



Réf :/UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2022

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV Filière : Biotechnologie

Spécialité : Biotechnologie microbienne

Présenté par :

RAFES Randa & GRAZEM Cherifa

Thème

Isolement et identification des souches fongiques entomopathogènes
et leur application sur le moustique domestique *Culex pipiens* (les
stades aquatiques)

Soutenu le: 04 / 07 /2022

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
Mr REKAB DJABRI H	MCA	Univ. de Bouira	Président
Mme HAMID S	MCA	Univ. de Bouira	Promotrice
Mme DJOUAHRA DJ	MCB	Univ. de Bouira	Examinatrice

Année Universitaire : 2021/2022

Remerciements

Nous remercions tout d'abord « ALLAH » le tout puissant de nous avoir donné le Courage de surmonter les moments les plus difficiles de notre vie et la volonté De mener à terme ce travail.

Au terme de ce travail, il m'est à la fois un plaisir et un devoir de remercier sincèrement toutes les personnes qui ont participé à la réalisation de ce travail

Nous remercions aussi les membres du jury pour leur obligeance en examinant ce travail :

-Monsieur Rekab djabri : président

- Mme : Djouahra : examinatrice de jury

Nos vif remerciement et nos profonde gratitude s'adressent à notre

Promotrice Mme.: Hamid Sonia

qui a guidé, encadré et suivie le déroulement de ce travail

pour son aide, ses orientations, ses conseils, sa patience et sa correction

Sérieuse de ce travail.

Nous tenons a remercié spécialement Mme Bensmail Samira pour ses précieux conseils et orientations durant toute la période de manipulation.

Nos remerciements aux ingénieurs des laboratoires, en particulier Mme Karima, le responsable des laboratoires Mr Djedi Boudjemaa, à tous les enseignants, les collègues et les

Personnels de la faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre.

Enfin, nous remercions également tous ceux et celles qui de près ou de loin qui nous a apporté aide et encouragement, qu'ils trouvent ici l'expression de nos profonde gratitude.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail A mes chers parents Ma mère et mon père

Pour tout votre soutien durant ces années d'études, pour m'avoir toujours aidée et encouragée dans mes choix. Tout simplement MERCI pour tout.

A mon cher mari qui a été toujours présent à mes côtés et qui n'a jamais cessé de me soutenir et de m'encourager surtout dans les moments difficiles.

A mes chers frères Ismail, Ibrahim, Rabah, Mourad et Islam que dieu vous procure santé et bonheur durant toute votre vie

A mes belles sœurs et mes nièces et neveux

A ma belle-famille, Pour leur soutien et leur reconnaissance. Je vous remercie de l'honneur que vous me faites d'être présents à ma soutenance.

A ma meilleur copine et binôme Randa et toute sa famille.

A mes chères amies : Ikram, Chahrazed, Amina, Sarah, Ahlam, Rima, Bouchera, Meriem, Samah, Wissem et Rahil qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès

A Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

A tous mes collègues de spécialité Biotechnologie Microbiennes

Promo 2021-2022

CHERIFA



Dédicace

*C'est grâce à dieu, qui m'a donné la puissance et le courage pour
achever ce modeste travail que je dédie :*

*A mon père. Qui peut être fier et trouver ici les résultats de longues
années de sacrifices et*

Privation.

*A ma mère, qui à œuvre pour ma réussite, de par son amour, son
soutien, pour toute son*

assistance et sa présence dans ma vie

*A mes sœurs qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples, des
persévérances*

A Samia, Nadia et Samiha

A mes deux frère Lamine et Nacer que dieu les protège

A mes beaux-frères, mes belles sœurs et mes nièces et neveux

A tous les membres de ma famille, petits et grands

*A mes cousins et cousines qui m'ont aidé et supporté dans les moments
difficiles.*

*A mes chères amies : Ikram, Chahrazed, Amina, Sarah, Ahlam, Rima,
Bouchera, Meriem, Samah, Wissem et Rahil qui m'ont toujours
encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.*

*Sans oublier mon binôme Cherifa pour son soutien moral, sa patience
et sa compréhension tout au long de ce projet.*

*A Tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce
travail.*

A tous mes collègues de spécialité Biotechnologie Microbiennes

Promo 2021-2022

RANDA

Table des matières

Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction.....	01

Partie I : synthèse bibliographique

Chapitre 01 : Présentation du moustique *Culex pipiens*

1.1. Position systématique.....	04
1.2. Caractères morphologiques... ..	04
1.2.1 Œuf.....	05
1.2.2 Larve.....	05
1.2.3 Nymphe	06
1.2.4 Adulte	07
1.3. Cycle de développement.....	08
1.4. Nutrition et habitat.....	10
1.5. Rôle pathogène.....	11
1.6. Moyens de lutte contre <i>Culex pipiens</i>	15
1.6.1. Lutte physique.....	15
1.6.2. Lutte chimique... ..	15
1.6.3. Lutte biologique... ..	16

Chapitre 02 : les champignons entomopathogènes

2.1 Présentation de règne fongique... ..	19
2.1.1 Caractères généraux	19
2.1.2 Classification des champignons... ..	20
2.1.3 Identification des champignons.....	21
• Caractères macroscopiques.....	21
• Caractères microscopiques.....	22
2.2 Les champignons entomopathogènes... ..	22
2.2.1 Définition	22
2.2.2 Classification.....	23
2.2.3 Mode d'infection des champignons entomopathogènes.....	27
2.2.4 Facteurs modulateurs des phénomènes pathogènes	29

Partie II : Partie Expérimentale

Chapitre 01 : Matériel et méthodes

I. Matériel	31
I.1. Matériel non biologique.....	31
I.2. Matériel biologique	31
II. Méthodologie	32
II.1. Echantillonnage	32
II.2. Analyses physico-chimique du sol	33
II.2.1. Détermination du pH des échantillons	33
II.2.2. La salinité du sol	33
II.3. Isolement des champignons à partir du sol	34
II.3.1. Repiquage et Purification	34
II.3.2. Méthodes d'identification.....	35
3.2.1 Observation macroscopique.....	35
3.2.2 Observation microscopique	36
II.3.3. Le relevé de l'abondance des souches fongiques isolées.....	36
II.3.4. Sélection des souches fongiques entomopathogènes.....	36
II.4. Application des champignons entomopathogènes sélectionnés sur les différents stades aquatiques du <i>Culex pipiens</i>	36
II.4.1. Test de pathogénicité	36
II. 4.2. Récolte des nymphes et les stades larvaires	37
II.4.3. Le tri.....	37
II. 4.4. Préparation de la solution fongique	38
II.4.5. Mode de traitement	40
II.5. Traitement des données	41
II.5.1. Calcul du pourcentage de mortalité	41

Chapitre 02 : Résultats et discussion

1. Résultats de la caractérisation chimique des échantillons du sol	42
2. Résultats d'isolement des souches fongiques.....	43
3. Caractères macroscopiques et microscopiques des champignons isolés	44
3.1. Caractères macroscopiques des champignons isolés.....	44
3.2. Caractères microscopiques des champignons isolés... ..	48
4- Le relevé de l'abondance des souches fongiques isolées.....	53
5. La sélection des souches fongiques entomopathogènes... ..	55
5.1. Toxicité des champignons entomopathogènes <i>Beauveriae sp</i> et <i>Cladosporium sp</i>	

sur stade aquatique L4 et nymphe du <i>Culex pipiens</i>	55
5.2. Calcul de taux de mortalité.....	56
5.3. Symptomatologie... ..	60
Conclusion générale.....	66
Références bibliographiques	68
Annexes	

Liste des figures

Figure 01 : Nacelle d'œufs de <i>Culex pipiens</i>	05
Figure 02 : Larve de <i>Culex pipiens</i>	06
Figure 03 : Morphologie générale d'une nymphe de <i>Culex pipiens</i>	06
Figure 04 : Adulte de <i>Culex pipiens</i>	08
Figure 05 : Le cycle biologique du <i>Culex pipiens</i>	10
Figure 06 : Cycle de reproduction des champignons.	20
Figure 07 : Certains champignons entomopathogènes courants.	23
Figure 08 : Classification des champignons entomopathogènes	26
Figure 09 : Schématisation de la cuticule d'un insecte et le mécanisme d'action des Champignons entomopathogènes.....	27
Figure 10 : Cycle de vie des champignons entomopathogènes	29
Figure 11 : Présentation géographique des sites de prélèvement.....	32
Figure 12 : Schéma d'isolement des microorganismes à partir du sol.	34
Figure 13 : Purification et conservation des souches isolées.	35
Figure 14 : Gîte larvaire utilisé dans l'étude.....	37
Figure 15 : le tri des stades aquatique (L4 et nymphe).....	38
Figure 16 : Les étapes de la préparation solution fongique.	39
Figure 17 : Réalisation du traitemen.	40
Figure 18 : Taux d'abondance des genres fongiques isolés.....	54
Figure 19 : Cinétiques de mortalité des larves traitées aux champignons <i>Beauveria sp</i> et <i>Cladosporium sp</i>	57

Figure 20: Cinétiques de mortalité des nymphes traitées aux champignons <i>Beauveria sp</i> et <i>Cladosporium sp</i>	58
Figure 21 : Larves traités au <i>Cladosporium sp</i> sous la loupe (dégradation des larves).	61
Figure 22 : Larves traités au <i>Beauveria sp</i> sous la loupe (dégradation des larves).....	61
Figure 23 : Mort de la nymphe après traitement.	62
Figure 24 : Des nymphes traitées au <i>Cladosporium sp</i> bloquées.....	63
Figure 25 : Des nymphes traitées au <i>Beauveria sp</i> sous la loupe.	63
Figure 26 : L'exuvie sous la loupe	64
Figure 27 : Adultes du <i>Culex pipiens</i> déformés sous la loupe	64
Figure 28 : Développement des champignons à la surface de l'adulte traité au <i>Beauveria sp</i>	65

Liste des tableaux

Tableau 01 : Quelques affections vectorielles transmises par les moustiques.	12
Tableau 02 : Quelques exemples des agents de lutte biologiques.	17
Tableau 03 : Classification des champignons.....	21
Tableau 04 : Caractéristiques des échantillons du sol utilisés	32
Tableau 05 : La salinité des sols en fonction de la conductivité électrique.....	33
Tableau 06 : Le nombre et tailles des différents stades de développement du <i>Culex pipiens</i>	38
Tableau 07 : Résultats de l'étude physicochimique des trois échantillons du sol	42
Tableau 08 : Classification des sols selon le Ph.	42
Tableau 09 : Etude macroscopique des souches fongiques isolées à partir du sol	44
Tableau 10 : Etude microscopique des souches fongiques isolées à partir du sol.....	49
Tableau 11 : Les mortalités enregistré des larves et nymphes traité par <i>Beauveria sp</i> et <i>Cladosporium sp</i>	56

Liste des abréviations

Mm : Millimétré

L1 : Larve stade 1

L2 : Larve stade 2

L3 : Larve stade 3

L4 : Larve stade 4

Km: Kilomètre

B.t : *Bacillus thuringiensis Berliner*

pH : Potentiel d'oxydoréduction

UV : Ultraviolet

°C : Degré Celsius

Cm : Centimètre

ml : Millilitre

G : Gramme

OGA : Gélose à l'oxytétracycline

PDA : Potato dextrose agar

μs/cm : Microsiemens / Centimètre

sp : espèce

Gr : Grossissement

H : Heur

B .bassiana : *Beauveri bassiana*

D: cycle de développement de *Culex pipiens* dans la nature

d : cycle de développement de *Culex pipiens* aux conditions du laboratoire

INTRODUCTION

GENERALE

Introduction

Les moustiques ont toujours été considérés comme source de nuisance pour l'homme, principalement en raison du fait qu'ils peuvent être des vecteurs de maladies. Les femelles en période de reproduction ont besoin de sang pour le développement des œufs et certaines espèces ont une préférence marquée pour le sang humain. Parmi les espèces connues dans la transmission des maladies à l'homme, nous citons celles appartenant aux genres *Culex*. Particulièrement l'espèce *Culex pipiens* responsable de plusieurs maladies parasitaires telles la filariose et la fièvre jaune (**Alaoui Slimani et al., 1999**).

Dans le cadre de la lutte contre ces vecteurs de maladies parasitaires, on utilise actuellement plusieurs insecticides synthétiques, dont les organophosphorés, les carbamates et les pyréthroides, pour lutter efficacement contre les moustiques vecteurs (**Ramkumar et Shivakumar, 2015; Benelli, 2015**). Cependant, la surutilisation continue d'un nombre limité de pesticides chimiques entraînent un développement rapide de résistance multiple chez les moustiques (**Hemingway et Ranson, 2000; Muthusamy et Shivakumar, 2015**).

Actuellement, la résistance aux insecticides est un problème majeur dans la gestion intégrée des vecteurs des moustiques. En outre, les insecticides chimiques synthétiques ont également des effets secondaires sur les humains, les espèces non ciblées et la pollution de l'environnement (**Ramkumar et Shivakumar, 2015**). La solution la plus efficace et la plus propre à l'environnement consiste à remplacer les produits chimiques par les produits biologiques. L'exploitation d'agent de lutte biologique est considérée comme une alternative appropriée à l'utilisation des pesticides chimiques (**Dhaliwal et Koul, 2007**). Parmi les divers agents de lutte biologiques, Les champignons entomopathogènes sont une composante majeure d'une approche intègre qui peut fournir un control important et sélectif des insectes. En raison de leur large gamme d'hôtes sont potentiellement les agents de lutte les plus polyvalents. Ces champignons forment un groupe diversifié de plus de 100 genres comptant environ 750 espèces d'insectes différents (**Kidanu et Hagos, 2020**).

Plusieurs espèces des champignons entomopathogènes ont été isolées et testés sur la plupart des moustiques vecteurs de maladies et qui peuvent tuer à la fois la forme larvaire et adulte (**Scholte, 2004**). Les espèces de champignons entomopathogènes les plus utilisées en lutte biologique appartiennent aux genres *Beauveria*, *Metharizium*, *Verticillium*, *Erynia*, *Hirsutella* et *Entomophthora* (**Kouassi, 2001**).

Nous avons réalisé ce travail dans un but d'évaluer le grand intérêt des champignons entomopathogènes dans la régulation naturelle des populations d'insectes. Notre objectif consiste à isoler et identifier ce type de champignons à partir du sol de trois régions (Kadiria, Ain bessam, M'chedallah). Notre étude sera donc répartie en trois chapitres:

- Une recherche bibliographique qui concerne le moustique *Culex pipiens*, ainsi que des champignons entomopathogènes.
- Ensuite, la partie expérimentale pour la description du matériel et les méthodes utilisées.
- Le troisième chapitre présente les résultats obtenus et leurs discussions.

Ce travail sera clôturé par une conclusion générale.

PREMIÈRE PARTIE :
SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 01 : Présentation du moustique *Culex pipiens*

Les moustiques sont des arthropodes appartenant à la classe des insectes ptérygotes, à l'ordre des diptères et au sous ordre des nématocères. Ce sont des insectes piqueurs hémato-phages, suceurs de sang (**Toral y caro, 2005**). Ils appartiennent à la famille des *Culicidae* qui comporte environ 3500 espèces réparties en 3 sous-familles : *Toxorhynchitins*, *Anophelins* et *Culicins* (**Balenghien, 2007**).

Parmi ses espèces se trouve les *Culex* dans de nombreuses régions du globe .*Culex pipiens* fait partie d'une variété dite commune de moustiques (*Culex*) européens. On le nomme aussi maringouin, cousin ou moustique domestique. Tout comme chez les autres espèces de moustiques, c'est la femelle qui pique pour produire ses œufs (**Hamiche et al., 2017**). Il possède trois paires d'appendices locomoteurs, caractérisés par une seule paire d'ailes (**Aouati, 2016**).

Culex appartient à la sous-famille des *Culicins*, dont il possède les principales caractéristiques : (**Hamiche et al., 2017**)

- palpes allongés chez le mâle (plus longs que la trompe) et légèrement recourbés vers le haut.

- palpes plus courts que la trompe chez la femelle (environ un quart de sa taille).

- au repos, l'abdomen des adultes est quasiment parallèle au support.

- larves avec antennes allongées.

- siphon respiratoire des larves long.

-

En Algérie, on recense 66 espèces. Elles appartiennent à deux sous-familles : *Culicinae* et *Anophelinae* et se répartissent en 6 genres : *Anopheles* , *Culiseta*, *Aedes*, *Orthopodomyia*, *Uranotaenia* et *Culex* (**Benserradj, 2015**). Ce dernier est divisé en différents sous-groupes, notamment *Culex* auquel appartient *Culex pipiens* Linné, 1758. Est le plus fréquent et extrêmement commun dans l'ensemble des zones tempérées d'Europe, d'Afrique, d'Asie, d'Amérique du Nord et de Sud, et de l'Australie. En Algérie, c'est l'espèce qui présente le plus d'intérêt en raison de sa large répartition géographique, de son abondance et sa nuisance réelle, surtout dans les zones urbaines (**Bendali et al., 2001**).

1.1. Position systématique

La position systématique, est celle émise par **Linnée (1758)** qui classe *Culex* comme suit:

<p><u>Règne</u> : <i>Animalia</i></p> <p><u>Sous-règne</u> : <i>Metazoa</i></p> <p><u>Embranchement</u> : <i>Arthropoda</i></p> <p><u>Sous-embranchement</u> : <i>Hexapoda</i></p> <p><u>Super-classe</u> : <i>Protostomia</i></p> <p><u>Classe</u> : <i>Insecta</i></p> <p><u>Sous-classe</u> : <i>Pterygota</i></p> <p><u>Infra-classe</u> : <i>Neoptera</i></p> <p><u>Super-ordre</u> : <i>Endopterygota</i></p> <p><u>Ordre</u> : <i>Diptera</i></p> <p><u>Sous-ordre</u> : <i>Nematocera</i></p> <p><u>Infra-ordre</u> : <i>Culicomorpha</i></p> <p><u>Famille</u> : <i>Culicidae</i> (Meigen, 1818)</p> <p><u>Sous famille</u> : <i>Culicinae</i></p> <p><u>espèce</u> : <i>Culex</i> (Linné ,1758)</p>
--

1.2. Caractères morphologiques :

Morphologiquement les *Culicidés* sont caractérisés par des antennes longues et fines à multiples articles (6 à 40 articles), des ailes pourvues d'écailles, les femelles possèdent de longues pièces buccales en forme de trompe rigide vulnérantes de type piqueur-suceur (Alayat, 2012).

La morphologie externe de chaque stade, permet la différenciation entre la plupart des espèces et sa est un caractère important en systématique Culicidienne.

1.2.1 Œuf

Après la fécondation la femelle dépose les œufs qui ont un diamètre inférieur à 1mm en amas à la surface de l'eau, perpendiculairement à celle -ci (**Andreo, 2003**). Elle peut pondre jusqu'à 300 œufs, qui éclosent en 24 à 48 heures lorsque la température de l'eau est suffisante (**Kettle, 1995 ; Ripert, 2007**). Au moment de la ponte, ils sont blanchâtres et prennent rapidement, par oxydation de certains composants chimiques de la thèque, une couleur marron ou noire (**Becker et al., 2003**).



Figure 01: Nacelle d'œufs de *Culex pipiens* (**Amira, 2014**)

1.2.2 Larve

Les larves sont aquatiques, évoluées selon quatre stades pendant 8 à 12 jours avant d'atteindre le stade nymphale, elles respirent par un siphon et se nourrissent des algues et des organites microscopiques (**Zerroug, 2018**). Elles subissent par la suite trois mues successives permettant un accroissement de la taille jusqu'à 15 mm (**Carnevale et Robert, 2009**). Elles sont disposées obliquement par rapport à la surface de l'eau et se déplacent par mouvement saccadés (**Balenghien, 2006**).

Ces larves caractériser par l'absence des pattes et sont constituées de trois parties : la tête, le thorax et l'abdomen (**Belaydi, 2010**).

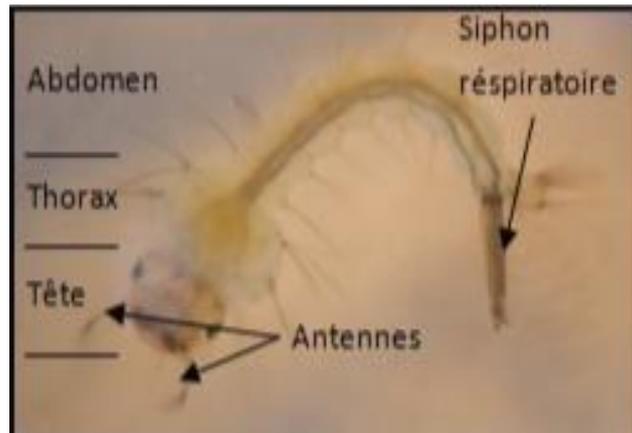


Figure 02 : Larve de *Culex pipiens* (Amira, 2014)

1.2.3 Nymphe

La nymphe présente une forme de virgule, elle respire par l'intermédiaire de deux trompettes situées sur le céphalothorax (Foster *et al.*, 2019). Elle n'ingère aucune nourriture (Toral y caro, 2015). L'abdomen de la nymphe de *Culicidae* est composé de huit segments visibles ou chacun d'eux porte des soies caractéristiques. Une soie palmé se trouve généralement au niveau de premier segment cependant, le dernier segment est muni de deux palettes natatoires transparentes souvent ornées de denticule et de soies, lui permettent de se déplacer (Bouskaya et Degachi, 2019).

Elle est extrêmement sensible et plonge dans l'eau au moindre mouvement perçu. *Culex pipiens* reste sous cette forme pendant 2 à 4 jours. A la fin de cette période, la nymphe donne un adulte mâle ou femelle. Cette étape a généralement lieu le matin (Resseguier, 2011).

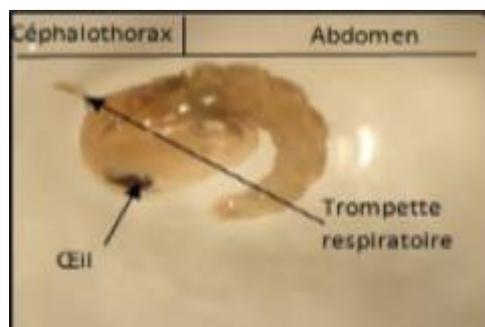


Figure 03: Morphologie générale d'une nymphe de *Culex pipiens* (Amira, 2014)

1.2.4 Adulte

L'adulte a des écailles mais sans soie en avant ou en arrière des spiracles antérieurs. Les femelles ont des palpes plus courts que la trompe et sans cerques apparents à l'extrémité de l'abdomen qui est tronqué (**Delaunay et al., 2001**).

Il est composé de : tête, thorax et abdomen dont la connaissance est indispensable en systématique (**Becker et al., 2003**).

➤ Tête

Sa tête est sombre, recouverte d'écailles fourchues dressées et foncées entre lesquelles se trouvent des écailles blanches et des poils bruns. Sur les joues, les écailles sont plus courtes et forment une tache blanche (**Andreo, 2003 ; Kettel, 1995**).

Les femelles présentent des pièces buccales de type piqueur-suceur devant la tête, qui sont formées de : labium, deux mandibules et deux maxilles (**Andreo, 2003**).

Chez la femelle, les palpes maxillaires sont très courts et effilés. Chez le male ils sont au contraire plus longs que la trompe, et les antennes sont plus développées et très poilues. Ces 2 éléments permettent de distinguer le male de la femelle à l'œil nu (**Toral y caro, 2005**).

➤ Thorax

Le thorax est assez globuleux et renflé à sa partie dorsale, constitué de trois segments soudés : le prothorax, le mésothorax et le métathorax. Chaque segment porte une paire de pattes longues, minces et couverts d'écailles, le mésothorax porte un pair de stigmates ou chez les *Culex* et les *Aedes* et représente de ce fait un critère taxonomique de différenciation (**Carnevale et Robert, 2009**).

➤ Abdomen

Grêle et allongé, il est composé de 9 segments terminés par 2 cerques, appendices courts protégeant l'anus et l'orifice génital. Il est recouvert d'écailles claires, brunes et blanches avec de longs poils sur la face dorsale. Une ligne longitudinale sombre ainsi que quelques taches sombres sur les côtés ornent la face ventrale.

Chez les mâles, l'abdomen se termine en une armature génitale servant à maintenir la femelle durant l'accouplement. Chez les femelles, on trouve un oviscapte qui intervient lors de la ponte (**Toral y caro, 2005**).

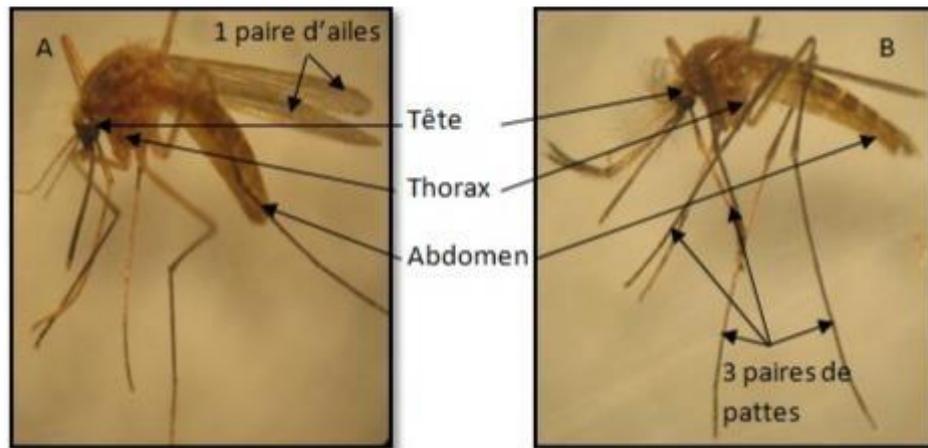


Figure 04 : Adulte de *Culex pipiens*. (A; Femelle, B; Mâle) (Amira, 2014)

1.3 Cycle de développement :

Le cycle de *Culex pipiens* comporte, comme celui de tous les insectes, 4 stades : l'œuf, la larve, la nymphe et l'imago ou adulte. Il se décompose en deux phases : une phase aquatique pour les trois premiers stades, et une phase aérienne pour le dernier stade. Dans les conditions optimales, le cycle dure de 10 à 14 jours (Resseguier, 2011).

➤ Phase aérienne :

Le mâle s'accouple avec sa femelle directement après l'émergence de celle-ci. L'accouplement peut avoir lieu entièrement en vol ou se termine sur un support, grâce aux vibrations des ailes de la femelle. Le mâle meurt rapidement après l'accouplement, laissant derrière lui son stock de sperme qui est préservé par la femelle dans les spermathèques où il est conservé tout au long de la vie de celle-ci donc elle ne s'accouple qu'une seule fois.

Après l'accouplement, la femelle relâche régulièrement les spermatozoïdes pour féconder les œufs lors de la ponte (Tennstedt, 2004).

Après la fécondation, les femelles partent à la recherche d'un repas sanguin, elles y puisent. Les protéines et leurs acides aminés sont nécessaires à la maturation des œufs. Ce repas de sang prélevé sur vertébrés (mammifères, amphibiens, oiseaux) est ensuite digéré en un seul endroit abrité et calme (Guillaumot, 2006). Une fois gorgée de sang, elle part en quête d'un gîte de ponte aquatique propice au développement des larves. Le gîte larvaire est une

eau stagnante ou à faible courant, douce ou salée selon les espèces (**Goulu, 2015**). La ponte a lieu généralement au crépuscule (**Toral y caro, 2005**).

➤ **Phase aquatique :**

Selon les espèces, les femelles pondent leurs œufs jusqu'à plusieurs centaines à la fois dans des environnements différents. Les œufs non éclos de certaines espèces peuvent résister à des semaines ou des mois de dessiccation, et demeurer viables jusqu'à ce que les conditions d'éclosion soient propices. Les œufs de la plupart des espèces éclosent en 2 à 3 jours (**Singh et al., 2012**).

A maturité, les œufs éclosent et produisent des larves de stade 1 (1 à 2 mm), qui se nourrissent de matière organique, de micro-organismes et même de proies vivantes (pour les espèces carnivores) jusqu'au stade 4. Malgré leur évolution aquatique, les larves de moustiques utilisent des stigmates respiratoires ou des siphons pour respirer de l'air. La taille des larves de stade 4 est clairement visible à l'œil nu. Elle a une tête avec des taches oculaires et deux antennes sur le côté, suivies d'un thorax et d'un abdomen (**Maryse, 2008**).

Les transformations qui permettent au moustique de passer du milieu aquatique au milieu terrestre débutent à la fin du développement larvaire par lyse des muscles . Au bout de six (6) à dix (10) jours ou plus, selon la température de l'eau et la disponibilité de la nourriture (**Guilloumot, 2006**), la larve subit une métamorphose complète durant laquelle la cuticule se fend pour former une nymphe (**Singh et al, 2012**). Les nymphes sont très mobiles et ne se nourrissent pas tout au long du stade nymphal , elles respirent régulièrement par l'intermédiaire de deux trompettes situées au niveau du céphalothorax (**Bechini, 2017**) . Cette phase dure deux (2) à (3) jours (**Singh et al, 2012**). Au moment de l'émergence de l'imago ou adulte, la nymphe s'immobilise à la surface de l'eau, la cuticule se fend longitudinalement sous l'action de l'air au niveau d'une ligne préformée. L'adulte s'extrait donc de l'exuvie qui correspond à la cuticule rejetée par l'imago. L'insecte prend quelques minutes après son envol. Il vole en général face au vent ou suit des courants aériens. Certains moustiques ne s'éloignent que très peu du gîte de repos et parcourront au maximum 1 km d'autres parcourront plusieurs dizaines de kilomètres (**Bechini, 2017**).

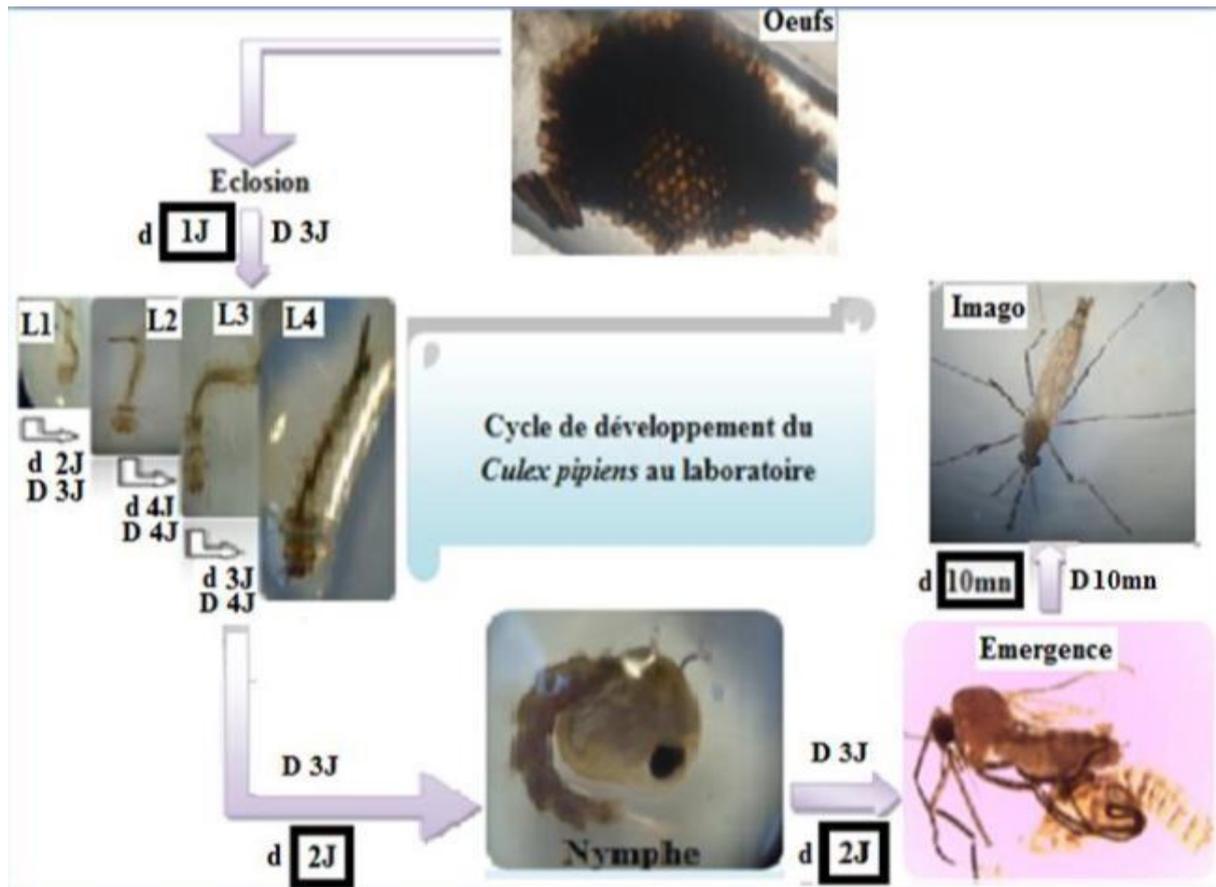


Figure 05: le cycle biologique du *culex pipiens* (Hamid, 2015)

1.4. Nutrition et habitat :

Les moustiques *Culex* sont surtout abondants dans les pays chauds, où on les retrouve toute l'année. Dans les pays tempérés; la densité atteint son maximum au mois d'août, là où la production est favorable (Tardif *et al.*, 2003), ils abondent surtout en été et automne. Ils sont très hygrophiles et principalement nocturne et leur développement est lié à la présence d'eau (Toral y caro, 2005).

Les moustiques femelles essentiellement hématophages, le repas de sang conditionne la ponte et stimule l'activation d'une cascade d'hormones provenant du cerveau et des ovaires. Les mâles se nourrissent de sucs d'origine végétale (Himmi, 2007).

En automne, lorsque les journées commencent à raccourcir et que les températures baissent, les femelles cherchent un gîte de repos et y passent plusieurs mois sans se nourrir :

C'est la diapause. Elles sont capables de survivre grâce aux réserves lipidiques accumulées à partir des sucres végétaux. Elles sortiront pour déposer leurs pontes dans les gîtes dès les premières chaleurs du printemps (**Robich et Delinger, 2005**).

Les larves de *Culex pipiens* peuvent s'installer dans les eaux douces, très fortement polluées ou dans les eaux saumâtres (**Becker, 2010**), sont très mobiles, lorsqu'elles se sentent menacées ou pour la recherche de la nourriture, elles plongent en profondeur (**Alayat, 2012**).

Elles s'alimentent des débris organiques et des micro-organismes (algues, bactéries, etc...) grâce aux battements de leurs soies buccales qui créent un courant suffisant pour aspirer ces éléments (**Himmi, 2007**).

1.5 Rôle pathogène :

Les moustiques sont des vecteurs de divers agents pathogènes comme les virus et les nématodes (**Soltani et al., 2010**), ces derniers utilisent le moustique comme vecteur et l'homme comme hôtes pour la réalisation de leur cycle biologique (**Boyer, 2006**). Et peuvent être pathogènes, parfois mortelle à l'homme aussi bien chez l'animal (**Soltani et al., 2010**). En période de reproduction, les femelles ont besoin de sang pour la maturation des œufs, c'est de cette façon que ces agents pathogènes sont transmis (**Aouinty et al., 2006**), cette prise de sang peut engendrer une démangeaison locale ou une petite bosse à l'endroit de la piqûre qu'on appelle érythème (**Sadallah et Belkhaoui, 2016**).

Le tableau ci-dessous présente quelques affections vectorielles transmises par les moustiques :

Tableau 01 : Quelques affections vectorielles transmises par les moustiques.

Maladies	Genre et Famille	Vecteurs	Symptômes	Répartition	Références bibliographiqu
La fièvre du Nil occidental	le virus West Nile (VWN) appartenant à la famille des <i>Flaviviridae</i> et au genre <i>Flavivirus</i>	genre <i>Culex</i>	Méningite, encéphalite, Fièvre, céphalées, éruption cutanée, manifestations digestives (vomissement, diarrhée, douleur abdominales), paralysée partielle.	Afrique puis dans le Moyen-Orient et l'Europe. Afrique subsaharienne et en Afrique du Nord.	(Donadieu et al., 2013 ; Amraoui, 2012 ; Chancey et al., 2015)
La Chikungunya	Arbovirus (alpha virus de La famille des <i>Togaviridae</i>)	<i>Aedes Albopictus</i> , <i>Aedes aegypti</i>	Forte Fièvre, maux de tête, un syndrome digestif diarrhéique ou avec douleur abdominale est irrégulièrement observé.	Asie, Inde, Pakistan et l'Afrique.	(Chhabra et al., 2008 ; Thiberville et al., 2013 ; World Health Organization, 2014)
La dengue	Virus de la famille des <i>Flaviviridae</i> , genre <i>Flavivirus</i> sous la forme de quatre sérotypes (DENV-1 à 4)	<i>Aedes aegypti</i> (principal) et <i>Aedes Albopictus</i> (second)	Maladie de type grippal (maux de tête, forte fièvre, troubles digestifs), la dengue hémorragique, et la dengue avec syndrome de choc	L'Afrique, l'Asie, l'Amérique de sud.	(institut pasteur, 2014 ; Tattevin, 2012 ; OMS, 2015)
La fièvre jaune	virus amaril est un <i>Flavivirus</i> de la famille des <i>Flaviviridae</i>	Moustiques (<i>Aedes</i> , <i>Haemagogus</i>)	Douleur épigastrique, hépatite. Un syndrome hémorragique	L'Amérique du Sud et le continent africain	(Monath et Vasconcelos, 2015 ; Beasley et al., 2015 ;

			gravissime pouvant être fatal		Barrett et Higgs, 2007)
Zika	Zika arbovirus appartient à la famille un <i>Flaviviridae</i>	<i>Aedes</i> et <i>Culex</i>	L'éruption cutanée, la fièvre, l'arthrite ou l'arthralgie et la conjonctivite	Afrique, Asie, Amérique du Sud.	(INPES, 2016 ; Nhan et Musso , 2015 ; Amazan et al., 2016)
Encéphalite japonaise	Flavivirus (<i>Flaviviridae</i>)	Genre <i>Culex</i>	Symptôme bénins le plus souvent fièvre brutale, céphalées, raideur de la nuque , désorientation, convulsions	Asie de l'Est, du Sud-est, Inde	(Diagana et al., 2005 ; Schricke, 2020)
Les Filarioses	Trois espèces de filaires : <i>Wuchereria bancrofti</i> , <i>Brugia malayi</i> et <i>Brugia ti</i>	<i>Culex</i>	Manifestations aiguës et chroniques, gonflement des ganglions avec inflammation et fièvre, inflammation des canaux lymphatiques.	Afrique, Asie, Amérique du Pacifique	(Nguyen et al., 1999; Chandu et al., 2011 ; Woehl et al., 2021)
Sindbis	Alphavirus (<i>Togaviridae</i>)	Moustiques (divers)	fièvre, douleurs articulaires, des éruptions cutanées, l'arthrite.	Cosmopolite (climats chauds)	(Segondy, 2016 ; Rust et al., 2012)
Encéphalite de Saint-Louis	Flavivirus (<i>Flaviviridae</i>)	Genre <i>Culex</i>	Le plus souvent Asymptomatique fièvre, vertiges,	Etats-Unis	(Schricke, 2020 ; serie, 1973)

			céphalées, nausées, malaise complication neurologiques possibles		
La fièvre de la vallée du rift	Phlebovirus de la famille du <i>Bunyaviridae</i>	<i>Aedes</i> <i>Culex</i>	Fièvre hémorragique, Encéphalite, des céphalées, des myalgies et des nausées.	Afrique du sud, sub- saharienne, Péninsule arabe.	(Amraoui, 2012)

1.6 Moyens de lutte contre *Culex pipiens*

L'homme cherche depuis longtemps, à lutter contre les moustiques pour s'en débarrasser. Cet insecte, incriminé dans des maladies sérieuses, est devenu un problème de santé publique (**Zerroug, 2018**).

Pour cela, plusieurs méthodes ont été utilisées, biologiques physiques ou chimiques selon les différents stades de développement de ces insectes.

1.6.1 Lutte physique

Le contrôle physique ou mécanique comprend les méthodes de capture des vecteurs par piégeage (à des fins de diminution de l'abondance), les méthodes qui s'opposent au contact hôte/vecteur et, par extension, les méthodes qui évitent tout contact avec l'hôte (**Carnevale et Robert, 2009**).

Il s'agit de modifier le biotope de l'insecte en éliminant tous les facteurs qui favorisent son développement (**Thierry, 2011**).

Les techniques de contrôle physique des moustiques immatures comprennent l'épandage d'huile, de surfactant et de molécules organiques (liparols, perles de polystyrène). Celles-ci préviennent l'oxygénation de l'insecte et agissent sur la tension superficielle de l'eau (**Druart, 2017**).

1.6.2 Lutte chimique

La lutte chimique est l'emploi de produits chimiques synthétiques qui tuent les insectes par ingestion ou par contact. La méthode d'application des produits varie en fonction de l'écologie du vecteur et du stade visé (**Bréhima, 2008**). Elle repose sur l'utilisation d'insecticides chimiques appartenant à diverses familles (organochloré, organophosphate, pyréthroïde, carbamate) (**Bawin et al., 2015**). Ces molécules neurotoxiques ayant eu des effets secondaires à long terme sur l'environnement, tel que l'apparition d'espèces résistantes (**Soltani, 2011**).

1.6.3 Lutte biologique

Le contrôle biologique peut être défini comme « la réduction d'une population par l'utilisation de compétiteurs, prédateurs, parasites, pathogènes ou de toxines dérivées de ceux-ci (Bawin *et al.*, 2015) ».

Le terme de « lutte microbiologique » sera préféré car l'organisme antagoniste sera un micro-organisme: un champignon, une bactérie, un virus ou encore un protozoaire. Les nématodes sont également considérés comme tels. Ces agents pathogènes peuvent dépasser les défenses des insectes hôtes et les infecter ; ils s'y multiplient ensuite et provoquent sa mort à plus ou moins long terme que ce soit par l'émission de substances toxiques et/ou la destruction de certains tissus (Bawin *et al.*, 2015).

La lutte biologique, précisément par utilisation de micro-organismes entomopathogènes est une alternative très prometteuse pour assurer une protection phytosanitaire performante de par l'ubiquité naturelle des agents microbiologiques dans les écosystèmes, leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action et aussi leur persistance dans l'environnement (Kouassi, 2001). L'efficacité des agents myco-biocontrôle dépend de la sensibilité de l'insecte et aussi de la virulence du champignon. La virulence du champignon dépend de la sélection de la souche stable ayant une efficacité spécifique pour les hôtes cibles. Tous les groupes d'insectes peuvent être touchés et plus de 700 espèces de champignons ont été enregistrées comme pathogènes. Contrairement à d'autres agents de lutte biologique potentiels, les champignons n'ont pas besoin d'être ingérés pour infecter leurs hôtes, mais ils envahissent directement par la cuticule et peuvent donc être utilisés pour lutter contre tous les insectes, y compris les insectes suceurs. Ainsi, les champignons entomopathogènes sont une composante majeure des techniques de lutte intégrée contre les ravageurs et autres arthropodes en horticulture, en foresterie et en agriculture (Inglis *et coll.*, 2000).

Le tableau ci-dessus représente quelques exemples des agents de lutte.

Tableau 02 : Quelques exemples des agents de lutte biologiques (Kouassi, 2001).

Agent de lutte	Exemples
Bactéries entomopathogènes	<i>Bacillus thuringiensis</i> Berliner et <i>B. sphaericus</i> sont les espèces les plus utilisées en lutte contre les ravageurs. Le <i>B.t</i> est efficace contre certaines espèces de coléoptères, lépidoptères et diptères.
Les virus entomopathogènes	les <i>Baculoviridae</i> , les <i>Reoviridae</i> et les virus <i>entomopox</i> (<i>poxviridae</i>) qui sont les plus utilisés en lutte biologique, car ils sont bénins pour les vertébrés. <i>entomopox</i> , ils sont parasites de plusieurs acridiens ravageurs de cultures.
Les protozoaires	Les familles les plus utilisées en lutte biologique sont les <i>Amoebidae</i> et les <i>Nosematidae</i> . Par exemple <i>Bralamoeba locustae</i> (<i>Amoeba</i>) est très efficace pour le contrôle des locustes. <i>Melameba locustae</i> King et Taylor est connu comme agent pathogène pouvant conduire à la mortalité des criquets et des grillons.
Nématodes	Il existe plusieurs espèces de nématodes parasites d'insectes. Certaines espèces de <i>Steinermatidae</i> et <i>Heterorhabditidae</i> vivent en symbiose avec des bactéries du genre <i>Xenorhabdus</i> . Les larves pénètrent l'hôte par les orifices naturels et même par la cuticule ou elles libèrent les bactéries qui tuent rapidement l'hôte.
Champignons entomopathogènes	Le plus grand nombre de pathogènes se trouvent dans la classe des <i>Zygomycètes</i> , mais les plus utilisées en lutte

	biologique proviennent des <i>Deuteromycètes</i> (<i>Fungi imperfecti</i>). Les espèces des genres <i>Beauveria</i> , <i>Metharizium</i> , <i>Verticillium</i> , <i>Erynia</i> , <i>Hirsutella</i> , <i>Entomophthora</i> et <i>Entomophaga</i> sont les plus utilisées en lutte biologique.
--	--

Chapitre 02 : les champignons entomopathogènes

2.1 Présentation de règne fongique

2.1.1 Caractères généraux

Les moisissures ou champignons filamenteux sont des acteurs importants du monde microbien. Ils peuvent être définis comme des microorganismes hétérotrophes filamenteux et immobiles (**Abdollahi et al., 2019**), elles exigent donc la présence des éléments nutritifs de base (carbone, azote et ions minéraux) dans le milieu qui assure leur croissance (**Davet, 1996**), ils ont une structure cellulaire celle d'une cellule eucaryote classique (**Abdollahi et al., 2019**) caractérisé par l'absence de chloroplastes et par la composition de la paroi des cellules constituée de chitine. Ils sont, en majorités pluricellulaires et omniprésents dans l'environnement, se retrouvent sur tous les continents, à toutes les latitudes, et prolifèrent dans tous les écosystèmes terrestres et aquatiques (**Després, 2012**).

Les champignons partagent une structure anatomique générale composée d'une partie végétative, le mycélium, composé des filaments tubulaires habituellement ramifiés, les hyphes. Sont le plus souvent cloisonnées, en particulier les zygomycètes, caractérisés par des hyphes non cloisonnées (**Després, 2012**).

Les facteurs physicochimiques (pH, Température, humidité..) ont une grande influence sur le développement des moisissures ainsi que sur la germination : La température et l'humidité ont un rôle dans la croissance mycélienne, ils interviennent également dans la sporulation et la germination des spores (**Bourgeois, 1989**), aussi la quantité d'oxygène est un facteur important de développement, La plupart des champignons sont aérobies. La majorité se développe dans une zone de pH de 4.5 – 8.0 (**Botton et al., 1999**).

Les mycologues divisent les champignons en trois grandes catégories selon leur mode de vie : les saprobiontes se nourrissent de matière organique morte ou décomposée, les parasites tirent leur énergie de la matière organique vivante, comme les plantes, les arbres et les animaux; alors que les symbiotes vivent dans la symbiose avec d'autres organismes, une association bénéfique pour les deux partenaires. il en est ainsi des lichens, une association entre algues et champignons, et des champignons mychoriziens, une association entre champignons et racines de végétaux (**Després, 2012**).

La reproduction et la dissémination des moisissures s'effectuent grâce à la formation des cellules particulières, les spores et qui peuvent avoir une origine sexuelle ou végétative (**Guiraud., 1998**). La Reproduction asexuée n'implique qu'un seul hyphe produisant des spores

à partir de cellules spécialisées se fait sans recombinaison génétique, selon différents modes : par la formation des spores, qui sont produites à l'intérieur de sporanges ou portées par des conidiospores (conidies), issues de fragmentation du mycélium. La reproduction sexuée, nécessite la rencontre de deux hyphes et entraîne le mélange de leur bagage génétique (Després, 2012). Les gamètes, issus de partenaires différentes et permettant le brassage de leurs caractères génétiques respectifs (Botton *et al.*, 1990).

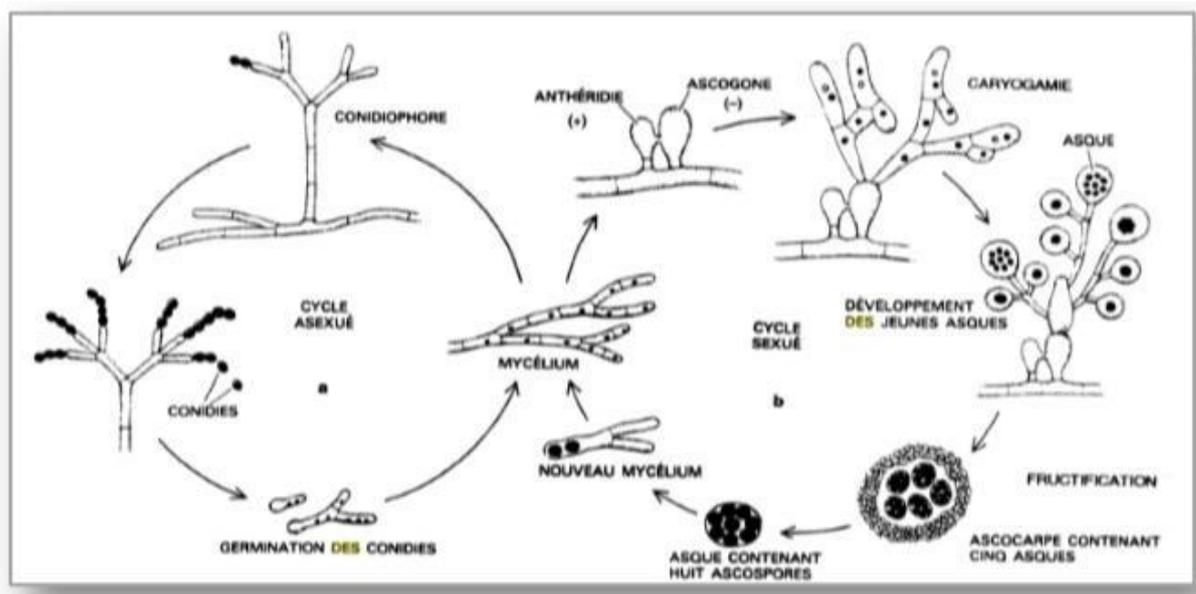


Figure 06 : cycle de reproduction des champignons (Meyer *et al.*, 2004)

2.1.2 Classification des champignons

La classification des champignons est basée sur des caractères morphologiques (structure du mycélium) et le mode de reproduction (Davet, 1996).

La classification des champignons est en constante évolution. Pendant longtemps, elle s'est appuyée sur celle de **Hawksworth, Sutton et Ainsworth (Hawksworth *et al.*, 1995)**. Fondée sur des caractères morphologiques simples, elle a longtemps fait références, nécessitant une réorganisation de la taxinomie. La classification, proposée par **Know Chung et Benet (Kwon-Chung *et al.*, 1992)**, actualisée par **Sutton *et al.*, (1998)** et de **Hoog et Guarro (2000)** fait référence aujourd'hui.

On distingue quatre divisions : les *Mastigornycotina*, les *Zygomycotina*, *Ascomycotina* et les *Basidiomycotina* (chabasse *et al.*, 1999).

Lorsque la reproduction sexuée n'est pas connue la division est appelée *fungi imperfecti* ou *Deuteromycotina* (chabasse *et al.*, 1999)

Le tableau ci-dessous présente les différentes divisions avec leurs caractéristiques.

Tableau 03: classification des champignons (**Chabasse et al., 1999 ; Botton et al., 1990 ; Chabasse et al., 2002 ; Després, 2012**)

Division	Classe	Caractéristiques de division
<i>Mastigomycotina</i>	<i>Chytridomycètes</i> <i>Oomycètes</i>	Présence de spores asexuées munies de flagelles
<i>Zygomycotina</i>	<i>Zygomycètes</i> Ordre : mucorales, Entomophthorales	Formation des spores sexuées appelées zygospores
<i>Ascomycotina</i>	<i>Ascomycète</i> filamenteux <i>Hemiacomycètes</i>	- Les spores de reproduction sexuée sont des ascospores. - thalle septé ou levuroïde.
<i>Basidiomycotina</i>	<i>Teliomycètes</i> <i>Homobasidiomycètes</i> <i>Phragmobasidiomycètes</i>	un thalle cloisonné avec présence de « boucles » la production de spores sexuées, appelées basidiospores.
<i>Deuteromycotina</i>	<i>Coelomycètes</i> (champignons filamenteux produisant des pycnides) <i>Blastomycètes</i> (ensemble des levures) <i>Hyphomycètes</i> (ou champignons filamenteux)	se multiplie au moyen de conidies. unicellulaires (levures) ou à thalle filamenteux septé.

2.1.3 Identification des champignons

L'identification des champignons filamenteux repose sur des critères culturels, température de croissance et vitesse de pousse, mais surtout sur des critères morphologiques associant l'aspect macroscopique des cultures et la morphologie microscopique (**Tikour, 2018**).

• Caractères macroscopiques

Les critères macroscopiques reposent sur l'observation des colonies et de leur couleur recto et verso, leur taille, leur relief, leur aspect (filamenteux, collant) (**Boudih, 2011**).

- **L'aspect des colonies :** duveteuses avec une texture épaisse, laineuse, floconneuse, ou veloutées.

- **Le relief des colonies** : plane, surélevée ou striée ;
- **La taille des colonies** : elle peut varier en fonction des genres fongiques ;
- **La couleur des colonies** : vert-olive, brunes ou noires, blanches, jaunes ou rouges. Les pigments sont localisés soit au niveau du mycélium ou bien diffusés dans le milieu de culture (Ouled ahmed, 2019).

- **Caractères microscopiques**

Les critères microscopiques sont fondés sur l'aspect des filaments (ou hyphes) qui constituent le mycélium : hyphes septés (cloisonnés) ou non septés, mélanisés ou non, larges ou fins, à bords parallèles ou plutôt froissés (en ruban), la présence de ramification (quantité, angle de séparation des filaments, disposition des embranchements) et sur les spores (forme, origine : endogène ou exogène) (Blaize *et al.*, 2021).

2.2 Les champignons entomopathogènes

Les champignons entomopathogènes sont l'un des plus importants facteurs biotiques qui jouent un rôle de réglementation important dans l'environnement en ce qui concerne les populations d'espèces particulières ou arthropodes trophiques. La plupart d'entre eux poussent naturellement dans les sols du monde entier et plusieurs souches de certaines espèces de ce champignon sont enregistrées comme agents de lutte microbienne pour la lutte biologique (Piekarczyk *et al.*, 2019). Les études antérieures indiquent que plus de 500 espèces de champignons sont responsables de la pathogénicité des insectes. Certains d'entre eux sont *Beauveria*, *Entomophthora*, *Metarhizium*, *Neozygites*, *Nomuraea* et *Verticillium*. Ils atteignent une plus grande position parmi les agents de lutte biologique en raison de sa nature mortelle contre divers insectes (Thakur *et al.*, 2021). Montrant un haut degré d'efficacité dans l'infection de leur hôte qui peut agir en tant que régulateur pour minimiser la population d'insectes nuisibles (Islam *et al.*, 2021).

2.2.1 Définition

Les champignons entomopathogènes sont des micro-organismes parasites susceptibles de causer une infection et de tuer des arthropodes. Sont des microbes hétérogènes ayant une énorme importance écologique (Shukla *et al.*, 2021). Ils peuvent infecter leurs hôtes à tous les stades de développement: œufs, larves, nymphes et adultes (Touré, 2018).

Ils sont dispersés dans divers habitats tels que les zones agricoles, les forêts aquatiques, les pâturages, les zones urbaines et les déserts. Leur dispersion varie selon les espèces. Mais beaucoup d'entre eux peuvent être disponibles pratiquement partout dans le monde (**Islam et al., 2021**).

La figure ci-dessous présente les champignons entomopathogènes les plus courants



Figure 07 : Certains champignons entomopathogènes courants (**Shukla et al., 2021**)

2.2.2 Classification

Les champignons entomopathogènes se trouvent dans trois grands groupes : *Blastocladiomycota*, *Entomophthoromycota* et *Microsporidia*, et 12 classes différentes dans 6 phyla de champignons. *Ascomycota*, *Chytridiomycota*, *Deuteromycota*, *Oomycota* et *Zygomycota* sont les principales divisions abritant ces champignons pathogènes (**Shukla et al., 2021**). À ce jour, 12 espèces d'Oomycètes, 65 espèces de *Chytridiomycota*, 474 espèces d'*Entomophthoromycota*, 339 espèces de *Microsporidies*, 476 espèces d'*Ascomycota* et 238 espèces de *Basidiomycota* ont été décrites (**Araújo et Hughes, 2016; Jaber et Enkerli, 2017**).

- **Oomycota** : La caractéristique la plus distinctive des Oomycètes comprend la production de zoospores dans les sporanges, Les hyphes coenocytiques de ces champignons possèdent de la cellulose (sans chitine) et leurs zoospores sont

biflagellées. Ils sont parasitaires sur les animaux et les plantes, mais quelques espèces sont saprophytes. Ce phylum comprend des ordres *Lagenidiales*, et *Leptomitales*. *Lagenidium giganteum* et *Leptolegnia chapmanii* parasitent les larves de moustiques, les arthropodes, les crabes et certains crustacés aquatiques (Shukla *et al.*, 2021).

- ***Chytridiomycota*** : La caractéristique la plus distinctive des membres de ce phylum comprend la production de zoospores mobiles ayant un flagelle solitaire en forme de coup de fouet, inséré postérieurement. La paroi cellulaire des membres de ce groupe fongique est principalement composée de chitine. Ce phylum comprend les ordres *Blastocladales*, *Chytridiales* et *Blastocladales*. Certains genres communs appartenant à ce phylum comprennent *Coelomomyces*, *Coelomycidium*, *Myriophagus*, *Coelomycidium* (Blastocladales), et *Myriophagus* (Chytridiales). Les insectes hôtes les plus communs infectés par ces insectes sont les membres des hémiptères, des diptères et des moustiques (Shukla *et al.*, 2021).
- ***Zygomycota*** : Les membres de ce groupe fongique possèdent des mycéliums multicellulaires et non septiques, et après fusion, les zygospores de forme gametangia (stade sexuel), qui est l'une des caractéristiques les plus caractéristiques de ce groupe. La classe des trichomycètes au sein du phylum comprend principalement des espèces apparentées aux insectes. l'ordre des *entomophthorales* détient plus de 200 insectes infectant des espèces telles que *Batkoa apiculata*, *Entomophaga grylli*, *Enomophaga maimaiga*, *Conidiobolus thromboids*. Les insectes hôtes les plus communs infectés sont les hémiptères, les homoptères, les lépidoptères, les sauterelles, les diptères, les cicadelles, les lépidoptères, les larves de la spongieuse et d'autres (Shukla *et al.*, 2021).
- ***Ascomycota et Deutéromycota*** : Les membres du phylum *Deuteromycota* sont bien caractérisés par la présence de mycélium septique portant des conidiophores et ils se reproduisent par des conidies. Toutefois, les membres appartenant au phylum *Ascomycota* présentent une caractéristique distinctive, les « ascospores », qui se développent dans le fructificateur, appelé ascus. En général, huit ascospores sont produites par formation d'ascètes portant des ascospores. L'ordre *Hypocreales* appartenant à *Ascomycota* comprend divers genres, y compris *Aspergillus*, *Aschersonia*, *Beauveria*, *Culicinomyces*, *Metarhizium*, *Hirsutella*, *Tolyptocladium*, *Lecanicillium*, *Paecilomyces*, et d'autres. De plus, plus de 300 espèces entomopathogènes sont présentes chez *Cordyceps*. Parmi les nombreux insectes hôtes

infectés par eux figurent les aleurodes, les sauterelles, les moustiques, les coléoptères, les hyménoptères, les lépidoptères, la noctuelle codante, le charançon des bolles, la punaise des chènes, le charançon du grenier, le curculio du niébé, la punaise lygale, la sauterelle brune, l'alésage de la canne à sucre et d'autres (Shukla *et al.*, 2021).

➤ **Basidiomycota** : L'une des caractéristiques exclusives pour les membres comprend les « anse d'anastomose ». Leurs spores sexuelles appelées basidiospores sont formées à l'extérieur des cellules reproductrices appelées basidies. Les membres de ce groupe appartiennent aux ordres *Septobasidiales* et *Atheliales*. Seuls quelques basidiomycètes sont déclarés pathogènes pour les insectes. Les genres entomopathogènes communs comprennent *Fibula rhizoctonia*, *Uredinella* et *Septobasidium*, et l'insecte hôte infecté par ces espèces comprend les œufs de termites et les cochenilles (Diaspididae, Hemiptera) (Shukla *et al.*, 2021).

➤ **Entomophthoromycota**

Le mycélium est bien défini, coenocytique, ou septé dans un état somatique. Le protoplaste est de forme changeante, soit amibe ou hyphoïde, et quelques membres forment des rhizoïdes ou des cystides. Leurs conidiophores sont ramifiés ou non ramifiés et les spores primaires sont de véritables conidies avec des conditions uni-, pluri-, ou multinucléées. L'ordre *Entomophthorales* comprend diverses espèces, comme *Entomophthora planchoniana*, *Pandora neoaphidis* et *Entomophaga maimaiga*, qui infectent certaines larves de lépidoptères et diverses espèces de pucerons (Shukla *et al.*, 2021).

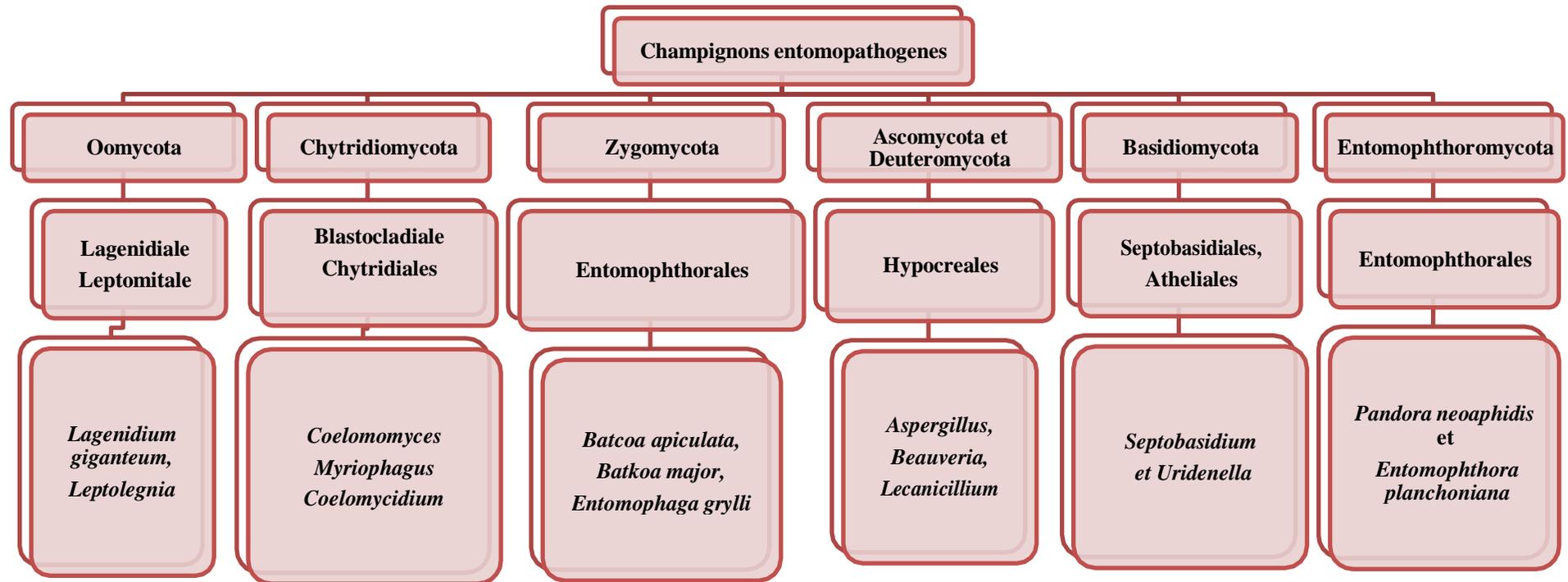


Figure 08 : Classification des champignons entomopathogènes (Shukla *et al.*, 2021)

2.2.3 Mode d'infection des champignons entomopathogènes

La cuticule d'insecte est une barrière structurellement complexe qui empêche le champignon envahisseur de pénétrer et d'établir une infection, constituée de deux parties principales, soit l'épicuticule et la procuticule. La mince couche extérieure appelée épicuticule est enveloppée d'un revêtement cireux imperméable. La procuticule épaisse comprend principalement des fibrilles de chitine incorporées dans une matrice protéique (Ambethgar, 2018).

La pénétration de champignons à travers la barrière massive présentée par la cuticule de l'insecte serait due à l'action synchronisée de la pression mécanique et de la dégradation enzymatique, ce qui ouvre la voie à une infection réussie de l'établissement. Le processus d'infection d'un champignon dans l'insecte est progressé par une série d'événements métaboliques systématiques qui sont cruciaux pour le succès de l'établissement de la mycose.

- a) Adhérence des propagules fongiques à la cuticule.
- (b) Germination des spores conidiennes sur la cuticule.
- (c) Formation de l'appressorium.
- d) Pénétration du champignon dans la cuticule.
- (e) Prolifération des blastospores paralyse dans l'hémocoèle.
- f) La production de mycotoxines dans l'insecte hôte.
- g) Mort de l'insecte hôte. (Ambethgar, 2018)

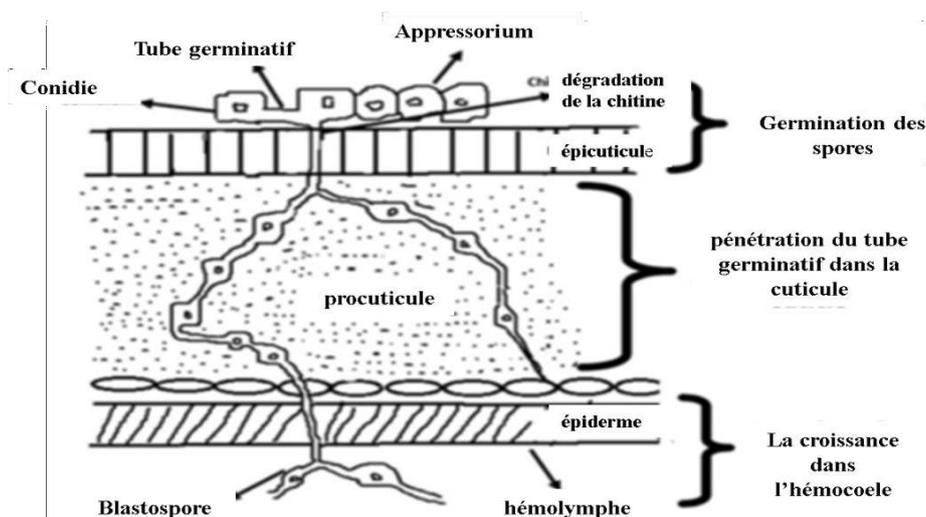


Figure 09 : Schématisation de la cuticule d'un insecte et le mécanisme d'action des champignons entomopathogènes (Shukla *et al.*, 2021)

+ Adhésion :

Le processus d'infection commence par l'adhésion des spores aux coquilles d'arthropodes et se déroule en deux étapes : la première dépend de l'action des forces hydrophobes et électrostatiques et la seconde nécessite l'activité des enzymes (lipase, la catalase, la protéase, le cytochrome P450 et la chitinase) et des protéines de faible poids moléculaire appelées hydrophobines (Litwin *et al.*, 2021 ; Islam *et al.*, 2021).

+ Germination :

Après l'adhésion, les spores germent et sa croissance est fortement affectée par le pH, la température, l'oxygène et les nutriments disponibles. et également par les toxines produites par la cuticule de l'hôte. Les champignons germent en présence de sources de carbone non spécifiques et de sources azotées. Cependant, certains champignons entomopathogènes nécessitent des composés spécifiques pour leur croissance et leur développement (Islam *et al.*, 2021).

+ Pénétration :

Les champignons entomopathogènes infectent l'hôte en pénétrant directement la cuticule ou par les pièces buccales. Les champignons pénètrent la cuticule de l'insecte par la formation d'un tube germinatif ou en établissant un appressorium qui fixe la cuticule et favorisant la pénétration.

Les champignons doivent pénétrer la surface et atteindre la structure interne (l'hémocoèle) pour l'absorption des nutriments pour sa croissance végétative et reproductive. Cela nécessite à la fois une panne enzymatique (lipases, estérases, différents pro- thés et chitinases) et des pressions mécaniques. Toutes ces enzymes travaillent en collaboration pour faciliter la pénétration dans la cuticule de l'insecte. Une fois que la cuticule a été pénétrée, l'objectif des champignons est d'atteindre le système respiratoire de l'insecte et d'obtenir une nutrition maximale (Islam *et al.*, 2021).

+ Prolifération :

Après avoir pénétré la cavité corporelle de l'arthropode (hémocoèle), les hyphes fongiques commencent à croître. Et peuvent produire des blastospores qui pénètrent dans l'hémolymphe de l'hôte et produisent des hyphes secondaires à l'intérieur des tissus de l'hôte. Le processus est suivi par la synthèse et la production de métabolites secondaires qui provoquent la paralysie et perturbent les processus physiologiques de l'hôte. En raison du développement de l'infection, le corps de l'insecte est détruit par des dommages mécaniques aux organes internes causés par le développement des hyphes et l'épuisement des nutriments.

À la suite de l'infection progressive, le corps de l'insecte, devient rigide en raison d'absorption de liquide par le champignon. Après avoir tué l'insecte et en utilisant toute la nutrition, les hyphes du champignon émergent du cadavre de l'hôte à travers des trous (la bouche et l'anus), et au niveau inter segmentaires. Ensuite, des spores au repos ou

infectieuses sont produites, ce qui permet au champignon de se propager et d'infecter d'autres individus (Litwin *et al.*, 2020).

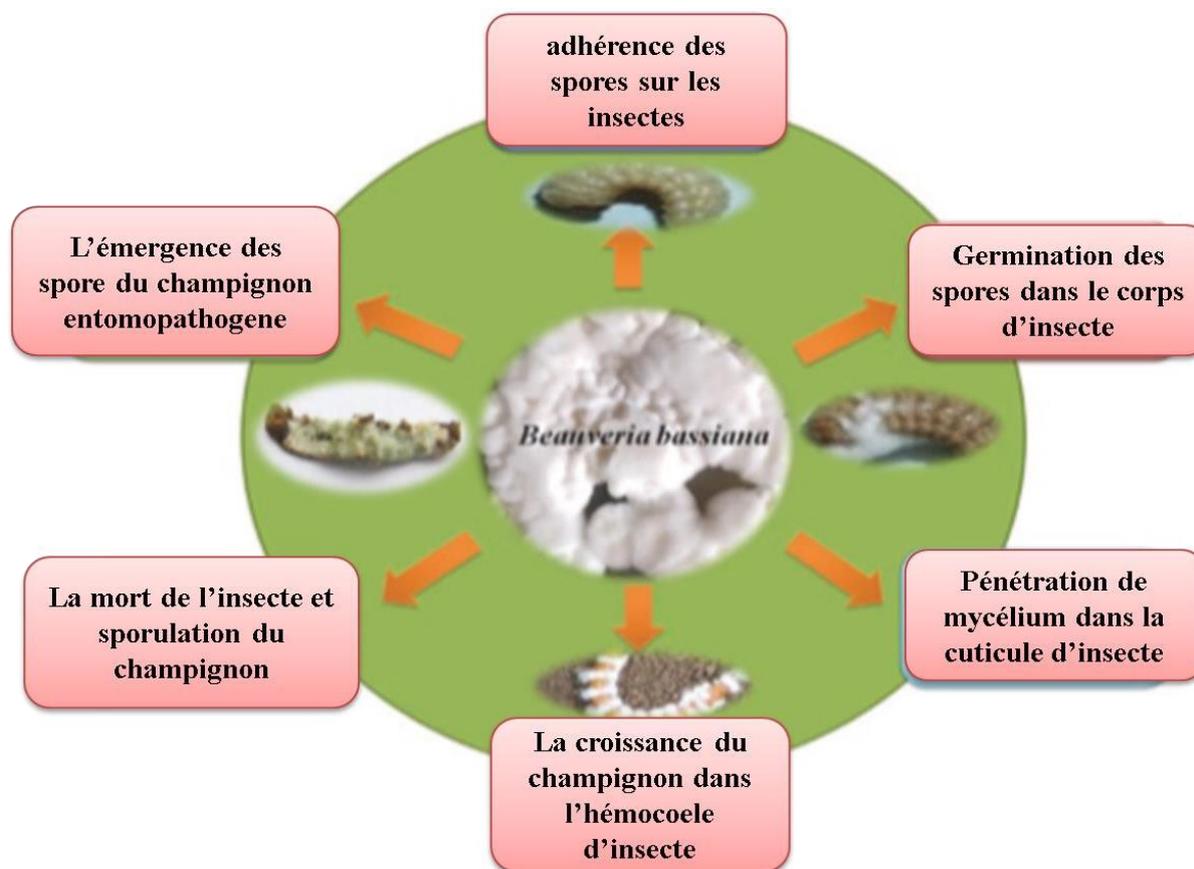


Figure 10 : cycle de vie des champignons entomopathogènes (Sharma *et al.*, 2020)

2.2.4 Facteurs modulateurs des phénomènes pathogènes

La virulence et la durée de vie dépendent des facteurs environnementaux biotiques et abiotiques (Thakur *et al.*, 2020), sont reconnus pour inhiber l'efficacité fongique. Les stress abiotiques associés au rayonnement ultraviolet (UV), l'humidité, la température élevée, le pH entraînent des performances incohérentes, limitant l'efficacité des champignons entomopathogènes, retardant la mortalité des insectes, affectant la viabilité des champignons et peuvent réduire le processus d'infection (Sharma *et al.*, 2020).

D'autres facteurs abiotiques importants sont le vent et la lumière du soleil qui influencent l'interaction entre l'hôte et l'agent pathogène (Islam *et al.*, 2021).

Le stade de l'hôte peut également avoir un impact négatif sur l'efficacité des champignons entomopathogènes, Les stades immatures des insectes sont plus sensibles à

l'infection fongique que les stades matures. Le comportement des insectes peut également réduire l'efficacité d'une infection fongique (**Sharma *et al.*, 2020**).

La spécificité de l'hôte est un élément essentiel dans le choix d'un bon candidat à la lutte biologique. Elle varie considérablement entre les genres, la plupart des souches sont très spécifiques et peuvent causer plus d'infection à un hôte étroitement apparenté, tandis que la gamme d'hôtes est limitée pour d'autres groupes de champignons entomopathogènes (**Islam *et al.*, 2021**).

DEUXIÈME PARTIE :

PARTIE

EXPÉRIMENTALE

CHAPITRE I :
MATÉRIEL ET
MÉTHODES

L'étude expérimentale de ce travail a été menée au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des Sciences de la nature et de la vie de l'Université Akli Mohand Oulhadj ,Bouira.

L'objectif de cette partie est :

- la recherche et l'isolement des champignons entomopathogènes à partir du sol.
- L'identification d'une gamme de champignons.
- L'évaluation de leurs pathogénicité vis-à-vis les stades aquatiques (L4 et nymphe) du moustique *Culex pipiens*.

I. Matériel

I.1. Matériel non biologique : L'ensemble des matériels est représenté dans l'annexe 1. il comporte les équipements, de verreries de laboratoire et des produits chimiques ainsi que les milieux de culture. Pour la collecte et le traitement on a utilisé des seaux, seringues, gobelets poudre de biscuit sec et tulle mousquetaire.

I.2. Matériel biologique

Matériel entomologique : *Culex pipiens*

L'étude de l'activité biologique de nos souches identifiées a été conduite sur les stades aquatiques (L4 et nymphe) du moustique domestique *Culex pipiens*.

Notre travail porte sur la recherche des souches fongiques entomopathogènes pour cela des échantillons de sol sont prélevés à partir de trois sites de la wilaya de Bouira : Kadiria, M'chedallah et Ain Bessam dans un but d'isoler des souches fongiques entomopathogènes (Figure 11).

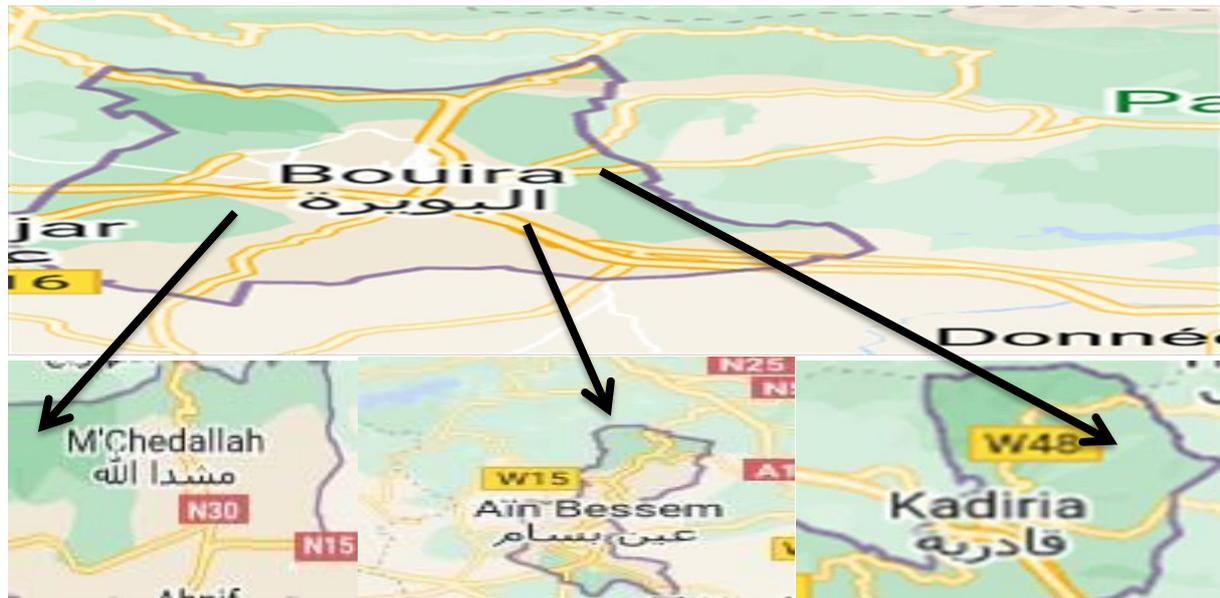


Figure 11 : présentation géographique des sites de prélèvement (Google Maps, 2022)

II. Méthodes

II.1. Echantillonnage :

Les échantillons du sol , ont été prélevés après avoir écarté légèrement les cinq premiers centimètres du sol, une quantité suffisante de terre est prélevée à l'horizon de 10 à 15 cm de profondeur puis déposée à l'aide d'une spatule sur une feuille d'aluminium stérile écartant les pierres et les débris végétaux, les échantillons ont été récupérés dans un sachet stérile, ensuite transportés immédiatement au réfrigérateur (4°C).

Tableau 04: Caractéristiques des échantillons du sol utilisés (originale, 2022)

Site d'échantillonnage	Kadiria	Ain bessam	M'chedallah
Age			
Date	13 mars	13 mars	14 mars
Endroit	Sol d'un olivier	Champs de pomme de Terre	Avoisinant une eau stagnante
Photos			

II.2. Analyses physico-chimique du sol

II.2.1. Détermination du pH des échantillons

Cette analyse fait partie des plus importantes caractéristiques physico-chimiques des sols qui consiste à déterminer la valeur du pH d'une suspension de sol tamisé et mise dans l'eau distillée (10g de sol pour 90 ml d'eau distillée) à l'aide d'un pH-mètre (Davet, 1996).

II.2.2. La salinité du sol

Dans un flacon d'agitation on met 10g de sol dans 90 ml d'eau distillé. Agitation pendant 01 heure puis on mesure la conductivité électrique à l'aide d'un conductimètre.

La salinité des sols mesurés sont en fonctions de la conductivité électrique comme représente le tableau 05.

Tableau 05 : la salinité des sols en fonction de la conductivité électrique (Bocoum, 2004).

La conductivité électrique $\mu\text{s}/\text{cm}$	Le sol
<250	Non salin
250-500	Légèrement salin
500-1000	Salin
1000-2000	Très salin
>2000	Extrêmement salin

II.3. Isolement des champignons à partir du sol

Pour préparer les suspensions du sol, 10g de chaque échantillon a été bien tamisé et dilué dans 90 ml d'eau distillée stérile, et homogénéisé pendant 10 minutes à l'aide d'un agitateur magnétique. Cette dilution représente la solution mère à partir de laquelle d'autres dilutions sont préparées jusqu'à 10^{-3} . Chaque dilution d'un échantillon a été étalée à la surface des milieux gélosés (Sabouraud) à raison de 01 ml, et attribué d'un code désignant son origine et son degré de dilution. Les boîtes ont été incubées à 28°C et observées quotidiennement pendant 07 à 15 jours.

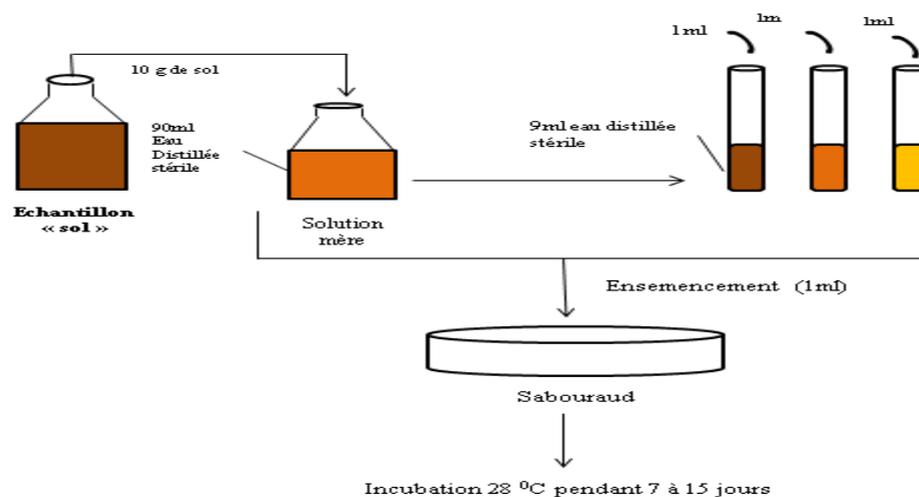


Figure 12 : schéma d'isolement des microorganismes à partir de sol

II.3.1. Repiquage et Purification

Les colonies précédemment isolées ont été repiquées successivement jusqu'à l'obtention de souches pures, sur chaque boîte de Pétri d'une seule colonie d'un champignon. Le repiquage a été fait par prélèvement d'un fragment de colonie à l'aide d'une anse de platine tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boîte en utilisant le milieu PDA. Ce dernier se considère comme un milieu favorable de développement (rapide) des champignons, ainsi à la production des spores (**Botton et al., 1990**). Les souches, ainsi obtenues, ont été conservées dans le réfrigérateur à (4°C). (Figure 13)

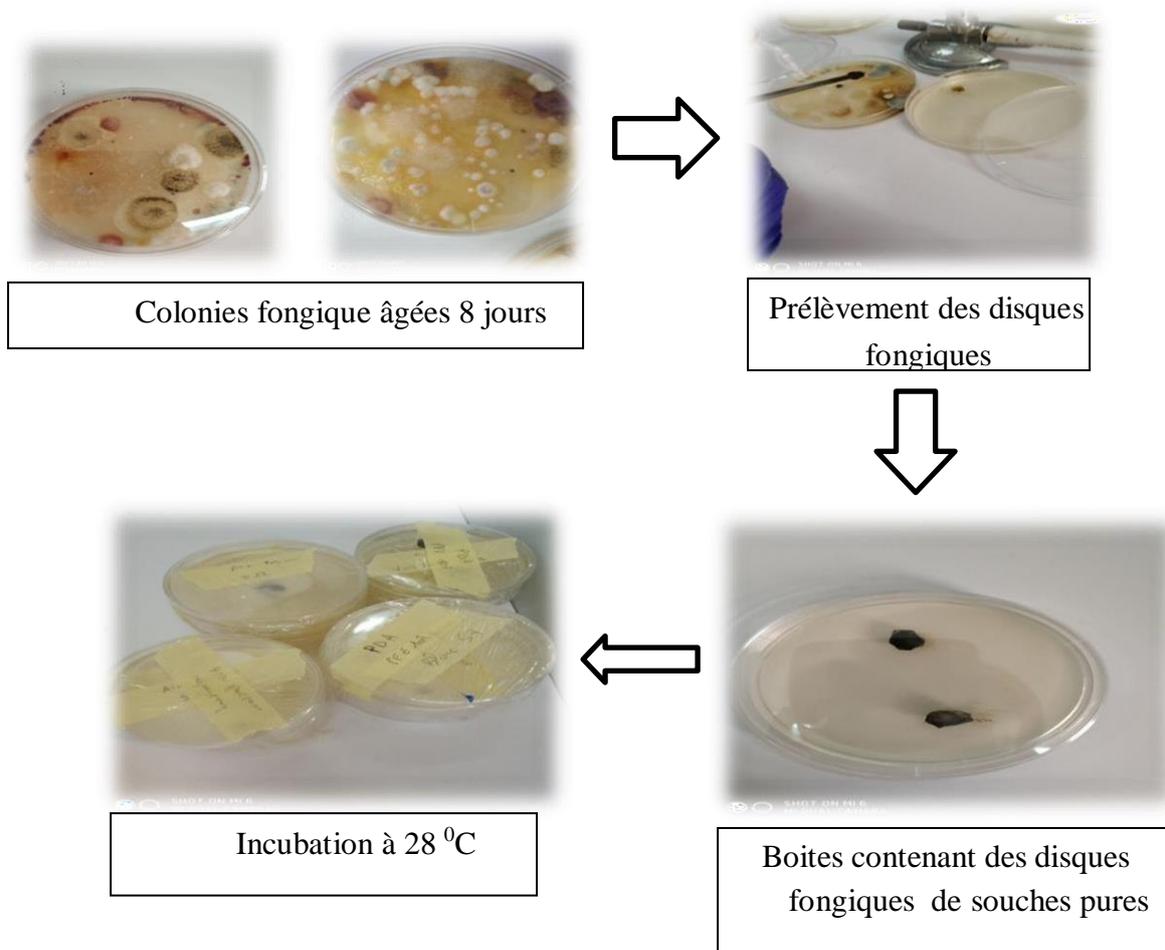


Figure 13 : Purification et conservation des souches isolées (originale, 2022)

II.3.2. Méthodes d'identification

Les champignons microscopiques présentent une grande variabilité physiologique, mais aussi une grande variabilité génétique.

Conventionnellement, l'identification des genres fongiques repose sur l'observation des critères morphologiques par l'observation macroscopique et microscopique (Maamar, 2014).

II.3.2.1 Observation macroscopique

L'observation macroscopique des colonies permet d'effectuer une première caractérisation (aspect des colonies et de leurs revers, la taille et la couleur) (Boudih, 2011).

II.3.2.2 Observation microscopique

L'observation de la morphologie des chaînes de spores et celle du mycélium s'est faite en utilisant le ruban adhésif, en appuyant légèrement avec un morceau de ruban sur la souche. La manipulation a été réalisée devant le bec bunsen afin d'éviter la contamination des souches pures. On a collé le scotch contenant la souche sur une lame stérile et examiné au microscope optique à l'objectif $\times 40$.

II.3.3. Le relevé de l'abondance des souches fongiques isolées:

Nous avons procédé au calcul du relevé de l'abondance des espèces fongiques isolées à partir du sol dans un but d'estimer les espèces des champignons telluriques qui prédominent au niveau de ce dernier, les calculs sont réalisés selon la formule suivante (Jean- Michel, 2006)

$$P(s) = \frac{N(s)}{N(t)} \times 100$$

P (s) : Taux d'abondance de l'isolat fongique exprimé en %.

N (s) : Nombre d'isolats appartenant à une même espèce fongique isolée.

N (t) : Nombre totale des isolats fongiques isolés.

II.3.4. Sélection des souches fongiques entomopathogènes:

Afin de démontrer la pathogénicité des souches isolées vis-à-vis du moustique domestique *Culex pipiens* des essais de toxicité des champignons ont été mis au point pour permettre une sélection primaire de souches entomopathogènes, des suspensions fongiques sont préparées à base de chaque champignon (à une dose de 10^6 spores/ml) pour tester l'efficacité de ce dernier sur les nymphes et les larves du 4^{ème} stade de *Culex pipiens*.

II.4. Application des champignons entomopathogènes sélectionnés sur les différents stades aquatiques du *Culex pipiens*:

II.4.1. Test de pathogénicité:

Afin d'identifier la pathogénicité de notre isolats, nous avons adopté l'interaction entre deux souches fongique qui a été identifié avec l'un des nymphes et les stades larvaires de *Culex pipiens* pour mesurer la toxicité des champignons par contact et ingestion (**Butt et Goettel, 2000**).

II.4.2. Récolte des nymphes et les stades larvaires:

Durant la période du mois de mai 2022, une prospection préliminaire pour la collecte des larves et des nymphes de moustiques a été conduite dans un gîte larvaire représenté par une fontaine situé sur l'université de Bouira (figure 14). Pour échantillonner les larves on doit s'approcher lentement du gîte, car toute perturbation est susceptible de faire plonger les larves et les nymphes au fond du gîte et de les rendre inaccessibles. La récolte est faite dans des bacs en plastique à l'aide des seaux et seringue, Les larves et les nymphes contenues dans les bacs, sont ensuite transportées aux laboratoires.



Figure 14 : Gîte larvaire utilisé dans l'étude (**originale, 2022**)

II.4.3. Le tri:

Les larves et les nymphes ont été mis dans des gobelets en plastique portant le code du gîte et recouverts de tulle moustiquaire contenant l'eau de leur gîte pour un élevage temporaire.

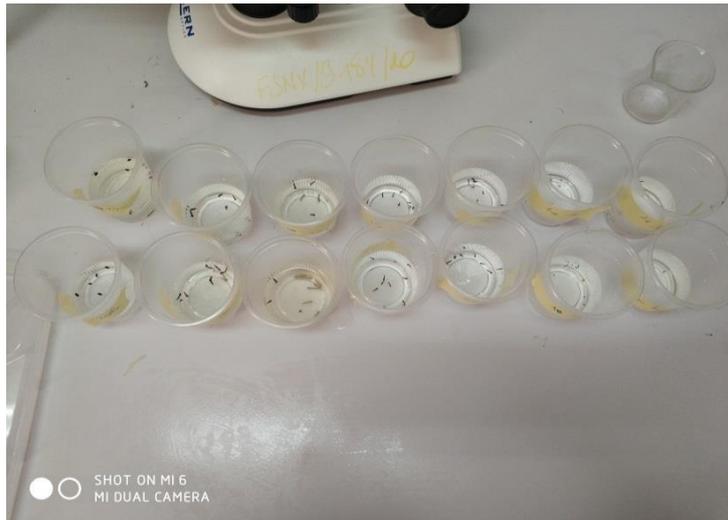


Figure 15 : le tri des stades aquatique (L4 et nymphe) (originale, 2022)

Selon **Roth (1980)**, la différenciation entre les stades larvaires se base sur la taille de l'individu.

Le tableau 06 représente le nombre et les tailles des différents stades de développements du *Culex pipiens* après collecte.

Tableau 06 : le nombre et les tailles des différents stades de développement du *Culex pipiens*

Les individus	La taille	Le nombre
Larve stade 4	5 à 6 mm	50
Nymphe	5 mm	30

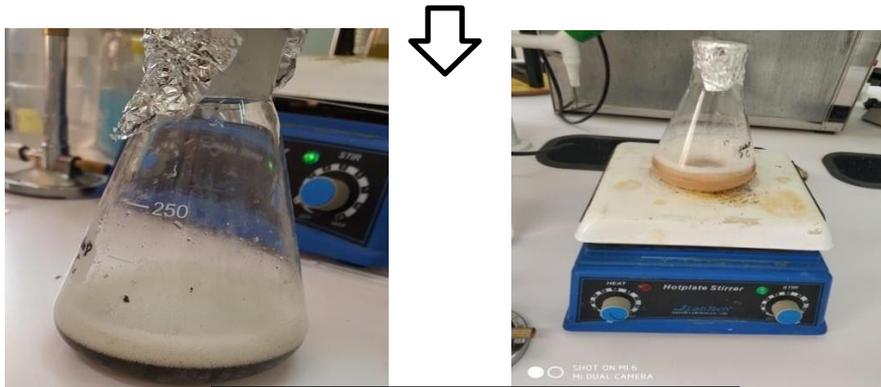
II.4.4. Préparation de la solution fongique:

la solution mère est Préparée à partir des colonies âgées de 10 jours, des petits fragments sont prélevés devant le bec bunsen et mises dans un Erlenmeyer contenant 50 ml d'eau physiologie stérile qu' on ferme hermétiquement pour éviter toute contamination.

On fait agiter la solution sur une plaque d'agitation pendant 30 minutes en ajoutant 02 gouttes de réactif Tween 80, pour permettre une libération maximale des spores. Et la concentration de la solution entomopathogènes 10^6 spores / ml a été évaluée à l'aide d'une cellule hematométrique « Cellule de Malassez ».



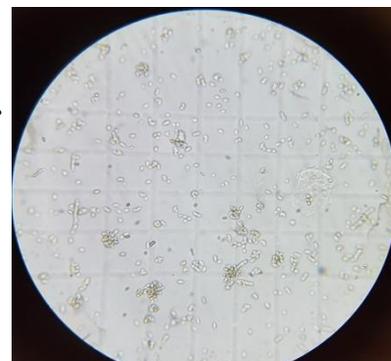
Les souches fongiques entomopathogènes



Agitation de solution



Remplissage de la cellule de Malassez



Comptage des spores

Figure 16: les étapes de la préparation solution fongique (originale, 2022).

II.4.5. Mode de traitement:

Pour administrer la solution fongique préparée à nos insectes, nous avons pris des gobelets en plastique contenant l'eau de gîte à raison de 50 ml contenant 10 individus de stade L4 et nymphe. Puis on a ajouté 5ml de la solution fongique dans chaque gobelet. Les individus témoins du même stade, sont répartis de la même manière et comptent le même nombre que les individus traités. Chaque matin, les larves se nourrissent avec la poudre de biscuit sec. Les mortalités et les symptomatologies apparues sont relevées quotidiennement.

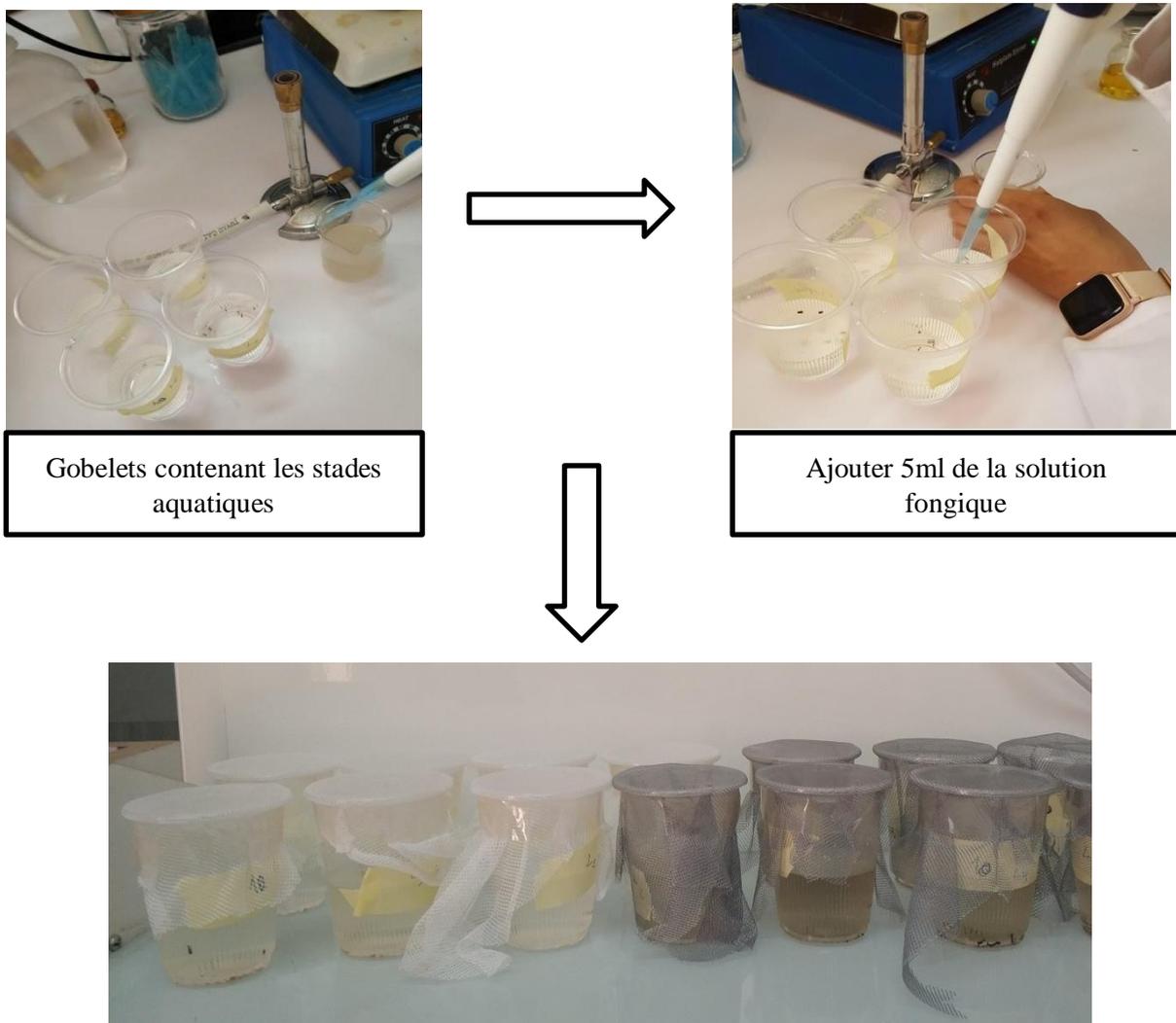


Figure 17 : réalisation du traitement (originale, 2022)

II.5. Traitement des données:**II.5.1. Calcul du pourcentage de mortalité:**

Le pourcentage de mortalité observée chez les individus traité et témoins sont calculé par la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée} = \frac{\text{Nombre d'individu morts}}{\text{Nombre total des individus}} \times 100$$

La mortalité observée est ensuite corrigée par la formule d'**Abbot (1992)** :

$$MC = \frac{M2 - M1}{100 - M1} \times 100$$

M1 : Pourcentage de mortalité dans le témoin.

M2 : Pourcentage de mortalité dans le lot traité.

MC : Pourcentage de mortalité corrigé.

CHAPITRE II :
RÉSULTATS ET
DISCUSSION

1. Résultats de la caractérisation physicochimique des échantillons du sol

Les résultats de l'étude physicochimique des échantillons du sol prélevés de la wilaya de Bouira (Kadiria, Ain bessam, M'chedallah) sont présentés dans le tableau ci-dessous. Les valeurs de pH varient entre 7.61 et 8.20. La valeur la plus élevée de la conductivité électrique a été enregistrée dans le sol de Ain bessam.

Tableau 07 : résultats de l'étude physicochimique des trois échantillons du sol

Echantillons	pH	Conductivité
Kadiria	7.61	353 $\mu\text{s/cm}$
Ain bessam	8.20	436 $\mu\text{s/cm}$
M'chedallah	8.03	343 $\mu\text{s/cm}$

Selon la classification de **Baize (2000)** (tableau 08), Le Ph de nos échantillons du sol prélevés est basique avoisinant une valeur de 8, comme le montre le tableau ci-dessus, le Ph basique considéré comme l'un des facteurs limitant la croissance et de la diversité de la flore fongique dans le sol.

Tableau 08 : classification des sols selon le pH (**Baize, 2000**)

Classes	pH
Hyper acide	<3.5
Très acide	3.5-4.2
Acide	4.2-5
Peu acide	5-6.5
Neutre	6.5-7.5
Basique	7.5-8.7
Très basique	>8.7

Les échantillons de sol possédant un pH basique favorisent plutôt le développement des populations bactériennes par rapport aux populations fongiques qui sont plutôt acidophiles (**Nicklin et al., 2000**). Cependant, **Botton et al. (1990)** mettent en évidence une croissance dans une large gamme de Ph allant de 4.5 à 8.0 pour les moisissures. En plus de l'adaptation du microorganisme à son biotope, la croissance ou la présence de certaines souches peuvent être expliquées par la richesse des sols en matières organiques.

La diversité fongique au sein des écosystèmes se trouve sous la dépendance de plusieurs facteurs, la nature du sol, sa composition, sa richesse en bases ou en matière organique, son Ph ou son extrême pauvreté trophique peuvent être déterminants pour régler la présence ou

l'absence de certaines espèces de champignons et l'expression d'une plus ou moins grande diversité fongique. Le pH du substrat est important pour le bon développement du mycélium et peut avoir un effet sur la récolte, peut subir des fluctuations. Certains champignons sont très tolérants à ces variations, d'autres beaucoup moins et même très restrictifs (fructification impossible). La plupart des champignons poussent entre un pH compris entre 4 et 8 mais chaque espèce à un pH optimal (**Boussaidi *et al.*, 2020**).

La salinité de nos échantillons a été estimée en fonction des valeurs de la conductivité électrique à 25°C pour les sols de trois régions ; nous avons enregistré que les sols sont légèrement salins (353µs/cm, 436 µs/cm, 343 µs/cm).

Les sols salés constituent, pour de nombreux micro-organismes telluriques, un milieu défavorable, en raison de la présence d'ions toxiques; du pH parfois très basique (10,0) et de la structure asphyxiante. Comme les autres facteurs inhibiteurs, la salure exerce sur la microflore tellurique une action différentielle telle que certains micro-organismes ou groupes de microorganismes sont peu touchés, alors que d'autres, plus sensibles, sont inhibés (**Dommergues et Mangenot, 1970**).

Wang *et al.* (2004) ont montré que la biomasse fongique, en culture de riz, était faible sur les sols à forte proportion de sable et à niveau de salinité élevée.

Donc le taux élevés de salinité dans le sol, joue un rôle néfaste pour le développement et la diversité des champignons.

2. Isolement des souches fongiques

L'isolement des moisissures à partir de différents échantillons du sol a permis d'obtenir plusieurs colonies fongiques de forme, de couleurs, d'aspects, et de pigments différents. Malgré les précautions prises, nous avons remarqué la présence de quelques colonies de levures peu abondantes et moyennement développées. Ces petits inconvénients sont dus probablement à la résistance de ces microorganismes aux conditions imposées. Cependant leur disparition est observée suite aux repiquages consécutifs nécessaires à la purification des souches fongiques.

L'isolement des champignons à partir de trois régions a mis en évidence 8 genres fongiques qui sont : *Aspergillus sp*, *Cladosporium sp*, *Fusarium sp*, *Mucor sp*, *Bauveria sp*, *Penicillium sp*, *Verticillium sp* et *Rhizomucor sp*.

3. Caractères macroscopiques et microscopiques des champignons isolés

L'identification de ces genres étant basée essentiellement sur les clés de détermination décrites par la littérature (**Botton *et al.*, 1990 ; Guiraud, 1998**), en se basant sur les caractères macroscopiques des colonies (aspect, couleur, forme, contour...etc.) et sur les caractères microscopiques du mycélium et des conidies ou spores (cloisonnement du mycélium, forme des spores, forme des organes de fructification...etc.). Les résultats sont présentés dans les tableaux 09 et 10.

3.1. Caractères macroscopiques des champignons isolés

L'identification se fait à l'œil nu, Le tableau suivant (tableau 09) résume l'aspect du mycélium des souches isolées, la consistance des colonies, la couleur du revers de la boîte ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque souche.

Tableau 09 : Etude Macroscopique des souches fongiques isolées à partir du sol.

Souches (code)	Origine	Description	Aspect macroscopique
S1	Ain bessam	Couleur : vert Aspect de colonie : poudreuse Pas de pigment	
S2	Ain bessam	Couleur : noir Aspect de colonie : poudreuse Pas de pigment	

S3	Ain bessam	Couleur : jaune à vert Aspect de colonie : poudreuse Pas de pigment	
S4	Ain bessam	Couleur : vert Aspect de colonie : poudreuse Pas de pigment	
S5	Ain bessam	Couleur : blanc à crème Aspect de colonie : duveteuse Pigment peut diffuser dans la gélose	
S6	Ain bessam	Couleur : blanc à beige Aspect de colonie : cotonneuse Pas de pigment	
S7	Ain bessam	Couleur : beige à brun Aspect de colonie : cotonneuse, duveteuse Pas de pigment	
S8	Ain bessam	Couleur : jaune à vert Aspect de colonie : poudreuse Pas de pigment	

S9	Ain bessam	Couleur : blanche Aspect de colonie : cotonneuse Pas de pigment	
S10	Ain bessam	Couleur: vert olive aspect de colonie: floconneuse et poudreuse Pas de pigment	
S11	Ain bessam	Couleur : blanc Aspect de colonie : cotonneuse Pas de pigment	
S12	Ain bessam	Couleur : blanc au centre à des extrémités foncé Aspect de colonie : cotonneuse Pas de pigment	
S13	Kadiria	Couleur : blanc à vert clair Aspect de colonie : duveteuse Pas de pigment	
S14	Kadiria	Couleur : noir Aspect de colonie : poudreuse Pas de pigment	

S15	Kadiria	Couleur : vert Aspect de colonie : poudreuse Pas de pigmentation	
S16	Kadiria	Couleur : blanc à crème Aspect de colonie : duveteuse Pigment peut diffuser dans la gélose	
S17	Kadiria	Couleur : vert avec des extrémités blanche Aspect de colonie : duveteuse, poudreuse Pas de pigment	
S18	Kadiria	Couleur : blanchâtre Aspect colonie : cotonneuse pas de pigment	
S19	M'chedallah	Couleur : blanc beige Aspect de colonie : floconneuse Pas de pigment	
S20	M'chedallah	Couleur : blanc Aspect de colonie: cotonneuse pas de pigmentation	
S21	M'chedallah	Couleur : noir Aspect de colonie : poudreuse Pas de pigment	

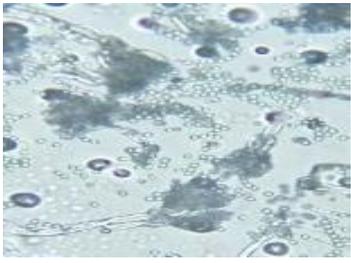
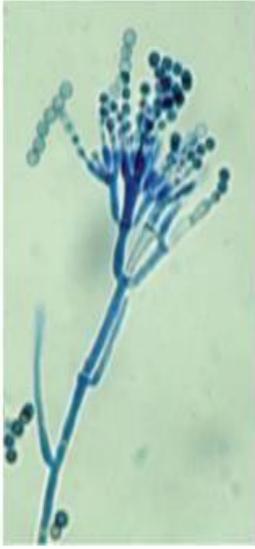
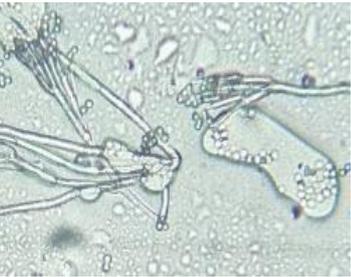
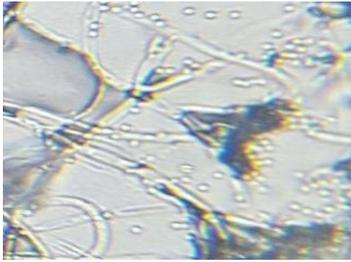
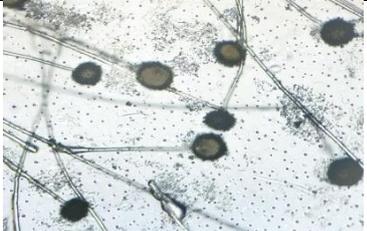
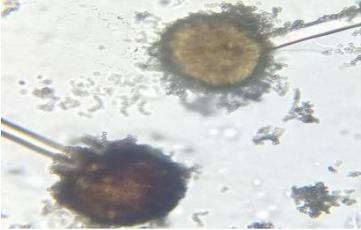
3.2. Caractères microscopiques des champignons isolés

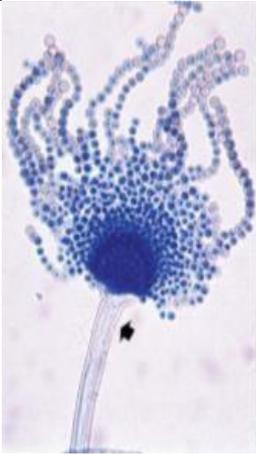
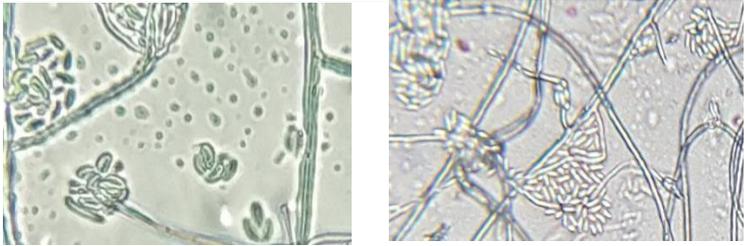
L'étude microscopique porte sur l'observation des structures caractéristiques des souches fongiques (Conidiophores, conidies et mycélium). Et elle est réalisée au G×40 (Tableau 10).

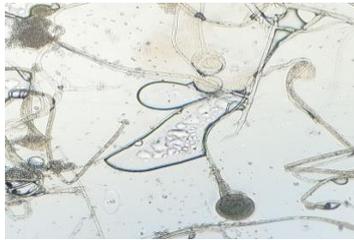
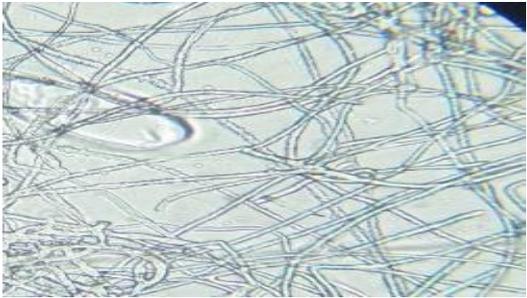
L'isolement à partir du sol de trois régions a permis l'obtention de 21 isolats fongiques appartenant à 8 genres : *Aspergillus sp*, *Muco spr*, *Penicillium sp*, *Rhizomuror sp*, *Fusarium sp*, *Beauveria sp*, *Verticilium sp* et *Cladosporium sp*.

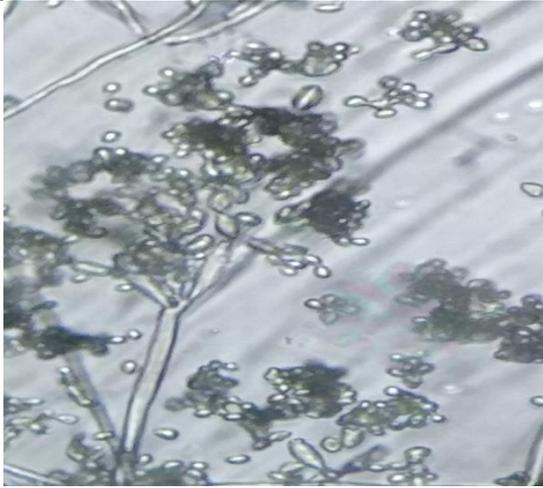
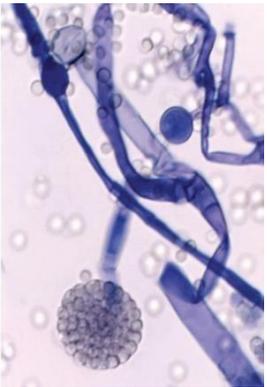
Pour déterminer le genre ou si possible l'espèce de nos isolats fongique. Les résultats obtenus sont comparés aux donnés de plusieurs références (**Elis *et al.*, 2007 ; Chabasse *et al.*, 2002 ; Dufresen *et al.*,2013 ; Barnett et Hunter, 2000 ; Pritchard et Muir, 1987 ; Sutton *et al.*,1998 ; Bukhari *et al.*, 2011**).

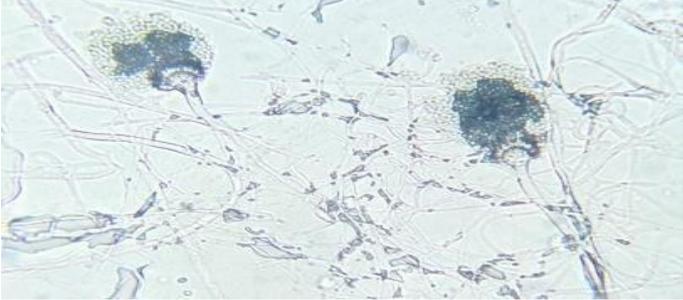
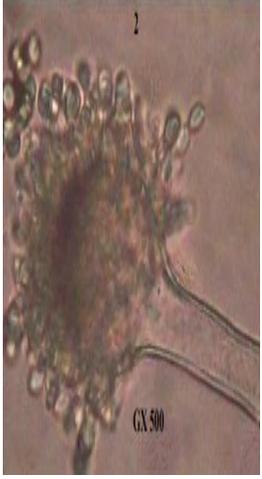
Tableau 10 : Etude Microscopique des souches fongiques isolées à partir du sol

Souches	Aspect microscopique	Référence
S1, S4		
S13, S15		
S17, S19		
		
		
		
	<p>-Hyphes hyalins</p> <p>-conidiophores dressés, ramifiés, terminé par des phialides.</p> <p>L'analyse de ses résultats a révélé que les 6 souches appartiennent au genre <i>Penicillium sp</i> mais des espèces différentes.</p>	Ellis et al., 2007
S2, S14		
S21		
		Chabasse et al., 2002

	<p>-Hyphes non septés -Conidiophore très longs et hyalins à brunares -Vésicules globuleuse L'analyse de ses résultats a révélé que les 3 souches appartiennent au genre <i>Aspergillus sp</i> , espèce <i>Aspergillus niger</i>.</p>	
S3, S8	 <p>-Conidiophores longs, hyalins,verruqueux avec des aspérités. -Vésicules sont sphérique. -Conidies globuleuse à subglobuleuses. -Tête aspergillaires radiées. L'analyse de ses résultats a révélé que les 2 souches appartiennent au genre <i>Aspergillus sp</i>, espèce <i>Aspergillus flavus</i>.</p>	 <p>Ellis et al., 2007</p>
S5,S16	 <p>-conidiophores courts et souvent ramifiés. -phialides peuvent avoir un ou plusieurs sites de bourgeonnement. - macroconidies fusiformes et cloisonnées L'analyse de ses résultats a révélé que les 2 souches appartiennent au genre <i>Fusarium sp</i>.</p>	 <p>Chabasse et al., 2002</p>

<p>S6,S7</p>	 	 <p>Chabasse et al.,2002</p>
<p>S11</p>	<p>-pas de stolons ni rhizoides -sporocystes globuleux. -spore rondes à ellipsoïdales, lisses ou ornementées de spicule</p> <p>L'analyse de ses résultats a révélé que les 2 souches appartiennent au genre <i>Mucor sp</i> .</p>	
<p>S9</p>	 <p>-conidiophores dressés, de teinte claire. -les verticilles constituent de 2 à 3 phialides. - 3 à 4 groupes de verticilles. -conidies unicellulaire,ovoïdes à éllipsoïdes.</p> <p>L'analyse de ses résultats a révélé que la souche appartient au genre <i>Verticilium sp</i>.</p>	 <p>Chabasse et al.,2002</p>

S10	 <p>-Hyphe septé et hyalins -conidiophores ramifiés, allongés et variables. -conidies en chaine acropétale,septées avec plusieurs sites conidiogènes. L'analyse de ses résultats a révélé que la souche appartient au genre <i>Cladosporium sp.</i></p>	 <p>Chabasse et al., 2002</p>
S12	 <p>-des conidiophores ramifiés et allongés. - des conidies en chaine acropétale, septées avec plusieurs sites conidiogènes. L'analyse de ses résultats a révélé que la souche 12 appartient au genre <i>Rhizomucor sp.</i></p>	 <p>Chabasse et al., 2002</p>
S18		

	<p>-Conidiophores en zigzag. -conidies unicellulaire disposés en grappes, de petite taille sur une cellule conidigène à croissance sympodiale. -L'apex de la cellule conidigène est très étroit, et présente un aspect plus au moins géciculé et denticulé. L'analyse de ses résultats a révélé que la souche (S18) appartient au genre <i>Beauveria sp.</i></p>	<p>Chabasse et al., 2002</p>
S20	 <p>-mycélium cloisonné. -conidiophores dressés et non ramifiés, terminés en vésicule. -des conidies en chaîne divergente. -des phialides formés directement sur la vésicule. L'analyse de ses résultats a révélé que la souche (S20) appartient au genre <i>Aspergillus sp.</i></p>	 <p>Ouattara-Sourabie et al., 2011</p>

4- Le relevé de l'abondance des souches fongiques isolées

L'isolement des champignons à partir des trois sols agricoles a mis en évidence 21 isolats. Le relevé d'abondance des genres a démontré que les genres les plus abondants sont *Aspergillus sp* et *Penicillium sp* avec un taux de 29 %, puis *Mucor sp* avec un taux de 14% , le *Fusarium sp* 10%, ensuite pour les 4 genres *Verticillium sp*, *Cladosporium sp* , *Beauveria sp* et *Rhizomucor* avec 5 % pour chacune (figure 18, Annexe 2).

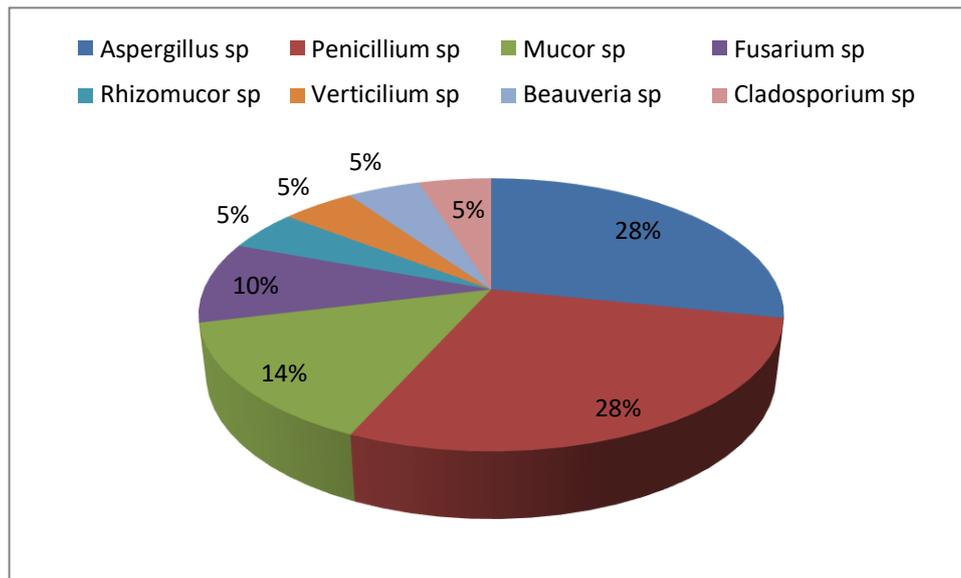


Figure 18 : Taux d'abondance des genres fongiques isolés

Les *Aspergillus* et *Penicillium* ont marqué leurs présences contrairement aux autres souches qui se sont présentées en nombre très réduit, résultats semblable à celui signalé par **Fenghour et al. (2002)** en isolant 22 souches fongiques à partir d'un sol de la région d'el Kala dans un but de recherche de l'activité pectinolytique de ces dernières.

Aspergillus et *Penicillium* sont des champignons cosmopolites résistants aux variations climatiques. La forte prédominance des *Penicillium* est due à leur pouvoir élevé de sporulation et à leur capacité de coloniser des milieux très différents même les plus complexes (**Bensamira, 2006**).

Le genre *Aspergillus* présente une fréquence d'apparition élevée, C'est un champignon omniprésent dans l'environnement et ubiquitaire à travers ses spores. Ces espèces thermotolérantes s'adaptent à des milieux fortement chargés en sels (osmophilie), des milieux secs (xérophilie) ou faiblement oxygénés (microaérophilie) (**Lyatim, 2008**).

Des souches fongiques similaires sont isolé par **Raja et al. (2017)** avec une forte abondance du genre *Aspergillus sp*, dans son étude sur l'isolement et l'identification des champignons à partir du sol dans le Campus du collège Loyola.

Nos résultats sont similaires aussi à **Ouali et Yadadane (2019)** en isolant des souches fongiques du sol sous *Pistacia atlantica* Desf. dedayate El-Gouffa (Laghouat, Algérie) qui ont marqué une codominance entre *Aspergillus* et *Penicilium*.

5. La sélection des souches fongiques entomopathogènes

Parmi les souches fongiques isolées à partir de trois régions étudiées on a identifié 04 souches entomopathogène (*Beauveria sp*, *Verticilium sp*, *Cladosporium sp* et *Aspergillus flavus*). Pour la poursuite de notre étude on a sélectionné 02 souches parmi ces dernières (*Beauveria sp* et *Cladosporium sp*), pour tester leur toxicité vis-à-vis du moustique domestique *Culex pipiens* (stade L4 et nymphes).

On a choisi ces 02 souches entomopathogènes, d'une part selon la bibliographie consultée concernant l'activité biologique intéressante de ces dernières et d'autres parts, l'absence de pathogénicité de ces souches vis-à-vis de l'être humain.

Beauveria sp est un agent de lutte très intéressant (**Kouassi, 2001**). ce champignon à l'avantage de ne pas faire partie des agents pathogènes dangereux pour l'homme et pour les animaux à sang chaud (**Tong kwee et al., 1989 ; Laird et al., 1990**). Il est parmi les premiers champignons entomopathogènes utilisés avec succès pour le myco-biocontrôle des insectes nuisibles et bien caractérisé en raison de sa pathogénicité à plusieurs insectes de différents ordres (**Kidanu et Hagos, 2020**).

Le *Cladosporium sp* infecte différentes espèces d'insectes, comme le puceron, *Metopolophium dirhodum* (Walker) (Hemiptera : Aphididae) , l'héliotín européen...etc. Plusieurs éléments de preuve suggèrent que *Cladosporium sp* est un champignon entomopathogène puissant et donc un candidat potentiel pour la lutte biologique contre les insectes nuisibles (**Islam et al., 2019**). Les résultats de **Heuchert et al. (2005)** sur la souche *Cladosporium sp* montre que cette souche avait une excellente activité insecticide.

5.1. Toxicité des champignons entomopathogènes *Beauveriae sp* et *Cladosporium sp* sur stade aquatique L4 et nymphe du *Culex pipiens* :

Cette partie a été consacrée à l'étude de l'effet des champignons entomopathogènes sélectionné contre les larves du 4ème stade et nymphe du *Culex pipiens*. Ce dernier est connu comme étant une espèce ayant développé une résistance aux insecticides notamment le Malathion et autres organophosphorés (**Berchi, 2000**).

5.2. Calcul de taux de mortalité

Pendant 7 jours de traitement, nous avons noté quotidiennement le nombre des individus morts (Annexe 2). Les résultats ont été constatés à partir du 1^{er} jour de traitement. En effet, après avoir isolé les larves mortes, nous avons pu remarquer qu'elles ont recouvert d'un mycélium témoignant l'infection fongique. Ce qui correspond très probablement aux hyphes du champignon parasite. Après la correction des taux de mortalité par la formule d'Abbott (1925), Les valeurs sont restées telles quelles, vue la mortalité nulle enregistrée pour les témoins. La moyenne des mortalités cumulées a été réalisée et illustrée dans le tableau.

Tableau 11 : Les mortalités enregistré des larves et nymphes traité par *Beauveria sp* et *Cladosporium sp*

Champignon/temps (jours)		1	2	3	4	5	6	7	Total
<i>Beauveria sp</i> (10 ⁶ spores/ml)	Larves (L4)	15 %	15 %	35 %	65 %	80 %	90%	90 %	90%
	nymphes	0%	10 %	50 %	70 %	90 %	100 %		100 %
<i>Cladosporium sp</i> (10 ⁶ spores/ml)	Larves (L4)	75 %	80 %	85 %	85 %	90 %	100 %		100 %
	nymphes	60 %	60 %	80 %	90 %	90 %	100 %		100 %
Témoins	Larves (L4)	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%
	nymphes	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%	0%

Le tableau 10 montre que le taux de mortalité des larves est évolué en fonction du temps et varie selon la souche fongique appliquée. En effet la plus forte mortalité est enregistrée chez les larves traité au *Cladosporium sp*, où on a signalé une mortalité de 100% au 6^{ème} jour de traitement à la dose de 10⁶ spores/ ml. L'application du champignon *Beauveria sp* a donné un pourcentage de mortalité de 90 % dès le 6^{ème} jour est reste fixe durant tout le traitement (7 jours). En ce qui concerne les deux champignons on a enregistré une mortalité totale 100% des nymphes au bout de 6 jours de traitement. Les résultats obtenus ont été exprimés en courbes (Figure 19 et 20) pour mieux suivre les niveaux de mortalité.

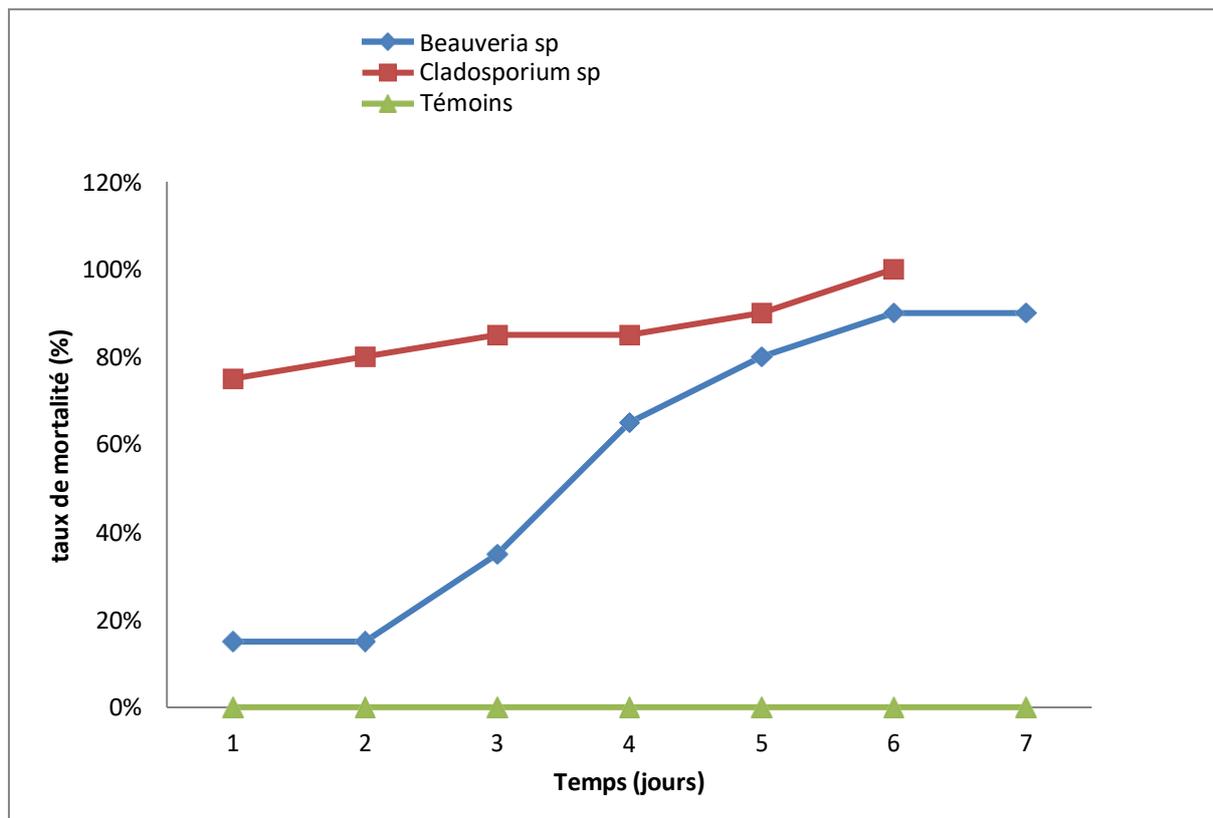


Figure 19 : Cinétiques de mortalité des larves traitées aux champignons *Beauveria sp* et *Cladosporium sp*.

Cette courbe illustre l'allure de la progression des pourcentages de mortalité des larves de *Culex pipiens* traitées par *Cladosporium sp* et *Beauveria sp*. Le traitement au *Cladosporium sp* à donner des taux de mortalité élevé, l'effet est tout de suite aperçu à partir du 1^{er} jour de traitement avec 75% de mortalité, 80% de mortalité après le 2^{ème} jour, 85% à partir du 3^{ème} jour pour atteindre 100% le 6^{ème} jour de traitement.

Par ailleurs, nous avons observé 15%, 15% et 35% de mortalité chez les larves traitées par *Beauveria sp* respectivement après le 1^{er} jour de traitement, 65%, 90% et 90% au bout du 6^{ème} jour qui reste fixe le 7^{ème} jours.

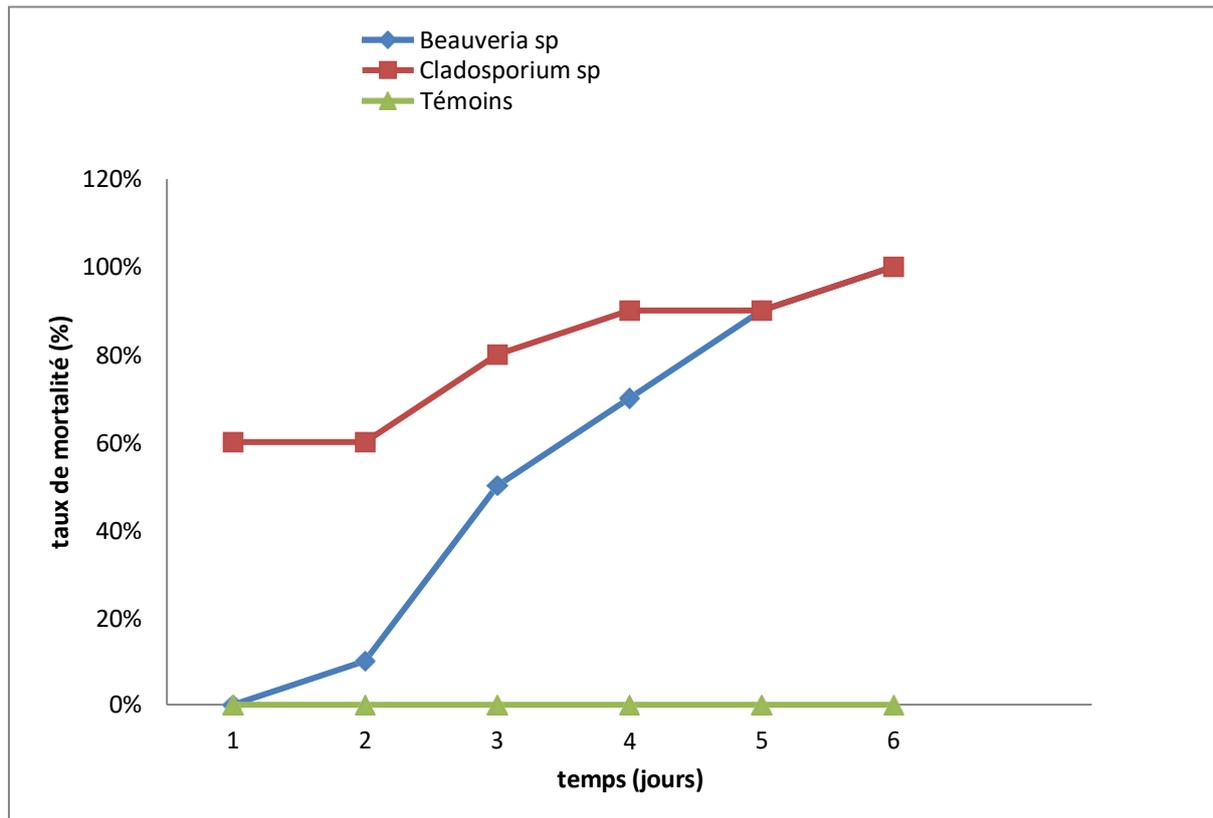


Figure 20: Cinétiques de mortalité des nymphes traitées aux champignons *Beauveria sp* et *Cladosporium sp*.

Cette courbe illustre l'allure de la progression des pourcentages de mortalité des nymphes de *Culex pipiens* traitées par *Cladosporium sp* et *Beauveria sp*. Nous remarquons une ascension du pourcentage de mortalité des nymphes traitées par le *Cladosporium sp*, l'effet est fortuitement aperçu à partir du 1^{er} jour de traitement avec 60% de mortalité, 80% de mortalité après le 3^{ème} jour, pour atteindre 100% le 6^{ème} de traitement.

Par ailleurs, nous avons observé 0% de mortalité le 1^{er} jour de traitement par *Beauveria sp*, 10% après le 2^{ème} jour de traitement, et 50% de mortalité au bout du 3^{ème} jour pour atteindre 100% de mortalité le 6^{ème} jour de traitement.

Par rapports à ses résultats nous avons observé que le *Cladosporium sp* montre une efficacité dès le premier jour par des taux de mortalité élevé juste au bout de six jours contrairement au *Bauveria sp* qui a marqué une mortalité de 90% au bout de 7 jour pour les larves.

Les deux souches de champignons ont été infectieuses pour tous les stades utilisés et présentent de bon rendement comparativement au témoin.

En effet nous avons remarqué que le taux de mortalité des larves témoins utilisées pour les deux tests était nul. Ces mêmes résultats ont été constatés par **Alves et al. (2002)** ou ils n'ont enregistré aucune mortalité des larves témoins durant la période des bios essais.

Nous avons aussi constaté que ces champignons agissent dès le premier jour du traitement. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par **Alves et al. (2002)** qui ont enregistré un début de mortalité des larves de *Culex quinquefasciatus* traitées par *Metarhizium anisopliae* à partir du 1^{er} jour de traitement.

Les taux de mortalités totales (100%) ont été manifestés chez les nymphes du moustique traitées à la dose 10^6 spores/ml au bout de 6 jours, ce qui a montré la grande efficacité du traitement vis-à-vis les nymphes par rapport aux larves de *Culex pipiens* car la mue peut être un moyen de défense contre les mycoses lorsque l'exuviation survient alors que le champignon n'a pas encore attaqué le nouveau tégument comme ils ont démontrés **Riba et Silvy en (1993)**.

Ces résultats sont comparables à ceux trouvés par **Hougard et al. (2003)** dans son essai biologique avec la souche bactérienne *Bacillus sphaericus* sur les stades aquatiques de *Culex pipiens* ou il a montré une grande efficacité sur les nymphes des moustiques.

Pour le *Cladosporium sp* on a observé une forte mortalité chez les larves et les nymphes aux concentrations 10^6 conidies/ml, qui dépassent 60% après 3 jours de traitement. Après 6 jours, on obtient un taux de 100%, ce qui indique son effet rapide et très virulent. Ces résultats sont semblables au Nadeau (1990) qui a marqué une forte mortalité des larves d'*Aedes triseriatus* par *Culicinomyces clavisporus* aux concentrations les plus élevées (10^5 - 10^6 conidies/ml), atteignant 60 % après trois jours d'exposition continue. Après sept jours, il obtient un plateau avec une mortalité cumulée de 95%. **Hamama et al. (2022)** dans le même contexte a marqué une efficacité de *Metarhizium anisopliae* qui a dépassé 50 % de mortalité larvaire après 48 h. de traitement cependant avec une concentration de 10^7 spores/ml. **Zuharah et al. (2021)** ont marqué la pathogénicité de *Metarhizium anisopliae* peut causer une mortalité larvaire 100% plus rapide sur larves d'*Aedes aegypti* à 6 jours avec une concentration de 10^6 .

Le traitement par *Beauveria sp* a été aussi efficace avec 90% de mortalité pendant 7 jours ce qui est conforme aux résultats obtenus et rapportés par **Mburu et al. (2009)**, dans son étude sur la relation entre la virulence et la répulsion des isolats entomopathogènes de *Metarhizium anisopliae* et *Beauveria bassiana* et le termite *Macrotermes michaelseni*, il a été montré, que cette espèce présentait un large spectre et une forte virulence, affectant l'hôte avec une simple action de contact.

Le taux de mortalité se diffère selon l'utilisation de différentes espèces fongiques entomopathogènes et d'insectes, la dose de la solution fongique, et les différents stades de l'insecte.

La variation de la mortalité à l'aide de différentes souches entomopathogènes peut s'expliquer par les caractéristiques de virulence et de pathogénicité de chaque isolat. Certains champignons entomopathogènes du même genre et de la même espèce, mais isolés dans différentes zones, peuvent avoir de profondes différences dans la formation de structures infectieuses, l'adhésion à la cuticule des insectes ou des arachnides, l'évasion du système immunitaire de l'hôte et la production de toxines ou d'enzymes contre la même population (**Perinotto et al., 2012**).

L'étude de l'effet de nos 2 souches sur la mortalité des stade aquatique de *Culex pipiens*, nous montre que le traitement a mis en évidence une efficacité très hautement significative comparativement aux témoins, elles ont permis d'avoir de grands taux de mortalité dans un intervalle de temps compris entre un et sept jours. Les larves et nymphes ont été sensibles envers ces deux souches malgré leur effet différent.

5.3. Symptomatologie

On a observé chez les larves et les nymphes de *Culex pipiens* traité par les deux champignons sélectionnés une diminution des mouvements, ils se nourrissent peu et ils ont des difficultés à muer, puis la mort.

Après la mort, les insectes sont durs et momifiés, ils développent des conidies sur le corps.

Les caractères extérieurs de l'infection de nos moustiques par les souches entomopathogènes sélectionnées sont dans une large mesure identiques à ceux décrits par **Seye et Ndiaye (2012)** dans son étude sur l'isolement d'une souche de champignon

entomopathogène virulente contre les larves de moustiques (*Anophèles gambiae*, *Aedes aegypti* et *Culex quinquefasciatus*) et sites d'action.

5.3.1 Effet de deux entomopathogènes *Cladosporium sp* et *Beauveria sp* sur les stades aquatiques du *Culex pipiens*

➤ Effet sur les larves de stade 4 du *Culex pipiens*

Des symptômes pareils sont observés en appliquant les deux souches entomopathogènes *Cladosporium sp* et *Beauveria sp*.

Chez les larves du *Culex pipiens* traitées au *Cladosporium sp* et *Beauveria sp*, on assiste à une diminution des mouvements puis une mortalité. Tout juste après la mort, les spores du champignon sont en adhésion sur la cuticule et d'autres en début de germination (figure 21 et 22).



Figure 21 : larves traités au *Cladosporium sp* sous la loupe (dégradation des larves)

(Originale, 2022)



Figure 22 : larves traités au *Beauveria sp* sous la loupe (dégradation des larves) (Originale, 2022)

Nous avons remarqué sur les larves de *Culex pipiens* morte un duvet verte pour le *Cladosporium sp* et blanc pour *Beauveria sp* du à leurs germination sur le corps de la larve, et une dégradation du corps.

Dans une vue générale les spores des champignons entomopathogènes germent sur la cuticule de l'hôte. Ils forment un tube germinatif qui pénètre la cuticule de l'hôte et occupe le corps. Les spores fongiques infectieuses augmentent alors en nombre, provoquant la production de toxines qui finissent par tuer l'insecte. Le champignon sort du cadavre de l'insecte dans des conditions de température et d'humidité appropriées qui deviennent capables d'infecter autres insectes au moment des conditions environnementales favorables (Gul *et al.*, 2014).

Les symptômes observés sur les larves de *Culex pipiens* traitées sont comparables à ceux signalés par Seys *et al.* (2013), en traitant les larves stade 3 et 4 du moustique *Anopheles gambiae* avec une suspension fongique de *M anisopliae* pour contrôler l'efficacité de cette dernière sur l'émergence des adultes du moustique *Anopheles gambiae*.

Bawin *et al.* (2014) dans leur travail sur l'utilisation de la technique de micro-injection pour l'évaluation de la toxicité fongique dans le contrôle des moustiques *Culex quinquefasciatus* en utilisant les spores d'*Aspergillus clavatus* (10^7 spores/ml) ou ils ont constaté la propagation des spores au niveau de la cuticule du corps des larves.

➤ Effet sur les nymphes du *Culex pipiens*

Nous avant observé chez les nymphes au cours du traitement une mortalité avant émergence. Après 24 h du traitement.



Figure 23 : mort de la nymphe après traitement (Originale, 2022)

Une interruption de l'émergence a également été constaté le blocage de mue est suivie de la mort des individus (figure 24 et 25) ceci est cohérent avec les résultats de **Bukhari et al. (2011)**.



Figure 24 : des nymphes traitées au *Cladosporium sp* bloquées (**Originale, 2022**)



Figure 25 : des nymphes traitées au *Beauveria sp* sous la loupe (**Originale, 2022**)

Les mêmes symptômes sont signalés par **Gayathri et al. (2010)**, qui a détecté des malformations au niveau des nymphes de *Culex quinquefasciatus* traitées avec des suspensions fongiques de *Beauveria bassiana* et *Paecilomyces fumosoroseus* à des doses qui correspondent à 10^7 et 10^8 spores/ml respectivement dans son travail de recherche sur le potentiel larvicide de *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin et *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize) vis-à-vis le moustique *Culex quinquefasciatus* (say).

Ses résultats sont similaires aussi à ceux de **Hamid (2015)** qui a marqué les mêmes symptômes dans son étude sur l'isolement et caractérisation des souches fongiques entomopathogènes locales du groupe hyphomycètes et application sur le moustique responsable des arboviroses.

Certains nymphes ont émergé et donné des imagos déformé avec des ailles atrophiées chez certains adultes (figure 27). Avec une prolifération de champignon sur le cadavre des adultes (figure 28).



Figure 26 : l'exuvie sous la loupe (Originale, 2022)



Figure 27 : adultes du *Culex pipiens* déformés sous la loupe (Originale, 2022)



Figure 28 : développement des champignons à la surface de l'adulte traité au *Beauveria sp*
(Originale, 2022)

Une prolifération du champignon (duvet blanchâtre) est notée sur les cadavres des adultes déformés couleur caractéristique de la mycose à *B. bassiana* appelée communément la muscardine blanche. De même **Boutellis et al. (2010)** dans leur étude de l'activité biologique du champignon entomopathogène *Metarhizium anisoliae* variété *acridum* (Mechnikoff 1880) vis-à-vis du moustique domestique *Culex pipiens* (Linné 1758) agent de maladies vectorielles, ont noté généralement les mêmes symptômes après le traitement.

Le champignon *Beauveria sp* infecte l'insecte par contact et n'a pas besoin d'être ingéré par son hôte pour causer l'infection contrairement à plusieurs agents microbiens. Le champignon prolifère à l'intérieur de l'organisme, le corps de l'insecte se déshydrate, la viscosité du sang augmente et l'insecte meurt. L'individu infecté est recouvert d'une importante couche de mycélium blanc, évoquant la neige c'est le symptôme de la maladie de muscardine blanche chez les insectes. Ce mode d'action rend tous les stades (œuf, larve, adulte) sensibles. L'insecte infecté véhicule le champignon lors de son déplacement jusqu'à sa mort (**Bakelli et Habibi, 2019**).

Des Résultats sont similaires aux résultats de **Hamid et al. (2013)** dans leur étude sur l'effet de *Beauveria Bassiana* sur les stades aquatiques du *Culex pipiens* (Linné, 1758).

Conclusion

Afin d'assurer une protection phytosanitaire contre les insectes, Elle concerne notamment *Culex pipiens*, il est important d'éviter l'utilisation des insecticides chimiques qui sont généralement efficaces, mais affectent négativement notre environnement, ce qui nécessite la recherche de moyens bio-contrôle. C'est dans ce cadre que notre travail a été initié dans le but de contribuer à dégager l'activité biologique des entomopathogènes isolés à partir du sol de trois sites différents de la wilaya de Bouira (Kadiria, Ain Bessam et M'chedallah) et d'apporter quelques notions sur la toxicité et la symptomatologie, chez les individus traités.

Les analyses physicochimiques des trois échantillons du sol montrent un pH basique et des sols légèrement salins. Les caractères macroscopiques et microscopiques des moisissures isolées nous ont permis d'identifier 8 genres différents: *Aspergillus sp*, *Penicillium sp*, *Mucor sp*, *Fusarium sp*, *Rhizomucor sp*, *Verticillium sp*, *Cladosporium sp* et *Beauveria sp*. Les genres majoritaires sont *Aspergillus sp* et *Penicillium sp* avec une fréquence de 28% suivi par le genre *Mucor sp* avec un taux de 14% ensuite le genre *Fusarium sp* qui représente 10%, les genres *Rhizomucor sp*, *Verticillium sp*, *Cladosporium sp* et *Beauveria sp* sont équivalents avec une fréquence de 5%.

Parmi les souches isolées on a identifié 4 entomopathogènes : *Beauveria sp*, *Verticillium sp*, *Aspergillus flavus* et *Cladosporium sp*, pour la poursuite de notre étude on a sélectionné 02 souches entomopathogènes : *Beauveria sp*, *Cladosporium sp* afin de tester leur toxicité vis-à-vis les stades aquatiques (stade L4 et nymphes) du moustique *Culex pipiens*. Ce test a révélé que les mortalités évoluent dans le temps et varient selon les différentes suspensions fongiques ainsi que la dose choisie. Néanmoins le taux de mortalité le plus élevé est enregistré chez les larves traitées par *Cladosporium sp* à la dose 10^6 par un taux de 100% durant 6 jours de traitement, par ailleurs, le traitement par *Beauveria sp* a marqué une mortalité de 90% au bout de 7 jours. En effet la toxicité des entomopathogènes sélectionnés vis-à-vis les nymphes de *Culex pipiens* a entraîné une mortalité totale au bout de 6 jours.

Nous avons également déterminé les signes externes de l'infection des moustiques par les souches entomopathogènes, les symptômes ont été pareils pour les deux souches qui sont en général la diminution des mouvements des individus traités puis une mortalité, une dégradation des larves, envahissement des champignons est survenu juste après la mort. Une interruption de l'émergence a également été constatée. Par ailleurs, les nymphes qui ont émergé donnent des imago déformés avec des ailes atrophiées chez certains adultes.

Une prolifération du champignon est notée sur les cadavres des adultes déformés.

Enfin on souhaite que l'ensemble de ces résultats servent de base au développement d'un outil de lutte biologique respectueux de l'environnement et efficace pour le contrôle des populations d'insectes.

Nous tenons à signaler que les résultats fournis restent préliminaires, donc comme

Perspective :

- ✓ Etudes géographiques pour les régions d'échantillonnage.
- ✓ Utilisation des milieux de culture spécifique pour isoler les champignons entomopathogènes.
- ✓ Faire un élevage dans le laboratoire pour bien suivre le cycle de développement de *Culex pipiens*.
- ✓ Applications de tous les stades de *Culex pipiens* avec plusieurs espèces fongiques entomopathogènes.
- ✓ Réalisation d'une étude histologique afin de cerner les différentes parties du corps qui sont touchées par le traitement fongique préparé.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

- **Abbott, W. S. (1925)**. A method of computing the effectiveness of insecticides. *Journal of Economic Entomology*, 18: 265-267.
- **Abdoullahi, H.O., Tidjani, A., Sawadogo, A., Tarnagda, B., Abaka, L.I., Cissé, H., Traoré, Y., Savadogo, A. (2019)**. Isolement et caractérisation de souches fongiques à partir de poissons fumés/séchés du lac Fitri au Tchad. *American Journal of Innovative Research and Applied Sciences*, 2(4):155-160.23.
- **Alaoui Slimani, N., Joud, N., Benhoussa, A., Hajji, K. (1999)**. Typologie des habitats d'Anopheles dans une zone urbaine (DipteraCulicidae). *Entomologiste* 55(5), 181–190p.
- **Alayat, M. S. (2012)**. Bio-écologie, position taxonomique et compétence vectorielle du complexe *Culex pipiens* (Diptera; Culicidae) responsable de la transmission du virus West Nile et du virus de la fièvre de la vallée du Rift en Algérie (Doctoral dissertation, Annaba).
- **Alves, S. B., Alves, L. F. A., Lopes, R. B., Pereira, R. M., & Vieira, S. A. (2002)**. Potential of some *Metarhizium anisopliae* isolates for control of *Culex quinquefasciatus* (Dipt., Culicidae). *Journal of Applied Entomology*, 126(9), 504-509.
- **Amazan, E., Baubion, E., Aoun, A., Guillier, A., Hurtrel, G., Najioullah, F., Derancourt, C., Hochedez, P., & Cabié, A. (2016)**. Manifestations cutanées de l'infection à virus Zika: étude prospective, en Martinique. In *Annales de Dermatologie et de Vénérologie* (Vol. 143, No. 12, p. S152). Elsevier Masson.
- **Ambethgar, V. (2018)**. Strategic approaches for applications of entomopathogenic fungi to counter insecticide resistance in agriculturally important insect pests. *Fungi and their role in sustainable development: Current Perspectives*, 221-254.
- **Amira, K. (2014)**. Caractérisation des hydrocarbures cuticulaires et l'effet d'une régulation de croissance, RH-0345 sur le développement et la reproduction de *Culex pipiens*. Thèse de doctorat en biologie Animale environnementale, Université Badji Mokhtar, Annaba, Algérie. p75.
- **Amraoui, F. (2012)**. Le moustique *Culex pipiens*, vecteur potentiel des virus West Nile et fièvre de la vallée du Rift dans la région du Maghreb. Thèse Doct., Univ. Mohammed V, Rabat, 105 pp.
- **Andreo, V. (2003)**. L'effet anti-gorgement sur chien d'un shampooing à 0,07% de deltaméthrine sur un moustique du complexe *Culex pipiens*. Th. : Med.Vet. : Toulouse, 70p.
- **Aouati, A. (2016)**. Etude de la toxicité de certaines plantes sur les larves de *Culex pipiens* (Diptera, Culicidae). Thèse en vue de l'obtention du diplôme de doctorat en sciences spécialité : entomologie. Université des Frères Mentouri, faculté des sciences de la nature et de la vie, département de Biologie Animale, 129p.
- **Aouinty, B., Oufara, S., Mellouki, F et Mahari, S. (2006)**. Evaluation préliminaire de l'activité larvicide des extraits aqueux des feuilles du ricin (*Ricinus communis* L.) et du bois de thuya (*tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.) sur les larves de quatre moustiques culicidés : *Culex pipiens* (Linné), *Aedes caspius* (Pallas), *culiseta longiareolata* (Aitken) et *Anopheles maculipennis* (Meigen), Université Hassan 2, Maroc, 10(2) :67-71.

- **Araújo, J.P.M., Hughes, D.P. (2016)** .Diversity of Entomopathogenic fungi which groups conquered the insect body? In: Lovett B, Leger RJS (Eds) Advances in genetics, vol 94. Elsevier, Amsterdam, pp 1–39.
- **Baiz, D. (2000)**. Guide des analyses en pédologie: 2e édition, revue et augmentée. Editions Quae. p97, p208.
- **Balenghien, T. (2006)**. De l'identification des vecteurs du virus West Nile à la modélisation du risque d'infection dans le sud de la France (Doctoral dissertation, Université Joseph-Fourier-Grenoble I).
- **Balenghien, T. (2007)**. Les moustiques vecteurs de la Fièvre du Nil occide.
- **Balenghien, T., Vazeille, M., Reiter, P., Schaffner, F., Zeller, H., & Bicout, D. J. (2007)**. Evidence of laboratory vector competence of *Culex modestus* for West Nile virus. Journal of the American Mosquito Control Association, 23(2), 233-236.
- **Barnet, H.C., & Hunter Barry, B.(2000)**. Illustrated genera of imperfect fungi. 4th edition. Freedom Palestine.
- **Barrett, A. D., & Higgs, S. (2007)**. Yellow fever: a disease that has yet to be conquered. Annual review of entomology, 52(1), 209-229.
- **Bawin, T., Seye, F., Boukraa, S., Zimmer, J. Y., Delvigne, F., & Francis, F. (2015)**. La lutte contre les moustiques (*Diptera: Culicidae*): diversité des approches et application du contrôle biologique. The Canadian Entomologist, 147(4), 476-500.
- **Bawin,T., Boukraa,S., Seye ,F., Raharimalala,F.N., Zimmer,J.Y., Delvigne ,F et Francis, F ., (2014)**. L'utilisation de la technique de micro-injection pour l'évaluation de la toxicité fongique dans le contrôle des moustiques.
- **Beasley, D. W., McAuley, A. J., & Bente, D. A. (2015)**. Yellow fever virus: genetic and phenotypic diversity and implications for detection, prevention and therapy. Antiviral research, 115, 48-70.
- **Bechini, L.(2017)**. Piqures de moustiques, un risqué sanitaire à ne pas négligés. Thèse de docteur en pharmacie, Faculté de pharmacie, Université d'Aix-Marseille, France.p134.
- **Becker, N., Petric, D., Zgomba, M., Boase, C., Dahl, C., Lane, J., Kaiser, A. (2003)**. Mosquitoes and their control. Ed. Kluwer Academic, New York, 498 p.
- **Becker, N., Dušan, P., Marija, Z., Clive, B., Minoo, M., Christine, D., & Achim, K. (2010)**. Mosquito and their Control, Springer Heidelberg Dordrecht. London, New York.564p.
- **Bekelli, M., & Habibi, A. (2019)**. Evaluation préliminaire de l'effet in vitro de deux entomopathogènes autochtones *Beauveria sp* (clavicipitaceae) et *Fusarium sp* (nectriaceae) sur les larves du ver blanc. Mémoire de master en science agronomiques, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostghanem. 76p.

- **Belyadi, K. (2010).** Caractérisation des peuplements de *culicidés ornithophiles, mammophiles* et *anthropophiles* responsables de la transmission de maladies au niveau des régions lacustres du Parc National d' El-Kala .Thèse Doct, Université de Annaba-Badji Mokhtar, Annaba.128 pp.
- **Bendali, F., Djebbar, F., & Soltani, N. (2001).** Efficacité comparée de quelques espèces de poissons à l'égard de divers stades de *Culex pipiens (L.)* dans des conditions de laboratoire. *Parasitica*, 57(4), 255-265.
- **Benelli, G. (2015).** Research in mosquito control: current challenges for a brighter future. *Parasitology research*, 114(8), 2801-2805.
- **Benserradj, O. (2015).** Evaluation de *Metarhizium anisopliae* à titre d'agent de lutte biologique contre les larves de moustiques. Thèse de doctorat en biotechnologies, biologie et environnement. Département de Microbiologie. Faculté des Sciences de la Nature et De la Vie. Université de constantine1.208p.
- **Bensmira, S. (2006).** Isolement et caractérisation de souches fongiques de milieux extrêmes (Sol et Sebka de la région de Biskra) productrices de cellulase thermostable à intérêt industriel. Mémoire de magister.Universite Mentouri,Constantine.
- **Berchi, S. (2000).** Biologie de *Culex pipiens (Diptera : Culicidae)* dans la région de Constantine et perspective de lutte. Thèse de Doctorat. Université de Constantine.133 p.
- **Blaize, M., Normand, A. C., Fekkar, A., & Piarroux, R. (2021).** Identification des moisissures au laboratoire de routine hospitalière. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2021(529), 58-65.
- **Bocoum, M. (2004).** Méthodes d'analyses des sols. Document de travail. Institut National de Pédologie, Dakar-Sénégal. 55p.
- **Botton, B., Breton, A., Fevre, M., Gauthier, S., Guy, P., Larpent, J.P., Reymond, P., Sanglier, J.J., Vayssier, Y. & Veau, P. (1999).** Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. Masson. Paris. P. 12-426.
- **Boudih, S. (2013).** Identification des moisissures et de leurs métabolites secondaires colonisant des supports papiers: évaluation de la toxicité sur des cellules épithéliales respiratoires in vitro. *Sciences agricoles*. Université Paris-Est.185p.
- **Bourgeois, C.M., Mescle, J.F., Zucca J. (1989).** Microbiologie alimentaire. Aspect microbiologique de la sécurité et de la qualité des aliments. Lavoisier. Paris. P. 216-244.
- **Bouskaya, Z., Degachi, I.(2019).** Etude bioécologique et systématique de la population culcidiennne dans la région l'oued. Mémoire de l'obtention du diplôme de master académique en science biologique, université Echahid Hamma Lakhdar, El oued.p117.
- **Boussaidi, N., Mechergui, T., Noisri, W., & Hamrouni, S. (2020).** Effets des peuplements forestiers et du sol sur la production et la diversité des champignons sylvestres en Kroumirie (Tabarka et Ain Draham-Tunisie).*Revue Agrobiologia*, 10 (1),1904-17.
- **Boutellis ,A., Ramdane, A., & Sissani W.,(2010).** Etude de l'activité biologique du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* variété acridum (Mechnikoff 1880) vis-à-vis du

- moustique domestique *Culex pipiens* (Linné 1758) agent de maladies vectorielles. Mémoire présenté pour l'obtention du Diplôme de Master en : Biologie, spécialité : BTM, faculté des sciences, Boumerdes. 69p.
- **Boyer, S. (2006).** Résistance Métabolique des larves de moustiques aux insecticides conséquences environnementales. Thèse du doctorat, université Joseph Fouries- Grenoble 1. Grenoble, 78p.
 - **Bréhima, D. (2008).** La Susceptibilité des larves d'*Anopheles Gambiae S.L.* a des extraits de plantes médicinales du Mali. Thèse de doctorat en Médecine. Université de Bamako. Mali.
 - **Bukhari, T., Takken, W., & Koenraadt, J.M.C. (2011).** Development of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* formulations for control of malaria mosquito larvae. *Parasite. Vector.*, DOI10.1186/1756-3305-4-23.
 - **Butt, T.M. and Goettel, M.S. (2000).** Bioassays of Entomogenous Fungi. In: Navon, A. and Ascher, K.R.S., Eds., *Bioassays of Entomopathogenic Microbes and Nematodes*, CAB International, Wallingford, UK, 141-195.
 - **Carnevale, P. et Robert, V. (2009).** Les anophèles. Biologie, transmission du Plasmodium et lutte antivectorielle. IRD Editions, Collection didactiques. 391p.
 - **Chabasse, D., Bouchara, J.P., DE Gentile, L., Bruns, S., Cimon, B. and Penn, P. (2002).** Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation n°25, Bioforma. 159 p.
 - **Chabasse, D., Guiguen, C., Contet-Audonneau, P. (1999).** Mycologie médicale, Masson, 324p.
 - **Chancey, C., Grinev, A., Volkova, E., & Rios, M. (2015).** The global ecology and epidemiology of West Nile virus. *BioMed research international*, 2015.
 - **Chandy, A., Thakur, A. S., Singh, M. P., & Manigauha, A. (2011).** A review of neglected tropical diseases: filariasis. *Asian Pacific journal of tropical medicine*, 4(7), 581-586.
 - **Chhabra, M., Mittal, V., Bhattacharya, D., Rana, U. V. S., & Lal, S. (2008).** Chikungunya fever: a re-emerging viral infection. *Indian journal of medical microbiology*, 26(1), 5-12.
 - **Davet, P. (1996).** Vie microbienne du sol et production végétale. INRA. Paris. P. 52-57.
 - **Delaunay, P., Fauran, P., & Marty, P. (2001).** Les moustiques d'intérêt médical. *Revue Française des laboratoires*, 2001(338), 27-36.
 - **DESPRÉS, J., 2012.** L'univers des champignons. Les Presses de l'Université de
 - **Dhaliwal, G. S., and Koul, O. (2007).** Biopesticide and Pest Management: Conventional and Biotechnological Approaches, Kalyani Publishers, New Delhi. 455p.
 - **Diagana, M., Tabo, A., Debrock, C., Preux, P. (2005).** L'encéphalite japonaise. *Med Trop*, 65, 371-8.
 - **Dommergues, Y., Mangenot, F. (1972).** Ecologie Microbienne du Sol. Masson & Cie,
 - **Donadieu, E., Bahuon, C., Lowenski, S., Zientara, S., Couplier, M. et Lecollinet, S. (2013).** Differential virulence and pathogenesis of West Nile viruses. *Viruses*, 5(11), 2856-2880.

- **Druart, F. (2017)**. Production de micro-organismes entomopathogènes pour lutter contre les moustiques et caractérisation de leurs métabolites. Mémoire de master, Université de Liège, Liège, Belgique.
- **Dufresne, P., St-Germain, G. (2013)**. Identification des champignons d'importance médicale. Institut national de santé publique. Laboratoire de santé publique, Québec, Canada.
- **Elis, D.H., Davis, S., Alexiou, H., Handke, R., Bartley, R. (2007)**. Descriptions of medical fungi (Vol.2). Adelaide: University of Adelaide. 204p.
- **Fenghour, H., Ladjama, A., & Taibi, Z. (2002)**. Recherche de l'activité pectinolytiques chez 22 souches de champignons microscopiques isolées d'un sol de la région d'el kala. département de biochimie, institut des sciences de la nature, Université Badji-Mokhtar-(2300) Annaba Algérie Technologies Avancées, 14, 55-60.
- **Foster, W. A., Walker, E. D. (2019)**. Mosquitoes (Culicidae). In Medical and veterinary entomology (pp. 261-325). Academic press.
- **Gayathri, G., Balasubramanian, C., Moorthi, P. V., & Kubendran, T. (2010)**. Larvicidal potential of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin and *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize,) Brown and Smith on *Culex quinquefasciatus* (Say). Journal of Biopesticides, 3(1), 147.
- **Goulu, M. (2015)**. Développement d'une nouvelle stratégie de protection chimique contre les moustiques vecteurs de maladies : utilisation d'une association répulsif/insecticide afin d'optimiser l'efficacité du traitement tout en réduisant les doses utilisées. Thèse de doctorat, université Nantes Angers le mans, France. 219 p.
- **Guillaumot, L. (2006)**. les moustiques et la dingue. Article, Institut Pasteur de Nouvelle-Calédonie, 15 p.
- **Guiraud, J.P. (1998)**. Microbiologie alimentaire, Agroalimentaire. Paris. P: 7-8.
- **Gul, H. T., Saeed, S., & Khan, F. A. (2014)**. Entomopathogenic fungi as effective insect pest management tactic: A review. Applied Sciences and Business Economics, 1(1), 10-18.
- **Hamama, H. M., Zyaan, O. H., Ali, O. A. A., Saleh, D. I., Elakkad, H. A., El-Saadony, M. T., & Farag, S. M. (2022)**. Virulence of entomopathogenic fungi against *Culex pipiens*: Impact on biomolecules availability and life table parameters. Saudi Journal of Biological Sciences, 29(1), 385-393.
- **Hamiche, S., Bensenouci, Y., Messas, N. (2017)**. Contribution à l'étude de l'activité larvicide avec l'utilisation des polyphénols de *Pistacialentiscus* sur les moustiques. Mémoire de l'obtention du diplôme de Master, Université M'hamed Bougara, Boumerdes. 126p.
- **Hamid, S., Halouane, F., Bissaad, F.Z., Benzina, F. (2013)**. Study about the effect of *Beauveria bassiana* (Vuillemin IN 1912) on the aquatic stages of *Culex pipiens* (LINNÉ, 1758). Int. J. Bio-Technol. Res, 3(3), 31-42.
- **Hamid, S. (2015)**. Isolement et caractérisation de souches fongiques entomopathogènes locales du groupe des *hyphomycètes* et application sur le moustique responsable des arboviroses. Thèse de

- Doctorat en science biologique, Université des sciences et de la Technologie Houari Boumedienne, Bab Ezzouar.200p.
- **Hawksworth, D.L., Sutton, B.C. & Ainsworth, G. C. (1995).** Ainswoeth and Bisby's dictionary of the fungi. Commonwealth Mycological Institute, Kew.
 - **Hemingway, J., & Ranson, H. (2000).** Insecticide resistance in insect vectors of human disease. Annual review of entomology, 45(1), 371-391.
 - **Heuchert, B., Braun, U., & Schubert, K. (2005).** Morphotaxonomic revision of fungi colous *Cladosporium* species (*hyphomycetes*). Schlechtendalia, 13, 1-78.
 - **Himmi, O. (2007).** les diptères (Insectes, Diptères) du Maroc :systématiques, Ecologique et études d'épidémiologiques pilotes. Thes.Doc.Univ Mohamed V, Rabatt, 289p.
 - **Hoogg, S., Gurro, J., Gené, J., & Figueras , M.J. (2000).** Atlas of clinical fungi. Second edition. Utrecht. Central bureau voor Schimmel cultures.
 - **Hougard ,J.M., Chandre,F., Darriet,F., Wouafo Ndayo,M., Lohoué Petmy , J., Pignon, D., Chippaux, J.P., Thiery ,I et Ghipponi ,P.M.(2003).** Présentation du centre collaborateur de l'OMS sur la recherche, l'isolement et l'identification d'agents de lutte biologique entomopathogènes en Afrique centrale. Bull. liais. Doc. OCEAC., 98 : 56-59.
 - **Inglis, G.D., Ivie, T.J., Duke, G.M., and Goettel, M.S. (2000).** Influence of rain and conidial formulation on persistence of *B. bassiana* on potato leaves and Colorado potato beetle larvae. Biological Control, 18(1), 55-64.
 - **INPES - Maladies transmises par les moustiques - Zika : comprendre et agir [Internet].** [cité 23 déc 2016]. Disponible sur: <http://inpes.santepubliquefrance.fr/10000/themes/maladies-moustiques/zika/index.asp>.
 - **Institut Pasteur, (2014).** Dengue. <http://www.pasteur.fr/fr/institut-pasteur/presse/fiches-info/dengue>, consulté le 10/11/14.
 - **Islam, T., Gupta, D. R., Surovy, M. Z., Mahmud, N. U., Mazlan, N., & Islam, T. (2019).** Identification and application of a fungal biocontrol agent *Cladosporium cladosporioides* against *Bemisia tabaci*. Biotechnology & biotechnological equipment, 33(1), 1698-1705.
 - **Islam, W., Adnan, M., Shabbir, A., Naveed, H., Abubakar, Y. S., Qasim, M., Tayyab, M., Noman, A., Nisar, M.S., Khan, K.A., & Ali, H. (2021).** Insect-fungal-interactions: A detailed review on entomopathogenic fungi pathogenicity to combat insect pests. Microbial Pathogenesis, 159, 105122.
 - **Jaber, L. R., & Enkerli, J. (2017).** Fungal entomopathogens as endophytes: can they promote plant growth?. Biocontrol Science and Technology, 27(1), 28-41.
 - **Jean-Michel, N. Walter. (2006).** Méthodes d'étude de la végétation, méthode du relevé floristique Exercice. Université Louis Pasteur, Institut de Botanique-28 Rue Goethe, 67083 Strasbourg Cedex.
 - **Kettle, D.S. (1995).** Medical and Veterinary Entomology, 2nd^o edition, Wallingford: CAB international, 725 pp.

- **Kidanu, S., & Hagos, L. (2020).** Research and application of entomopathogenic fungi as pest management option: a review. *Journal of Environment and Earth Science*, 10(3), 31-39.
- **Kouassi, M. D. (2001).** Les possibilités de la lutte microbiologique. Emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*. *VertigO-la revue électronique en sciences de l'environnement*, 2(2).
- **Kwon-Chung, K. J., & Bennett, J. E. (1992).** *Medical Mycology*. Lea and Febiger, Philadelphia, Pa.
- **Laird, M., Lacey, L. A., & Davidson, E. W. (1990).** *Safety of microbial insecticides*. CRC Press Inc., Baton Rouge. PP.55-63.
- **Litwin, A., Nowak, M., & Różalska, S. (2020).** Entomopathogenic fungi: unconventional applications. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 19(1), 23-42.
- **Lyatim, S. (2008).** Moisissures d'intérêt médical. Etude récente prospective au Laboratoire de parasitologie et mycologie à l'hôpital d'enfants de rabat : (A propos de 133 prélèvements. Thèse de Pharmacie. Université Mohammed V, Rabat.3-45p.
- **Maamar, A. (2014)** Etude de la biodégradation du pétrole brut par le peuplement fongique du port d'Oran. Mémoire pour l'obtention du diplôme de magister, université d'Oran, Algerie.107p
- **Maryse, N. K. (2008).** Développement des larves de moustiques dans un écosystème particulier : milieu sous jacinthe d'eau *Eichhorniacrassipes* (Mart). Université d'abomey-calaviécole polytechnique d'Abomey- calavi. Thèse de Licence Professionnelle. 113 p.
- **Mburu, D. M., Ochola, L., Maniania, N. K. Njagi, P. G. N., Gitonga, L. M., Ndung'u, M.W., Wanjoya, A. K., and Hassanali, A. (2009).** Relationship between virulence and repellency of entomopathogenic isolates of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to the termite *Macrotermes michaelseni*. *Journal of Insect Physiology*, 55, 774-780.
- **Meyer, A., Deiana, J., Bernard, A. (2004).** Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés. Wolters Kluwer, France, 24 juin 2004. 480p.
- **Monath, T.P. et Vasconcelos, P.F. (2015).** Yellow fever. *J Clin Virol*. 2015; 64: 160-73. Montréal. Canada. 375p.
- **Muthusamy, R., & Shivakumar, M. S. (2015).** Susceptibility status of *Aedes aegypti* (L.) (Diptera: Culicidae) to *temephos* from three districts of Tamil Nadu, India. *Journal of vector borne diseases*, 52(2), 159.
- **Nadeau, M. (1990).** Isolation et évaluation de mycètes pour le contrôle biologique des moustiques (*diptera: culicidae*) et des simulies (*diptera: simuliidae*) en zone tempérée. Mémoire de la maîtrise en sciences de l'environnement, Université du Québec à Trois-Rivières. 153p.
- **Nguyen, L. N., Esterre, P., Lardeux, F., Williams, S. A., & Nicolas, L. (1999).** La filariose lymphatique, un fléau économique et social. In *Annales de l'Institut Pasteur/Actualités* (Vol. 10, No. 1, pp. 93-106). Elsevier Masson.
- **Nhan, T. X., & Musso, D. (2015).** Emergence du virus Zika. *Virologie*, 19(5), 225-235.

- **Nicklin, J., Graeme-Cook, K., & Killington, R. (2000).** l'essentiel en microbiologie. Edition Berti. p:210-216.
- **OMS. (2015),** Paludisme. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs094/fr/>, consulté le 05/07/15.
- **Ouali, M., & Yaddaden, N. (2019).** Diversité des champignons du sol sous *pistacia atlantica* Desf. Dedayate El-Gorffa (Laghouat, Algérie). Mémoire de master, Université Mouloud Mammeri, Tizi ousou. 84p.
- **Ouattara-Sourabie, P. B., Nikiema, P. A., & Traore, A. S. (2011).** Caractérisation de souches d'Aspergillus spp isolées des graines d'arachides cultivées au Burkina Faso, Afrique de l'Ouest. International Journal of Biological and Chemical Sciences, 5(3).
- **Ould Ahmed, A. (2019).** Isolement et identification de champignons microscopiques présents dans le sol d'un agrosystème de *punica granatum L* variété Messaad sous climat aride. Mémoire de master, Université Mouloud Mammeri, Tizi ousou. 68p.
- **Perinotto, W. M. S., Angelo, I. C., Golo, P. S., Quinelato, S., Camargo, M. G., Sá, F. A., & Bittencourt, V. R. E. P. (2012).** Susceptibility of different populations of ticks to entomopathogenic fungi. Experimental parasitology, 130(3), 257-260.
- **Piekarczyk, J., Ratajkiewicz, H., Jasiewicz, J., Sosnowska, D., & Wójtowicz, A. (2019).** An application of reflectance spectroscopy to differentiate of entomopathogenic fungi species. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 190, 32-41.
- **Pritchard, R. C., Muir, D. B. (1987).** Black fungi: a survey of dematiaceous hyphomycetes from clinical specimens identified over a five year period in a reference laboratory. Pathology. 19. P :281-4.
- **Raja, M., Praveena, G., & William, S. J. (2017).** Isolation and identification of fungi from soil in Loyola college campus, Chennai, India. Int J Curr Microbiol App Sci, 6(2), 1789-95.
- **Ramkumar, G., & Shivakumar, M. S. (2015).** Laboratory development of permethrin resistance and cross-resistance pattern of *Culex quinquefasciatus* to other insecticides. Parasitology research, 114(7), 2553-2560.
- **Ressequier, P. (2011).** contribution à l'étude du repas sanguin de *Culex pipiens pipiens* . thèse pour obtenir le grade de Docteur Vétérinaire, diplôme d'état, école nationale vétérinaire de Toulouse, France. (Introduction de cycle) .83p.
- **Riba, G., & Silvy, C. (1993).** Perspectives de la lutte microbiologique contre les insectes ravageurs des cultures. Dossiers de la Cellule Environnement, 5, 41-46.
- **Ripert, C. (2007).** Epidémiologie des maladies parasitaires, tome 4, affections provoquées ou transmises par les arthropodes. Cachan : EM inter, 581 pp.
- **Robich, R. M., & Denlinger, D. L. (2005).** Diapause in the mosquito *Culex pipiens* evokes a metabolic switch from blood feeding to sugar gluttony. Proceedings of the National Academy of Sciences, 102(44), 15912-15917.

- **Roth, M.(1980).**initiation à la morphologie, la systématique et la biologie des insectes.Doc.Tech.ORSTOM,n^o23 : 213pp.
- **Rust, N. M., Papa, M. P., Scovino, A. M., da Silva, M. M. C., Calzavara-Silva, C. E., de Azevedo Marques Jr, E. T., Torres Peçanha,L.M., Scharfstein, J., & Arruda, L. B. (2012).** Bradykinin enhances Sindbis virus infection in human brain microvascular endothelial cells. *Virology*, 422(1), 81-91.
- **Sadallah, N., Belkhaoui, A. (2016).**Étude Biométrique sur des larves de *Culex pipiens* Exposées aux Extraits Des plantes. Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master, Université des Frères Mentouri Constantine.66p.
- **Scholte, E. J. (2004).** The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* for mosquito control. Impact on the adult stage of the African malaria vector *Anopheles gambiae* and filariasis vector *Culex quinquefasciatus*. Wageningen University and Research.
- **Schricke, J. (2020).** Risque d'émergence de maladies infectieuses tropicales en Europe en lien avec le changement climatique (Doctoral dissertation, Université Toulouse III-Paul Sabatier).
- **Segondy, M. (2016).** Arboviroses à risque de transmission autochtone en France métropolitaine. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2016(487), 35-46.
- **Serie, C., Fauran, P., & Pilo-Moron, E. (1973).** Présence de l'encéphalite de Saint-Louis en Guyane Française. *Medecine et Maladies Infectieuses*, 3(1), 7-19.
- **Seye, F., & Ndiaye , M.(2012).** Isolement d'une souche de champignon entomopathogène virulente contre les larves de moustiques (*Anopheles gambiae*, *Aedes aegypti* et *Culex quinquefasciatus*) et sites d'action. Unité d'Entomologie, Rickettsiologie, Bactériologie et Virologie (UERBV), Laboratoire de Biologie de la Reproduction (LBR), Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar.
- **Seye, F.,Ndione, R.D.,Touré, M.,Ndiaye, M.,Boukraa, S.,Bawin, T.,Zimmer, J.Y., & Francis, F.(2013).**Laboratory and semi-field environment tests for the control efficacy of *Metarhizium anisopliae* formulated with neem oil (suneem) against *Anopheles gambiae s.l* adulte emergence. *Academia Journal of Biotechnology*, 1(3):46-52.
- **Sharma, A., Srivastava, A., Shukla, A.K., Srivastava, K., Srivastava, A.K., & Saxena, A.K. (2020).** Entomopathogenic Fungi: A Potential Source for Biological Control of Insect Pests. In: *Phytobiomes: Current Insights and Future Vistas* (pp. 225-250). Springer, Singapore.
- **Shukla, A.C., Afzal, K. (2021).** Entomopathogenic Fungi. In: Omkar (eds) *Microbial Approaches for Insect Pest Management* (pp.315-336). Springer, Singapore.
- **Singh, B., Singh, P. R., & Mohanty, M. K. (2012).** Toxicity of a plant based mosquito repellent/killer.interdisciplinary toxicology, 5(4), 184.

- **Soltani, N. (2011).** Environnement et santé : Etat et méthodes alternatives de lutte contre les moustiques. Conférence. Congrès Méditerranéen, Biodiversité Animale & Ecologie de la Santé, Annaba, 15-18 Octobre 2011.
- **Soltani, N., Larhem, A. B., & Boudjelida, H. (2010).** Lutte chimique contre le moustique: évaluation d'un insecticide sélectif à l'égard des larves de *Culex pipiens*. Travaux de l'Institut Scientifique, Série Zoologie, Rabat, (47), 177-182.
- **Sutton, D.A., Fothergoll, A.W., Rinaldi, M.G. (1998).** Guide to clinically significant fungi. Williams and Wilkins, Baltimore. 471p.
- **Tardif, S. D., Smucny, D. A., Abbott, D. H., Mansfield, K., Schultz-Darken, N., Yamamoto, M. E. (2003).** Reproduction in captive common marmosets (*Callithrix jacchus*). Comparative medicine, 53(4), 364-368.
- **Tattevin, P. (2012).** Dengue, chikungunya: deux arboviroses émergentes. Journal des Anti-infectieux, 14(2), 89-95.
- **Tennstedt, D. (2004).** Peau et moustiques. In Progrès en dermatoallergologie Lille 2004 (pp. 91-104). John Libbey Eurotext Paris.
- **Thakur, N., Tomar, P., Kaur, S., Jhamta, S., Thakur, R., & Yadav ,A.N .(2021)** Entomopathogenic soil microbes for sustainable crop protection. In: Yadav AN (ed) Soil microbiomes for sustainable agriculture. Springer, pp 529–571.
- **Thiberville, S. D., Boisson, V., Gaudart, J., Simon, F., Flahault, A., & De Lamballerie, X. (2013).** Chikungunya fever: a clinical and virological investigation of outpatients on Reunion Island, South-West Indian Ocean. PLoS neglected tropical diseases, 7(1), e2004.
- **Thierry Damien , A.O.(2011).** Lutte bioécologique contre *Culex pipiens quinquefasciatus* en milieu urbain au Burkina faso. Thèse de doctorat en Entomologie, Université de Ouagadougou.127p.
- **Tikour, S. (2018).** Biodiversité Fongique De La Moule *Mytilus Galloprovincialis* (Lamarck,1819) Elevée Dans Deux Fermes Conchylicoles De l'Ouest Algérien Kristel Et Stidia. Mémoire De Fin D'études, Université Abdelhamid Ibn Badis, Mostaganem.74p.
- **Tong-Kwee, L.,Muhamad, R.,Fee, C.G., & Lan, C.C.(1989).**Studies on *Beauveria bassiana* isolated from the *cocoa mirid*, *Helopeltis theobromae*. Crop Protection ,8(5), 358-362.
- **Toral y Caro, M.(2005).**Evaluation in vitro de l'efficacite du firronil sur *Culex pipiens pipiens*.Thèse pour obtenir le grade de Docteur Veterinaire , Diplôme d'état , Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse , France.55p.
- **Touré, S. (2018).** Interactions insectes-micro-organisme entomopathogènes comme source d'inspiration pour la découverte concomitante de bio-insecticides et d'antimicrobiens.Thèse de doctorat en chimie des substances naturelles. Université Pierre et Marie curie.p419.
- **Wang, F. Y., Liu, R. J., Lin, X. G., & Zhou, J. M. (2004).** Arbuscular mycorrhizal status of wild plants in saline-alkaline soils of the Yellow River Delta. Mycorrhiza, 14(2), 133-137.

- **Woehl, B., Jambert, L., Tusch, J., Bensalah, N., Michel, P., Lehn-Hogg, M., Obringer, G., Buchenrieder, N., & Hamadé, A. (2021).** Filariose lymphatique découverte par un tableau d'œdème de la cuisse, à propos d'un cas. *JMV-Journal de Médecine Vasculaire*, 46(5), S56.
- **World Health Organization.(2014).** Chikungunya (No. WHO-EM/MAC/031/F). World Health Organization. Regional Office for the Eastern Mediterranean.
- **Zerroug, S. (2018).** Etude biométrique et histologique sur des larves de *Culex pipiens Linnée, 1758* (Diptera, Culicidae) Exposées aux extraits aqueux de plantes.Thèse de doctorat, Université des Frères Mentouri, Constantine, 158 p.
- **Zuharah, W. F., Rohaiyu, M. R., Azmi, W. A., & Nagao, H. (2021).** Pathogenicity of entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* MET-GRA4 isolate on dengue vectors, *Aedes albopictus* and *Aedes aegypti* mosquito larvae (Diptera: Culicidae). *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 24(2), 24-29.

ANNEXES

Annexe 1

Tableau 01 : liste du matériel non biologique utilisé pendant l'expérimentation

Appareils	Verrerie et petit matériel
Balance de précision (Pioneer) Autoclave (Wise Clave) Agitateur magnétique avec plaque (VELP scientifica) Bain marrie (Memmert) Bec benzen (Erdgaz) Ph metre (OHAUS) Conductimètre (Adwa) Loupe (Optika) Microscope optique (Optika) Etuve (Mettler) Chauffante (Hotplate stirrer)	Béchers Tube à essai Erlenmeyers Pipettes Pasteur Anse de platine Micropipettes Boites pétri Barreaux magnétique Cellule de malassez Entonnoirs Lames Pour l'élevage des moustiques : seringues, Gobelets , Biscuit sec.

Milieu de culture

➤ Milieu sabouraud

Produit de la digestion peptique de tissus animaux.....	5g
Digestion pancréatique de la caséine.....	5g
Dextrose.....	40g
Agar.....	15g
Ph.....	5.6
Eau distillé	1000ml

➤ Milieu OGA

Extrait de levure	5 g
Glucose	20 g
Agar bactériologique.....	15 g
Ph.....	7
Eau distillé.....	1000ml

➤ Milieu PDA

Infusion de pomme de terre	200g
Dextrose.....	20g
Agar.....	17g
Ph.....	5.6
Eau distillé.....	1000ml

Résumé

Dans la recherche de méthode alternative à la lutte chimique, l'utilisation des biopesticides est de plus en plus développée contre les moustiques vecteurs de maladies. Les souches des champignons sont les plus prometteuses dans cette nouvelle perspective. Pour apporter notre contribution, nous nous sommes intéressés à la réalisation des biotests microbiologiques en utilisant des souches, de champignons entomopathogènes, locales isolées à partir de différents sols de la Wilaya de Bouira contre les stades aquatiques (L4 et nymphes) de moustiques *Culex pipiens*. L'identification des souches fongiques isolées était basée sur les caractéristiques morphologiques. Quatre souches ont été isolées et identifiées comme entomopathogènes : *Beauveria sp*, *Cladosporium sp*, *Verticilium sp* et *Aspergillus sp*. Parmi eux on a sélectionné deux souches pour notre essai qui sont : *Beauveria sp* et *Cladosporium sp*.

La comparaison de l'effet de ces deux champignons entomopathogènes sur la mortalité des larves des moustiques a démontré que le *Cladosporium sp* est le plus efficace et le plus rapide avec un taux de mortalité totale 100%. Nous avons remarqué aussi une mortalité totale des nymphes par les deux souches. Ces résultats ont montré une bonne efficacité de ces champignons vis-à-vis les stades aquatiques de *Culex pipiens*. Dans le présent travail, nous avons confirmé l'utilité des champignons entomopathogènes dans la lutte biologique.

Mots clé : champignons entomopathogènes, *Culex pipiens*, lutte biologique, sol, toxicité.

Abstract

In the search for an alternative method to chemical control, the use of biopesticides is increasingly developed against disease-carrying mosquitoes. Fungal strains are the most promising in this new perspective. To make our contribution, we are interested in the realization of microbiological biotests using strains, entomopathogenic fungi, local isolated from different soils of Bouira against aquatic stages (L4 and nymphs) of *Culex pipiens* mosquitoes. Identification of isolated fungal strains was based on morphological characteristics. Four strains were isolated and identified as entomopathogens: *Beauveria sp*, *Cladosporium sp*, *Verticilium sp* and *Aspergillus sp*. Two strains were selected for our trial: *Beauveria sp* and *Cladosporium sp*.

A comparison of the effect of these two entomopathogenic fungi on the mortality of mosquito larvae showed that *Cladosporium sp* is the most effective and fastest with a total mortality rate of 100%. We also noticed a total mortality of nymphs by both strains. These results showed a good efficacy of these fungi vis-à-vis the aquatic stages of *Culex pipiens*. In this work, we have confirmed the usefulness of entomopathogenic fungi in biological control.

Keywords: Entomopathogenic fungi , *Culex pipiens*, Biological control, soil, toxicity.

ملخص

للبحث عن طريقة بديلة للمكافحة الكيميائية ، يتم تطوير استخدام المبيدات الحيوية بشكل متزايد ضد نواقل البعوض للأمراض. تعتبر سلالات الفطر الواعدة في هذا المنظور الجديد. لتقديم مساهمتنا ، كنا مهتمين بإجراء الاختبارات الحيوية الميكروبيولوجية باستخدام سلالات محلية من الفطريات الممرضة للحشرات المعزولة من اترية مختلفة في ولاية البويرة ضد المراحل المائية (L4 والحوريات) لبعوض *Culex pipiens* استند تحديد السلالات الفطرية المعزولة على الخصائص المورفولوجية. تم عزل أربع سلالات وتم تحديدها على أنها ممرضة للحشرات *Beauveria sp* و *Cladosporium sp* و *Verticilium sp* و *Aspergillus sp* من بينها ، تم اختيار سلالتين للاختبار ، وهما *Cladosporium sp* و *Beauveria sp* .

أظهرت مقارنة تأثير هذين الفطرين الممرضين للحشرات على نفوق يرقات البعوض أن *Cladosporium sp* هو الأكثر فعالية والأسرع مع معدل وفيات إجمالي 100%. لاحظنا أيضًا موتًا إجماليًا للحوريات بواسطة السلالتين. أظهرت هذه النتائج فعالية جيدة لهذه الفطريات ضد المراحل المائية من *Culex pipiens* في العمل الحالي ، أكدنا فائدة الفطريات الممرضة للحشرات في مكافحة البيولوجية.

الكلمات المفتاحية: الفطريات الممرضة للحشرات ، *Culex pipiens* ، مكافحة البيولوجية ، التربة ، السمية.