digérés correspondent à la souche maïs. Au total 4 souches de maïs et 9 du riz sont visualisées (Figure 19). L'étalon du poids moléculaire utilisé était de 100 bp Ladder. L'identité des souches de *S. frugiperda* et leur localisation dans le milieu d'étude sont présentées (Tableau 8).

Tableau 8 : Identité et localisation des souches de *Spodoptera frugiperda* relatives aux individus collectés à l'Est de la RD Congo

N°	Milieu	Groupement	Identité souche
A2	Gembloux	-	Abeille mellifère témoin
3	Plaine de la Ruzizi	Luvungi	Riz
4	Plaine de la Ruzizi	Kamanyola	Riz
13	Plaine de la Ruzizi	Luvungi	maïs
17	Plaine de la Ruzizi	Luvungi	Riz
19	Plaine de la Ruzizi	Luvungi	Riz
20	Plaine de la Ruzizi	Luvungi	maïs
22	Plaine de la Ruzizi	Kamanyola	Riz
23	Plaine de la Ruzizi	Kamanyola	Riz
26	Plaine de la Ruzizi	Kamanyola	Riz
31	Plaine de la Ruzizi	Luvungi	Riz
33	Plaine de la Ruzizi	Kamanyola	maïs
35	Plaine de la Ruzizi	Luvungi	Maïs
42	Plaine de la Ruzizi	Luvungi	Riz

La présence de deux souches de *S. frugiperda* dans la plaine de la Ruzizi est confirmée précisément à Kamanyola et à Luvungi.

4.1.5. Contrôle biologique de *Spodoptera frugiperda*

L'efficacité des souches de champignons a été évaluée durant 7 jours d'essais tandis que pour la bactérie, 4 jours ont suffi pour avoir une mortalité de 100% en boîtes de Pétri et sur les plantes de maïs dans les cages. Les effets des champignons entomopathogènes et leur source de nourriture sur la mortalité de *S. frugiperda* sont présentés (Figure 20).

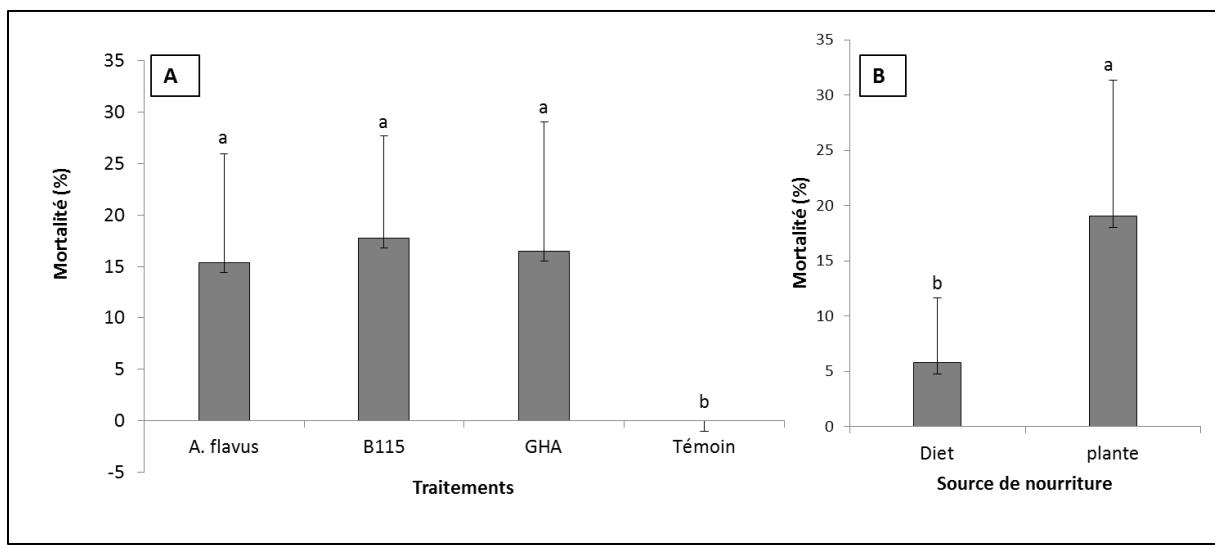


Figure 20: Effets de différentes souches de champignons entomopathogènes sur la mortalité de *Spodoptera frugiperda*

Une différence hautement significative entre les traitements de champignons a été observée (Figure 19A, $p < 0.001$, $F = 10.57$). La mortalité de *S. frugiperda* a été évaluée à 15,3%, 17,7%, 16,4% et 0,0% respectivement pour les souches d'*A. flavus*, B115, GHA de *B. bassiana* et le témoin. Pour ce qui est de la source de nourriture, une différence hautement significative a également été observée (Figure 19B, $p < 0,001$, $F = 40,5$). La mortalité de *S. frugiperda* inoculé avec les souches de champignons a été la plus élevée sur plante (15,0%) que sur diète (5,7%).

Tableau 9 : Effet combiné de souches et de source de nourriture sur la mortalité de Spodoptera frugiperda

Souche	Mortalité	
	Diète	Plante
GHA	1,33 ± 1,15 c	4,66 ± 1,15 a
B115	2,00 ± 1,00 bc	4,66 ± 0,57 a
<i>A. flavus</i>	1,66 ± 1,15 c	4,33 ± 0,57 ab
Témoin	0,66 ± 0,57 c	1,00 ± 0,00 c
<i>p</i>	0,041	
<i>F</i>	3,46	
CV (%)	34,07	
MSD	2,44	

a, ab, bc, c : Les moyennes suivies de lettres identiques ne sont pas statistiquement différentes au seuil de probabilité de 5% selon le test de Tukey HSD (Honestly Significant Difference of means).

Une différence significative existe lorsque les facteurs en étude sont combinés. La souche B115 et GHA inoculés sur les larves et placés sur les plantes, ont présenté des valeurs de mortalité élevées soit 26,1%.

L'efficacité de trois doses de *Bt* utilisées pour contrôler *S. frugiperda* est présentée (Figure 21).

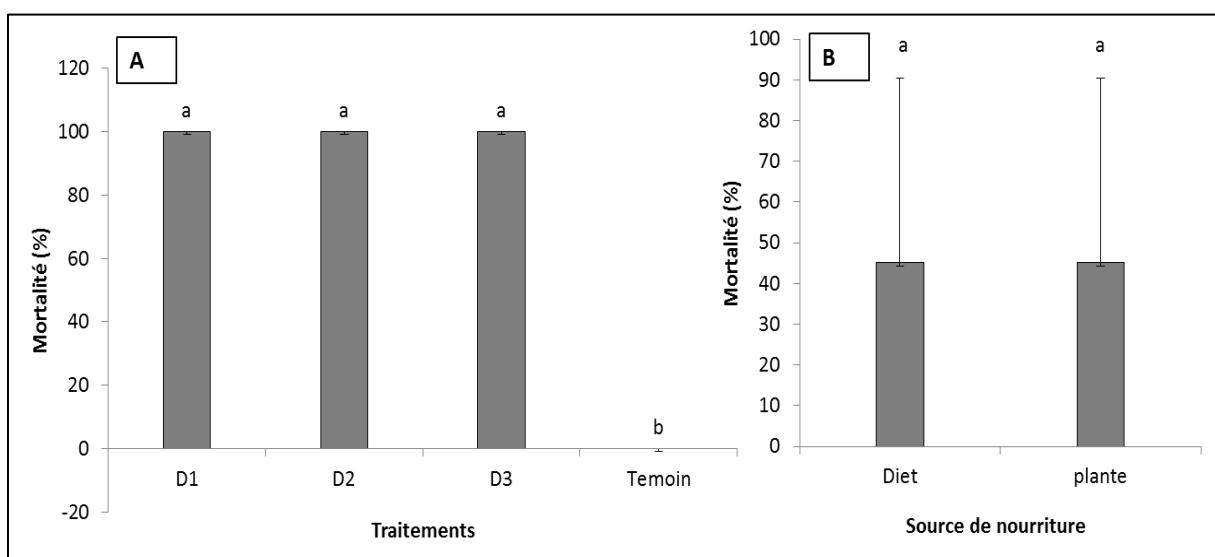


Figure 21 : Efficacité de Bacillus thuringiensis contre Spodoptera frugiperda

L'analyse de la variance a montré une différence hautement significative ($p < 0,001$, $F = 7225$) entre les traitements (Figure 20A). Les trois doses de *Bt* ont présenté une efficacité de 100% contre les larves de *S. frugiperda*, évaluée pendant 4 jours. Par contre, aucune différence significative n'a été observée entre la source d'alimentation (Figure 20B, $p = 0,332$, $F = 1$). L'interaction entre les deux facteurs n'est pas significative ($p = 0,418$, $F = 1$).

Cependant, par comparaison des résultats, l'efficacité du *Bt* est de loin supérieure à celle des souches de champignons entomopathogènes testées.

4.2. Discussion

Etat des lieux et surveillance de *Spodoptera frugiperda*

L'incidence de *S. frugiperda* diminue avec l'augmentation de l'altitude. Cela explique la différence entre nos deux milieux d'étude du point de vue climatique. La plaine de la Ruzizi dont l'altitude est inférieure à 1000m, est une région dominée par le climat tropical sec comparativement à Kabare où le climat est du type tropical humide. Deux éléments expliquent cette variabilité : la température et les précipitations. Tous les paramètres épidémiologiques qui expliquent l'incidence de *S. frugiperda* sont associés à ces deux éléments. *S. frugiperda* a besoin 600°C de degrés jours pour réaliser son cycle complet d'après la modélisation de Duplessis et al. (2018) voir même 559°C de degrés jours d'après López et al. (2019). Avec des extrêmes de températures de 17 à $\pm 30^{\circ}\text{C}$, la plaine de la Ruzizi (basse altitude) constitue un milieu plus favorable pour *S. frugiperda*.

Le Degré d'attaque est moyen que ça soit en basse ou en moyenne altitude tandis que l'incidence est la plus élevée en basse comparativement à la moyenne altitude. Selon les études de Sisay et al. (2019), l'incidence variait de 5 à 100% tandis que le score de dégâts sur les feuilles variait de 1,8 à 7,0. La faible incidence ainsi que le degré moyen d'attaque observé en moyenne altitude sont liés à l'abondance des pluies dans le milieu. Selon nos observations personnelles, les pluies agissent sur les populations de *S. frugiperda* de manière directe et indirecte. Les larves se cachent toujours entre les feuilles verticillées (entonnoir) pour infester les plantes pendant la nuit (Day et al., 2017). Des fortes pluies remplissent les feuilles verticillées d'eau et occasionnent des mortalités, surtout chez les jeunes larves de *S. frugiperda*. Les observations similaires ont été notées chez Early et al. (2018). De manière indirecte, les pluies font tomber les larves jusqu'au niveau du sol où les contacts éventuels s'établissent avec les microorganismes entomopathogènes.

Baudron et al. (2019) ont élaboré toute une série d'autres paramètres qui influencent l'incidence et la sévérité de *S. frugiperda* parmi lesquels, les pratiques culturelles, les variétés et l'utilisation des produits chimiques, constituent des paramètres importants. Il est démontré dans cette étude que le stade de la floraison est la plus attaquée par *S. frugiperda*. Ces résultats sont expliqués par la variabilité climatique observée ces derniers temps

occasionnant des perturbations du calendrier agricole dans le milieu d'étude. Compte tenu de cette situation, des semis précoces et tardifs du maïs sont effectués. Cela engendre des chevauchements dans le cycle de *S. frugiperda* et les dégâts deviennent importants. Par contre, Baudron et al. (2019) n'ont pas trouvé d'effet de la date de semis sur les dégâts de *S. frugiperda*. Considérant l'échelle d'évaluation de la sévérité de *S. frugiperda* proposée par Davis et al. (1992), Il est possible de déterminer les pertes occasionnées par *S. frugiperda* en terme de gestion et de production (Abrahams et al., 2017 ; Baudron et al., 2019). Le temps pendant lequel l'étude s'est réalisée n'a pas permis d'évaluer ce paramètre.

L'abondance des individus de *S. frugiperda* capturés à l'aide des pièges à phéromones confirme des différences entre les deux régions en termes d'attaques. Cependant, le nombre moyen d'adultes capturés diminue en fonction du temps. Cela est dû d'une part à la quantité de phéromones par septum et le temps d'activité nécessaire de la substance phéromonale ; et d'autre part aux conditions climatiques du milieu. Mitchell et al. (1983) ont proposé 5 à 10mg par septum pendant un temps relativement court (une à deux semaines). Unbehend et al. (2014) ont signalé que le nombre d'individus mâles capturés dans les pièges varie en fonction des zones géographiques lorsqu'on considère uniquement le composé Z7-12:OAc à différentes concentrations. Selon Mitchell (1979), le nombre d'individus adultes de *S. frugiperda* présent dans une région est influencé par nombreux facteurs tels que la période de l'année, l'abondance ainsi que la répartition de ses hôtes sauvages et cultivés, le mode de culture, le climat et la dispersion dans la région.

Identifications des ennemis naturels de *Spodoptera frugiperda*

Les ennemis naturels de *S. frugiperda* sont des prédateurs et des parasitoïdes retrouvées sur culture de maïs. Dans cette étude, les prédateurs ont été les plus observés sur culture du maïs et appartiennent aux familles déjà identifiées. Les plus représentés dans les deux milieux appartiennent aux familles Forficulidae, Curculionidae, Coccinellidae, Chrysomelidae, Formicidae et Cercopidae. Les Coccinellidae et les Forficulidae sont réputés être des prédateurs d'œufs (Hoballah et al., 2004 ; FAO, 2018) ; les Carabidae et les Formicidae attaquent le stade larvaire (Perfecto, 1991 ; FAO, 2018) tandis que le statut des Curculionidae et des Chrysomelidae n'est pas élucidé. D'après nos observations, ces deux familles attaquaient les œufs et les jeunes larves. Les espèces de la famille des Vespidae et des Reduviidae sont des prédateurs redoutables des larves de *S. frugiperda* (Hoballah et al., 2004 ; Held et al., 2008 ; FAO, 2018). Cependant, la littérature sur le statut de la famille des Cercopidae en tant que prédateur potentiel de *S. frugiperda* n'a pas été trouvée.

Une seule souche parmi les bactéries identifiées par les séquences BLAST est réputée comme étant entomopathogène. Cette souche a déjà été testée pour le contrôle biologique contre les insectes par Chen et al. (2014), particulièrement sur *Plutella xylostella*. D'après les résultats des séquences BLAST, la présence d'autres souches de *Pseudomonas* en

l'occurrence *Pseudomonas entomophila* L48 confirme bien son statut d'agent de lutte biologique potentielle pour le contrôle des insectes (Vodovar et al. , 2006 ; Chung et al., 2011 ; Sree & Varma, 2015 ; Dieppois et al., 2015). Chen et al. (2014) signalent que *P. taiwanensis* a une activité insecticide contre un certain nombre d'espèces de Lépidoptères y compris *S. exigua*. Cependant, nous formulons une hypothèse selon laquelle, *P. taiwanensis* constitue un candidat potentiel pour le contrôle biologique de *S. frugiperda* qu'il serait important de tester.

L'identification des champignons n'a pas été aisée au vu de la croissance sur le milieu de culture. Néanmoins, les caractéristiques identifiées permettent d'émettre quelques hypothèses. Selon les observations de Kaur (2009), la présence de spores blanches poudreuses sur le cadavre de *S. litura*, était soupçonnée comme étant une infection de *B. bassiana* ; la présence des spores vertes puissantes suggère une infection par *Nomuraea rileyi* ou *Metarhizium anisopliae*. Les observations similaires ont été signalées par Lacey & Solter (2012).

Elevage de *Spodoptera frugiperda*

Des mortalités ont été observées lors de l'élevage, dues d'une part, à une densité élevée des individus dans les boîtes, accentuant le phénomène de cannibalisme et d'autre part, lors de la transformation des larves en chrysalides. Cet aspect de densité a été évoqué par Silva & Parra (2013). Les résultats suggèrent une densité de 40 larves par boîte pour éviter ce comportement. Le cannibalisme est un comportement fréquent dans les élevages de *S. frugiperda* au laboratoire. Même quand la source de nourriture n'est pas limitative, un taux de 40 à 60% est évoqué (Chapman et al., 1999a). Les études menées par Chapman et al. (1999b), ont montré que les individus issus du cannibalisme chez *S. frugiperda* avaient un poids vif, un taux de développement et un taux de survie faibles. Cela explique le pourcentage élevé de mortalité obtenu pendant l'élevage. Cette étude est allée plus loin jusqu'à évaluer la fécondité chez *S. frugiperda* en démontrant que les femelles ont plus le caractère de cannibalisme que les mâles, ce qui pourrait affecter leur oviposition. Le cycle de développement de *S. frugiperda* a été évalué à 35 jours à une température de $24\pm1^{\circ}\text{C}$. La température constitue un paramètre très important pour la croissance et le développement de *S. frugiperda*. Busato et al. (2005), ont évalué le cycle de *S. frugiperda* à environ 30 jours dans les conditions de température et d'humidité relative de $25\pm1^{\circ}\text{C}$ et $70\pm10\%$. A une température de 25°C , le temps de développement larvaire a été évalué par Pitre et Hogg (1983) à 3,3 ; 1,7 ; 1,5 ; 1,5 ; 2,0 et 3,7 jours respectivement pour les stades 1 à 6. La différence est significative comparativement à nos résultats, uniquement au niveau du sixième stade larvaire. Enfin, Hogg et al. (1982) ont évalué le développement des stades œufs, larves et chrysalide à 2,7, 14,0 et 12,5 respectivement à 25°C .

Tels que signalés par Capinera (2001) et CABI (2019), la capacité de ponte de *S. frugiperda* est de 1500 à 2000 œufs par génération. Ce chiffre n'a pas été atteint dans notre étude. Plusieurs facteurs peuvent expliquer cela : la température, l'humidité relative et la photopériode. Selon Barfield & Ashley (1987), la longévité et la fécondité chez *S. frugiperda* sont les plus élevées entre 21 et 25°C. Cette faible capacité de ponte n'est pas expliquée par le facteur température étant donné que la température lors de l'élevage a été maintenue à 24±1°C. La photopériode lors de l'élevage a été réglée à 18h de lumière et 6 h d'obscurité. Or, selon Luginbill (1928), le rapport lumière-obscurité a un effet sur la capacité de ponte chez *S. frugiperda* tout en signalant que le plus grand nombre d'œufs est obtenu à partir de minuit. L'humidité relative faible provoque une dessiccation chez les adultes réduisant les fréquences d'accouplement (Groot, 2014). La plupart d'études sur l'oviposition chez *S. frugiperda* se réalisent à une température de 25±1°C, une humidité relative de 70±10% et une photopériode de 14/10. A une température de 25±1°C et une photopériode de 14/10, Barfield & Ashley (1987) ont observé jusqu'à 1446 œufs par femelle. Murúa et al. (2008), ont trouvé des différences entre la fécondité chez les individus issus de différentes cultures à une température de 27±2°C, une humidité de 70-75% et une photopériode de 14/10. La femelle originaire de plantes de maïs avait une capacité de ponte élevée soit 955 œufs, plus que les autres. Les mêmes observations sont signalées chez Silva et al. (2017) qui ont montré que *S. frugiperda* a une fécondité différente en fonction des espèces de plantes hôtes. La période de pré-oviposition a été évaluée à 2-3 jours. Les résultats similaires ont été signalés chez Sharanabasappa et al. (2018). La différence entre l'un de ces paramètres ici évoqués à des valeurs optimales, a une influence sur la durée de chaque stade de développement et la reproduction chez les adultes.

Caractérisation moléculaire de *Spodoptera frugiperda*

Les résultats de l'analyse PCR-RFLP confirment l'existence de deux souches de *S. frugiperda* à l'Est de la RD Congo. Lorsqu'on établit un lien entre ces résultats et ceux obtenus par l'état des lieux des attaques de *S. frugiperda*, dans le milieu d'étude, une contradiction surgit. Les investigations réalisées montrent que *S. frugiperda* attaque deux cultures à l'Est de la RD Congo. Il s'agit du maïs et du sorgho. Or selon Pashley (1988b) et Cano-Calle et al. (2015), les deux souches de *S. frugiperda* sont différencierées sur base de leur hôte préférentielle (maïs et riz), d'où l'appellation souche riz (R) et souche maïs (C). La souche du maïs attaque à la fois le maïs, le sorgho, la canne à sucre et le coton (Hardke et al., 2015 ; Cano-Calle et al., 2015 ; FAO, 2018 ; CABI, 2019) tandis que celle du riz attaque le riz et les graminées fourragères sauvages (Pashley, 1988b ; Cano-Calle et al., 2015).

Face à la diversité des cultures que *S. frugiperda* attaque (Montezano et al., 2018) dont la plupart sont retrouvées à l'Est de la RD Congo, des hypothèses d'existence de deux souches de *S. frugiperda* ont été évoquées au début de cette étude. Se basant sur la morphologie des larves et les cultures attaquées (maïs et sorgho), la différenciation de ces souches serait

impossible. Le test de diagnostic COI PCR-RFLP est rapide et facile. Il n'est pas nécessaire de purifier l'ADN mitochondrial avec les produits issus de l'amplification PCR (Levy et al., 2002). La taille moléculaire de ces deux souches est différente après digestion par l'enzyme Mspl. Selon Lu & Adang (1996), le modèle Mspl constitue un modèle distinctif de ces deux souches sur base de la taille moléculaire de chaque fragment d'ADN. Par utilisation de la PCR-RFLP et la PCR du gène FR (spécifique au Riz), Cano-calle et al. (2015) ont différencié ces deux souches de *S. frugiperda*. Vélez-Arango et al. (2008) ont différencié trois populations de *S. frugiperda* : le biotype du maïs avec l'enzyme Mspl du gène COI, le biotype du riz, composé d'individus ayant généré des produits d'amplification supérieurs à 500 bp avec le marqueur FR, et enfin un groupe d'individus classés comme "hybrides" entre ces marqueurs. D'après les études récentes de Nagoshi et al. (2019), la présence de *S. frugiperda* sur le continent Africain présenterait des caractéristiques comportementales potentiellement incertaines. Les hypothèses sur l'existence des populations hybrides de *S. frugiperda* à l'Est de la RD Congo sont émises.

Contrôle biologique de *Spodoptera frugiperda*

Les résultats des tests biologiques sur *S. frugiperda* par utilisation des champignons entomopathogènes montre des différences entre les traitements. Cependant, l'efficacité de ces champignons est faible lorsqu'on compare avec celle obtenue par les trois doses de *Bt*. Selon Pandey & Hasan (2009) et Asi et al. (2013), la susceptibilité des insectes contre les champignons entomopathogènes diminue avec l'augmentation de l'âge des larves. Ce fut le cas pour *S. frugiperda*. Le deuxième stade larvaire était visé, or la durée pour ce stade a été estimée à 1,3 jours. La mortalité a été observée pendant les trois premiers jours pour une durée totale de sept jours d'essai. Nous émettons des hypothèses selon lesquelles le changement rapide à travers les mues, du deuxième au troisième stade et ainsi de suite, a un effet sur la pénétration du champignon à travers la cuticule de la larve.

Thomazoni et al. (2014) ont ciblé le troisième stade larvaire par utilisation de *B. bassiana* avec une mortalité de 44,5%, considérée également comme faible. Wraight et al. (2010) ont rapporté que toutes les espèces de Lépidoptères ravageurs de cultures légumières, étaient susceptibles à *B. bassiana* tout en signalant que *S. frugiperda* était le moins susceptible. L'efficacité d'*A. flavus* a été évalué jusqu'à 60% de mortalité sur les larves de *Tuta absoluta* par Lognoul (2018). Une mortalité faible a été obtenue sur *S. frugiperda* pour des raisons ci-évoquées. Un taux de mortalité de 80 % a été observé chez les larves de *S. frugiperda* par Domenico et al. (2009) par utilisation d'une souche de *N. rileyi*. Malapur et al. (2018) ont conclu que cette espèce constitue un potentiel champignon entomopathogène pour le contrôle de *S. frugiperda*. Enfin, Romero-Arenas et al. (2014) ont évalué la mortalité de *S. frugiperda* par utilisation d'une souche indigène et une souche commerciale de *M. anisopliae*. La mortalité la plus élevée (72,5%) a été enregistrée chez la souche indigène tandis que l'équivalent de 32,5% considéré comme faible a été obtenu chez la souche

commerciale. *N. rileyi* et *M. anisopliae* constituent des souches intéressantes de champignons entomopathogènes pour le contrôle de *S. frugiperda* qu'il serait important de tester.

Cette étude montre également des différences entre la mortalité des larves traitées avec les souches de champignons entomopathogènes sur la plante et sur la diète. A l'intérieur des boîtes de Pétri, la surface est petite pour le déplacement des larves par comparaison aux cages. Pour que le champignon pénètre, la cuticule doit être rompue par une pression mécanique (Zacharuk, 1970) et cela n'est possible que grâce au déplacement des larves. Aussi, les larves placées dans les boîtes s'alimentent plus vite, ce qui permet d'améliorer leur fitness tandis que sur la plante, un minimum de temps est requis pour que les larves commencent à s'alimenter des feuilles étant donné qu'elles ont été élevées dès le départ sur diète. Ce qui les rend susceptible aux infections par des agents entomopathogènes.

L'efficacité de 100% a été obtenue par utilisation d'une souche commerciale de *Bt* pour le contrôle de *S. frugiperda*. Les résultats similaires sont notés chez Polanczyk et al. (2000). Les études de Polanczyk & Alves (2005) ont montré que le *Bt* affecte les paramètres biologiques (poids des larves et des chrysalides femelles, la ponte et la fécondité) de *S. frugiperda*. Il serait intéressant d'évaluer ces paramètres pour toutes autres espèces potentielles de bactéries entomopathogènes pour le contrôle efficace de *S. frugiperda*.

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

Ce travail a abordé les aspects d'état des lieux et de surveillance, de caractérisation moléculaire et de contrôle biologique contre *S. frugiperda*, à l'Est de la RD Congo. Les objectifs étaient d'évaluer l'incidence et la répartition de *S. frugiperda* dans les cultures, d'identifier les souches et les ennemis naturels de *S. frugiperda*, de mettre en place un élevage de *S. frugiperda* standardisé et adapté aux besoins et de tester certains agents entomopathogènes contre *S. frugiperda*.

Les résultats de l'état des lieux ont permis de déterminer l'incidence et la répartition de *S. frugiperda* dans les cultures en moyenne et en basse altitude de la zone investiguée. Les conditions climatiques en basse altitude accentuent l'incidence de cet insecte comparativement à la moyenne altitude. Les investigations réalisées ont permis de détecter les attaques de *S. frugiperda* sur la culture du maïs et du sorgho. Les pièges à phéromones utilisés lors de la surveillance ont capturé un nombre réduit des adultes *S. frugiperda*. Cette surveillance des populations de *S. frugiperda* devrait être renforcé par augmentation du nombre de pièges et la durée des collectes dans la région afin d'estimer l'abondance des populations et identifier les potentielles niches écologiques de ce ravageur.

La mise en place de l'élevage de *S. frugiperda* a permis de mettre en évidence son cycle de développement dans des conditions bien particulières. La connaissance du cycle constitue un facteur primordial dans la prise de décision en termes de stratégies de gestion de ce ravageur. Il s'est fait remarquer que la durée du cycle est réduite lorsque les conditions (température, humidité relative et la photopériode) sont optimales. Cependant, un comportement de cannibalisme a été observé au cours de l'élevage occasionnant d'importantes mortalités. Les études ultérieures pourront fournir suffisamment d'informations par rapport à l'impact de ce comportement sur la croissance et le développement de l'insecte.

L'identification des ennemis naturels de *S. frugiperda* n'a pas été complètement effective. Plusieurs espèces de prédateurs ont été identifiées mais pas les parasitoïdes. Pourtant, selon la littérature, un grand nombre d'espèces de parasitoïdes existent. Une souche de bactérie identifiée est prometteuse pour le contrôle biologique de *S. frugiperda*. Plusieurs tests de pathogénicité devront être initiés afin de déterminer la virulence de cette souche. Deux champignons entomopathogènes potentiels ont été isolés et présentent les caractéristiques morphologiques des souches de champignons dont leur efficacité a déjà été testée contre *S. frugiperda*.

D'après les résultats des analyses moléculaires, deux souches de *S. frugiperda* existent dans le milieu d'étude. Toutes les deux souches sont retrouvées dans la plaine de la Ruzizi. Ces résultats ouvrent d'autres possibilités de recherche sur les hôtes alternatives de ce ravageur dans le milieu. L'utilisation des pièges à phéromones a permis de capturer les deux souches à la fois dans une même région géographique. De ces deux souches, l'une attaque le riz et

les graminées fourragères tandis que l'autre est retrouvée sur le maïs et le sorgho cultivés. Les systèmes de surveillance ultérieurs devront être focalisés sur la souche du riz et des graminées fourragères dans la région d'étude.

Les expériences réalisées par utilisation des souches de champignons entomopathogènes confirment l'effet de ces souches sur la mortalité des larves de *S. frugiperda*. Cette mortalité a été jugée faible par comparaison à une souche commerciale de *Bt*. Cependant, cet effet a été influencé par la sensibilité du stade de développement et la source de nourriture. A cause de cette faible efficacité, les réflexions sont poussées loin par rapport à l'utilisation des souches indigènes pour le contrôle de ce ravageur.

Enfin, la présente étude ouvre plusieurs pistes pouvant orienter les prochaines recherches vers le développement des agents de lutte biologique pour le contrôle efficace de *S. frugiperda* en RD Congo.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- Abbott, W.S., 1925. A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Entomol.*, 18, 265-267.
- Abrahams, P., Beale, T., Cock, M., Corniani, N., Day, R., Godwin, J., Murphy, S., Richards, G., Vos, J., 2017. Fall armyworm status: Impacts and control options in Africa: Preliminary Evidence Note (April 2017) 18.
- Ahmad, M., Mehmood, R., 2015. Monitoring of Resistance to New Chemistry Insecticides in *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) in Pakistan. *Journal of Economic Entomology* 108, 1279-1288. <https://doi.org/10.1093/jee/tov085>
- Ahmad, S.N., Kamarudin, N., 2011. Pheromone Trapping in Controlling Key Insect Pests: Progress and Prospects. *Oil Palm Bulletin* 62, 12-24.
- Akutse, K.S., Kimemia, J.W., Ekesi, S., Khamis, F.M., Ombura, O.L., Subramanian, S., 2019. Ovicial effects of entomopathogenic fungal isolates on the invasive Fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Applied Entomology*. <https://doi.org/10.1111/jen.12634>
- Andaló, V., Santos, V., Moreira, G.F., Moreira, C.C., Moino Junior, A., 2010. Evaluation of entomopathogenic nematodes under laboratory and greenhouses conditions for the control of *Spodoptera frugiperda*. *Ciência Rural* 40, 1860-1866. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782010005000151>
- Ando, T., Inomata, S., Yamamoto, M., 2004. Lepidopteran Sex Pheromones. *Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals I* 239: 51-96.
- Araújo, J.P.M., Hughes, D.P., 2016. Diversity of Entomopathogenic Fungi: Which Groups Conquered the Insect Body? In: Lovett, B., Leger, R.J.S. (Eds.), *Genetics and Molecular Biology of Entomopathogenic Fungi*, First edition 2016, Copyright© 2016 Elsevier Inc. *Advances in genetics*, 94: 1-39.
- Arias, R.S., Blanco, C.A., Portilla, M., Snodgrass, G.L., Scheffler, B.E., 2011. First Microsatellites from *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and Their Potential Use for Population Genetics. *Annals of the Entomological Society of America* 104, 576-587. <https://doi.org/10.1603/AN10135>
- Ashley, T.R., 1979. Classification and Distribution of Fall Armyworm Parasites. *The Florida Entomologist* 62, 114. <https://doi.org/10.2307/3494087>
- Asi, M.R., Bashir, M.H., Afzal, M., Zia, K., Akram, M., 2013. Potential of Entomopathogenic Fungi for biocontrol of *Spodoptera litura* Fabricius (Lepidoptera: Noctuidae). *J Anim Plant Sci* 23: 913-918
- Ayala, O.R., Navarro, F., Virla, E.G., 2013. Evaluation of the attack rates and level of damages by the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), affecting corn-crops in the northeast of Argentina. *Revista de la Facultad de Ciencias Agrarias* 13.
- Baker, R., Brunel, S., MacLeod, A., Kriticos, D., 2011. Deliverable 3.3 Protocol for mapping endangered areas: Annex 2G Instructions for the Use and Interpretation of CLIMEX. PRATIQUE N° 212459, 1-10
- Baker, T.C., 1989. Sex pheromone communication in the Lepidoptera: New research progress. *Experientia* 45, 248-262. <https://doi.org/10.1007/BF01951811>
- Barfield, C.S., Ashley, T.R., 1987. Effects of corn phenology and temperature on the life cycle of the Fall Armywork *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Florida Entomologist* 70: 110-116. <https://doi.org/10.2307/3495097>.

- Barrera, G., Simón, O., Villamizar, L., Williams, T., Caballero, P., 2011. *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus as a potential biological insecticide: Genetic and phenotypic comparison of field isolates from Colombia. *Biological Control* 58, 113-120. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2011.04.009>
- Bateman, M.L., Day, R.K., Luke, B., Edgington, S., Kuhlmann, U., Cock, M.J.W., 2018. Assessment of potential biopesticide options for managing fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in Africa. *Journal of Applied Entomology* 142, 805-819. <https://doi.org/10.1111/jen.12565>
- Batista-Pereira, L.G., Stein, K., de Paula, A.F., Moreira, J.A., Cruz, I., Figueiredo, M. de L.C., Perri, J., Corrêa, A.G., 2006. Isolation, Identification, Synthesis, and Field Evaluation of the Sex Pheromone of the Brazilian Population of *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Chemical Ecology* 32, 1085-1099. <https://doi.org/10.1007/s10886-006-9048-5>
- Baudron, F., Zaman-Allah, M.A., Chaipa, I., Chari, N., Chinwada, P., 2019. Understanding the factors influencing fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* J.E. Smith) damage in African smallholder maize fields and quantifying its impact on yield. A case study in Eastern Zimbabwe. *Crop Protection* 120, 141-150. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.01.028>
- Bernardes, M.F.F., Pazin, M., Pereira, L.C., Dorta, D.J., 2015. Impact of Pesticides on Environmental and Human Health, in: Andreazza, A.C., Scola, G. (Eds.), *Toxicology Studies - Cells, Drugs and Environment*. InTech. <https://doi.org/10.5772/59710>
- Blackwell, M., Hibbett, D.S., Taylor, J.W., Spatafora, J.W., 2006. Research coordination networks: a phylogeny for the kingdom Fungi (Deep Hypha). *Mycologia*, 98, 829-837
- Botha, A.S., Erasmus, A., du Plessis, H., Van den Berg, J., 2019. Efficacy of Bt Maize for Control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in South Africa. *Journal of Economic Entomology* 112, 1260-1266. <https://doi.org/10.1093/jee/toz048>
- Busato, G.R., Grützmacher, A.D., Garcia, M.S., Giolo, F.P., Zotti, M.J., Bandeira, J.d.M., 2005. Exigências térmicas e estimativa do número de gerações dos biótipos "milho" e "arroz" de *Spodoptera frugiperda*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 40: 329-335. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2005000400003>
- Byavu, N., Henrard, C., Dubois, M., Malaisse, F., 2000. Phytothérapie traditionnelle des bovins dans les élevages de la plaine de la Ruzizi. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 22.
- CABI, 2019. <https://www.cabi.org/isc/datasheet/29810> consulté le 19 Avril 2019 à 9h30'
- CAID, 2017. <https://www.caid.cd/index.php/donnees-par-province-administrative/province-de-sud-kivu/territoire-de-kabare/?secteur=fiche> consulté le 04 Juin 2019.
- Cano-Calle, D., Arango-Isaza, R.E., Saldamando-Benjumea, C.I., 2015. Molecular Identification of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Corn and Rice Strains in Colombia by Using a PCR-RFLP of the Mitochondrial Gene Cytochrome Oxydase I (COI) and a PCR of the Gene FR (For Rice). *Annals of the Entomological Society of America* 108, 172-180. <https://doi.org/10.1093/aesa/sav001>
- Capinera, J.L., 2001. *Handbook of Vegetable Pests*. ISBN: 0-12-158861-0. 709p
- Capinera, J.L., 2014. Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae) 6.
- Cardé, R.T., Haynes, K.F., 2004. Structure of the Pheromone Communication Channel in Moths, in Cardé, R.T., Millar, J.G. (Eds.), *Advances in Insect Chemical Ecology*. Cambridge University Press, Cambridge. pp. 283-332.
- Carvalho, R.A., Omoto, C., Field, L.M., Williamson, M.S., Bass, C., 2013. Investigating the Molecular Mechanisms of Organophosphate and Pyrethroid Resistance in the Fall

Armyworm *Spodoptera frugiperda*. PLoS ONE 8, e62268.
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0062268>

Chapman, J.W., 1999. Fitness consequences of cannibalism in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. Behavioral Ecology 10, 298-303.
<https://doi.org/10.1093/beheco/10.3.298>

Chapman, J.W., 1999b. Fitness consequences of cannibalism in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. Behavioral Ecology 10, 298-303.
<https://doi.org/10.1093/beheco/10.3.298>

Chapman, J.W., Williams, T., Escribano, A., Caballero, P., Cave, R.D., Goulson, D., 1999a. Age-related cannibalism and horizontal transmission of a nuclear polyhedrosis virus in larval *Spodoptera frugiperda*. Ecological Entomology 24, 268-275.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2311.1999.00224.x>

Chen, W.-J., Hsieh, F.-C., Hsu, F.-C., Tasy, Y.-F., Liu, J.-R., Shih, M.-C., 2014. Characterization of an Insecticidal Toxin and Pathogenicity of *Pseudomonas taiwanensis* against Insects. PLoS Pathogens 10, e1004288.
<https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1004288>

Chung, A.-L., Jin, H.-L., Huang, L.-J., Ye, H.-M., Chen, J.-C., Wu, Q., Chen, G.-Q., 2011. Biosynthesis and Characterization of Poly(3-hydroxydodecanoate) by β -Oxidation Inhibited Mutant of *Pseudomonas entomophila* L48. Biomacromolecules 12, 3559-3566. <https://doi.org/10.1021/bm200770m>

Clark, P.L., Molina-Ochoa, J., Martinelli, S., Skoda, S.R., Isenhour, D.J., Lee, D.J., Krumm, J.T., Foster, J.E., 2007. Population Variation of the Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in the Western Hemisphere. Journal of Insect Science 7, 1-10.
<https://doi.org/10.1673/031.007.0501>

Cock, M.J.W., Beseh, P.K., Buddie, A.G., Cafá, G., Crozier, J., 2017. Molecular methods to detect *Spodoptera frugiperda* in Ghana, and implications for monitoring the spread of invasive species in developing countries. Scientific Reports 7.
<https://doi.org/10.1038/s41598-017-04238-y>

Cruz, I., Figueiredo, M.L.C., da Silva, R.B., da Silva, I.F., Paula, C.D.S., Foster, J.E., 2012. Using sex pheromone traps in the decision-making process for pesticide application against fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* [Smith] [Lepidoptera: Noctuidae]) larvae in maize. International Journal of Pest Management 58, 83-90.
<https://doi.org/10.1080/09670874.2012.655702>

Dangal, V., Huang, F., 2015. Fitness costs of Cry1F resistance in two populations of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), collected from Puerto Rico and Florida. Journal of Invertebrate Pathology 127, 81-86.
<https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.03.004>

Davis, F.M. Ng, S.S., Williams, W.P., 1992. Visual rating scales for screening whorl-stage corn for Resistance to fall armyworm. Mississippi Agricultural & Forestry Experiment Station, Technical Bulletin 186, Mississippi State University, MS39762, USA.

Day, R., Abrahams, P., Bateman, M., Beale, T., Clottey, V., Cock, M., Colmenarez, Y., Corniani, N., Early, R., Godwin, J., Gomez, J., Moreno, P.G., Murphy, S.T., Oppong-Mensah, B., Phiri, N., Pratt, C., Silvestri, S., Witt, A., 2017. Fall Armyworm: Impacts and Implications for Africa. Outlooks on Pest Management 28, 196-201.
https://doi.org/10.1564/v28_oct_02

Delvare, G. & Aberlenc, H.P., 1989. Les insectes d'Afrique et d'Amérique tropicale : clé pour la reconnaissance des familles. Montpellier, France: CIRAD-GERDAT.

- Dieppois, G., Opota, O., Lalucat, J., Lemaitre, B., 2014. *Pseudomonas entomophila*: A Versatile Bacterium with Entomopathogenic Properties, In: Ramos, J-L., Goldberg, J.B., Filloux, A. (Eds.), *Pseudomonas*, 2014. Springer Berlin Heidelberg, New York, NY. pp 25-49
- Domenico, P., Mayri, D., Lesbia, T., Blas, D., 2009. A granular formulation of *Nomuraea rileyi* farlow (samson) for the control of *Spodoptera frugiperda* (lepidoptera: noctuidae). *Interciencia* 34:130-134.
- Du Plessis, H., Van den Berg, J., Ota, N. & Kriticos, D.J., 2018. *Spodoptera frugiperda*. CSIRO - InSTePP Pest Geography. Canberra, 1-7
- Dutra, C.C., Koch, R.L., Burkness, E.C., Meissle, M., Romeis, J., Hutchison, W.D., Fernandes, M.G., 2012. *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) Exhibits No Preference between Bt and Non-Bt Maize Fed *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *PLoS ONE* 7, e44867. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0044867>
- Early, R., González-Moreno, P., Murphy, S.T., Day, R., 2018. Forecasting the global extent of invasion of the cereal pest *Spodoptera frugiperda*, the fall armyworm. *NeoBiota* 40, 25-50. <https://doi.org/10.3897/neobiota.40.28165>
- EFSA Panel on Plant Health (PLH), Jeger, M., Bragard, C., Caffier, D., Candresse, T., Chatzivassiliou, E., Dehnen-Schmutz, K., Gilioli, G., Gregoire, J., Jaques Miret, J.A., Navarro, M.N., Niere, B., Parnell, S., Potting, R., Rafoss, T., Rossi, V., Urek, G., Van Bruggen, A., Van der Werf, W., West, J., Winter, S., Gardi, C., Aukhojee, M., MacLeod, A., 2017. Scientific opinion on Pest categorisation of *Spodoptera frugiperda*. EFSA Journal 15 (7): 4927, 32pp. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4927>
- Ekpa, O., Palacios-Rojas, N., Kruseman, G., Fogliano, V., Linnemann, A.R., 2018. Sub-Saharan African maize-based foods: Technological perspectives to increase the food and nutrition security impacts of maize breeding programmes. *Global Food Security* 17, 48-56. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2018.03.007>
- Escribano, A., Williams, T., Goulson, D., Cave, R.D., Chapman, J.W., Caballero, P., 1999. Selection of a Nucleopolyhedrovirus for Control of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): Structural, Genetic, and Biological Comparison of Four Isolates from the Americas. *Journal of Economic Entomology* 92, 1079-1085. <https://doi.org/10.1093/jee/92.5.1079>
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO), 2019. <https://gd.eppo.int/taxon/LAPHFR/distribution>, consulté le 10 Février 2019
- European and Mediterranean Plant Protection Organization (EPPO), 2015. PM 7/124 (1) *Spodoptera littoralis*, *Spodoptera litura*, *Spodoptera frugiperda*, *Spodoptera eridania*, 2015. EPPO Bulletin 45 (3), 410-444. <https://doi.org/10.1111/epp.12258>
- Farias, J.R., Andow, D.A., Horikoshi, R.J., Sorgatto, R.J., Fresia, P., dos Santos, A.C., Omoto, C., 2014. Field-evolved resistance to Cry1F maize by *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Brazil. *Crop Protection* 64, 150-158. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.06.019>
- Fisher, T.W., Garczynski, S.F., 2012. Isolation, culture, preservation, and identification of entomopathogenic bacteria of the Bacilli, In: Lacey, L.A. (Ed.), *Manual of techniques in invertebrate pathology*, 2nd ed. ed. Academic Press imprint of Elsevier Science, Oxford ; New York. 75-99.
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018. Integrated management of the fall armyworm on maize: a guide for farmer field schools in Africa. 118p
- Food and Agriculture Organization of the United Nations, 2018b. Briefing note on FAO

- actions on fall armyworm. <http://www.fao.org/3/BS183E/bs183e.pdf>
- Gabriela Murúa, M., Molina-Ochoa, J., Fidalgo, P., 2009. Natural Distribution of Parasitoids of Larvae of the Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in Argentina. *Journal of Insect Science* 9, 1-17. <https://doi.org/10.1673/031.009.2001>
- Gagnon, A.E., 2005. L'écologie moléculaire : l'intégration du moléculaire en entomologie, futilité ou panacée ? *Bulletin de la société d'entomologie au Quebec, Antennae*, Vol. 12, N°3
- Ganai, M.A., Khan, Z.H., Dar, M.A., 2017. Pheromones in Lepidopteran insects: Types, production, reception and its application. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry* 6(5): 2552-2558.
- Gibb, T., 2015. *Contemporary Insect Diagnostics: the art and science of practical entomology*. Elsevier, 336p. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-404623-8.03001-5>
- Gichuhi, J., Subramanian, S., Khamis, F.M., Van den Berg, J., du Plessis, H., Ekesi, S., Herren, J.K., 2019. Diversity of fall armyworm, and their gut bacterial community in Kenya. *bioRxiv*. <https://doi.org/10.1101/664987>
- Goergen, G., Kumar, P.L., Sankung, S.B., Togola, A., Tamò, M., 2016. First Report of Outbreaks of the Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith) (Lepidoptera, Noctuidae), a New Alien Invasive Pest in West and Central Africa. *PLOS ONE* 11, e0165632. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0165632>
- Gray, M.E., Ratcliffe, S.T., Rice, M.E., 2009. The IPM paradigm: concepts, strategies and tactics, In: Radcliffe, E.B., Hutchison, W.D., Cancelado, R.E. (Eds.), *Integrated Pest Management: concepts, tactics, strategies and case studies*. Cambridge University Press, Cambridge, UK ; New York. 1-13.
- Groot, A.T., 2014. Circadian rhythms of sexual activities in moths: a review. *Frontiers in Ecology and Evolution* 2. <https://doi.org/10.3389/fevo.2014.00043>
- Groot, A.T., Marr, M., Schöfl, G., Lorenz, S., Svatos, A., Heckel, D.G., 2008. Host strain specific sex pheromone variation in *Spodoptera frugiperda*. *Frontiers in Zoology* 5, 20. <https://doi.org/10.1186/1742-9994-5-20>
- Gutiérrez-Martínez, A., Tolon-Becerra, A., Lastra-Bravo, X.B., 2012. Biological control of *Spodoptera frugiperda* eggs using *Telenomus remus* Nixon in maize-bean-squash polyculture. *American Journal of Agricultural and Biological Sciences* 7, 285-292. <https://doi.org/10.3844/ajabssp.2012.285.292>
- Gutiérrez-Moreno, R., Mota-Sánchez, D., Blanco, C.A., Whalon, M.E., Terán-Santofimio, H., Rodriguez-Maciel, J.C., DiFonzo, C., 2018. Field-Evolved Resistance of the Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to Synthetic Insecticides in Puerto Rico and Mexico. *Journal of Economic Entomology*. <https://doi.org/10.1093/jee/toy372>
- Guzmán Prada, D.A., Rodriguez Chalarca, R.J., Valencia Cataño S.J., 2018. Identification of Lepidoptera Larval Stages - A Maize Pest. CIAT Publication N°. 473. International Center for Tropical Agriculture (CIAT), Cali, Colombia. 48 p. Available at <https://hdl.handle.net/10568/97857>
- Hall, D.G., Meagher, R., Nagoshi, R., Irey, M., 2005. Monitoring populations of adult fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: noctuidae), in florida sugarcane using pheromone traps, with special reference to genetic strains of the pest 25, 4.
- Hardke, J.T., Lorenz, G.M., Leonard, B.R., 2015. Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Ecology in Southeastern Cotton. *Journal of Integrated Pest Management* 6, 10-10. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmv009>

- Harrison, R.D., Thierfelder, C., Baudron, F., Chinwada, P., Midega, C., Schaffner, U., van den Berg, J., 2019. Agro-ecological options for fall armyworm (*Spodoptera frugiperda* JE Smith) management: Providing low-cost, smallholder friendly solutions to an invasive pest. *Journal of Environmental Management* 243, 318-330. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2019.05.011>
- Held, D.W., Wheeler, C., Abraham, C.M., Pickett, K.M., 2008. Paper Wasps (spp.) Attacking Fall Armyworm Larvae in Turfgrass. *ats* 5, 0. <https://doi.org/10.1094/ATS-2008-0806-01-RS>
- Hibbett, D. S., Binder, M., Bischoff, J. F., Blackwell, M., Cannon, P. F., Eriksson, O. E., Huhndorf, S., James, T., Kirk, P. M., Lu"cking, R., Lumbsch, H. T., Lutzoni, F., Matheny, P. B., McLaughlin, D. J., Powell, M. J., Redhead, S., Schoch, C. L., Spatafora, J. W., Stalpers, J. A., Vilgalys, R., Aime, M. C., Aptroot, A., Bauer, R., Begerow, D., Benny, G. L., Castlebury, L. A., Crous, P. W., Dai, Y. C., Gams, W., Geiser, D. M., Griffith, G. W., Gueidan, C., Hawksworth, D. L., Hestmark, G., Hosaka, K., Humber, R. A., Hyde, K. D., Ironside, J. E., Ko"lalg, U., Jyrtznabm, C. P., Larsson, K. H., Lichtwardt, R., Longcore, J., Miadlikowska, J., Miller, A., Moncalvo, J. M., Mozley-Standridge, S., Oberwinkler, F., Parmasto, E., Reeb, V., Rogers, J. D., Roux, C., Ryvarden, L., Sampaio, J. P., Schu"bler, A., Sugiyama, J., Thorn, R. G., Tibell, L., Untereiner, W. A., Walker, C., Wang, Z., Weir, A., Weiß, M., White, M. M., Winka, K., Yao, Y. J., & Zhang, N., 2007. A higher-level Phylogenetic Classification of the Fungi. *Mycol. Res.*, 111, 509-547.
- Hoballah, M.E., Degen, T., Bergvinson, D., Savidan, A., Tamo, C., Turlings, T.C.J., 2004. Occurrence and direct control potential of parasitoids and predators of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) on maize in the subtropical lowlands of Mexico. *Agricultural and Forest Entomology* 6, 83-88. <https://doi.org/10.1111/j.1461-9555.2004.00207.x>
- Hogg, D., Pitre, H.N., Anderson, R.E., 1982. Assessment of early-season phenology of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in Mississippi (*Spodoptera frugiperda*). *Environmental entomology* 11: 705-710. <https://doi.org/10.1093/ee/11.3.705>.
- Howse, P.E., 1998. Pheromones and Behaviour: Insect semiochemicals and communication, In : Howse, P.E., Stevens, I.D.R., Jones, O.T. (Eds.), Insect pheromones and their use in pest management, 1. Ed. Chapman & Hall, London. pp. 1-37.
- Hoy, M.A., 2013. Insect Population Ecology and Molecular Genetics, in: Insect Molecular Genetics. Elsevier, pp. 591-659. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-415874-0.00001-9>
- http://entomology.ifas.ufl.edu/creatures/field/fall_armyworm.htm consulté le 08 Mai 2019
- Humber, R.A., 2012. Identification of Entomopathogenic Fungi, In: Lacey, L.A. (Ed.), Manual of techniques in invertebrate pathology, 2nd ed. ed. Academic Press imprint of Elsevier Science, Oxford ; New York. 151-187.
- Inglis, G.D., Enkerli, J., Goettel, M.S., 2012. Laboratory techniques used for entomopathogenic fungi: Hypocreales, In: Lacey, L.A. (Ed.), Manual of techniques in invertebrate pathology, 2nd ed. ed. Academic Press imprint of Elsevier Science, Oxford ; New York. 189-273
- Jones, R.L., Sparks, A.N., 1979. (Z)-9-Tetradecen-1-ol acetate: A secondary sex pheromone of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *J. Chem. Ecol.* 5: 721-725.
- Jourdie, V., Alvarez, N., Turlings, T.C.J., 2008. Identification of seven species of hymenopteran parasitoids of *Spodoptera frugiperda*, using polymerase chain reaction amplification and restriction enzyme digestion. *Agricultural and Forest Entomology*

10, 129-136. <https://doi.org/10.1111/j.1461-9563.2008.00362.x>

- Jurat-Fuentes, J.L., Jackson, T.A., 2012. Bacterial Entomopathogens, In: Vega, F.E., Kaya, H.K. (Eds.), Insect pathology, 2nd Ed. Elsevier/Academic Press, Amsterdam ; Boston. 265-349.
- Jurenka, R.A., 2004. Insect Pheromone Biosynthesis, In: Schulz, S. (Ed.), Chemistry of Pheromones and Other Semiochemicals I, Springer-Verlag, Berlin. pp. 97-131.
- Kaur, R., 2009. Evaluation of entomopathogenic fungi against *Spodoptera litura* (Fabricius). Thesis, Master of Science in microbiology, Punjab Agricultural University Ludhiana-141 004, 62p
- Kenis, M., du Plessis, H., Van den Berg, J., Ba, M., Goergen, G., Kwadjo, K., Baoua, I., Tefera, T., Buddie, A., Cafà, G., Offord, L., Rwmushana, I., Polaszek, A., 2019. *Telenomus remus*, a Candidate Parasitoid for the Biological Control of *Spodoptera frugiperda* in Africa, is already Present on the Continent. *Insects* 10, 92. <https://doi.org/10.3390/insects10040092>
- Khan, M.A., Ahmad, W., 2015. The Management of Spodopteran Pests Using Fungal Pathogens, in: Sree, K.S., Varma, A. (Eds.), Biocontrol of Lepidopteran Pests. Springer International Publishing, Cham, pp. 123-160. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14499-3_6
- Kibria, G., 2016. Pesticides and Its Impact on Environment, Biodiversity and Human Health- A Short Review 6. DOI: 10.13140/RG.2.1.4487.4965/1.
- Kirk, P.M., Cannon, P.F., Minter, D.W., & Stalpers, J.A. (2008). Dictionary of the Fungi (10th Ed.). Wallingford: CABI.
- Knodel, J.J., Petzoldt, C.H., 1995. Pheromone Traps—Effective Tools for Monitoring Lepidopterous Insect Pests of Sweet Corn. <https://hdl.handle.net/1813/43288>
- Kondidie, D.B., 2011. Genetic variability and gene flow of the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) in the Western Hemisphere and Susceptibility to insecticides. Thesis, University of Nebraska-Lincoln. 184p
- Lacey, L.A., Soltner, L.F., 2012. Initial handling and diagnosis of diseased invertebrates, In: Lacey, L.A. (Ed.), Manual of techniques in invertebrate pathology, 2nd ed. ed. Academic Press imprint of Elsevier Science, Oxford ; New York. 1-14
- Lafontaine, J.D., Fibiger, M., 2006. Revised higher classification of the Noctuoidea (Lepidoptera). *The Canadian Entomologist* 138, 610-635. <https://doi.org/10.4039/n06-012>
- Laurent, P., Frérot, B., 2007. Monitoring of European corn borer with pheromone-baited traps: Review of trapping system basics and remaining problems. *J. Econ. Entomol.* 100, 1797-1807.
- Lewter, J.A., Szalanski, A.L., 2007. Molecular Identification of the Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) Using PCR-RFLP. *Journal of Agricultural and Urban Entomology* 24, 51-57. <https://doi.org/10.3954/1523-5475-24.2.51>
- Lewter, J.A., Szalanski, A.L., Nagoshi, R.N., Meagher, R.L., Owens, C.B., Luttrell, R.G., 2006. Genetic variation within and between strains of the Fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae). *Florida Entomologist* 89, 63-68. [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2006\)89\[63:GVWABS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2006)89[63:GVWABS]2.0.CO;2).
- Lima, E.R., McNeil, J.N., 2009. Female sex pheromones in the host races and hybrids of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Chemoecology* 19, 29-36. <https://doi.org/10.1007/s00049-009-0005-y>

- Lognoul, M., 2018. Etude des effets de potentiels bio-insecticides d'origine fongique sur deux ravageurs et un auxiliaire de culture, Travail de fin d'étude, Université de Liège, Gembloux Agro-Bio Tech, 76p
- López, M.A., Martínez-Castillo, A.M., García-Gutiérrez, C., Cortez-Mondaca, E., Escobedo-Bonilla, C.M., 2018. Parasitoids and Entomopathogens Associated with Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda*, in Northern Sinaloa. *Southwestern Entomologist* 43, 867-881. <https://doi.org/10.3958/059.043.0405>
- López, R.Y., Ortega, A.V., Centeno, J.H.A., Ruíz, J.S., Carranza, J.Á.Q., 2019. Alert system against the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Insecta: Lepidoptera: Noctuidae) *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10 (2), 405-416.
- López-Edwards, M., Hernández-Mendoza, J.L., Pescador-Rubio, A., Molina-Ochoa, J., Lezama-Gutiérrez, R., Hamm, J.J., Wiseman, B.R., Lopez-Edwards, M., Hernandez-Mendoza, J.L., Lezama-Gutierrez, R., 1999. Biological Differences between Five Populations of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Collected from Corn in Mexico. *The Florida Entomologist* 82, 254. <https://doi.org/10.2307/3496577>
- Lu, Y., Adang, M.J., 1996. Distinguishing Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Strains Using a Diagnostic Mitochondrial DNA Marker. *The Florida Entomologist* 79, 48. <https://doi.org/10.2307/3495753>.
- Lu, Y.-J., Adang, M.J., Isenhour, D.J., Kochert, G.D., 1992. RFLP analysis of genetic variation in North American populations of the fall armyworm moth *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Molecular Ecology* 1, 199-208. <https://doi.org/10.1111/j.1365-294X.1992.tb00178.x>
- Lu, Y.-J., Kochert, G.D., Isenhour, D.J., Adang, M.J., 1994. Molecular characterization of a strain-specific repeated DNA sequence in the fall armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Insect Molecular Biology* 3, 123-130. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.1994.tb00159.x>
- Luginbill, P., 1928. The Fall Army Worm. *USDA Tech. Bull.* N° 34: 1-92.
- Mafra-Neto, A., Cardé, R. T. 1994. Fine-Scale Structure of Pheromone Plumes Modulates Upwind Orientation of Flying Moths. *Nature* 369, n°. 6476: 142-144.
- Mallapur, C., Naik, A.K., Hagari, S., Lingappa, S., 2018. Potentiality of *Nomuraea rileyi* (Farlow) Samson against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E Smith) infesting maize. *Journal of Entomology and Zoology Studies* 6.
- Malo, E.A., Bahena, F., Miranda, M.A., Valle-Mora, J., 2004. Factors affecting the trapping of males of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: noctuidae) with pheromones in Mexico. *Florida Entomologist* 87, 288-293. [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2004\)087\[0288:FATTOM\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2004)087[0288:FATTOM]2.0.CO;2)
- Malo, E.A., Cruz-Esteban, S., González, F.J., Rojas, J.C., 2018. A Home-made Trap Baited with Sex Pheromone for Monitoring *Spodoptera frugiperda* Males (Lepidoptera: Noctuidae) in Corn crops in Mexico. *Journal of Economic Entomology* 111, 1674-1681. <https://doi.org/10.1093/jee/toy128>
- Malo, E.A., Cruz-Lopez, L., Valle-Mora, J., Virgen, A., Sanchez, J.A., Rojas, J.C., 2001. Evaluation of Commercial Pheromone Lures and Traps for Monitoring Male Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in the Coastal Region of Chiapas, Mexico. *The Florida Entomologist* 84, 659. <https://doi.org/10.2307/3496398>
- Marrone, P.G., 2009. Barriers to adoption of biological control agents and biological pesticides, In: Radcliffe, E.B., Hutchison, W.D., Cancelado, R.E. (Eds.), *Integrated pest management: concepts, tactics, strategies and case studies*. Cambridge University

- Press, Cambridge, UK ; New York. 163-178.
- McGrath, D., Huesing, J.E., Beiriger, R., Nuessly, G., Tepa-Yotto, T.G., Hodson, D., Kimathi, E., Felege, E., Abah Obaje, J., Mulaa, M., Mendes, A.P., Amer Mabrouk, A.F., Belayneh, Y., 2018. Monitoring, Surveillance, and Scouting for Fall Armyworm, in: Prasanna, B.M., Huesing, J.E., Eddy, R., Peschke, V.M. (Eds.), Fall Armyworm in Africa: A Guide for Integrated Pest Management. Mexico, CDMX, 11-28.
- McMichael, M., Prowell, D.P., 1999. Differences in Amplified Fragment-Length Polymorphisms in Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Host Strains. *Annals of the Entomological Society of America* 92, 175-181. <https://doi.org/10.1093/aesa/92.2.175>.
- Meagher, R.L., Gallo-Meagher, M., 2003. Identifying Host Strains of Fall Armyworm (Lepidoptera\Noctuidae) In Florida using Mitochondrial Markers. *Florida Entomologist* 86, 450-455. [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2003\)086\[0450:IHSOFA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2003)086[0450:IHSOFA]2.0.CO;2)
- Meagher, R.L., Nagoshi, R.N., 2010. Identification of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Host Strains Based on Male-Derived Spermatophores. *Florida Entomologist* 93, 191-197. <https://doi.org/10.1653/024.093.0207>.
- Meagher, R.L., Nagoshi, R.N., Armstrong, J.S., Niogret, J., Epsky, N.D., Flanders, K.L., 2013. Captures and Host Strains of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Males in Traps Baited with Different Commercial Pheromone Blends. *Florida Entomologist* 96, 729-740. <https://doi.org/10.1653/024.096.0305>
- Meagher, R.L., Nuessly, G.S., Nagoshi, R.N., Hay-Roe, M.M., 2016. Parasitoids attacking fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) in sweet corn habitats. *Biological Control* 95, 66-72. <https://doi.org/10.1016/j.bioc.2016.01.006>
- Menozzi, P., 2000. Caractérisation d'insectes et compréhension des mécanismes de résistance aux insecticides à l'aide de techniques de biologie moléculaire. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier de Toulouse, 225p
- Midega, C.A.O., Pittchar, J.O., Pickett, J.A., Hailu, G.W., Khan, Z.R., 2018. A climate-adapted push-pull system effectively controls fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J E Smith), in maize in East Africa. *Crop Protection* 105, 10-15. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2017.11.003>
- Mitchell, E.R., 1979. Monitoring Adult Populations of the Fall Armyworm. *The Florida Entomologist* 62(2), 91-98. <https://doi.org/10.2307/3494085>
- Mitchell, E.R., Agee, H.R., Heath, R.R., 1989. Influence of pheromone trap color and design on capture of male Velvetbean caterpillar and fall armyworm moths (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Chemical Ecology* 15, 1775-1784. <https://doi.org/10.1007/BF01012265>
- Mitchell, E.R., Sugie, H., Tumlinson, J.H., 1983. Rubber septa as a dispenser for the fall armyworm sex attractant. *J. Environ. Sci. Health* A18: 463-470.
- Mitchell, E.R., Tumlinson, J.H., McNeil, J.N., 1985. Field Evaluation of Commercial Pheromone Formulations and Traps Using a More Effective Sex Pheromone Blend for the Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology* 78, 1364-1369. <https://doi.org/10.1093/jee/78.6.1364>
- Mitchell, E.R., Webb, J.C., Baumhover, A.H., Hines, R.W., Stanley, J.W., Endris, R.G., Lindquist, D.A., Masuda, S., 1972. Evaluation of Cylindrical Electric Grids as Pheromone Traps for Loopers and Tobacco Hornworms. *Environmental entomology* vol 1 (3): 365-368.

- Mohan, S., 2015. Entomopathogenic Nematodes and their Bacterial Symbionts as Lethal Bioagents of Lepidopteran Pests, in: Sree, K.S., Varma, A. (Eds.), Biocontrol of Lepidopteran Pests. Springer International Publishing, Cham, pp. 273-288. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-14499-6>
- Molina-Ochoa, J., Carpenter, J.E., Heinrichs, E.A., Foster, J.E., 2003. Parasitoids and parasites of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas and Caribbean basin: an Inventory. Florida Entomologist 86, 254-289. [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2003\)086\[0254:PAPOSF\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2003)086[0254:PAPOSF]2.0.CO;2)
- Montezano, D.G., Specht, A., Sosa-Gómez, D.R., Roque-Specht, V.F., Sousa-Silva, J.C., Paula-Moraes, S.V., Peterson, J.A., Hunt, T.E., 2018. Host Plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. African Entomology 26, 286-300. <https://doi.org/10.4001/003.026.0286>
- Muhindo, I.D., 2015. Suitability assessment and projected impact of climate change on rice yield in two agro-ecological zones in south-Kivu, Democratic Republic of Congo. Thesis, Makerere University, 99p
- Murúa, M.G., Vera, M.T., Abraham, S., Juaréz, M.L., Prieto, S., Head, G.P., Willink, E., 2008. Fitness and Mating Compatibility of “*Spodoptera frugiperda*” (Lepidoptera: Noctuidae) Populations from Different Host Plant Species and Regions in Argentina. Annals of the Entomological Society of America 101, 639-649. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2008\)101\[639:FAMCOS\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2008)101[639:FAMCOS]2.0.CO;2)
- Myers, P., Espinosa, R., Parr, C.S., Jones, T., Hammond, G.S., Dewey, T.A., 2019. The Animal Diversity Web (online). Accessed at <https://animaldiversity.org>.
- Nagoshi, R.N., Fleischer, S., Meagher, R.L., Hay-Roe, M., Khan, A., Murúa, M.G., Silvie, P., Vergara, C., Westbrook, J., 2017a. Fall armyworm migration across the Lesser Antilles and the potential for genetic exchanges between North and South American populations. PLOS ONE 12, e0171743. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0171743>.
- Nagoshi, R.N., Goergen, G., Plessis, H.D., van den Berg, J., Meagher, R., 2019. Genetic comparisons of fall armyworm populations from 11 countries spanning sub-Saharan Africa provide insights into strain composition and migratory behaviors. Scientific Reports 9. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44744-9>.
- Nagoshi, R.N., Goergen, G., Tounou, K.A., Agboka, K., Koffi, D., Meagher, R.L., 2018. Analysis of strain distribution, migratory potential, and invasion history of fall armyworm populations in northern Sub-Saharan Africa. Scientific Reports 8. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-21954-1>.
- Nagoshi, R.N., Koffi, D., Agboka, K., Tounou, K.A., Banerjee, R., Jurat-Fuentes, J.L., Meagher, R.L., 2017b. Comparative molecular analyses of invasive fall armyworm in Togo reveal strong similarities to populations from the eastern United States and the Greater Antilles. PLOS ONE 12, e0181982. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181982>.
- Nagoshi, R.N., Meagher, R.L., 2003. “FR” Tandem-Repeat Sequence in Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Host Strains. Annals of the Entomological Society of America 96, 329-335. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2003\)096\[0329:FTSIFA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2003)096[0329:FTSIFA]2.0.CO;2).
- Nagoshi, R.N., Meagher, R.L., 2004. Behavior and distribution of the two fall armyworm host strains in Florida. Florida Entomologist 87, 440-449. [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2004\)087\[0440:BADOTT\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2004)087[0440:BADOTT]2.0.CO;2).
- Nagoshi, R.N., Meagher, R.L., Adamczyk, J.J., Braman, S.K., Brandenburg, R.L., Nuessly, G.,

2006. New Restriction Fragment Length Polymorphisms in the Cytochrome Oxidase I Gene Facilitate Host Strain Identification of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Populations in the Southeastern United States. *Journal of Economic Entomology* 99, 671-677. <https://doi.org/10.1603/0022-0493-99.3.671>
- Nagoshi, R.N., Murúa, M.G., Hay-Roe, M., Juárez, M.L., Willink, E., Meagher, R.L., 2012. Genetic Characterization of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Host Strains in Argentina. *Journal of Economic Entomology* 105, 418-428. <https://doi.org/10.1603/EC11332>
- Nagoshi, R.N., Rosas-Garcia, N.M., Meagher, R.L., Fleischer, S.J., Westbrook, J.K., Sappington, T.W., Hay-Roe, M., Thomas, J.M.G., Murua, G.M., 2015. Haplotype Profile Comparisons between *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Populations from Mexico with Those from Puerto Rico, South America, and the United States and Their Implications to Migratory Behavior. *Journal of Economic Entomology* 108, 135-144. <https://doi.org/10.1093/jee/tou044>
- Nagoshi, Rod N, Silvie, P., Meagher, R.L., 2007b. Comparison of Haplotype Frequencies Differentiate Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Corn-Strain Populations from Florida and Brazil. *J. Econ. Entomol.* 100(3): 954-961.
- Nagoshi, Rod N., Silvie, P., Meagher, R.L., Lopez, J., Machado, V., 2007a. Identification and Comparison of Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) Host Strains in Brazil, Texas, and Florida. *Annals of the Entomological Society of America* 100, 394-402. [https://doi.org/10.1603/0013-8746\(2007\)100\[394:IACOFA\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1603/0013-8746(2007)100[394:IACOFA]2.0.CO;2).
- Negrisolí, A.S., García, M.S., Barbosa Negrisolí, C.R.C., Bernardi, D., da Silva, A., 2010. Efficacy of entomopathogenic nematodes (Nematoda: Rhabditida) and insecticide mixtures to control *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) in corn crops. *Crop Protection* 29, 677-683. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.02.002>
- Ordóñez-García, M., Ríos-Velasco, C., Berlanga-Reyes, D.I., Acosta-Muñiz, C.H., Salas-Marina, M.Á., Cambero-Campos, O.J., 2015. Occurrence of Natural Enemies of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Chihuahua, Mexico. *Florida Entomologist* 98, 843-847. <https://doi.org/10.1653/024.098.0305>
- Pandey, R., Hasan, W., 2009. Pathogenicity of Entomopathogenic Fungi, *Metarhizium anisopliae* against tobacco caterpillar, *Spodoptera litura* (Fabricius). *Trends Biosci* 2:29-30
- Paniagua Voirol, L.R., Frago, E., Kaltenpoth, M., Hilker, M., Fatouros, N.E., 2018. Bacterial Symbionts in Lepidoptera: Their Diversity, Transmission, and Impact on the Host. *Frontiers in Microbiology* 9. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00556>
- Pashley, D.P., 1986. Host-associated Genetic Differentiation in Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae): a Sibling Species Complex? *Annals of the Entomological Society of America* 79, 898–904. <https://doi.org/10.1093/aesa/79.6.898>.
- Pashley, D.P., 1988a. Quantitative Genetics, Development and Physiological Adaptation in Host Strains of Fall Armyworm. *Evolution* 42, 93. <https://doi.org/10.2307/2409118>
- Pashley, D.P., 1988b. Current Status of Fall Armyworm Host Strains. *The Florida Entomologist* 71, 227. <https://doi.org/10.2307/3495425>
- Pashley, D.P., Johnson, S.J., Sparks, A.N., 1985. Genetic Population Structure of Migratory Moths: the Fall Armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). *Annals of the Entomological Society of America* 78, 756-762. <https://doi.org/10.1093/aesa/78.6.756>
- Pasini, A., Parra, J.R.P., Lopes, J.M., 2007. Dieta Artificial para Criação de *Doru luteipes* (Scudder) (Dermaptera : Forficulidae), Predator da Lagarta-do-Cartucho do Milho,

- Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera : Noctuidae), Neotropical Entomology 36(2) : 308-311
- Pavinato, V.A.C., Martinelli, S., de Lima, P.F., Zucchi, M.I., Omoto, C., 2013a. Methodology Microsatellite markers for genetic studies of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. Genetics and Molecular Research 12, 370-380. <https://doi.org/10.4238/2013.February.8.1>.
- Perfecto, I., 1991. Ants (Hymenoptera: Formicidae) as Natural Control Agents of Pests in Irrigated Maize in Nicaragua. Journal of Economic Entomology 84, 65-70. <https://doi.org/10.1093/jee/84.1.65>
- Pitre, H.N., Hogg, D.B., 1983. Development of the fall armyworm on cotton, soybean and corn. Journal of the Georgia Entomological Society 18: 187-194.
- Pogue, M.G., 2002. A World Revision of the Genus *Spodoptera* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae). Memoirs of the American Entomological Society 43, 202.
- Polanczyk, R.A., Alves, S.B., 2005. Biological parameters of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) assayed with *Bacillus thuringiensis* berliner. Scientia Agricola 62, 464-468. <https://doi.org/10.1590/S0103-90162005000500009>
- Polanczyk, R.A., Silva, R.F.P. da, Fiúza, L.M., 2000. Effectiveness of *Bacillus thuringiensis* strains against *Spodoptera frugiperda* (lepidoptera: noctuidae). Brazilian Journal of Microbiology 31, 164-166. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822000000300003>
- Prasanna, B.M., Huesing, J.E., Eddy, R., Peschke, V.M. (eds). 2018. Fall Armyworm in Africa: A Guide for Integrated Pest Management, First Edition. Mexico, CDMX: CIMMYT.
- Prasertphon, S., Tanada, Y., 1968. The formation and circulation, in Galleria, of hyphal bodies of Entomophthoraceous Fungi. Journal of Invertebrate Pathology, 11(2), 260-280.
- Priest, F.G., 2011. Biodiversity of the Entomopathogenic, endospore-forming bacteria, in: Charles, J.-F., Delécluse, A., Nielsen-Le Roux, C. (Eds.), Entomopathogenic bacteria: from laboratory to field application. Springer, Dordrecht; London. 1-22.
- Queiroz, P.R., Ramiro, C.A., Martins, É.S., Soberón, M., Bravo, A., Monnerat, R.G., 2016a. Mitochondrial markers to distinguish *Spodoptera frugiperda* populations associated with corn and cotton crops. Pesquisa Agropecuária Brasileira 51, 692-696. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2016000500035>.
- Rafaeli, A., Jurenka, R.A., 2003. PBAN Regulation of Pheromone Biosynthesis in Female Moths, In: Blomquist, G.J., Vogt, R.G. (Eds.), Insect Pheromone Biochemistry and Molecular Biology. Elsevier Academic Press, London. pp. 107-136.
- Ramos, R.S., Picanço, M.C., Santana, P.A., 2012. Natural Biological Control of Lepidopteran Pests by Ants 59, 13.
- Rao, R.G.V., Kumar, Ch.S., Sireesha, K., P. Kumar, P.L., 2015. Role of Nucleopolyhedroviruses (NPVs) in the Management of Lepidopteran Pests in Asia, in: Sree, K.S., Varma, A. (Eds.), Biocontrol of Lepidopteran Pests. Springer International Publishing, Cham, pp. 11-52. https://doi.org/10.1007/978-3-319-14499-3_6.
- Rios-Velasco, C., Gallegos-Morales, G., Cambero-Campos, J., Cerna-Chávez, E., Rincón-Castro, M.C.D., Valenzuela-García, R., 2011. Natural Enemies of the Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Coahuila, México. Florida Entomologist 94, 723-726. <https://doi.org/10.1653/024.094.0349>
- Rivero-Borja, M., Guzmán-Franco, A.W., Rodríguez-Leyva, E., Santillán-Ortega, C., Pérez-Panduro, A., 2018. Interaction of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* with chlorpyrifos ethyl and spinosad in *Spodoptera frugiperda* larvae: Fungus-insecticide interactions. Pest Management Science 74, 2047-2052.

<https://doi.org/10.1002/ps.4884>

- Rodrigues, T.B., 2011. Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* to control *Spodoptera frugiperda*. Unpublished. <https://doi.org/10.13140/rg.2.2.33528.44809>
- Rojas, J.C., Virgen, A., Malo, E.A., 2004. Seasonal and nocturnal flight activity of *Spodoptera frugiperda* males (Lepidoptera: Noctuidae) monitored by pheromone traps in the coast of Chiapas, Mexico. *Florida Entomologist* 87, 496-503. [https://doi.org/10.1653/0015-4040\(2004\)087\[0496:SANFAO\]2.0.CO;2](https://doi.org/10.1653/0015-4040(2004)087[0496:SANFAO]2.0.CO;2)
- Roubos, C.R., Rodriguez-Saona, C., Isaacs, R., 2014. Mitigating the effects of insecticides on arthropod biological control at field and landscape scales. *Biological Control* 75, 28-38. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2014.01.006>
- Roy, H.E., Steinkraus, D.C., Eilenberg, J., Hajek, A.E., Pell, J.K., 2006. Bizarre interactions and endgames: Entomopathogenic Fungi and their arthropod hosts. *Annual Review of Entomology*, 51, 331-357.
- Ruiz-Nájera, R.E., Ruiz-Estudillo, R.A., Sánchez-Yáñez, J.M., Molina-Ochoa, J., Skoda, S.R., Coutiño-Ruiz, R., Pinto-Ruiz, R., Guevara-Hernández, F., Foster, J.E., 2013. Occurrence of Entomopathogenic Fungi and Parasitic Nematodes on *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) Larvae Collected in Central Chiapas, México. *Florida Entomologist* 96, 498-503. <https://doi.org/10.1653/024.096.0215>
- Salvadori, J.D.M., Defferrari, M.S., Ligabue-Braun, R., Yamazaki Lau, E., Salvadori, J.R., Carlini, C.R., 2012. Characterization of entomopathogenic nematodes and symbiotic bacteria active against *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and contribution of bacterial urease to the insecticidal effect. *Biological Control* 63, 253-263. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.08.002>
- Samson, R.A., Evans, H.C., Latgé, J.P., 1988. *Atlas of Entomopathogenic Fungi*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg GmbH
- Sekul, A.A., Cox, H.C., 1967. Response of Males to the Female Sex Pheromone of the Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): A Laboratory Evaluation. *Annals of the entomological society of America* vol. 60, n°3, 691-693.
- Sekul, A.A., Sparks, A.N., 1967. Sex pheromone of the fall armyworm moth: Isolation, identification, and synthesis. *J. Econ. Entomol.* 60: 1270-1272.
- Sharanabasappa, Kalleshwaraswamy, C.M., 2018. Fall armyworm has reached Indian subcontinent. <http://www.iita.org/news-item/fall-armyworm-has-reached-the-indian-subcontinent>
- Sharanabasappa, Kalleshwaraswamy, C.M., Maruthi, M.S., Pavithra, H.B., 2018. Biology of invasive fall army worm *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) on maize. *Indian Journal of Entomology* 80, 540. <https://doi.org/10.5958/0974-8172.2018.00238.9>
- Shylesha, A.N., Jalali, S.K., Gupta, A., Varshney, R., Venkatesan, T., Shetty, P., Ojha, R., Ganiger P.C., Navik, O., Subaharan, K., Bakthavatsalam, N., Ballal, C.R., 2018. Studies on new invasive pest *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) and its natural enemies. *Journal of Biological Control* 32, 145-151. <https://doi.org/10.18311/jbc/2018/21707>
- Sibiya, J., Tongoona, P., Derera, J., Makanda, I., 2013. Smallholder farmers perceptions of maize diseases, pests, and other production constraints, their implications for maize breeding and evaluation of local maize cultivars in KwaZulu-Natal, South Africa. *African Journal of Agricultural Research* 8, 1790-1798. <https://doi.org/10.5897/AJAR12.1906>

- Silva, C.S.B.D., Parra, J.R.P., 2013. New method for rearing *Spodoptera frugiperda* in laboratory shows that larval cannibalism is not obligatory. Revista Brasileira de Entomologia 57, 347-349. <https://doi.org/10.1590/S0085-56262013005000029>
- Silva, D.M. da, Bueno, A. de F., Andrade, K., Stecca, C. dos S., Neves, P.M.O.J., Oliveira, M.C.N. de, 2017. Biology and nutrition of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) fed on different food sources. Scientia Agricola 74, 18-31. <https://doi.org/10.1590/1678-992x-2015-0160>
- Silva, R.B., Cruz, I., Zanuncio, J.C., Figueiredo, M. de L.C., Zanuncio, T.V., Serrão, J.E., 2013. *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) eggs as alternative food for rearing of lady beetles *Eriopis connexa* (Germar) (Coleoptera: Coccinellidae). Biological Control 64, 101-105. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2012.09.013>
- Sisay, B., Simiyu, J., Malusi, P., Likhayo, P., Mendesil, E., Elibariki, N., Wakgari, M., Ayalew, G., Tefera, T., 2018. First report of the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae), natural enemies from Africa. Journal of Applied Entomology 142, 800-804. <https://doi.org/10.1111/jen.12534>
- Sisay, B., Simiyu, J., Mendesil, E., Likhayo, P., Ayalew, G., Mohamed, S., Subramanian, S., Tefera, T., 2019. Fall Armyworm, *Spodoptera frugiperda* Infestations in East Africa: Assessment of Damage and Parasitism. Insects 10, 195. <https://doi.org/10.3390/insects10070195>
- Sree, K.S., Varma, A. (Eds.), 2015. Biocontrol of Lepidopteran Pests: use of soil microbes and their metabolites, Soil biology. Springer, Cham.
- Tamaki, Y. 1985. Sex Pheromones, In: Kerkut, G.A., Gilbert, L.I. (Eds.), Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. Volume 9. Pergamon Press, New York. pp. 145-191
- Tanada, Y., Kaya, H.K., 1993. Insect pathology. Academic Press, San Diego.
- Tang, S., Tang, G., Cheke, R.A., 2010. Optimum timing for integrated pest management: Modelling rates of pesticide application and natural enemy releases. Journal of Theoretical Biology 264, 623-638. <https://doi.org/10.1016/j.jtbi.2010.02.034>
- Tavares, W.S., Costa, M.A., Cruz, I., Silveira, R.D., Serrão, J.E., Zanuncio, J.C., 2010. Selective effects of natural and synthetic insecticides on mortality of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) and its predator *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). Journal of Environmental Science and Health, Part B 45, 557-561. <https://doi.org/10.1080/03601234.2010.493493>
- Thamazoni, D., Formentini, M.A., Alves, L.F.A., 2014. Patogenicidade de isolados de fungos entomopatogênicos à *Spodoptera frugiperda* (Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Arquivos do Instituto Biológico 81, 126-133. <https://doi.org/10.1590/1808-1657001162012>
- Tingle, F.C., Mitchell, E.R., 1979. Capture of *Spodoptera frugiperda* and *Spodoptera exigua* in Pheromone Traps. Journal of Economic Entomology 68 (5), 613-615.
- Toepfer, S., Kuhlmann, U., Kansiime, M., Onyango, D.O., Davis, T., Cameron, K., Day, R., 2018. Communication, information sharing, and advisory services to raise awareness for fall armyworm detection and area-wide management by farmers. Journal of Plant Diseases and Protection. <https://doi.org/10.1007/s41348-018-0202-4>
- Tong, H., Su, Q., Zhou, X., Bai, L., 2013. Field resistance of *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae) to organophosphates, pyrethroids, carbamates and four newer chemistry insecticides in Hunan, China. Journal of Pest Science 86, 599-609. <https://doi.org/10.1007/s10340-013-0505-y>

- Tumlinson, J.H., Mitchell, E.R., Teal, P.E.A., Heath, R.R., Mengelkoch, L.J., 1986. Sex pheromone of fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith): identification of components critical to attraction in the field. *Journal of chemical Ecology*, Vol.12, N°9, 1909-1925.
- Unbehend, M., 2013a. Variation in sexual communication and its role in divergence of two host strains of the noctuid moth *Spodoptera frugiperda*. Thesis, University of Amsterdam.
- Unbehend, M., Hänniger, S., Meagher, R.L., Heckel, D.G., Groot, A.T., 2013. Pheromonal Divergence between two Strains of *Spodoptera frugiperda*. *Journal of Chemical Ecology* 39, 364-376. <https://doi.org/10.1007/s10886-013-0263-6>
- Unbehend, M., Hänniger, S., Vásquez, G.M., Juárez, M.L., Reisig, D., McNeil, J.N., Meagher, R.L., Jenkins, D.A., Heckel, D.G., Groot, A.T., 2014. Geographic Variation in Sexual Attraction of *Spodoptera frugiperda* Corn and Rice-Strain Males to Pheromone Lures. *PLoS ONE* 9, e89255. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0089255>
- Valdez-Torres, J.B., Soto-Landeros, F., Osuna-Enciso, T., Báez-Sañudo, M.A., 2012. Modelos de predicción fenológica para maíz blanco (*Zea mays* L.) y gusano cogollero (*Spodoptera frugiperda* J. E. Smith). *Agrociencia* 46: 399-410.
- Van der Gaag, D.J., Van der Straten, M., 2017. Assessment of the potential impact of American *Spodoptera* species for the European Union, Netherlands Food and Consumer Product Safety Authority Utrecht, the Netherlands, p42
- Vancoppenolle, R., Renard, C., Sottaix, G., Nyole, H., 1984. Comportement de *Stylosanthes guianensis* (Aubl.) Sw. Dans la Ruzizi et le Mosso (Burundi). *Tropicultura*, 2. 2. 50-55.
- Vega, F.E., Meyling, N.V., Luangsa-ard, J.J., Blackwell, M., 2012. Fungal Entomopathogens, In: Vega, F.E., Kaya, H.K. (Eds.), *Insect pathology*, 2nd Ed. Elsevier/Academic Press, Amsterdam ; Boston. 171-220.
- Vélez, A.M., Spencer, T.A., Alves, A.P., Moellenbeck, D., Meagher, R.L., Chirakkal, H., Siegfried, B.D., 2013. Inheritance of Cry1F resistance, cross-resistance and frequency of resistant alleles in *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Bulletin of Entomological Research* 103, 700-713. <https://doi.org/10.1017/S0007485313000448>
- Vélez-Arango, A.M., Arango, I.R.E., Villanueva, M.D., Guilera, G.E., Saldamando, B.C., 2008. Identificación de biotipos de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) mediante marcadores mitocondriales y nucleares. *Revista Colombiana de Entomología* 34 (2): 145-150.
- Vieira, C.M., Tuelher, E.S., Valicente, F.H., Wolff, J.L.C., 2012. Characterization of a *Spodoptera frugiperda* multiple nucleopolyhedrovirus isolate that does not liquefy the integument of infected larvae. *Journal of Invertebrate Pathology* 111, 189-192. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2012.07.010>
- Virgen, O.E., Campos, J.C., Bermudez, A.R., Velasco, C.R., Cazola, C.C., Aquino, N.I., Cancino, E.R., 2013. Parasitoids and Entomopathogens of the Fall Armyworm *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in Nayarit, Mexico. *Southwestern Entomologist* 38, 339-344. <https://doi.org/10.3958/059.038.0216>.
- Visser, D., 2017. Fall armyworm: An identification guide in relation to other common caterpillars, a South African perspective. <http://sana.co.za/wp-content/uploads/2017/06/Fall-Armyworm-Identification.-DAFF-Presentation-v1.2-secured-Published....pdf>
- Vodovar, N., Vallenet, D., Cruveiller, S., Rouy, Z., Barbe, V., Acosta, C., Cattolico, L., Jubin, C., Lajus, A., Segurens, B., Vacherie, B., Wincker, P., Weissenbach, J., Lemaitre, B.,

- Médigue, C., Boccard, F., 2006. Complete genome sequence of the entomopathogenic and metabolically versatile soil bacterium *Pseudomonas entomophila*. *Nature Biotechnology* 24, 673-679. <https://doi.org/10.1038/nbt1212>
- Waterfield, N.R., Ciche, T., Clarke, D., 2009. *Photorhabdus* and a Host of Hosts. *Annual Review of Microbiology* 63, 557-574. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.091208.073507>
- Wheeler, G.S., Ashley, T.R., Andrews, K.L., 1989. Larval parasitoids and pathogens of the fall armyworm in Honduran maize. *Entomophaga* 34, 331-340. <https://doi.org/10.1007/BF02372472>.
- Wils, W., Caraël, M., Tondeur, G., 1986. Le Kivu montagneux : Surpopulation-sous-nutrition-érosion du sol (Étude prospective par simulations mathématiques). Académie royale des sciences d'outre-mer, Classe des Sciences naturelles et médicales, Mémoires in-8°, Nouvelle Série, Tome 21, fase 3, Bruxelles.
- Wraight, S.P., Ramos, M.E., Avery, P.B., Jaronski, S.T., Vandenburg, J.D., 2010. Comparative virulence of *Beauveria bassiana* isolates against Lepidopteran pests of vegetable crops. *J Invertebr Pathol* 103:186-199.
- Wyckhuys, K.A.G., O'Neil, R.J., 2006. Population dynamics of *Spodoptera frugiperda* Smith (Lepidoptera: Noctuidae) and associated arthropod natural enemies in Honduran subsistence maize. *Crop Protection* 25, 1180-1190. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.03.003>
- Yu, S.J., 1991. Insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Pesticide Biochemistry and Physiology* 39, 84-91. [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(91\)90216-9](https://doi.org/10.1016/0048-3575(91)90216-9).
- Zacharuk, R.Y., 1970. Fine structure of the fungus *Metarrhizium anisopliae* infecting three species of larval Elateridae (Coleoptera). III. Penetration of the host integument. *J. Invertebr. Pathol.*, 15, 372-396.
- Zanuncio, J.C., Silva, C.A.D. da, Lima, E.R. de, Pereira, F.F., Ramalho, F. de S., Serrão, J.E., 2008. Predation rate of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) larvae with and without defense by *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 51, 121-125. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132008000100015>
- Zehnder, G., 2010. Overview of Monitoring and Identification Techniques for Insect Pests, 9.
- Zhang, Z.Q., 2011. Animal biodiversity: An outline of higher-level classification and survey of taxonomic richness. *Zootaxa* 3148: 1-237.

ANNEXES



Annexe 1 : Photographie *Spodoptera frugiperda* dans la plaine de la Ruzizi



Annexe 2 : Ennemis naturels de *Spodoptera frugiperda* dans la plaine de la Ruzizi

a : Diptera; **b** : Diptera ; **c** : Coleoptera Coccinellidae ; **d** : Homoptera ; **e** : Coleoptera Curculionidae ; **f** : Hymenoptera Vespidae ; **g** : Dermaptera Forficulidae ; **h** : Hymenoptera formicidae ; **i** : Coleoptera chrysomelidae ; **j** : Hymenoptera Formicidae ; **k** : Diptera ; **l** : Hemiptera Reduviidae.



Annexe 3 : Photographie *Spodoptera frugiperda* dans le territoire de Kabare



Annexe 4 : Images des ennemis naturels de *Spodoptera frugiperda* dans le territoire de Kabare

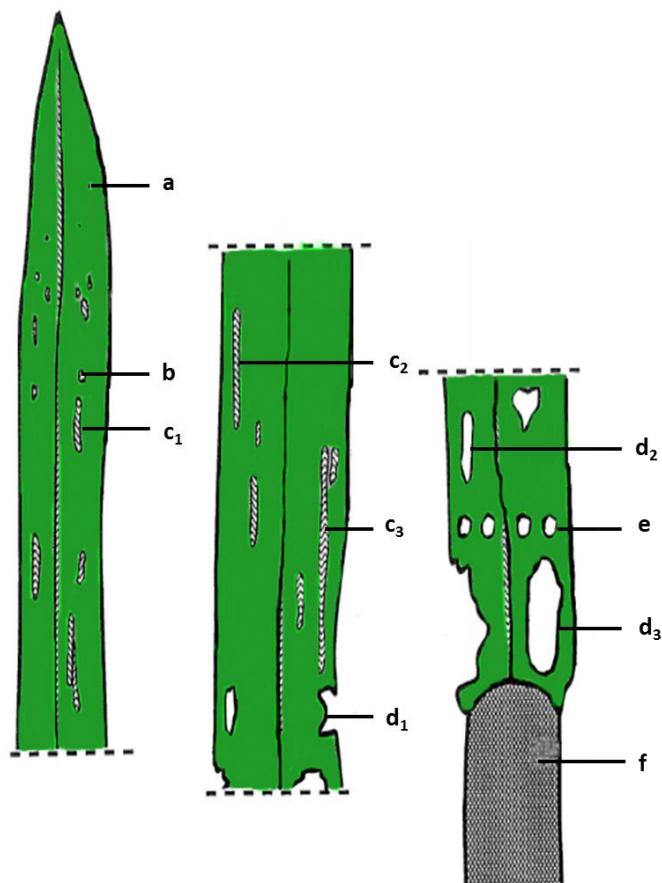
a : Coleoptera Coccinellidae ; **b** : Coleoptera Coccinellidae ; **c** : Diptera ; **d** : Homoptera ; **e** : Coleoptera Coccinellidae; **f** : Diptera ; **g** : Dermaptera Forficulidae ; **h** : Diptera ; **i** : Homoptera ; **j** : Hymenoptera ; **k** : Hymenoptera formicidae ; **l** : Coleoptera Curculionidae ; **m** : Coleoptera Chrysomelidae ; **n** : Coleoptera Chrysomelidae.



Annexe 5 : Cadavres de *Spodoptera frugiperda* infectés par des microorganismes entomopathogènes



Annexe 6: Photographie monitoring de *Spodoptera frugiperda* à l'Est de la RD Congo



Annexe 7: échelles d'évaluation visuelle des dommages de *S. frugiperda* sur le maïs en phase de développement (Davis et al., 1992)

L'annexe 7 présente les types de lésions occasionnées par les larves de *S. frugiperda* se nourrissant des feuilles de maïs ; **a** : trou d'épingle ; **b** : petite circulaire ; **c₁** : petit allongé ; **c₂** : moyen allongé ; **c₃** : grand allongé ; **d₁** : petite taille uniforme de forme irrégulière ; **d₂** : taille moyenne uniforme de forme irrégulière ; **d₃** : grande taille uniforme de forme irrégulière ; **e** : trou de tir et **f** : gaine foliaire.

Annexe 8 : Indicateurs d'évaluation de la sévérité des attaques de *Spodoptera frugiperda* sur la culture du maïs selon Davis et al. (1992)

Explication/définition des dégâts	Evaluation
Pas de dégâts visibles sur les feuilles	0
Uniquement les dégâts par piqûre sous forme de trous d'épingle	1
Dégâts causés sur les feuilles sous forme de trous d'épingle et de petits trous circulaires	2
Des trous d'épingle, de petites lésions circulaires et quelques petites lésions allongées (de forme rectangulaire) atteignant 1,3 cm de longueur sont présentes sur les feuilles verticillées et enroulées.	3
Plusieurs lésions allongées de taille petite à moyenne de 1,3 à 2,5 cm sont présentes sur quelques feuilles verticillées et enroulées	4

Plusieurs grandes lésions allongées de plus de 2,5 cm de longueur sont présentes sur quelques feuilles verticillées et enroulées et/ou quelques trous de forme uniforme à irrégulière de petite à moyenne taille (membrane basale consommée) qui sont mangées depuis les feuilles verticillées et/ou enroulées.	5
Plusieurs grandes lésions allongées présentes sur plusieurs feuilles verticillées et enroulées et/ou plusieurs grands trous uniformes de forme irrégulière mangés depuis les feuilles verticillées et enroulées.	6
De nombreuses lésions allongées de toutes tailles sont présentes sur plusieurs feuilles verticillées et enroulées, ainsi que plusieurs grands trous de forme identique ou irrégulière qui sont mangés depuis les feuilles verticillées et enroulées.	7
De nombreuses lésions allongées de toutes tailles sont présentes sur la plupart des feuilles verticillées et des feuilles enroulées, ainsi que de nombreux trous de forme identique ou irrégulière de taille moyenne à grande, mangés au niveau des feuilles verticillées et enroulées.	8
Les feuilles verticillées et enroulées sont presque totalement détruites.	9