

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ –  
BOUIRA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES  
DE LA TERRE DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf : ...../UAMOB/F.SNV.ST/DEP.BIO/2024

## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTERbnn

!!\*\*\*\*\*

**Spécialité: Microbiologie Appliquée**

**Présenté par:**

***MAUCHE Zahia***

***Thème***

**Isolement et caractérisation de quelques souches  
entomopathogènes et essai de lutte contre les stades  
aquatiques du moustique *Culex pipiens***

**Soutenu le :02 /07/2024**

**Devant le jury composé de :**

***Nom et Prénom***

***Grade***

*Djenadi Katia*

*MCB*

*Univ. de Bouira*

*Présidente*

*Hamid Sonia*

*MCA*

*Univ. de Bouira*

*Promotrice*

*Messad Sarah*

*MCA*

*Univ. de Bouira*

*Examinatrice*

**Année Universitaire: 2023/2024**

# *Remerciements*

*Tout d'abord, merci à DIEU tout puissant ALLAH nous a réunis dans le chemin de la science et qui nous a porté la foi, la force et le courage pour accomplir ce travail.*

*Je remercie ma promotrice, Madame HAMID. S pour son accompagnement tout au long de ce travail de fin d'études .Pour son aide et ses conseils précieux, et son encadrement et son partage de connaissances lors des manipulations en laboratoire.*

*J'adresse mes vifs remerciements à Mme Djenadi K.pour l'honneur qu'elle me fait de présider le jury, ainsi que à Mme Messad S. d avoir accepté d'examiner et de juger ce modeste travail.*

*À ma famille et à mon mari, je dois un immense merci pour leur soutien indéfectible, leur encouragement constant et leur compréhension tout au long de ce périple. Leur présence et leurs encouragements ont été une source de motivation inépuisable.*

*Merci à mes amis qui ont rendu cette expérience réunionnaise inoubliable, en particulier Hayett.M et Farida.S ♥*

*Mes remerciements à toutes les personnes de près comme de loin qui ont contribué à l'élaboration de ce travail.*

*Dédicace*

*A mes très chers parents*

*A mon mari*

*A la mémoire de mon cher ayoub*

*A toute ma famille*

*A tous ceux qui me sont chers*

*A tous ceux qui aiment la*

*Science*

*Je dédie ce modeste mémoire*

*ZAHIA*

# Liste des abréviations

°C : Degré Celsius

B. bassiana : Beauveria bassiana

C : Concentration.

C : Culex

Cm : centimètre

%: Pourcentage

G : Gramme.

L : Litre

ml : millilitre

mm :milimetre.

PDA : Potato-Dextrose-Aga

Sp : Species

T : temoin.

V. *Lecanni: verticillium lecanni.*

X : Grossissement.

# Liste des figures

<b>Figure n°1:</b> Le cycle de vie pathogène des champignons entomopathogènes.....	9
<b>Figure n° 2:</b> Aspect macroscopique de <i>B. bassiana</i> .....	11
<b>Figure n°3:</b> Les Spores de <i>B.bassiana</i> .....	11
<b>Figure n°4:</b> Hyphes de <i>B. bassiana</i> .....	11
<b>Figure n°5:</b> Blastospores de <i>B. bassiana</i> .....	11
<b>Figure n° 6:</b> Muscardine blanche observée sur insecte attaqué par <i>B. bassiana</i> .....	12
<b>Figure n° 7:</b> Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de <i>Verticillium lecanii</i> .....	13
<b>Figure n°8:</b> schéma microscopique du <i>Verticillium</i> .....	14
<b>Figure n°9:</b> Le Moustique <i>Culex</i> .....	16
<b>Figure n°10:</b> Répartition du <i>Culex pipiens</i> dans le monde.....	18
<b>Figure n°11:</b> Nacelle d’œufs de <i>Culex pipiens</i> .....	19
<b>Figure n°12:</b> Morphologie général de la larve du 4ème stade de <i>Culex pipiens</i> . ....	20
<b>Figure n°13:</b> La nymphe de <i>Culex pipiens</i> .....	21
<b>Figure n°14:</b> Morphologie générale d’un adulte de <i>Culex pipiens</i> .....	21
<b>Figure n°15:</b> Cycle de développement <i>Culex pipiens</i> .....	24
<b>Figure n°16:</b> Les échantillons du sol utilisés.....	29
<b>Figure n°17:</b> Protocole d’ isolement des champignons à partir de sol.....	30
<b>Figure n°18:</b> Les étapes de purification et repiquage des isolats fongiques.....	32
<b>Figure n°19:</b> Gîte larvaire utilisé dans l’étude.....	34
<b>Figure n°20:</b> Tri des stades larvaires de <i>Culex pipiens</i> . ....	35
<b>Figure n°21:</b> Les étapes de préparation de la solution fongique.....	36
<b>Figure n°22:</b> Réalisation du traitement de la solution fongique sur les larves et nymphes.....	38

<b>Figure n°23:</b> Le relevé d'abondance des genres isolés .....	<b>44</b>
<b>Figure n°24:</b> Cinétique de mortalité des larves et des nymphes infectés par champignons <i>Beauveria sp</i> .....	<b>46</b>
<b>Figure n°25 :</b> Cinétiques de mortalité des larves infectées par champignons <i>Verticillium sp</i> ...	<b>48</b>
<b>Figure n°26:</b> Les stades larvaires de <i>Culex pipiens</i> traitées par <i>Beauveria sp</i> .....	<b>49</b>
<b>Figure n°27:</b> (A) interruption de l'émergence, (B) : Mort de la nymphe après traitement vues .....	<b>50</b>
<b>Figure n°28:</b> Adulte de <i>Culex pipiens</i> déformé avec une aile atrophiée vu sous loupe sous loupe .....	<b>51</b>
<b>Figure n°29:</b> Développement du champignon <i>B.sp</i> à la surface de l'adulte.....	<b>51</b>
<b>Figure n°30:</b> Mort du moustique après emergence vue sous loupe.....	<b>52</b>
<b>Figure n°31:</b> Effet de l' entomopathogènes <i>V.sp</i> sur les différents stades aquatiques de <i>Culex pipiens</i> .....	<b>53</b>
<b>Figure n°32:</b> Adulte de <i>Culex pipiens</i> déformé avec une aile atrophiée vu sous loupe .....	<b>54</b>
<b>Figure n°33:</b> Développement du champignon <i>V.sp</i> à la surface de l'adulte déformé vu sous loup .....	<b>54</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau I :</b> Champignons entomopathogènes appartenant à différents Phylums.....	7
<b>Tableau II:</b> Le nombre et la taille des différents stades de développement du.....	35
<b>Tableau III:</b> Les Suspensions fongiques et leur concentration en spores / ml.....	37
<b>Tableau IV:</b> Les caractères macroscopiques des genres fongiques isolés .....	42
<b>Tableau V :</b> Caractères microscopiques des genres fongiques isolés.....	43

# *Table des matières*

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction :.....**Error! Bookmark not defined.**

## *Première partie: synthèse bibliographique*

Chapitre I: Généralités sur les champignons entomopathogènes .....**Error! Bookmark not defined.**

I -1- Classification des champignons entomopathogènes .....5

I -2- Mode d'infection .....8

I-3-Exemples sur les champignons entomopathogènes: (*Beauveria sp*,*Verticillium sp*).....10

I-3-1- *Beauveria bassiana* .....10

I-3-2- *Verticillium lecanii* .....13

**Chapitre II: Généralités sur *Culex pipiens* .....Error! Bookmark not defined.**

II-1- Position systématique .....17

II-2- Répartition géographique .....17

II -2-1. Dans le monde .....17

II -2-2. En Algérie .....18

II-3- les caractères morphologiques .....18



II -4- Cycle de développement de <i>Culex pipiens</i> : .....	22
II-5- Les principales nuisances causées par <i>Culex pipiens</i> .....	24
II-6- Aperçu général sur les moyens de lutte .....	25
II -6-1- la lutte chimique .....	25
II-6- 2- La lutte génétique.....	25
II-6-3 -la lutte biologique .....	26

## *Deuxième partie : Partie expérimentale*

### **Chapitre I: Matériel et méthodes**

I-1- Matériel biologique.....	28
I--1--1-Le sol:.....	28
I-1-2- Matériel entomologique : <i>Culex pipiens</i> .....	28
I-2- Matériel non biologique : .....	28
I-3 -Méthodologie.....	28
I-3 -1- Prélèvement du sol et sites d'isolement .....	28
I -3 -2- Isolement des champignons .....	29
I-3-3 – Purification et repiquage des isolats fongiques.....	31
I -3 - 4 - Méthodes d'identification.....	32
I -3 - 4 – 1- Observation macroscopique.....	32
I -3 - 4 –2- Observation microscopique .....	33
I-3-5 -Le relevé de l'abondance des genres fongiques .....	33

I-3-6 -la récolte des moustiques.....	34
I-3-7- Le tri:.....	35
I -3-8- Application des champignons entomopathogènes sélectionnés sur les différents stades aquatiques du <i>Culex pipiens</i> .....	35
I -3-8-1- Préparation de la solution fongique.....	35
I -3-8-2- Calcul de la concentration de la solution mère. ....	36
I -3-8-3 Traitement des stades aquatiques par la solution fongique.....	36

## **Chapitre II: Résultats et discusion**

II-1- Isolement et sélection des champignons entomopathogènes .....	39
II-1-1. L'isolement et la caractérisation de genres fongiques.....	39
II-1-2. Le relevé de l'abondance des genres fongiques .....	44
II-2- La sélection des genres fongiques entomopathogènes .....	46
II-3 - Effet des champignons entomopathogènes sélectionnées sur les différents stades aquatiques du <i>Culex pipiens</i> : .....	47
II-4- Symptomatologie.....	50
II-4-1. Effet de <i>Beauveria sp</i> sur les larves de différents stades de <i>Culex pipiens</i> .....	50
II-4-2. Effet de <i>Beauveria sp</i> sur les nymphes de <i>Culex pipiens</i> .....	50
Conclusion générale .....	<b>Error! Bookmark not defined.</b>
Références bibliographiques	
Annexes	
Résumé	

# ***Introduction***

## *Introduction*

---

Les moustiques ont toujours causé des désagréments et des nuisances aux humains, principalement parce qu'ils peuvent devenir des vecteurs de divers agents pathogènes tels que des bactéries, des virus et des nématodes ; leurs propriétés hématophages en font des ectoparasites temporaires, transmettant diverses maladies aux humains et aux animaux, causant des milliers de maladies et de décès chaque année. Parmi les espèces connues pour transmettre des maladies à l'homme, nous listons les genres *Culex*, *Aedes* et *Anophèles* (Reid et *al.*,1990).

Il existe peu d'options de prévention et de traitement des maladies à transmission vectorielle ; la lutte repose en grande partie sur la lutte antivectorielle. La méthode habituelle de prévention consiste à utiliser des produits répulsifs ou insecticides.

Différentes techniques de contrôle ont donc été mises au point, dont l'emploi de pesticides chimiques (organophosphorés, organochlorés, carbamates). Cependant, ces derniers ont montré peu de sélectivité (Reid et *al.*,1990). Des effets secondaires ont été observés à long terme dans l'environnement (Casida et Quistad ,1998).

Toutes les connaissances acquises en physiologie des arthropodes et des insectes, ainsi que la prise en compte du phénomène nouveau et inquiétant de résistance des moustiques, notamment aux insecticides traditionnels, ont conduit ces dernières années au développement des molécules non polluantes agissant de manière sélective sur le développement des organismes. (Ioannou et *al.*,2021 ; Talipouo et *al.*,2021; Hemingway et Ranson, 2000).

Récemment, l'utilisation de biopesticides, notamment de biocontrôle à base de champignons entomopathogènes, a fait son apparition. Même utilisés en petites quantités, ils sont très efficaces et se décomposent rapidement, ne laissant aucun résidu toxique. (Mejias et *al.*, 2020).

Plusieurs taxons de micro-organismes sont utilisés dans la lutte biologique, tels que les virus, les bactéries, les microchampignons, les nématodes et les protozoaires. Parmi les micro-organismes utilisés, plus de 700 espèces de microchampignons sont entomopathogènes et jouent un rôle essentiel dans la régulation naturelle de ces populations d'insectes (Kouassi, 2001), dont la résistance est limitée par rapport aux insecticides chimiques traditionnels. (Samada et Tambunan 2020; Ritika et Utpal 2014; Dubovskiy et *al.*,2013 ; Sudakin 2003), dans ce contexte, nous citons les travaux réalisés par Hend et *al* (2023) concernant l'application du champignon entomopathogène *M. anisopliae* contre *Culex pipiens* ,il a signalé une mortalité

## *Introduction*

---

synergique sur les larves de *C. pipiens* de troisième stade à 2 et 4 jours après l'exposition ainsi que des effets les plus délétères sur les couches cuticulaires de l'insecte.

La lutte biologique contre les ravageurs et les maladies utilise le mode de vie parasitaire des champignons. En effet, les maladies microbiennes chez les invertébrés sont principalement causées par les champignons, avec près de 1000 espèces qui jouent un rôle essentiel dans la mort naturelle de certains insectes. En outre, la plupart des champignons entomopathogènes présentent un mode d'infection direct, via la cuticule de l'hôte, et ils agissent par contact plutôt que par ingestion. *Beauveria spp.*, *Metarhizium spp.*, *Isaria spp.* et *Lecanicillium spp.* Sont principalement utilisés comme biopesticides fongiques. Ces champignons appartiennent au phylum Ascomycota, à la classe des Sordariomycetes et à l'ordre des Hypocreales. (Mascarin et Jaronski 2016 . Greenfield et *al.*, 2015 ; Ortiz-Urquiza et *al.*, 2015).

Dans ce sens, nous avons élaboré un travail de recherche avec deux grandes parties :

- La première partie se concentre sur les données bibliographiques concernant les champignons entomopathogènes (*Beauveria bassiana* et *Verticillium lecanii*), ainsi que le moustique domestique *Culex pipiens*.
- La deuxième partie décrit tous le matériel nécessaire, les différentes méthodes employées, ainsi que la manière dont les résultats sont analysés et les discussions qui ont été menées concernant chaque partie étudiée, notamment l'identification et la caractérisation des souches entomopathogènes locales, ainsi que leur toxicité sur les stades aquatiques de *Culex pipiens*. On termine notre contribution par une conclusion générale et des perspectives.

***Première partie :***  
***synthèse***  
***bibliographique***

## ***Chapitre I: Généralités sur les champignons entomopathogènes***

---

L'un des groupes d'organismes les plus importants est constitués par les champignons (fungi ou mycètes) (Muller et Schimt, 2007).

Dans le passé, ils ont été perçus comme des végétaux, mais aujourd'hui ils forment un règne distinct, nommé Mycota (Reboux et *al.*,2010). Ils possèdent une ou plusieurs cellules, sans chlorophylle, ce qui les distingue clairement du règne végétal (Chabasse et *al.*,2002).

Les espèces qui les composent comprennent des macromycètes et d'autres micromycètes (Lüttge et *al.*,2002), qui ont des structures et des caractéristiques biologiques très variées, adaptées à des modes de vie saprophytes, parasitaires ou symbiotiques (Anonyme a, 2000 ; Anonyme b, 2000).

Les champignons sont des microorganismes eucaryotes filamenteux, strictement aérobies et rarement anaérobies (Tortora et *al.*, 2003; Mathew, 1995). Ils ont un métabolisme hétérotrophe qui fonctionne grâce à l'énergie puisée de la respiration et de la fermentation des matières organiques solubles présentes dans leur environnement (Nicklin et *al.*,1999 ;Leveau et Bouix, 1993).

Ils sont principalement constitués d'un thalle sans pigment assimilateur, appel « mycélium » chez les champignons (Rispaïl, 2008).

Les spores, structures uni ou multicellulaires, sont la principale méthode de reproduction des champignons, puisqu'elles peuvent reproduire l'espèce parentale après la germination. Selon Bouzid (2015), les spores peuvent se développer soit par une voie asexuée, soit par une voie sexuée.

Les champignons sont divisés en quatre classes principales : les Ascomycètes, les Basidiomycètes, les Deutéromycètes et les Zygomycètes, selon Hoog (1995).

les champignons entomopathogènes jouent un rôle crucial dans la régulation naturelle des populations d'insectes (Wraight et Roberts,1987).

L'intérêt de ces champignons entomopathogènes réside dans leur capacité à influencer tous les stades de développement de l'insecte, y compris les œufs (Ferreira et *al.*,2005).*Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae* sont les champignons entomopathogènes les plus couramment employés dans le développement de biopesticides

## ***Chapitre I: Généralités sur les champignons entomopathogènes***

---

(Lacey et *al.*,2015) En particulier, *Metarhizium anisopliae* a été largement étudié chez diverses espèces de moustiques, tandis que *Beauveria bassiana* a été rarement étudié chez ces insectes (Huang et *al.*, 2017 ; Scholte et *al.*, 2004). Pour évaluer le potentiel d'un champignon en tant que biopesticide efficace, il est essentiel de considérer sa virulence, sa persistance et sa productivité en conidies (Muñiz-Paredes et *al.*, 2017 ;Lopez-Perez et *al.*, 2015).

Ces champignons possèdent un large éventail d'hôtes et sont perçus comme des champignons respectueux de l'environnement. De nombreux biopesticides ont été créés avec ces agents afin de combattre les ravageurs et les vecteurs agricoles tels que les tiques, les termites, les mouches domestiques (Lacey et *al.*, 2015).

Les champignons entomopathogènes sont efficaces contre de nombreux insectes nuisibles et jouent un rôle crucial en tant qu'agents de lutte biologique (Majeed et *al.*,2017 ; Cabanillas et Jones, 2009). Grâce à leur grande spécificité d'hôte et à leur faible toxicité pour les mammifères, ces champignons sont devenus essentiels pour la recherche en biocontrôle(Vega et *al.*, 2009 ; Wraight et Carruthers, 1999). De plus, les champignons entomopathogènes peuvent se développer de manière endophytique dans diverses parties des plantes et induire une résistance systémique chez les plantes hôtes contre différents stress biotiques, comme les insectes phytophages, les nématodes et les pathogènes (Jaber et Ownley, 2018 ; Sánchez-Rodríguez et *al.*, 2018). Ils favorisent également la croissance et le rendement des plantes (Behie et *al.*, 2012 ; Kabaluk et Ericsson, 2007).

### **I -1- Classification des champignons entomopathogènes :**

Selon Ferron (1975) les champignons entomopathogènes sont classés en quatre groupes : les champignons imparfaits, les entomophtorales, les coelomomyces et les ascomycètes.

Désormais, la classification de la diversité biologique se focalise sur une classification phylogénétique en remplacement de la classification classique, en raison des récentes découvertes (Saiah, 2014).

Les groupes ou taxons sont établis par la classification classique en se basant sur un critère de ressemblance globale. Selon Vega et *al.* (2012), une classification phylogénétique implique la classification des êtres vivants en fonction de leurs liens de parenté.



## ***Chapitre I: Généralités sur les champignons entomopathogènes***

---

Après l'émergence de la biologie moléculaire, de nombreux concepts taxonomiques ont subi des modifications, cela conduirait à l'abandon des termes « Deutéromycètes », « Hypomycètes » et « champignons incomplets », qui classent communément de nombreux champignons entomopathogènes et à leur reclassement dans le phylum Ascomycota (Humber,2012).

Les champignons entomopathogènes se trouvent actuellement dans quatre divisions distinctes : Chytridiomycota, Zygomycota, Basidiomycota et Ascomycota.

Le tableau I répertorie plusieurs espèces de champignons appartenant à divers champignons et connus pour leur activité entomopathogène

## Chapitre I : Généralités sur les champignons entomopathogènes

**Tableau I :** Champignons entomopathogènes appartenant à différents Phylums (Saiah, 2014 in Badaoui,2017)

Phylum	Genre	Espèce	Auteur
Zygomycota	<i>Batkoa</i> Humber	<i>B. apiculata</i> et <i>B. major</i>	Balazy, 1993
	<i>Conidiobolus</i> Brefeld	<i>C. coronatus</i>	Soper et al., 1988
		<i>C. obscurus</i> et <i>C. thromboides</i>	
	<i>Entomophaga</i> Batko	<i>E. aulicae</i> , <i>E. maimaiga</i> et <i>E. grylli</i>	Humber, 2012
		<i>E. calopteni</i>	Humber, 1989
	<i>Entomophthora</i> Fresenius	<i>E. culicis</i> et <i>E. muscae</i>	Keller, 2002
		<i>E. planchoniana</i>	Humber, 2012
	<i>Erynia</i> Nowakowski	<i>E. aquatica</i> et <i>E. rhizospora</i>	Keller, 1991
		<i>E. conica</i>	Balazy, 1993
		<i>E. ovispora</i>	Humber, 2012
	<i>Furia</i> Batko	<i>F. americana</i>	Keller, 1991
		<i>F. F. virescens</i>	Balazy, 1993
<i>Massospora</i> Peck	<i>M. cicadina</i>	Humber, 2012	
<i>Neozygites</i> Witlaczil	<i>N. fresenii</i> , <i>N. parvispora</i> et <i>N. floridana</i>		
	<i>Pandora</i> Humber		<i>P. blunckii</i> et <i>P. neoaphidis</i>
<i>Zoophthora</i> Batko	<i>Z. phalloides</i> et <i>Z. phytonomi</i>		
	<i>Z. radicans</i>	Balazy, 1993	
Basidiomycota	<i>Septobasidium</i>	<i>Septobasidium</i> sp	Henk et vilgalys, 2007
	<i>Auriculosocypha</i>	<i>Auriculosocypha</i> sp	
	<i>Uredinella</i>	<i>Uredinella</i> ,sp	
	<i>Coccidiodyctyon</i>	<i>Coccidiodyctyon</i> sp	Sung et al., 2007
	<i>Ordonia</i>	<i>Ordonia</i> sp	
Ascomycota	<i>Aschersonia</i>	<i>A. aleyrodinis</i>	Chaverri et al., 2008.
		<i>A. Montagne</i>	Liu et al., 2006;
	<i>Ascospaera</i> Spiltoir	<i>A. aggregata</i>	Anderson et al. 1998.
	<i>Beauveria</i> Vuillemin	<i>B. bassiana</i> (Balsamo)	Rehner et al., 2011
		<i>B. brongniartii</i> (Saccardo)	
	<i>Cordyceps</i>	<i>C. militaris</i> et <i>C. tuberculata</i>	Kepler et al., 2012
	<i>Eusarium</i> Link	<i>Eusarium</i> sp	O'donnell et al., 1998
	<i>Gibellula</i> Cavara	<i>G. pulchra</i> et <i>G. leiopus</i>	Tzean et al., 1997
	<i>Hirsutella</i> Patouillard	<i>H. saussurei</i>	Rombach et Roberts, 1989
		<i>H. thompsonii</i>	Hodge et al., 1996
	<i>Hymenostilbe</i> Petch Emend.	<i>H. citrifomis</i>	Humber, 2012
		<i>H. rhossiliensis</i> et <i>H. saussurei</i>	Hodge et al., 1996
		<i>H. thompsonii</i>	Rombach et Roberts, 1989
	<i>Isaria</i> Persoon	<i>I. farinosa</i> et <i>I. fumosorosea</i>	Humber, 2012
	<i>Paecilomyces</i> Bainier	<i>P. lilacinus</i>	
	<i>Lecanicillium</i> Gams et Zare	<i>L. lecanii</i>	Zare et al., 2001.
	<i>Metarhizium</i> Sorokin	<i>M. anisopliae</i>	Bischoff et al., 2009
		<i>M. flavoviride</i>	Driver et al., 2000
		<i>M. majus</i> et <i>M. acridum</i>	Kepler et al., 2012.
<i>Nomuraea</i> Maublanc	<i>N. rileyi</i>	Kepler et al., 2012	
<i>Tolyposcladium</i>	<i>T. niveum</i>	Humber, 2012	
	<i>T. cylindrosporum</i>	Hodge et al., 1996	
<i>Torrubiella</i> Boudier	<i>T. ratticaudata</i>	Sato et al., 2010	
	<i>T. aranicida</i>	Sung et al., 2007	

# ***Chapitre I: Généralités sur les champignons entomopathogènes***

---

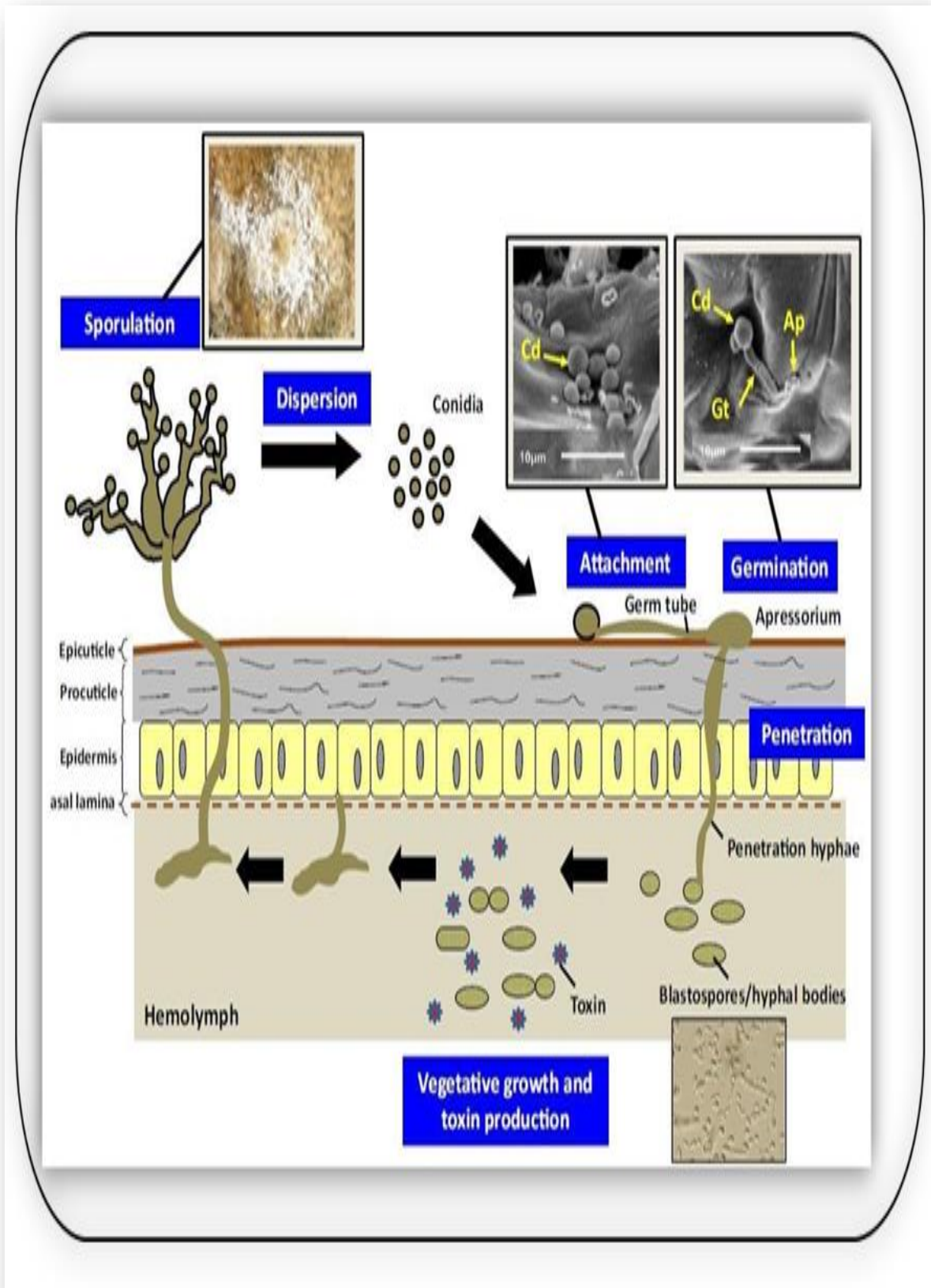
## **I -2- Mode d'infection :**

Les champignons entomopathogènes doivent coloniser un hôte afin de l'utiliser comme source de nutriments. Les champignons ectoparasites se développent sous forme de thalles à la surface du corps de l'insecte. Ils obtiennent leur nourriture à la surface de l'hôte ou en pénétrant légèrement dans le tégument (Kuno,1973).

Les champignons entomopathogènes ayant un mode d'action endoparasitaire comprennent toutes les espèces qui pénètrent dans l'organisme et tuent l'hôte, généralement en envahissant et/ou en envahissant les tissus digestifs. La sécrétion de toxines est souvent considérée comme une activité complémentaire de ces champignons. Certaines espèces d'endoparasites, comme le *Penicillium sp*, sont capables d'infecter l'hôte en détruisant la cuticule (Veyet Riba,1989).

Le schéma infectieux de ces champignons comprend plusieurs étapes, illustrées dans la figure n° 01 (Dakhel, et *al.*,2019 ;Zimmermann,2007) :

- Fixation des spores sur la cuticule de l'insecte,
- Germination et formation des appressoria, des structures hyphales initiales,
- Pénétration de la cuticule par les tubes hyphaux pour atteindre l'hémocœle,
- Survie face aux réactions immunitaires de l'hôte,
- Propagation à l'intérieur de l'hôte par fragments d'hyphes ou blastospores,
- Reproduction des conidies à partir de l'hôte mort.



**Figure n° 1:** Le cycle de vie pathogène des champignons entomopathogènes (Mascarin et Jaronski ,2016).

## ***Chapitre I: Généralités sur les champignons entomopathogènes***

---

### **I-3- Exemples sur les champignons entomopathogènes: (*Beauveria sp*,*Verticillium sp*)**

#### **I-3-1- *Beauveria bassiana*:**

Le champignon *Beauveria sp.* est couramment présent dans les sols du monde entier et est largement utilisé en lutte biologique. De nombreuses études ont démontré son potentiel insecticide. Ce champignon peut cibler divers insectes ravageurs appartenant à différents ordres, en particulier les coléoptères (Todorova et al.,1996). Parmi les insectes susceptibles d'être contrôlés par *Beauveria sp.*, on trouve (Todorova et al.,1994) :

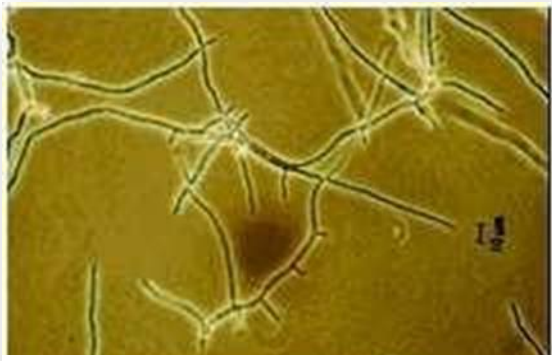
- la coccinelle maculée, *Coleomegilla maculata* (Coccinellidae),
- le scarabée argentin, *Cyclocephala signaticollis* (Scarabeidae),
- le doryphore de la pomme de terre (*Leptinotarsa decemlineata*) (Chrysomelidae) .

#### **❖ Morphologie :**

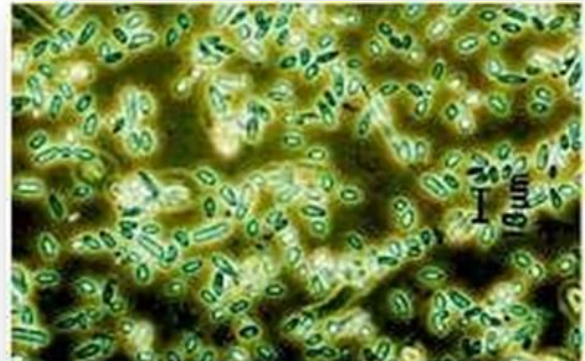
*Beauveria bassiana* produit des colonies cotonneuses blanches à jaunâtres (Figure n° 02). Les conidies ou spores (Figure n°03) (Dannon, 2020) sont soutenues par des filaments transparents et des hyphes cloisonnés (Figure n°04) d'un diamètre de 2,5 à 25 microns. Les conidies sont produites sur des épis courts, donnant aux cellules formant les conidies un aspect épineux. En présence d'air, le champignon produit des conidiospores sphériques (diamètre 1-4 µm) ou ovales (Dannon, 2020) (largeur 1,55-5,5 x 1-3 µm), mais en conditions anaérobies, il produit des blastospores ovoïdes (Figure n°05). Forme (diamètre 2-3 µm, longueur 7 µm). Les blastospores sont aussi infectieux que les conidies (Lipa, 1975; Weiser, 1972 )



**Figure n°2:** Aspect macroscopique de *B. bassiana* **Figure n°03:** Les Spores de *B. bassiana*  
(Dannon,2020).



**Figure n°4:** Hyphes de *B. bassiana* (x 400)



**Figure n°5:** Blastospores de *B. bassiana* (x400).

#### ❖ Taxonomie

D'après Rehner et Buckley (2005), la classification récente de *Beauveria bassiana* est comme suit :

**Règne :** Fungi

**Phylum :** Ascomycota

**Sous-phylum :** Pezizomycotina

**Classe :** Sordariomycete

**Sous-classe :** Hypocreomycetidae

## Chapitre I: Généralités sur les champignons entomopathogènes

**Ordre :** Hypocreale **Famille :** Cordycipitaceae

**Genre :** *Beauveria*

**Espèce :** *Beauveria bassiana*

### ❖ **Application de *Beauveria bassiana* en lutte biologique (importance de *B.sp*).**

Cette espèce, dotée d'un large spectre d'action et d'une grande virulence, peut infecter son hôte par simple contact (Meyling et al.,2009) et entraîner la maladie de la muscardine blanche (Michael, 2002) .(figure n°06), Selon son mode d'infection (ingestion ou simple contact avec l'hôte), *Beauveria bassiana* est un agent de lutte très intéressant (De kouassi, 2001).

Ce champignon présente l'avantage de ne pas devenir un pathogène dangereux pour l'homme ou les animaux à sang chaud ( Laird et al., 1990 ; Tong-kwee et al.,1989 ), Le champignon entomopathogène *B. sp* est un agent de lutte très intéressant du fait qu'il peut infecter l'hôte par ingestion ou par simple contact contrairement aux autres agents de lutte microbiologiques, Tous les stades, qu'il s'agisse d'œufs, de larve ou d'adultes, sont sensibles à ce mode d'action particulier. *B. bassiana* peut être fabriqué en grande quantité à un prix avantageux et peut être utilisé avec les méthodes conventionnelles. (Lipa,1985).



**Figure n°6:** Muscardine blanche observée sur insecte attaqué par *B. bassiana* (Michael, 2002)

## Chapitre I: Généralités sur les champignons entomopathogènes

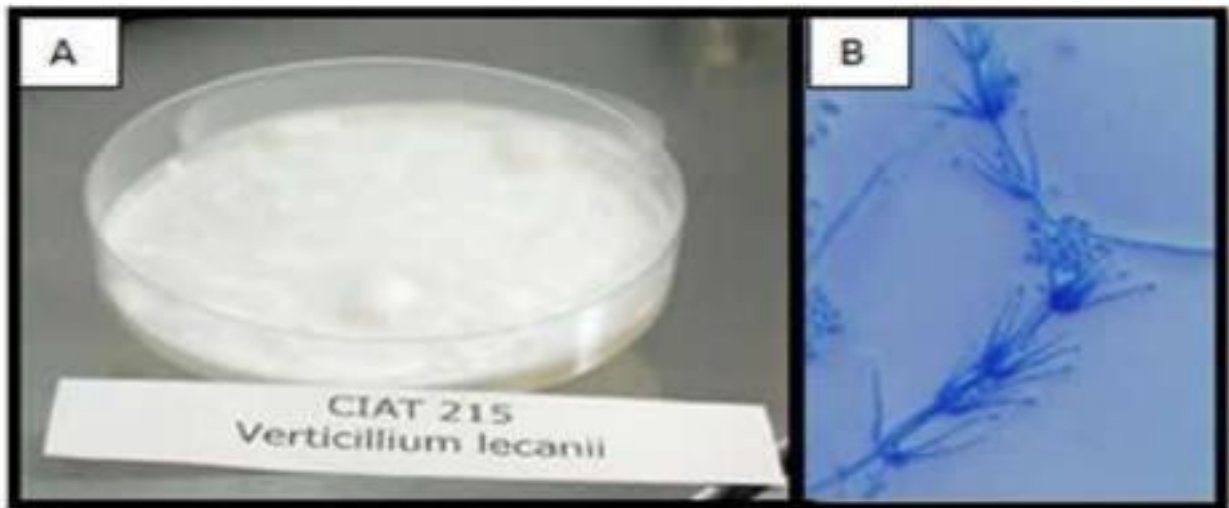
### I-3-2- *Verticillium lecanii* :

*Verticillium lecanii* est un champignon entomopathogène ciblant principalement les pucerons et les cochenilles. Des souches très virulentes et épizootiques de *V. lecanii* ont été développées pour être utilisées comme agents de lutte biologique (Hall,1981 ) contre certains insectes. Par exemple, Mycotal et Vertalec sont des produits commerciaux de lutte biologique utilisés respectivement contre l'aleurode et le puceron (Hall,1984). *V. lecanii* agit également comme mycoparasite sur la rouille (Allen, 1982 ; Spencer et Atkey, 1981).Le genre *Verticillium* comprend des espèces saprophytes, mais il est surtout constitué d'espèces parasites très répandues dans les sols (Champion,1997)

#### ❖ Morphologie

La colonie type de *Verticillium lecanii* est blanche au jaune pâle et d'aspects cotonneux (figure n°07 /A) .

Le genre *Verticillium* se distingue par sa forme imparfaite, ses filaments filamenteux et sa polyphagie (figure n° 07/B) Les champignons de cette catégorie ont une taille microscopique et n'ont pas de forme sexuelle connue. On peut observer des conidiophores dressés, hyalins ou noirs. Les conidiospores possèdent des conidies (Botton et *al.*,1990).



**Figure n°7:** Aspect macroscopique (A) et microscopique (B) de *Verticillium lecanii* Carreño (2003)

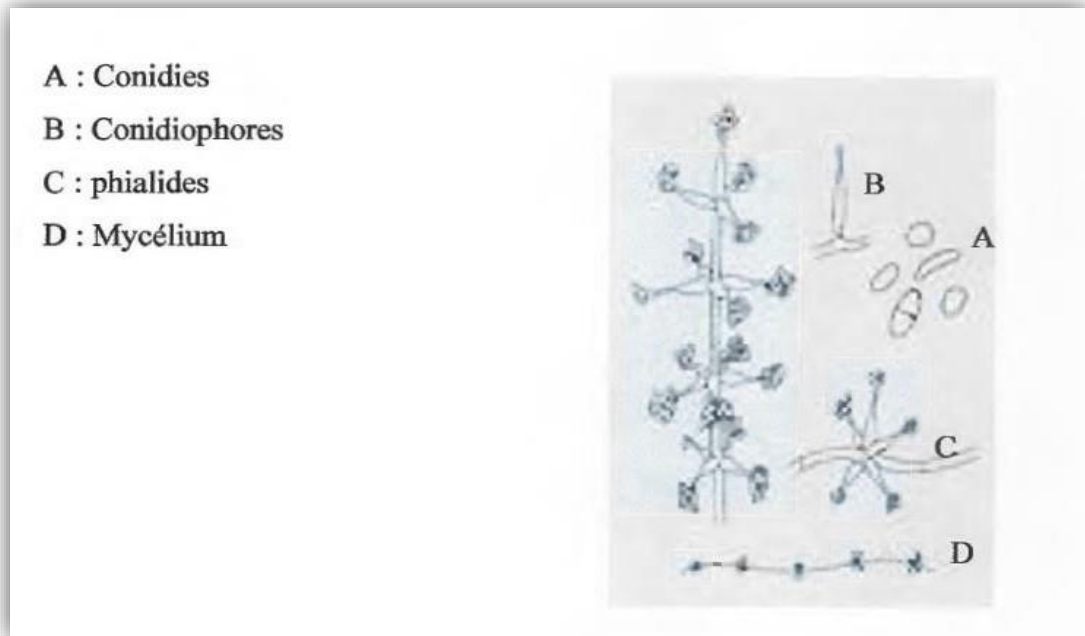
Les conidies sont formées individuellement à l'extrémité de phialides; elles sont principalement unicellulaires mais parfois elles présentent un septum, et ont une dimension de



## Chapitre I: Généralités sur les champignons entomopathogènes

3.5 à 10.5 (12.5) X 4 à 2  $\mu\text{m}$ . Elles ont une forme ellipsoïdale ou subcylindrique et sont irrégulières.

Les phialides sont portées par des conidiophores qui ont des ramifications verticillées, dont la base est plus sombre en culture sur des tissus végétaux (Figure n° 08).



**Figure n° 08:** schéma microscopique du *Verticillium*. G ( x 40) (Le poivre , 2003)

### ❖ Classification:

Le genre *Verticillium* fait partie du groupe des Ascomycètes. Il a été mis en évidence pour la première fois en 1816 par Nées von Esenbeck (Martin-Lapierre, 2011).

Selon Martin-Lapierre, (2011) : le genre *Verticillium* se classe comme suit :

**Règne :** Fungi

**Embranchement :** Ascomycota

**Classe :** Sordariomycètes

**Sous-classe :** Hypocreomycetidae

**Ordre :** Incertaesedis

## ***Chapitre I: Généralités sur les champignons entomopathogènes***

---

**Famille :** Plectosphaerellaceae

**Genre :** *Verticillium*

**Espèce :** *Verticillium lecanii* (Nees, 1816)

### **❖ Importance de *Verticillium lecanii***

*Verticillium lecanii* est un champignon microscopique. Il a été décrit pour la première fois en 1981 par Viegas comme un mycète cosmopolite trouvé sur les insectes. C'est un microbe pathogène commun des insectes dans les climats tropicaux et subtropicaux.

Il est connu comme biopesticide/bioinsecticide. Il a la capacité exceptionnelle de se reproduire tant sur les arthropodes que sur les champignons et de les injecter. Il est compatible avec les arthropodes les plus parasites et les plus prédateurs.

Il est connu comme mycète de "blanc-halo" en raison de la croissance mycélienne blanche sur les bords des insectes infectés, Le mycète se développe par la suite en dehors par la cuticule et sporule sur l'extérieur du corps. Les insectes infectés apparaissent en tant que blanc aux particules cotonneuses jaunâtres.

Les insectes malades apparaissent habituellement en 7 jours. Cependant en raison des conditions environnementales, il peut y avoir un certain temps de latence considérable de l'infection à la mort des insectes, Le mycélium fongique du *Verticillium lecanii* produit une toxine de cyclodepepsptide appelée le bassionolide, qui a été montré au ver à soie de mise à mort. le mycète produit d'autres toxines d'insecticides telles que l'acide dipieolinique ( Philippe et al.,1993).

Le *V.lecanii* peut affecter certains espèces des champignons phytopathogènes (*Uromyces dianthii* ) en inhibant leur développement( Boiron ,1996).

Le moustique commun ( Meyer,2009).(*Culex pipiens*) représente l'espèce la plus répandue des moustiques *Culex* dans l'hémisphère Nord. Les culex mâles consomment du jus sucré. En revanche, les femelles sont hématophages (Pierrick,2014) pique l'être humain ou d'autres animaux à sang chaud afin de consommer le sang nécessaire à la production de ses œufs. Les biocapteurs qu'elle possède lui permettent de repérer la température, le CO2 et certaines odeurs, ce qui lui permet de repérer ses proies. Selon certaines recherches, elle est attirée par différents types de lumière et même la pollution lumineuse contribue à l'augmentation de la durée de vie, notamment par la lumière blanche de la diode électroluminescente produite par la combinaison de la LED bleue et de la LED jaune ( Wilson et al.,2023).

Ces moustiques se nourrissent principalement d'hôtes aviaires et mammifères, ce qui les rend opportunistes (Brugman et al., 2018 )Ainsi, ils sont perçus comme des vecteurs importants pour le virus du Nil occidental, la fièvre de la vallée du Rift, la filariose lymphatique et le paludisme aviaire (Jung et al., 2021 ; Kimura et al., 2010 ).

Cette espèce aime les eaux chaudes et stagnantes et/ou les mares ou fossés ombragés avec des feuilles mortes. Certaines espèces peuvent présenter des préférences spécifiques : L'espèce anthropophile connue sous le nom de "moustique domestique", "moustique urbain nocturne" ou encore "moustique de la chambre à coucher" habite les zones urbaines à



**Figure n°9:** Le Moustique *Culex* (Science world, 2020)

températures douces qui offrent des gîtes larvaires (comme des piscines mal entretenues et des flaques d'eau de pluie) ( Marti , 2009).

**II-1- Position systématique :**

Le genre *Culex* est un arthropode appartient à la sous-famille des Culicinae, Sous-embranchement : Hexapoda. (Bussieras et *al.*,1991;Wall et *al.*,1992).

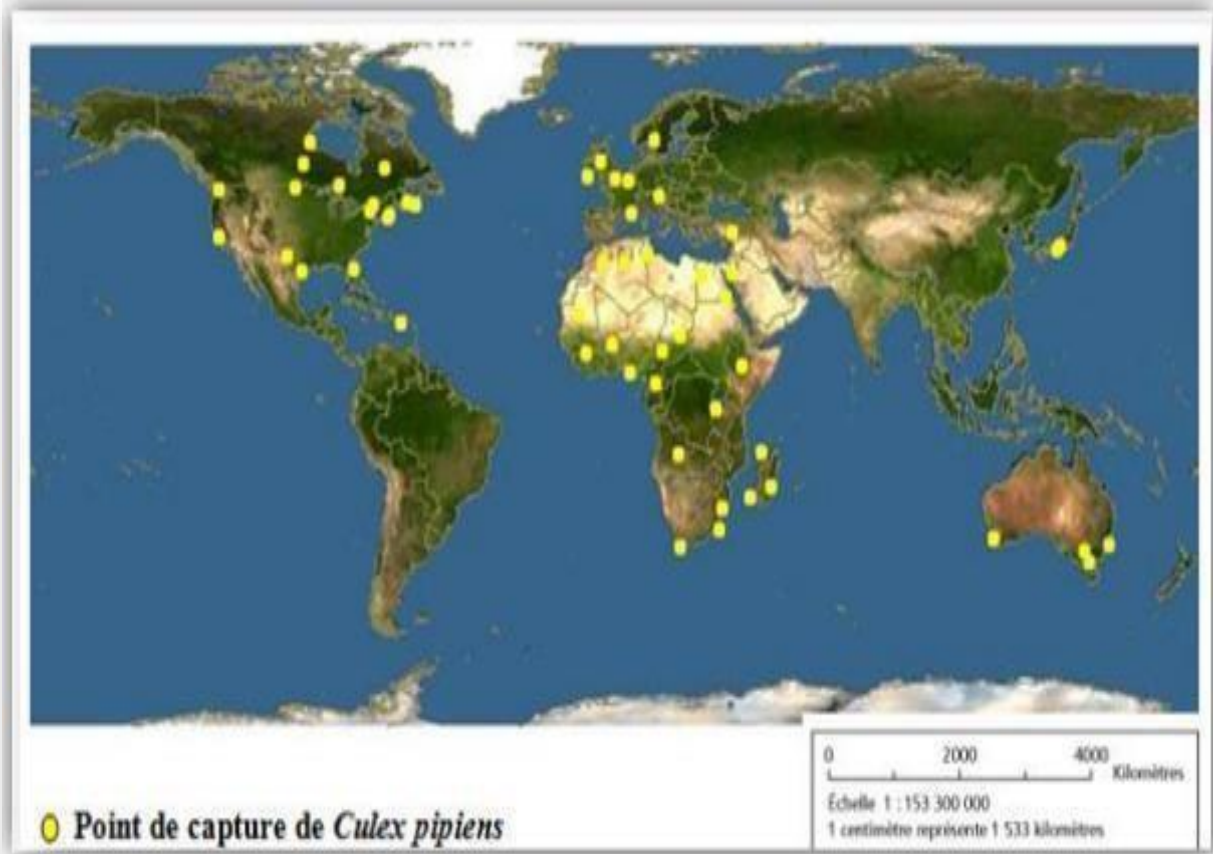
Selon Harbach, (2007),La classification du culex repose sur divers critères morphologiques visibles à la fois chez les œufs et à l'état larvaire, ainsi que sur des critères biologiques imaginaires. La saison, la période d'activité, les hôtes piqués (mammifères, oiseaux ou batraciens...), les gîtes de ponte.

Selon Trari et *al* (2002), *Culex pipiens* se trouve dans la position systématique suivante:

- Règne : Animalia
- Division : Arthropoda
- S/Division : hexapoda
- Classe : Insecta
- S/classe : Pterygota
- Ordre : Diptera
- S/ordre : Nematocera
- Famille : Culicidae
- S/famille : Culicinae
- Genre : *Culex*
- Espèce : *Culex pipiens* (Linné,1758).

**II-2-Répartition géographique :****II -2-1. Dans le monde :**

Le *Culex pipiens* est de plus en plus répandu à travers le monde, omniprésent, capable de s'adapter à tous les milieux, sauf dans les zones perpétuellement gelées, où les conditions sont trop sévères pour leur développement(Boyer, 2011),il se développant aussi bien dans les zones urbaines que rurales, dans les eaux polluées et propres (Faraj et *al.*, 2011;Hassaine, 2002) (Figure n°10). *Culex pipiens* est une espèce assez répandue en France et en particulier en Méditerranée. Elle se rencontre aussi dans toutes les parties tempérées d'Afrique, d'Europe, d'Asie, d'Amérique et d'Australie (Farajollali et *al.*, 2015 ;Wall et Sshearer, 1992).



**Figure n°10:** Répartition du *Culex pipiens* dans le monde (Robejean, 2013)

### **II -2-2- En Algérie**

Le *culex pipiens* est le moustique le plus intéressant en Algérie, car il est abondant et réellement nuisible dans les zones urbaines (Berchi et *al.*, 2012).

Seules les sous-familles Culicinae et Anophelinae sont présentes en Algérie (Kettle, 1990 in Berchi 2000) avec six genres.

### **II-3- les caractères morphologiques :**

Le développement apparent du moustique se divise généralement en 4 étapes : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte.

- **Œuf :** Les œufs des femelles de *Culex* sont pondus à la surface de l'eau (Michaelakis et al., 2005). On peut pondre les œufs en groupes de 100 à 400 œufs dans chaque nacelle. Ils sont généralement fusiformes et mesurent environ 0,5 mm (figure n°11). Au moment de la ponte, ils sont blanchâtres et s'assombrissent dans les heures qui suivent (Rodhain et Perez, 1985) par oxydation de certains éléments chimiques présents dans la thèque (Aissaoui, 2008 ;Seguy, 1951). Les œufs sont incubés dans l'eau, généralement claire, mais on en trouve aussi dans les eaux polluées, contenant des substances organiques qui donnent aux larves la possibilité de se nourrir. Environ 24 à 48 heures après l'ovipositeur, chaque œuf est entouré d'une coque imperméable à l'eau et résistant à la dessiccation pour sortir de l'œuf. L'éclosion des œufs pondus en pleine eau se produit en quelques jours, en fonction de la température ambiante du milieu (Benkalfate, 1991).



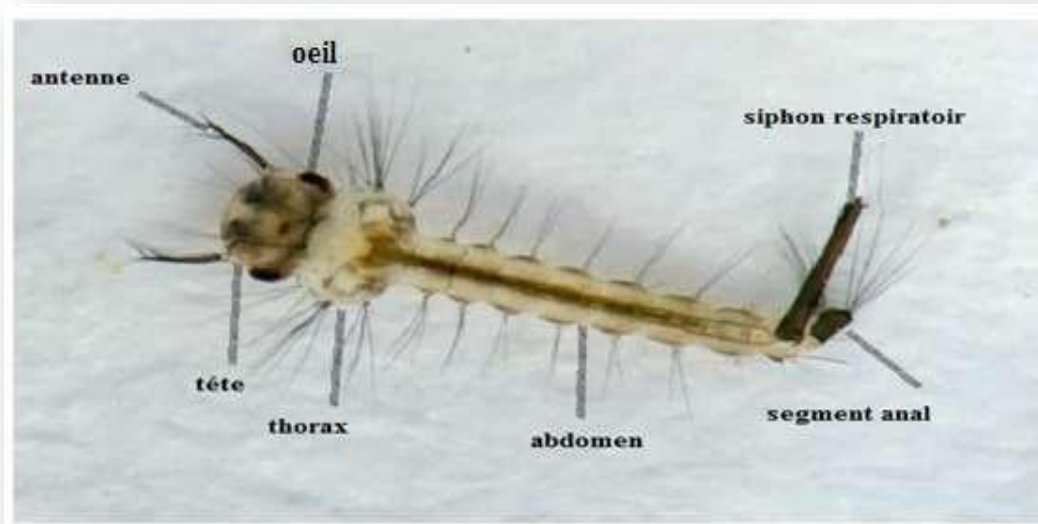
**Figure n°11:** Nacelle d'œufs de *Culex pipiens* (Benzidane et Ibessaine, 2022)

- **Larve :** Les larves vivent dans l'eau et évoluent en quatre étapes détaillées, allant du mm au cm. La forme des larves est encéphale. Leur structure est constituée de plusieurs couches, dont la plus externe constitue le revêtement chitineux (Anonyme, 2004).

Elles prolifèrent sans distinction dans les eaux claires ou contaminées, d'apparence vermiforme (Andreo, 2003 ;Kettle, 1995 ). Les insectes sont mobiles, qu'ils soient phytophages, zoophages ou saprophages. Ils se nourrissent du plancton grâce à des soies recourbées qui sont renvoyées par les pré-mandibules vers la bouche. Elles font face à 4 mues. Elles assimilent de l'air par un siphon caudal (Balenghien, 2007).

Les particules de matières organiques sont leur nourriture. La croissance larvaire s'étend sur une période de 7 à 12 jours et se divise en 4 étapes successives, séparées par des mues. Visible à l'œil nu, la larve du quatrième stade présente une tête qui porte latéralement les taches oculaires et les deux antennes. Ensuite, on peut observer le thorax et l'abdomen (Guillaumot, 2006). (figure n°12).

Les individus de *C. Pipiens* augmentent leur poids de manière relativement rapide pendant



**Figure n°12:** Morphologie général de la larve du 4ème stade de *Culex pipiens* (Insect, 2020).

les deux premiers stades larvaires, puis de manière plus lente par la suite (Bendali et *al.*,2001)

- **Nymphes:** La forme des nymphes est une virgule. Elles sont incapables de se nourrir et respirent grâce aux deux tubes qu'elles portent sur le dos.( Figure n°13).

C'est à ce moment que les moustiques se transforment pour la dernière fois, en deux jours environ, puis la nymphe éclate et l'adulte est libéré (Zerroug, 2012).



Figure n°13 : La nymphe de *Culex pipiens* (original,2024)

- **L'adulte:** L'adulte, après sa transformation, casse la tête nymphale et s'échappe à la surface de l'eau. (Figure n°14). La maturité sexuelle des mâles se fait en un jour, tandis que celle des femelles se fait en 1 à 2 jours et elles sont plus grandes que les mâles issus d'une même émergence (Clements, 1999).

Le moustique adulte est un petit insecte allongé de 5 à 10 mm de long. En général, il est d'un brun clair et possède des pattes longues et fines (Blenghien,2007). Elle est divisée en trois parties distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen (Rodhain et Perez, 1985).

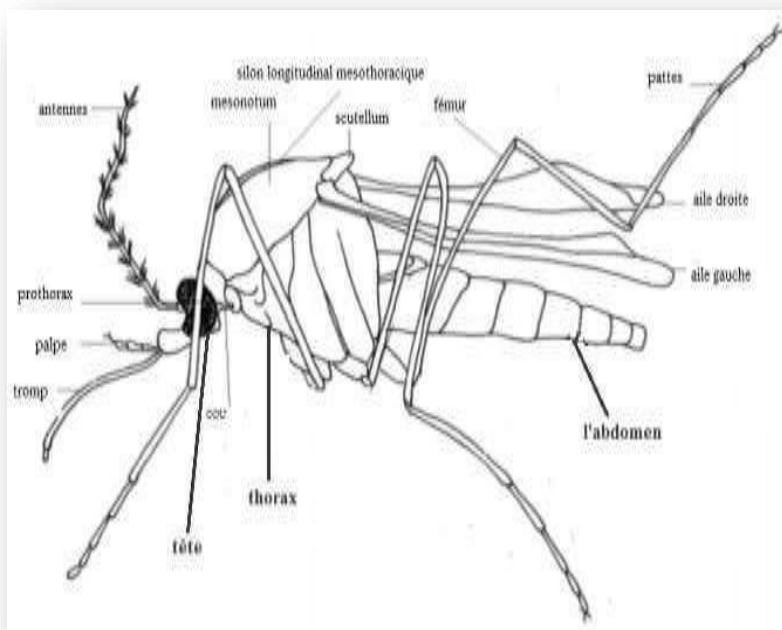


Figure n°14: Morphologie générale d'un adulte de *Culex pipiens* (Toral y caro, 2005)

(Femelle en haut à droite, male en bas à droite) (Original,2024).



**II -4- Cycle de développement de *Culex pipiens* :**

Les moustiques ont un cycle de développement qui s'étend d'environ douze (12) à vingt (20) jours (Adisso et Alia, 2005). Comme tout insecte à métamorphose complète (holométabole), le moustique traverse deux étapes distinctes dans son développement (Rodhain et Perez, 1985):

- la période aquatique qui rassemble les trois premiers stades.
- la phase aérienne affectant l'adulte ailé ou imago (stade final).

**❖ Phase aquatique:**

Quelques jours après la fécondation, la femelle pond les œufs dans divers environnements. La ponte est généralement composée de 100 à 400 œufs et le cycle ovulaire dure environ deux (2) à trois (3) semaines. Lorsque les conditions : la température ambiante, le pH de l'eau, la nature et l'abondance de la végétation aquatique, ainsi que la faune qui y est associée, sont favorables (Kpondjo, 2008) sont propices à la croissance ; celle-ci peut être retardée, par exemple en cas de baisse de la température. Un œuf a une taille d'environ 0,5 mm (Rodhain et Perez, 1985).

Lorsqu'ils sont à maturité, les œufs éclosent et produisent des larves de stade 1 (1 à 2 mm) qui, jusqu'au stade 4 (1,5 cm), se nourrissent de matières organiques, de microorganismes et même de proies vivantes (pour les espèces carnassières). Bien que les larves de moustiques évoluent dans l'eau, elles respirent à l'air à l'aide de stigmates respiratoires ou d'un siphon. (Rodhain et Perez., 1985). La taille de la larve de stade 4 est évidente à l'œil nu. Elle possède une tête, avec les taches oculaires et les deux antennes latéralement. Par la suite, on retrouve le thorax et l'abdomen. Après une période de six (6) à dix (10) jours et plus, en fonction de la température de l'eau et de la disponibilité de nourriture, la quatrième mue produit une nymphe : c'est la nymphose (Guillaumot, 2006). La nymphe mobile, généralement représentée par une virgule ou un point d'interrogation, ne se nourrit pas pendant tout le stade nymphal (phase de métamorphose) qui dure entre un

(1) et deux (2) jours. De temps en temps, elle remonte à la surface de l'eau pour respirer et plonge vers le fond, dès qu'elle est perturbée. À cette étape, la nymphe s'allonge, son tégument se brise dorsalement et, très lentement, le moustique adulte (imago) s'échappe de l'exuvie : c'est l'apparition, qui dure environ quinze minutes, pendant lesquelles l'insecte est exposé sans protection à de nombreux prédateurs de surface (Rodhain et Perez, 1985).

**❖ Phase aérienne**

Les sujets des deux sexes s'accouplent en vol ou dans la végétation et déplacent de 1 à 2 km. Les mâles sont capables de percevoir le bruit du battement rapide des ailes des femelles, qui s'approchent des essaims lors du vol nuptial, grâce aux longs poils dressés sur leurs antennes. À cette époque, le mâle donne à la femelle un stock de sa semence. La femelle, qui possède un caractère spécifique, celui de la conservation des spermatozoïdes jusqu'à la mort, conserve la semence du mâle dans une ampoule globulaire ou vésicule d'hébergement (spermatique). Elle n'a donc été accouplée qu'une seule fois (Darriet, 1998).

Les mâles et les femelles adultes consomment des jus sucrés, des nectars et d'autres produits végétaux. Cependant, une fois que les femelles sont fécondées, elles se rendent à la recherche d'un repas sanguin dont elles extraient les protéines et les acides aminés essentiels à la maturation des œufs. On prélève ce repas sanguin sur un vertébré (mammifère, amphibien, oiseau) et on le digère ensuite dans un endroit sûr (Guillaumot, 2006).

Une fois que la femelle est gravide, elle cherche un lieu de ponte approprié pour la croissance de ses larves. En général, la ponte se fait au crépuscule. Le gîte larvaire se compose d'une eau stagnante ou à faible flux, qui peut être douce ou salée (Ayitchedji, 1990). D'après (Iroko, 1994), les trois conditions essentielles pour la reproduction et le développement de certains moustiques d'Afrique noire sont le sang, l'eau et une température d'au moins 18°C. On peut observer le cycle de développement du moustique dans la figure n°15.

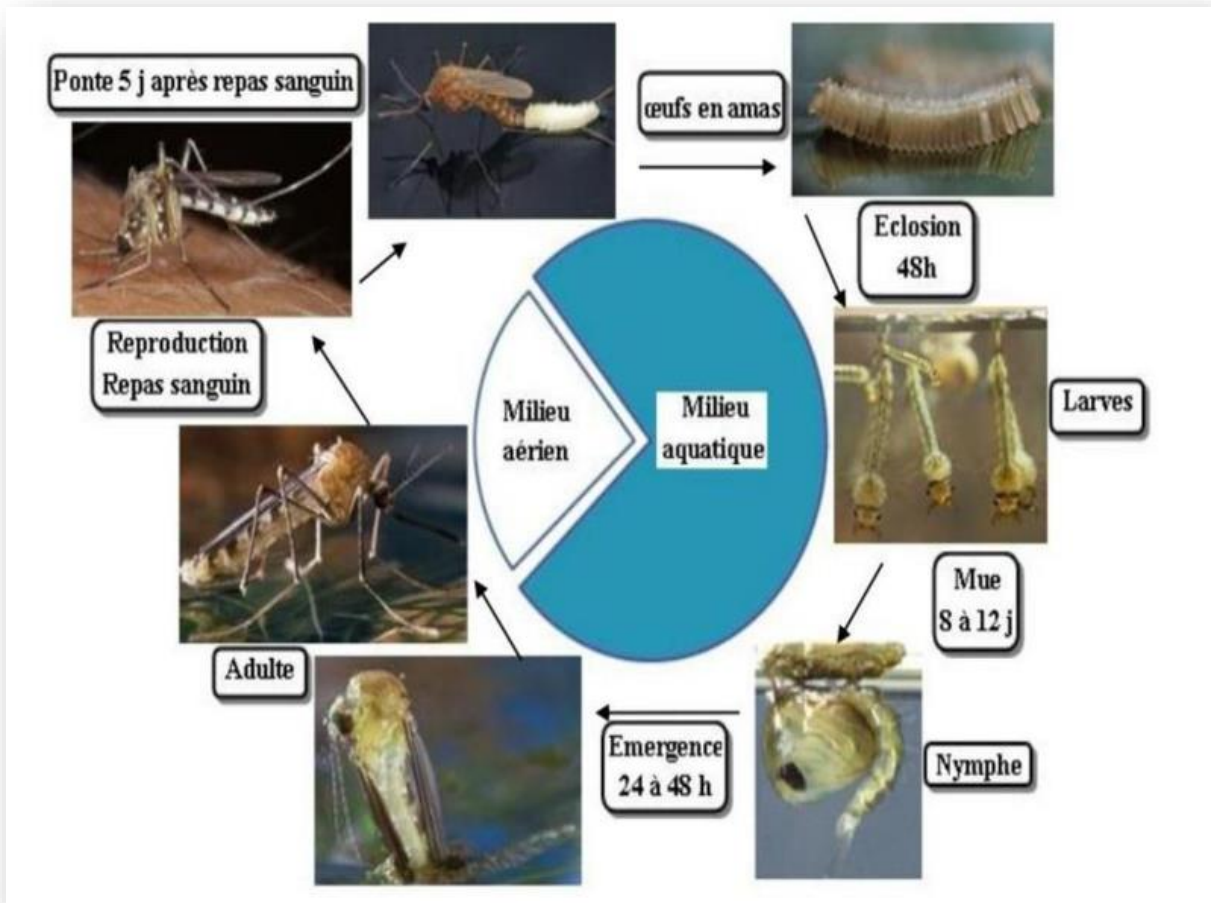


Figure n°15: Cycle de développement *Culex pipiens* (Tabti, 2017).

## II-5- Les principales nuisances causées par *Culex pipiens*

### ❖ Les Piqûres

La piqûre du moustique femelle chez l'homme et chez l'animal entraîne une lésion ronde de quelques mm à 2 cm de diamètre, souvent avec une prurigine. On peut observer des réactions allergiques à ces piqûres, causées par l'injection d'antigènes salivaires, mais également par le simple contact avec le moustique ou ses excréments (Candace *et al.*, 2001). Cette allergie peut être localisée ou généralisée chez le chien et se traduit par des plaques érythémateuses très prurigineuses (Prelaud, 1991).

### ❖ Transmission de maladies

L'encéphalite japonaise, le virus du Nil occidental et le virus de la fièvre de la vallée du Rift sont quelques-unes des maladies infectieuses qui peuvent causer par *Culex pipiens*

(Farajollahi et *al.*, 2011) De plus, étant donné que ces espèces de moustiques se trouvent dans des régions où vit plus de la moitié de la population mondiale, il est essentiel de continuer à lutter contre les moustiques afin de prévenir la propagation de ces maladies (Khaiboullina et *al.*,2018; Kraemer et *al.*,2015 ; Lounibos,2002). De plus, en raison des changements climatiques récents à l'échelle mondiale, la diffusion de ces espèces de moustiques et les maladies arbovirales associées se généralisent (Shuman, 2011). Ainsi, ces moustiques représentent deux éléments clés dont l'importance augmente à l'échelle mondiale. Toutefois, étant donné qu'il n'y a pas de vaccins contre ces virus, à l'exception de l'encéphalite japonaise, la lutte contre les moustiques qui les propagent constitue une approche pour prévenir une pandémie causée par ces maladies (Moyes et *al.*, 2017; Liu, 2015 ; Hemingway et Ranson ,2000).

## **II- 6- Aperçu général sur les moyens de lutte :**

### **II - 6-1- la lutte chimique**

La stratégie de lutte chimique a été largement employée afin de réguler la densité des moustiques. Toutefois, les conséquences néfastes des insecticides chimiques artificiels sur l'environnement sont devenues une préoccupation très répandue (Moyes et *al.*,2017; Liu, 2015 ; Hemingway et Ranson ,2000).

De nos jours, l'emploi d'insecticides chimiques synthétiques dans le cadre de projets agricoles et de santé publique a engendré de multiples difficultés, telles que la résistance aux insecticides, la pollution de l'environnement et la toxicité pour les êtres humains et les organismes non ciblés (Arie et *al.*, 2001). Ainsi, on a essayé de mettre en place des méthodes de lutte intégrées afin de surmonter ces contraintes, mais de nouvelles stratégies ont été nécessaires car les méthodes intégrées n'ont pas été efficaces avant maintenant (Patterson, 2016).

### **II- 6- 2- La lutte génétique**

La lutte contre les insectes nuisibles utilise parfois des méthodes qui impactent leur patrimoine génétique. L'objectif de cette méthode de combat est d'introduire un grand nombre d'individus génétiquement modifiés au sein des populations naturelles.

Il y a plusieurs méthodes pour altérer le patrimoine génétique des moustiques, comme

celle développée par l'Américain Kimpling en 1937, qui implique l'utilisation de mâles stérilisés par irradiation ou l'utilisation de substances chimiques (Ignoffo *et al.*, 1977). Cette méthode est extrêmement coûteuse et difficilement réalisable.

### **II -6 - 3 -la lutte biologique :**

La lutte biologique est l'une des meilleures approches pour combattre les larves de moustiques en utilisant *Bacillus thuringien-sis israelensis* (Bti) et *Lysinibacillus sphaericus* (Berry, 2011). Le combat contre les larves est efficace, mais le combat contre les adultes repose principalement sur l'utilisation d'insecticides chimiques synthétiques et l'effet de contrôle n'a pas été obtenu. Une nouvelle méthode de contrôle biologique doit donc être développée pour combattre les moustiques adultes ; la méthode représentative est l'emploi de champignons entomopathogènes. Déjà largement employés dans la lutte contre les parasites agricoles, les champignons entomopathogènes sont considérés comme inoffensifs et sécuritaires pour les êtres humains et les autres animaux (Lacey *et al.*, 2015). Plus précisément, ils présentent l'avantage majeur d'infecter les insectes, y compris les moustiques, par contact avec les spores, par rapport à d'autres agents de lutte biologique qui doivent être ingérés, comme les bactéries, les virus et les protozoaires. Il existe de nombreux insecticides fongiques utilisant différents champignons entomopathogènes qui ont été largement développés pour combattre les ravageurs agricoles. Cependant, malgré les nombreux efforts déployés pour leur développement dans le but de combattre les moustiques, les produits authentiques n'ont été développés que récemment et nécessitent davantage de recherche (Buckner *et al.*, 2017) etc.

*Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae* sont les champignons entomopathogènes les plus couramment utilisés pour la production de biopesticides. La variété d'hôtes de ces champignons est assez vaste et ils sont perçus comme des champignons respectueux de l'environnement. De nombreux biopesticides ont été créés avec ces agents afin de combattre les ravageurs et les vecteurs agricoles tels que les tiques, les termites et les mouches domestiques (Lacey *et al.*, 2015.). Plus précisément, on a étudié *M. anisopliae* dans différentes espèces de moustiques, tandis que *B. bassiana* a été rarement observé chez les moustiques (Huang *et al.*, 2017).

*Deuxième partie :*

*Partie*

*expérimentale*

Ce travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Akli Mohand Oulhadj, à Bouira durant la période qui s'étale du moins de février jusqu' au juin 2024

L'objectif de ce travail est de :

- ❖ Rechercher et isoler les champignons entomopathogènes tellurique au niveau de deux régions Bejaia et Bouira
- ❖ L'évaluation de leur pathogénicité sur les stades aquatiques (L4, L3, L2 et nymphe) du moustique *Culex pipiens*.

## **I-1- Matériel biologique.**

### **I-1-1-Le sol:**

Des échantillons de sol sont prélevés dans deux régions, dans le but d'isoler des champignons entomopathogènes.

### **I-1-2- Matériel entomologique : *Culex pipiens***

L'étude de l'activité biologique de nos champignons identifiés a été faite sur les stades aquatiques (L2, L3, L4 et nymphe) du moustique domestique *Culex pipiens*.

## **I-2-Matériel non biologique :**

L'ensemble du matériel utilisé dans notre étude est présenté dans l'annexe 01 (tableau I) qui comprend les équipements, les verreries de laboratoire, les produits chimiques ainsi que les milieux de culture. Pour la collecte et le traitement des stades aquatiques du moustique *Culex pipiens*, nous avons utilisé des seaux, des seringues, des gobelets, de la poudre de biscuit sec et de tulle moustiquaire.

## **I-3 -Méthodologie**

### **I-3 -1- Prélèvement du sol et sites d'isolement**

Les échantillons de sol utilisés pour ce travail proviennent de deux sols agricoles des

wilayas de Bejaia (figure 16,A) et de Bouira (figure 16,B). Le choix de ces régions a été fait en fonction du type de sol et des conditions climatiques propres à chaque wilaya :

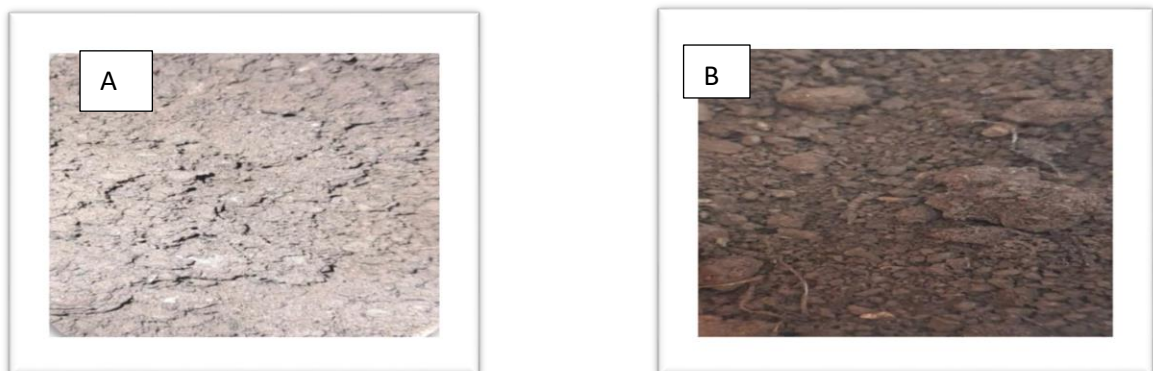
Les deux régions se caractérisent par:

Un climat méditerranéen, elles sont considérées comme des écosystèmes favorables à la prolifération des champignons (végétation disponible, humidité élevée, température moyenne et la pluviométrie varie entre 500 et 1300 mm/an).

Un sol agricole et fertile, caractérisé par sa richesse en matière organique, apportée par les fruits et les feuilles, forme végétative de l'olivier et d'autres plantes. Ces facteurs influencent la croissance des champignons.

Les échantillons de sol ont été prélevés en suivant la technique de Pochon et Tradioux (1962).Après avoir enlevé les cinq premiers centimètres de sol, une quantité suffisante de terre a été prélevée jusqu'à une profondeur de 10 centimètres, puis déposée à l'aide d'une spatule sur une feuille d'aluminium stérile. Après un premier tri pour éliminer les pierres et les débris végétaux, les échantillons ont été placés dans un sac stérile, puis transportés au laboratoire de microbiologie pour analyse dans les 24 heures (stockés à 4°C en attendant l'analyse).

Les sites d'isolement sont illustrés dans la figure suivante :



**Figure n°16:** Les échantillons du sol utilisés (original)

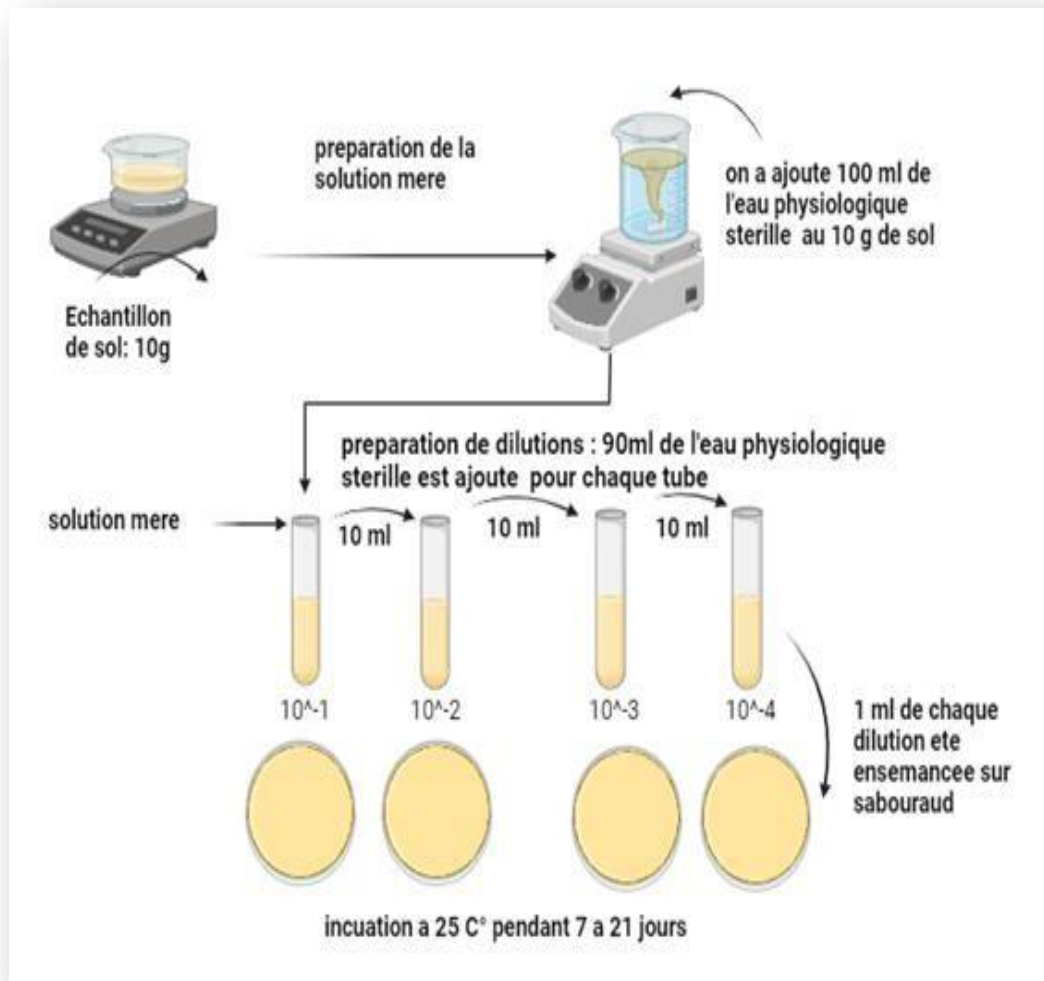
### **I -3 -2- Isolement des champignons**

Après tamisage des échantillons de sol, 10 grammes de chaque échantillon sont mélangés avec 100 ml d'eau physiologique stérile et homogénéisés pendant 10 minutes à l'aide d'un



vortex. Cette dilution constitue la solution mère à partir de laquelle d'autres dilutions sont préparées jusqu'à  $10^{-4}$ . Chaque dilution sera utilisée comme échantillon et étalée à la surface du milieu gélosé Sabouraud (Botton et *al.*, 1990).

Les boîtes de Pétri sont ensuite incubées à  $25^{\circ}\text{C}$  et observées quotidiennement pendant 7 à 21 jours.(figure n°17).

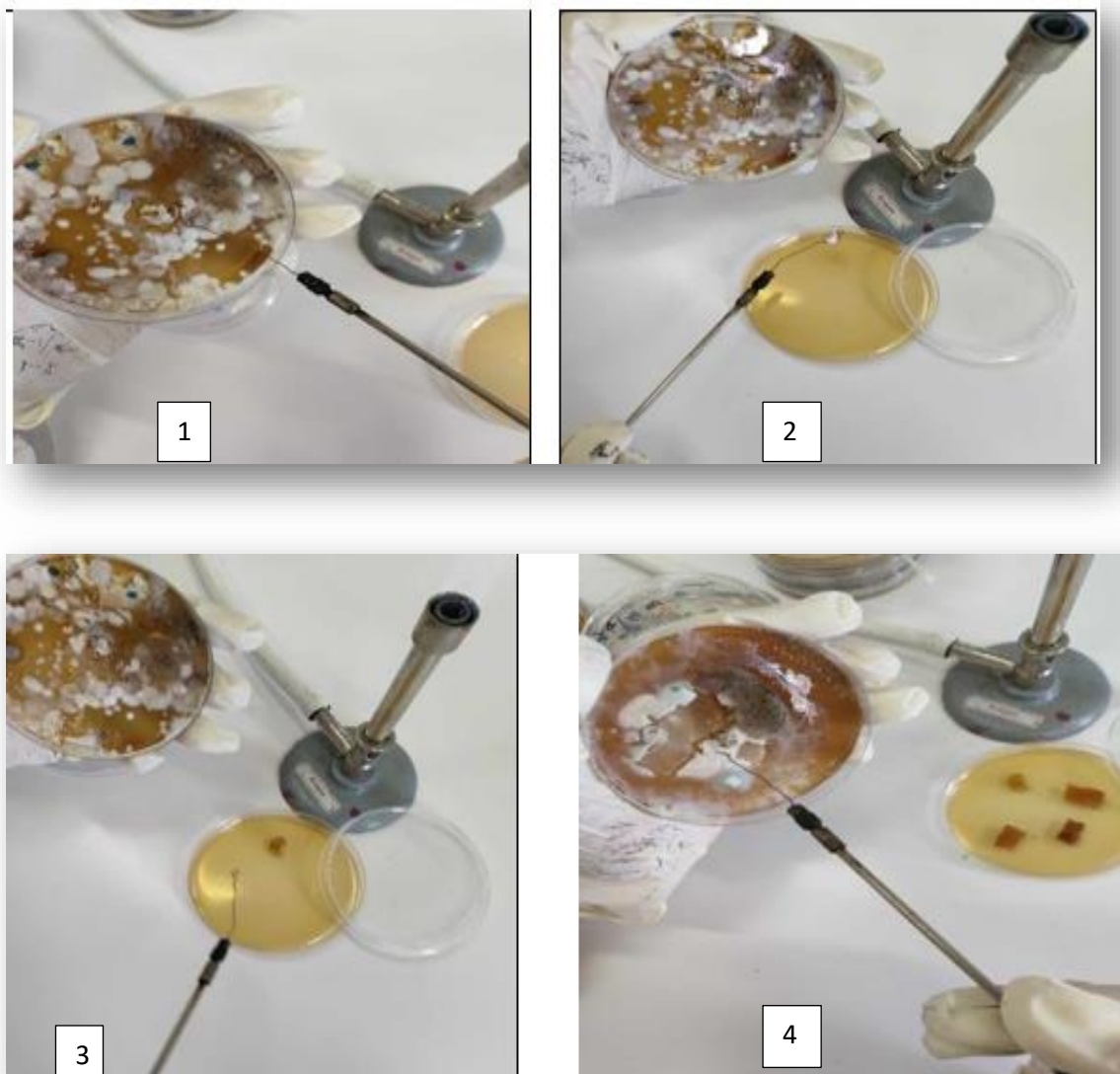


**Figure n°17:** Protocole d'isolement des champignons à partir de sol

**I-3-3 – Purification et repiquage des isolats fongiques**

Une fois que les isolats ont atteint un développement satisfaisant, des repiquages individuels ont été réalisés. Ce processus a été répété jusqu'à ce qu'une seule colonie d'un champignon spécifique soit isolée dans chaque boîte de Pétri (Guiraud, 1998).

La technique de repiquage a été utilisée avec précaution pour isoler les champignons, en prélevant un fragment de colonie à l'aide d'une anse stérilisée, évitant tout contact avec les autres colonies. Ce fragment a été déposé au centre d'une nouvelle boîte de Pétri contenant le même milieu PDA, favorable au développement rapide des champignons et à la production de spores, tout en respectant les conditions spécifiques pour chaque boîte. Le repiquage s'est déroulé dans des conditions stériles, près de la flamme d'un bec Bunsen. Les boîtes de Pétri ont ensuite été placées dans un incubateur à une température de 25°C pendant six jours pour favoriser le développement et la multiplication des colonies de champignons. Des repiquages successifs ont été réalisés en prélevant à chaque fois un fragment des colonies isolées précédemment afin d'obtenir des souches pures.



**Figure n°18 :** Les étapes de purification et repiquage des isolats

#### **I -3 - 4 - Méthodes d'identification**

L'identification des genres fongiques repose sur l'observation des critères morphologiques à travers l'observation macroscopique et microscopique.

##### **I -3 - 4 – 1- Observation macroscopique**

Pour effectuer l'observation macroscopique des champignons, il est essentiel de cultiver les isolats sur un milieu de culture PDA , puis d'examiner attentivement l'aspect des colonies formées. L'identification repose principalement sur une évaluation visuelle, à l'œil nu est utilisé pour observer et analyser des caractéristiques telles que la vitesse de croissance (rapide, moyenne,

lente), la texture des colonies, la couleur des colonies, la couleur de la face inférieure de la culture, ainsi que le mode de reproduction. Ces caractéristiques visibles à l'œil nu fournissent des indices importants pour distinguer et classer les champignons étudiés (Hamid, 2015).

### **I -3 - 4 –2- Observation microscopique**

Pour observer la morphologie des chaînes de spores et du mycélium, la technique du ruban adhésif a été utilisée. Cette méthode consiste à prélever une fraction de mycélium à partir d'une culture jeune à l'aide d'un bout de ruban adhésif, puis de le coller sur une lame. Les observations microscopiques ont été effectuées à des grossissements de  $\times 40$  à l'aide d'un microscope photonique.

En général, l'utilisation d'un objectif 40 est suffisante pour détecter la majorité des éléments importants. L'identification des champignons, selon Botton et *al.* (1985), repose principalement sur leurs caractères culturels et morphologiques.

### **I-3-5 -Le relevé de l'abondance des genres fongiques**

Nous avons effectué le calcul de relevé de l'abondance des genres fongiques isolées à partir du sol dans le but d'estimer les genres de champignons telluriques prédominantes. Les calculs ont été réalisés selon la formule suivante (Jean-Michel, 2006).

$$P (s) = \frac{N (s)}{N (t)} \times 10$$

$$N (t)$$

P (s) : Taux (pourcentage) d'abondance de la souche fongique exprimé en %.

N (t) : Nombre totale des souches fongiques isolées.

N (s) : Nombre des souches fongiques obtenues et qui appartiennent au même genre, pour lesquelles on

Voudra calculer le relevé de l'abondance.

**I-3-6 -la récolte des moustiques**

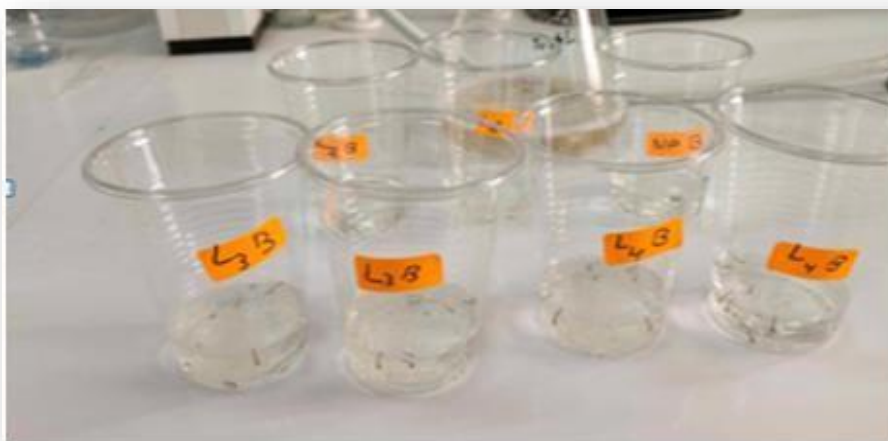
La prospection a été menée dans les environs de la région de Aïn –El-Hadjar durant le mois de mai 2024. La collecte des larves a été réalisée selon la méthode du "coup de louche" ou "dipping" (Messai et *al.*, 2010). Cette technique implique de plonger doucement une louche dans l'eau, puis de la déplacer de manière uniforme afin de ne pas perturber les larves présentes sans les faire tomber au fond (Bouabida et *al.*, 2012). Le contenu de la louche est versé dans des bouteilles en verre non hermétiquement fermées, puis conservé à l'ombre jusqu'à ce que les échantillons soient ramenés au laboratoire.



**Figure n°19:** Gîte larvaire utilisé dans l'étude (original, 2024)

**I-3-7- Le tri:**

Les larves et les nymphes ont été placées dans des gobelets en plastique portant le code du gîte, recouverts de tulle moustiquaire et contenant l'eau de leur gîte pour un élevage temporaire. L'identification des individus récoltés est basée sur les aspects morphologiques décrit par Rozendael (1999) , selon Roth (1980), la distinction entre les stades larvaires est basée sur la taille de l'individu.



**Figure n° 20 :** Tri des stades larvaires de *Culex pipiens*.

Le tableau ci-dessous présente le nombre et les tailles des différents stades de développement du *Culex pipiens* après la collecte.

**Tableau II :** Le nombre et la taille des différents stades de développement du *Culex pipiens*.

Les individus	La taille	Le nombre
Larves stade 2	2 à 3 mm	20
Larves stade 3	4 à 5 mm	38
Larves stade 4	5 à 6 mm	44
Nymphes	5 mm	14

**I -3-8- Application des champignons entomopathogènes sélectionnés sur les différents stades aquatiques du *Culex pipiens*****I -3-8-1- Préparation de la solution fongique**

Pour préparer la solution mère, on place plusieurs colonies du champignon âgées de 9 à 15 jours dans un erlenmeyer de 500 ml contenant 250 ml d'eau distillée stérile. L'erlenmeyer

est ensuite fermé pour éviter toute contamination. On agite l'erlenmeyer pendant 30 minutes à une vitesse de 1500 tours/minute. Pour faciliter la libération des spores, l'ajout de 2 à 3 gouttes du réactif Tween 80 est recommandé. Enfin, la concentration en spores peut être évaluée à l'aide d'une cellule hématimétrique (cellule de Malassez).



**Figure n°21** : Les étapes de préparation de la solution fongique.

#### **I -3-8-2- Calcul de la concentration de la solution mère.**

La numération cellulaire est réalisée directement par comptage au microscope, à l'aide d'une cellule de Mallassez .(voir l' annexe 03)

Le remplissage de la cellule de numération et la méthode de calcul sont mentionnés en annexe 03.

#### **I -3-8-3 Traitement des stades aquatiques par la solution fongique**

Pour évaluer la toxicité des entomopathogènes sélectionnés sur les larves et les nymphes du moustique *C. pipiens*, deux doses ont été choisies, comme indiqué dans le tableau suivant :

**Tableau III :** Les Suspensions fongiques et leur concentration en spores / ml.

La souche (suspension fongique)	La dose appliquée
<i>Beauveria sp</i>	$0,8 \times 10^6$ spores/ ml
<i>Verticillium sp</i>	$0,15 \times 10^8$ spores/ ml

**❖ Mode d'administration de la suspension fongique**

Pour administrer la solution fongique aux arthropodes au stades L2, L3, L4 et N pour *Beauveria sp* , et pour *Verticillium sp* , nous avons opté pour les stades L3 et L4 vu le manque de matériel entomologique. Le mode d'inoculation directe a été choisi puisqu'il s'agit d'une voie d'entrée préférentielle et courante des champignons entomopathogènes (Butt et Goettel, 2000). Cette méthode implique l'ajout de 20 ml de la solution fongique dans des gobelet contenant 08 individus de chaque stade dans leurs gîte naturel (Figure n°22).

Les individus témoins, à savoir les larves et les nymphes, sont répartis de la même manière et comptent le même nombre que les individus traités, en ajoutant de l'eau distillée stérile. Les individus traités et témoins sont nourrit du biscuit sec. Les mortalités cumulées, la symptomatologie, le comportement et le renouvellement de la nourriture sont vérifiés quotidiennement.





**Figure n°22 :** Réalisation du traitement de la solution fongique sur les larves et nymphes

**II-1- Isolement et sélection des champignons entomopathogènes :**

L'isolement des champignons entomopathogènes a été réalisé à partir de deux échantillons de sols (Bejaia et Bouira). Treize genres de champignons entomopathogènes ont été isolés. Après 21 jours d'incubation à 25°C, les champignons apparaissent et se développent lentement. Leur identification a été faite en se basant sur leurs caractéristiques macroscopiques distinctives et ils ont été purifiés pour obtenir des cultures pures.

**II-1-1 - L'isolement et la caractérisation des genres fongiques**

Afin de déterminer les différents genres fongiques prélevés et d'estimer leur abondance relative après la collecte des isolats fongiques présents dans le sol, nous avons entrepris une analyse approfondie de leur identification, à la fois macroscopique et microscopique.

L'identification de ces genres repose principalement sur la clé d'identification "**Illustrated Genera of Imperfect Fungi**" de **Barnett et Hunter (2000)**, ainsi que sur les moisissures d'intérêt médical de Chabasse et *al.* (2002).

**- Etude macroscopique**

Les caractéristiques macroscopiques des différentes genres sélectionnées sont étudiées sur le milieu Sabouraud. Le tableau III résume l'aspect du mycélium des isolats, la surface et la consistance des colonies, la couleur du revers de la boîte, ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de chaque genre.

**- Etude microscopique**

L'étude microscopique concerne l'observation des structures caractéristiques des 13 isolats fongiques sélectionnées, telles que les conidiophores, les conidies et le mycélium. Six genres de moisissures ont été identifiés (voir tableau IV).

➤ Quatre genres (G4, G9, G11 et G13) présentent les caractéristiques suivantes :

- Un mycélium cloisonné
- Des conidiophores nombreux, dressés et non ramifiés, terminés en vésicule

- Des phialides formés directement sur la vésicule
- De conidies en chaîne divergente
- Des cellules à paroi épaisse.

Ces genres semblent appartenir au genre *Aspergillus*

Trois genres (G1,G7 et G10 ) caractérisées par :

- Des conidiophores isolés.
- Des pénicilles constitués de phialides branchés directement à l'extrémité du conidiophore.

Ces genres appartiennent probablement au genre *Penicillium*

➤ Deux genres (G3 et G8 ) présentent les caractères suivants :

- Hyphes septé
- Conidiophores en zigzag.
- Conidies unicellulaire disposées en grappes, de petite taille sur une cellule conidiogène à croissance sympodiale.
- L'apex de la cellule conidiogène est très étroit, et présente un aspect plus ou moins géciculé et denticulé.

Ces genres semblent appartenir au genre *Beauveria*.

➤ Un genre (G5) présente les caractères suivants :

- Du thalle végétatif naissent des conidiophores courts et souvent ramifiés. Ils portent des phialides qui peuvent présenter un ou plusieurs sites de bourgeonnement pour la production des conidies, lesquelles se divisent en deux types :
  - **Microconidies** : Ce sont des conidies unicellulaires (ou bicellulaires), allongées, ovales ou cylindriques.
  - **Macroconidies** : Ce sont des conidies pluricellulaires, fusiformes, courbées et assez pointues aux extrémités.

Ce genre semble appartenir au genre *Fusarium*.







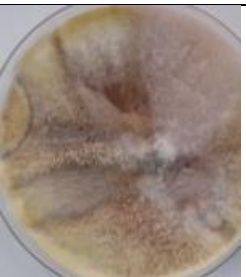
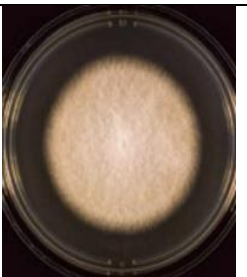
- Deux genres (G2 et G12) présentent les caractéristiques suivantes :
- Les conidiophores sont dressés et de teinte claire. Ils comprennent 3 à 4 groupes de verticilles. Ces verticilles sont constitués de 3 à 4 phialides, d'où s'échappent de nombreuses conidies unicellulaires, ovoïdes à ellipsoïdes.

Ces genres semblent appartenir au genre *Verticillium*, et ces caractéristiques correspondent plus précisément à l'espèce *Verticillium lecanii*.

- Un genre (G6) se caractérise par:
  - Un thalle blanc et lisse
  - Des arthrospores cylindriques arrondies aux extrémités formées au niveau des doubles cloisons.

Ce genre appartient probablement au genre *Geotrichum*.

Tableau IV: Les caractères macroscopiques des genres fongiques isolés.

Code de genre	Origine De genre	Mycéliu maérien	Caractéristique de la Colonie	surface	Pigments au Revers de la Boite	Aspect macroscopique	Photos macroscopiques de reference (Dardè,2011) (Chabasse et al. ,2002).
G1=G7=G10	Sol du Bouira	Vert jaunâtre	Glabre et Poudreuse	plane	Pas de pigment		
G2=G12	Sol du Bouira	Blanc	Cotonneuse et poudreuse	Plane	Pas de pigment		
G3=G8	Sol de Bouira et Bejaia	Blanc	Floconneuse et granuleuse	Laineuse Ou velourée	Pas de pigment		
G4=G9=G11=G13	Sol de Bouira et Bejaia	Marron	Duveteuse et poudreuse	plane	Pas de pigment		
G5	Sol du Bejaia	Blanc à crème	Duveteuse	plane	Un pigment peut diffuser dans la gèlose		





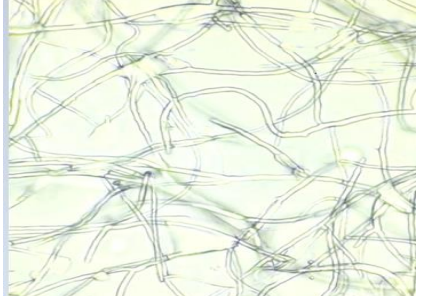




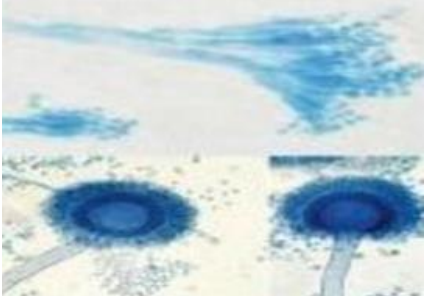
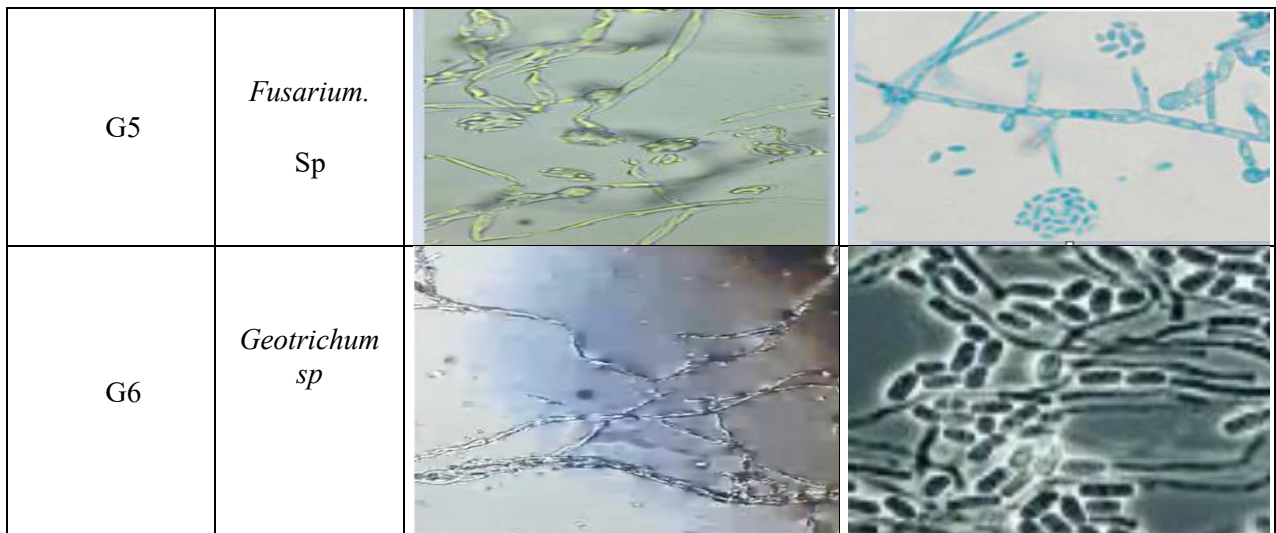
G6	Sol du Bouira	Blanc au départ puis deviant verdâtre	Laineuse	plane	Pas de pigment		
----	---------------	---------------------------------------	----------	-------	----------------	--	---

Tableau V : Caractères microscopiques des genres fongiques isolés.

Code des genres	Genre identifié	Aspect microscopique obtenu	Photos microscopiques de Référence (Chabasse et al., 2002).
G1=G7=G10	<i>Penicillium sp</i>		
G2=G12	<i>Verticillium sp</i>		
G3=G8	<i>Beauveria sp</i>		
G4=G9=G11=G13	<i>Aspergillus sp</i>		



Les caractéristiques décrites par Chabasse et *al.* (2002) correspondent parfaitement à celles utilisées par Collier et son équipe (1998) pour identifier le genre *Aspergillus*, ainsi que par Larone (1995), St-Germain et ses collaborateurs (1996), Malloch (1997), Sutton et ses collaborateurs (1998), et De Hoog et son équipe (2000) pour le genre *Penicillium*. Quant au genre *Verticillium*, il a été identifié selon les critères de Dufresne et *al.* (2013).

Les critères d'identification du genre *Geotrichum* ont également été cités par Larone (1995) et Sutton et ses collaborateurs (1998).

L'identification des autres genres est réalisée conformément aux méthodes décrites par Barnett et Hunter (2000), ainsi que dans le cahier de formation "Bioforma - Les moisissures d'intérêt médical" de Chabasse et *al.* (2002).

### II-1-2 - Le relevé de l'abondance des genres fongiques

L'isolement des champignons a permis d'identifier 06 genres différentes. Le relevé de l'abondance des espèces a révélé que l'espèce la plus abondante est *Aspergillus sp* avec 30%, suivi de *Penicillium sp* avec 23.7 %, puis *Beauveria sp* et *Verticillium sp* avec une proportion de 15.3% pour chaque espèce. Enfin, *Fusarium sp* et *Geotrichum sp* présentent un taux d'abondance équivalent à 7.6% pour pour chacune

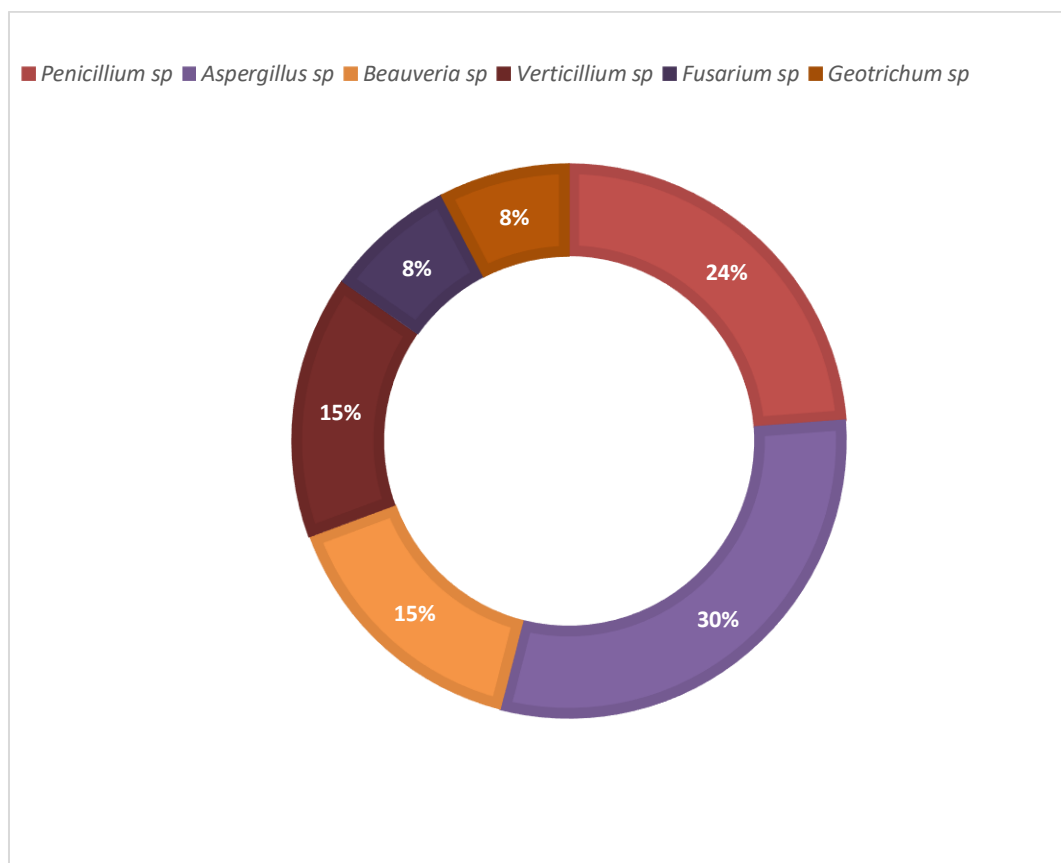


Figure n°23: Le relevé d'abondance des isolats.

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

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 (Bensmira, 2006). Des souches fongiques similaires sont isolées par Bensmira, (2006) avec une forte abondance de l'espèce *Aspergillus sp*, dans son étude sur l'isolement et caractérisation des genres fongiques productrices de cellulase thermostables à intérêt industriel à partir du sol de la région de Biskra.



**II-2- La sélection des genres fongiques entomopathogènes**

Parmi les 13 genres fongiques on a sélectionnés deux genres; *Beauveria sp* et *Verticillium sp* pour les tests de toxicité vis-à-vis du moustique domestique *Culex pipien*.

Ces genres identifiées, *Beauveria. sp* et *Verticillium sp* ont été sélectionnées comme des genres principales pour notre étude sur les moisissures. Cette sélection repose sur les informations disponibles dans la littérature scientifique, qui mettent en avant l'activité biologique intéressante de ces genres. De plus, nous avons pris en compte le fait que ces soes ne sont pas pathogènes pour les êtres humains.

L'entomopathogène *Beauveria sp* est un agent de lutte très intéressant (De kouassi,2001).Ce champignon a l'avantage de ne pas faire partie des agents pathogènes dangereux pour l'homme et pour les animaux à sang chaud (Laird *et al.*,1990 ;Tong-kwee *et al.*,1989).

*Beauveria* est l'un des genres les plus connus de champignons entomopathogènes, en raison de son utilisation de longue date comme agent de lutte biologique ainsi que de son rôle dans le développement de la théorie microbienne. En 1834, Agostino Bassi fut le premier à démontrer qu'une maladie, la muscardine blanche des vers à soie, était causée par un agent vivant pathogène (Porter,1973).

*B. bassiana* est l'espèce la plus répandue dans le monde dans son genre, retrouvé tant dans les régions tempérées que tropicales et sur une large variété d'insectes provenant de différents ordres (Zimmermann2007a). Ce champignon est présent naturellement chez les insectes et est capable d'infester plus de 700 espèces d'hôtes (Baker *et al.*,2020; Mascarin et Jaronski ,2016).

La souche *Verticillium sp* possède à l'instar de *B.sp* un spectre d'hôtes très large. Selon les souches, il peut contaminer différentes espèces d'arthropodes. Il peut aussi infecter d'autres ordres d'insectes tels que les coléoptères, les lépidoptères, des diptères ou les orthoptères (Champion, 1997).

II-3 – Effets des champignons entomopathogènes sélectionnés sur les différents stades aquatiques du *Culex pipiens* :

Dans cette étude on a testé deux genres fongiques entomopathogènes sélectionnés contre les stades larvaires et stade nymphale de *Culex pipiens*.

Les taux de mortalité journalières obtenues chez les différents stades larvaires, et stade nymphale traités sont enregistrés sur les tableaux II et III (voir annexe 04).

Les taux de mortalité journalières enregistrées, on a permis de tracer les cinétiques de mortalités qui sont représentées sur les figures n°24 et n°25 .

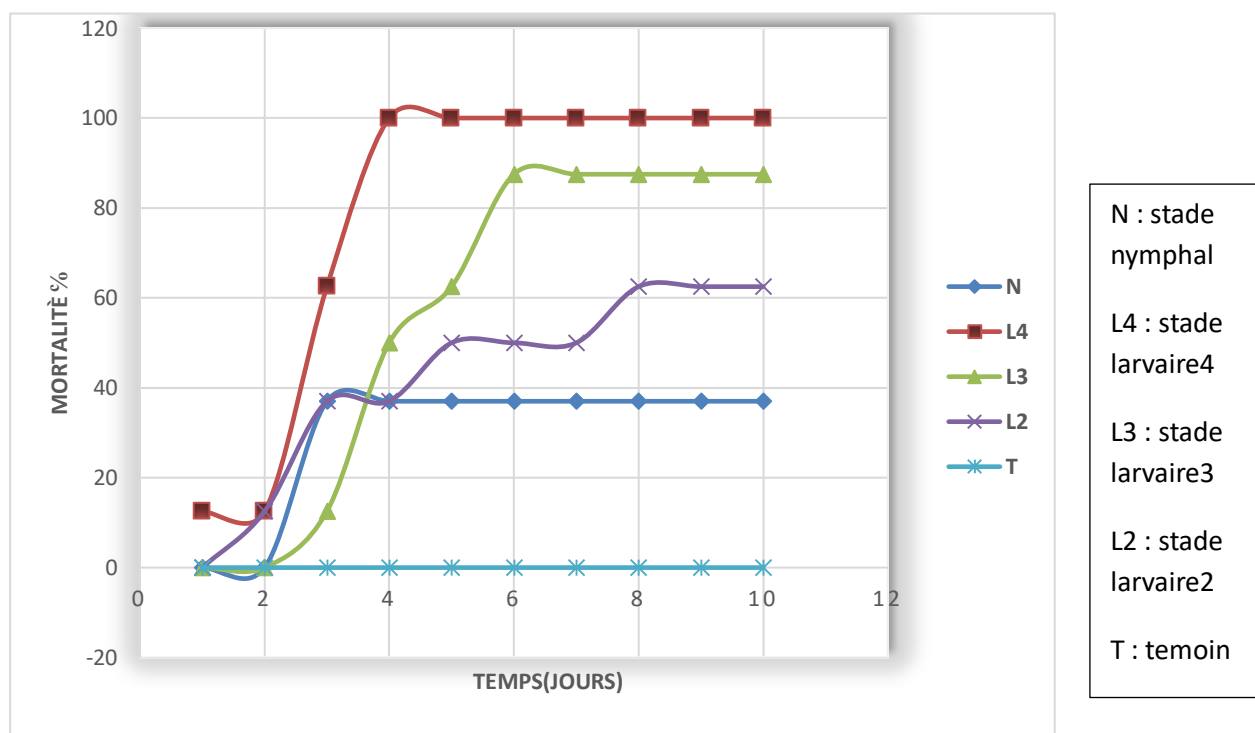


Figure n°24 : Cinétique de mortalité des larves et des nymphes infectés par champignons *Beauveria sp.*

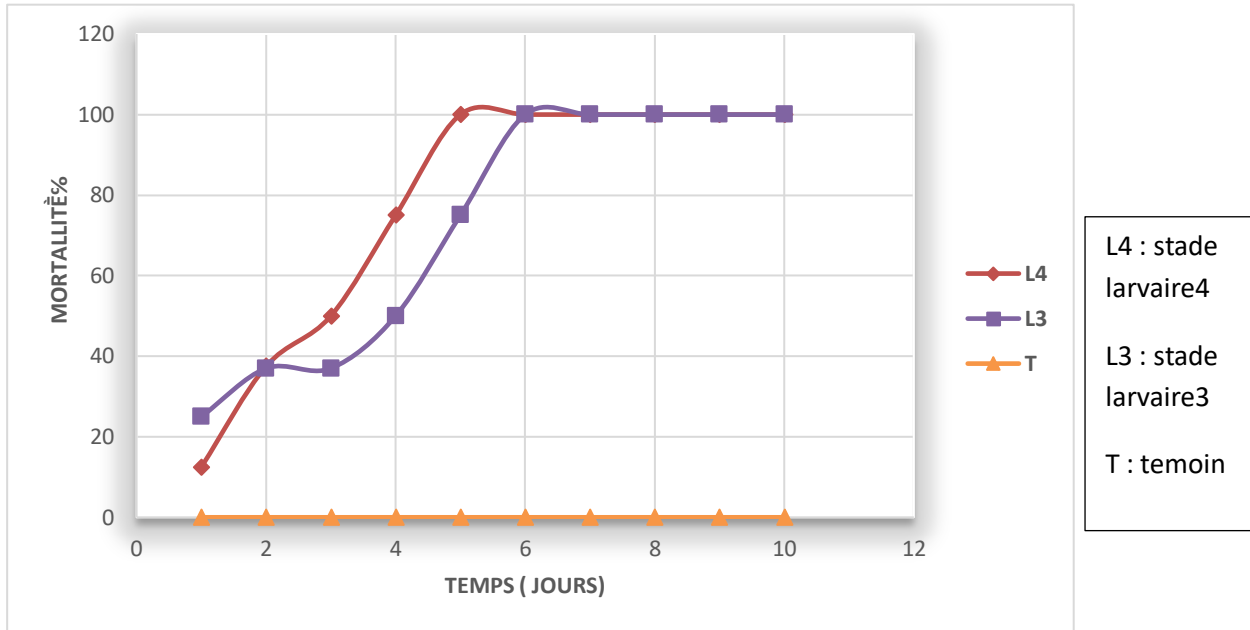
Les courbes présentent l'évolution des taux de mortalité des larves de *Culex pipiens* traitées avec la suspension fongique de *Beauveria sp* à une concentration de  $0,8 \times 10^6$  spores/ml.

Les résultats montrent une augmentation considérable du taux de mortalité des larves et des nymphes de *Culex pipiens* traitées. Dès le premier quatrième jour de traitement, une augmentation significative est observée avec une mortalité de 12,5%. Ce chiffre a augmenté à

62,5% après trois jours, pour finalement atteindre une mortalité de 100% au. Cette progression démontre clairement l'efficacité croissante de *Beauveria sp.* dans la lutte contre les larves stades4 de *Culex pipiens*, qui est considérée comme le stade le plus sensible au traitement fongique (Ould taleb ,2022) puisque il est qualifié comme le stade le plus actif ou la larve se nourrit pour stocker les réserves nécessaires au stade nymphal qui ne se nourrit pas et utilise seulement les réserves de stade 4 , ce qu' on a remarqué dans le graphe ( figure n°24 ) une sensibilité faible des nymphes au traitement (39%) de mortalité au bout de dix jours de traitement.

D'après une étude précédente, on observe une mortalité totale (100%) des larves de *Culex pipiens* après 4 à 5 jours d'essais biologiques en boîtes de Pétri ou en mini-chambres, quelle que soit la concentration de conidies de *Beauveria sp.* utilisée, allant de  $10^3$  à  $10^9$  conidies/ml (Mishra et al.,2011). Une autre étude indique également une mortalité de 100% après 5 à 7 jours, avec une concentration spécifique de  $10^8$  conidies par 100 (mg) (Geden, Rutz, et Steinkraus, 1995; Mishra et al., 2011). ). Les différences de mortalités peuvent être attribuées à la différence entre les isolats utilisés(Mishra et al., 2011).

Le phénomène de résistance aux insecticides qu'a développé *Culex pipiens* a suscité la recherche d'une autre solution pour combattre ces insectes nuisibles et vecteurs de maladies. Selon Failoux et Rodhain (1999) ce phénomène est apparu en 1990 en régions tempérées. *Culex pipiens* connue comme étant une espèce vectrice de filarioses et d'encéphalites a développé plusieurs types de résistance vis-à-vis des organophosphorés. (Chevillon, 1994).



**Figure n°25 :** Cinétiques de mortalité des larves infectées par champignons

Les courbes présentent l'évolution des taux de mortalité des larves de *Culex pipiens* traitées avec la suspension fongique de *Verticillium sp.* à une concentration de  $0,15 \times 10^7$  spores/ml.

Nos résultats ont montré que la mortalité des larves stade 3 et 4 évolue dans le temps, avec une augmentation significative dès le premier jour de traitement, où une mortalité de 25% est observée., qui atteint 75% de mortalité après quatre jours, pour finalement atteindre 100% de mortalité au sixième jour. Cette évolution démontre l'efficacité croissante de *Verticillium sp* dans la lutte contre les larves de *Culex pipiens*.

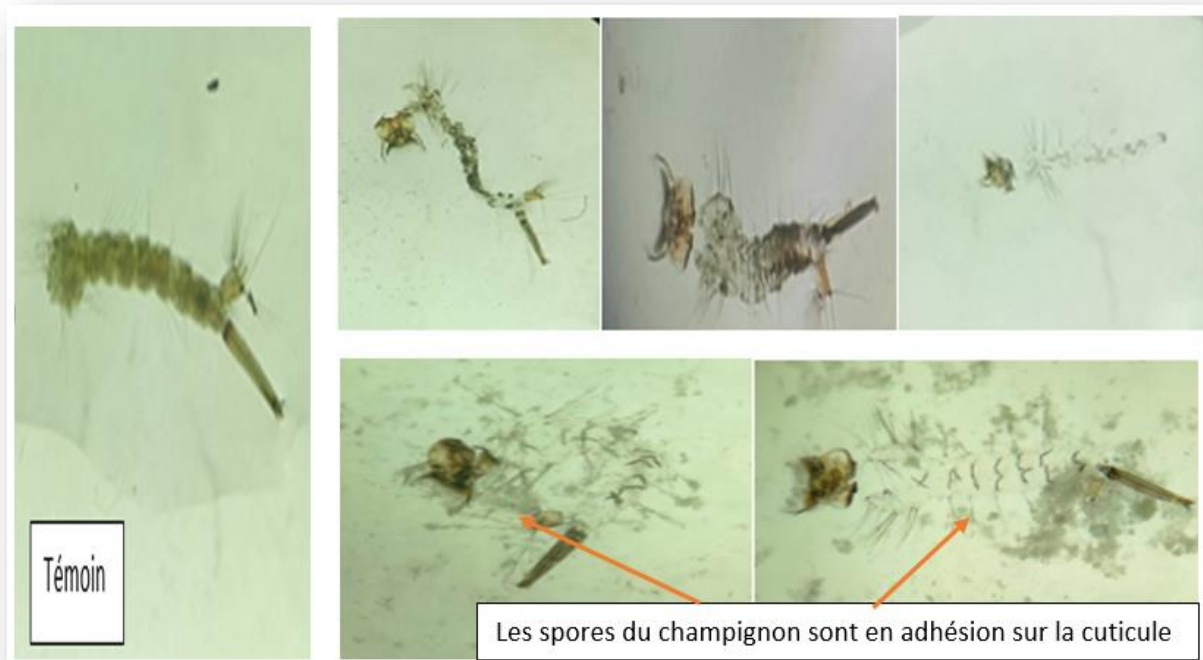
De fait on a remarqué que le taux de mortalité des larves témoins utilisées pour les tests était nul.

En effet, on a aussi constaté que ce champignons agit dès le premier jour du traitement, ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Chabane et Harrache (2013), suite au traitement des larves de *Culex pipiens* au stade L1 avec une suspension fongique de *Verticillium lecanii* à une concentration de  $0,29 \times 10^7$  spores/ml, une mortalité de 75% a été constatée au huitième jour de traitement. Ces résultats confirment l'efficacité du *Verticillium lecanii* dans la lutte contre les larves de *Culex pipiens*.

## II-4- Symptomatologie

### II-4-1-. Effet de *Beauveria sp* sur les larves de différents stades de *Culex pipiens*

Chez les larves du *Culex pipiens* traitées, 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 n°26).

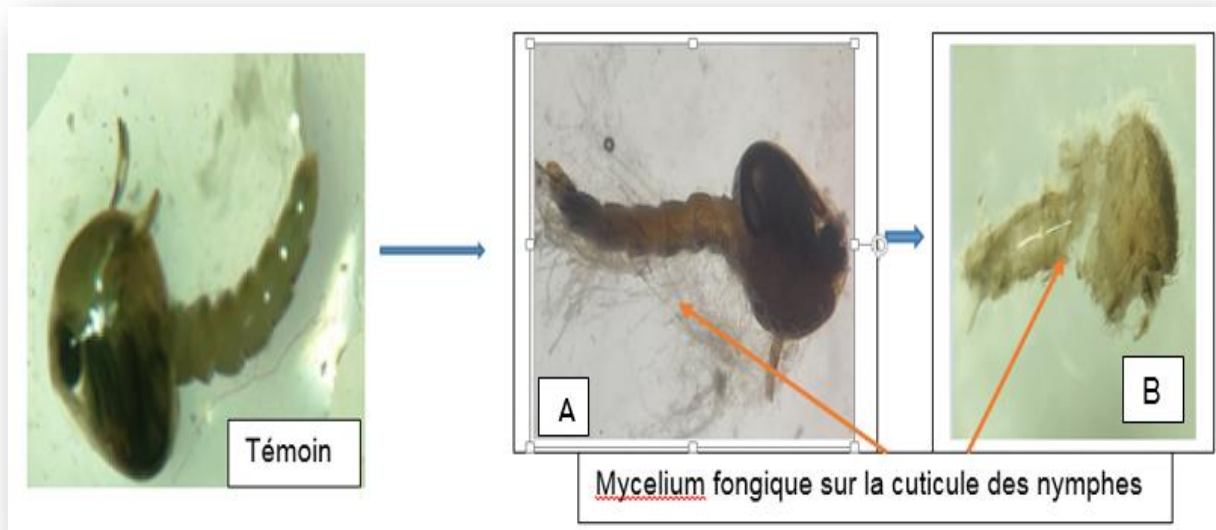


**Figure n°26** : Les stades larvaires de *Culex pipiens* traités par *Beauveria sp*

### II-4 -2. Effet de *Beauveria sp* sur les nymphes de *Culex pipiens*

Nous avons observé une mortalité pré-émergence chez les nymphes de *Culex pipiens* après 48 heures de traitement avec une forte dose. En général, les conidies des souches fongiques pénètrent la cuticule des insectes se développent dans l'hémocèle, où elles produisent des composants organiques variés qui déclenchent des mécanismes internes de destruction (Gillespie et Clayton, 1989), entraînant des infections fongiques et la mort des individus infectés.

Nous avons également constaté un blocage de l'émergence des nymphes. Ce blocage de la mue est suivi par la mort des individus (voir figure n°27), ce qui est conforme aux résultats observés par Bukhari et *al.*, 2011



**Figure n°27 (A) :** interruption de l'émergence, **(B) :** Mort de la nymphe après traitement vues sous loupe.

De plus, les nymphes qui émergent se transforment en adultes présentant des déformations telles que des ailes atrophiées chez certains individus (voir figure n°28). Une forte prolifération d'un duvet blanchâtre, caractéristique de la muscardine blanche causée par *B. bassiana*, est observée sur les cadavres des adultes déformés (voir figure n°29). De manière similaire à ce que Boutellis et *al.*, 2010 ont constaté dans leur étude sur l'activité biologique de *Métarhizium anisopliae* variété *acridum* contre le moustique domestique *Culex pipiens*, qui est un vecteur de maladies, ces symptômes sont généralement observés après le traitement. Ainsi, il est raisonnable de déduire que l'entomopathogène *M. anisopliae*, qui induit une mycose appelée muscardine verte, partage avec *B. bassiana* des capacités remarquables pour contrôler les populations d'insectes de divers ordres, comme l'ont également noté Saiah et *al.*, 2011 dans leur étude sur l'isolement de champignons entomopathogènes à partir de *Phyllocnistis citrella* (Lepidoptera: Gracillariidae).



Figure n°28: Adulte de *Culex pipiens* déformé avec une aile atrophiée vu sous loupe

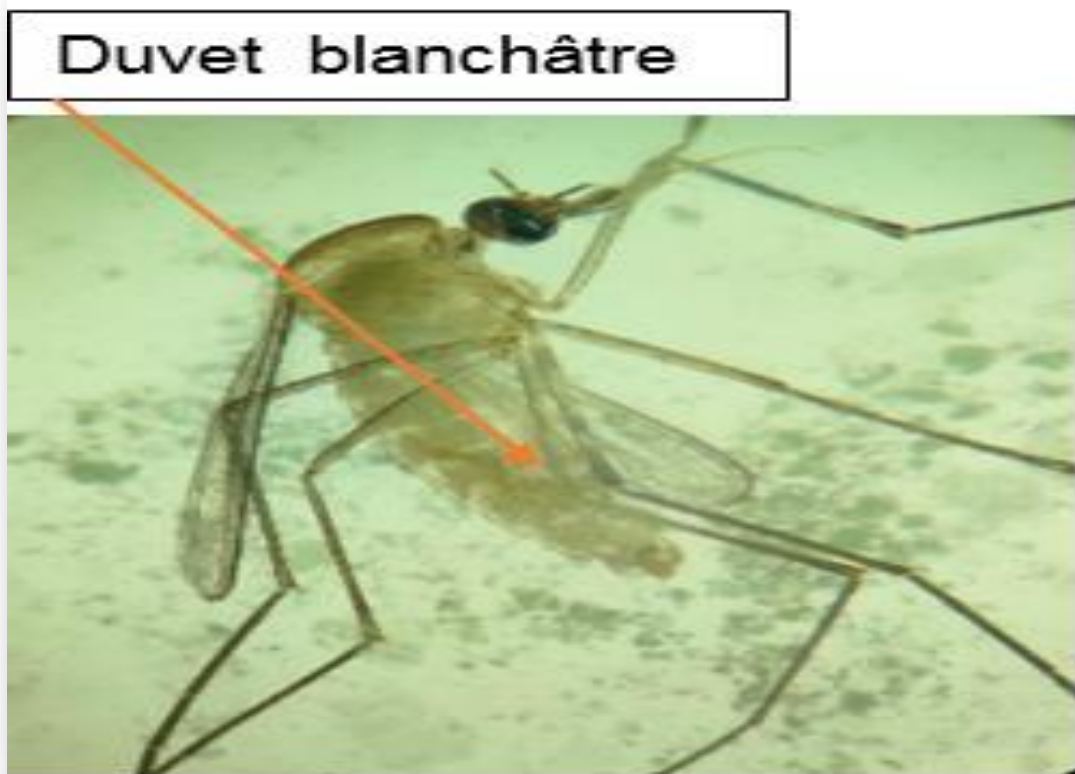


Figure n°29: Développement du champignon *B.sp* à la surface de l'adulte



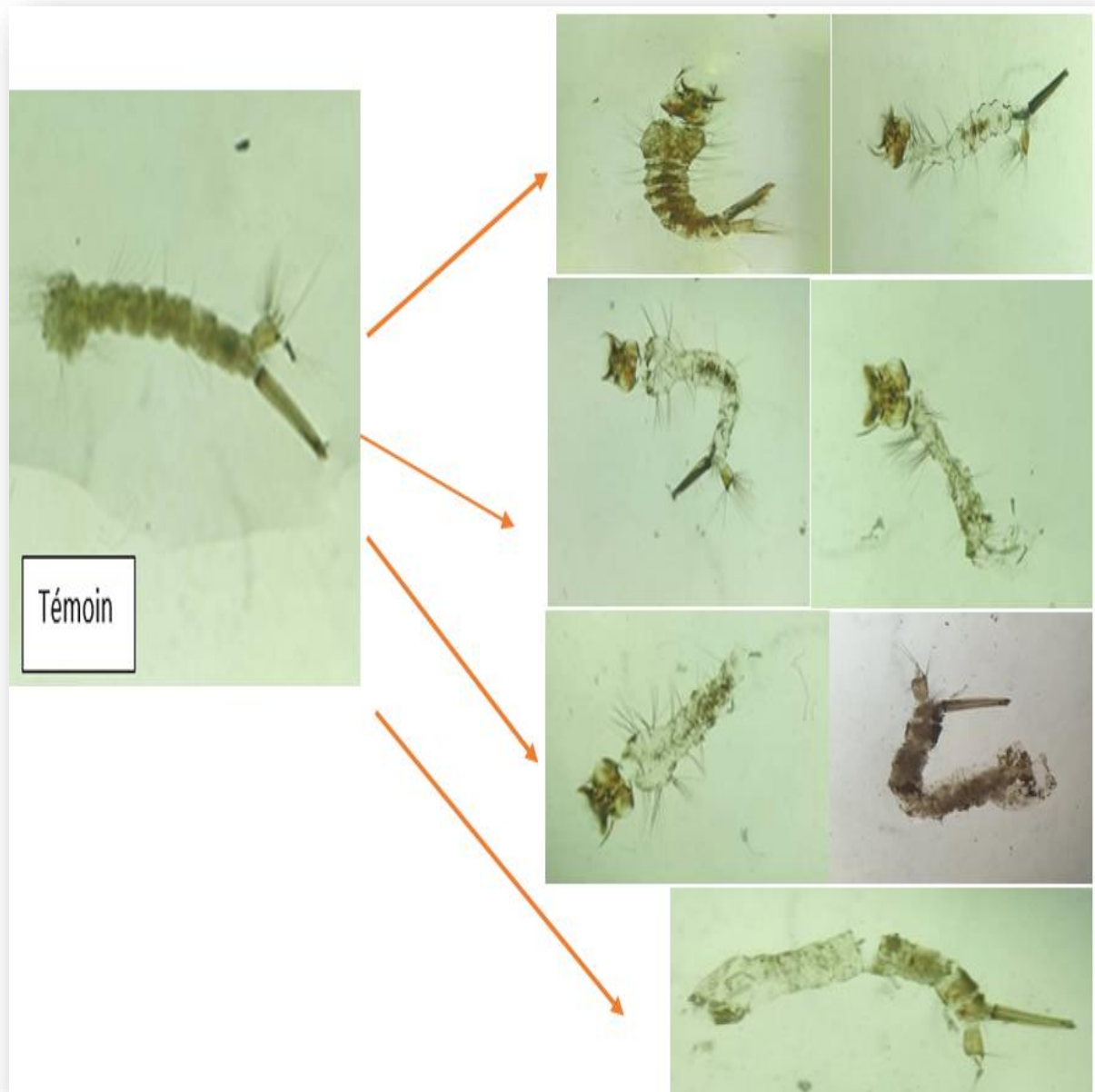
Figure n°30 : Mort du moustique après émergence vue sous loupe

#### II-4- 2 - Effet de l' entomopathogènes *Verticillium sp* sur les différents stades aquatiques de *Culex pipiens*

Des symptômes pareils sont observés en appliquant les deux souches entomopathogènes *Verticillium lecanii* et *Alternaria sp* sur les différents stades aquatiques de *Culex pipiens*.

Les individus traités présentent des taches au niveau de leurs abdomens après l'ingestion de spores des champignons (figure n°31 ). L'apparition de ces taches est vite accompagnée par une baisse de mouvements des larves et une diminution de la fréquence de la prise de nourriture.





**Figure n°31** : - Effet de l'entomopathogène *V.sp* sur les différents stades aquatiques de *Culex pipiens*

L'observation des adultes émergents à partir de nymphes traitées avec l'entomopathogène *Verticillium sp* a révélé la présence de certaines malformations, la plus notable étant l'atrophie des ailes par rapport à un adulte témoin et les individus emprisonnés dans le mycélium fongique ce qui induit à la mort de ces derniers comme elle a montré Haloune en 2021 dans son étude sur l'activité biologique de *B. bassiana* sur le *Culex pipiens* .(figure n°32).



Figure n°32: Adulte de *Culex pipiens* déformé avec une aile atrophiée vu sous loupe

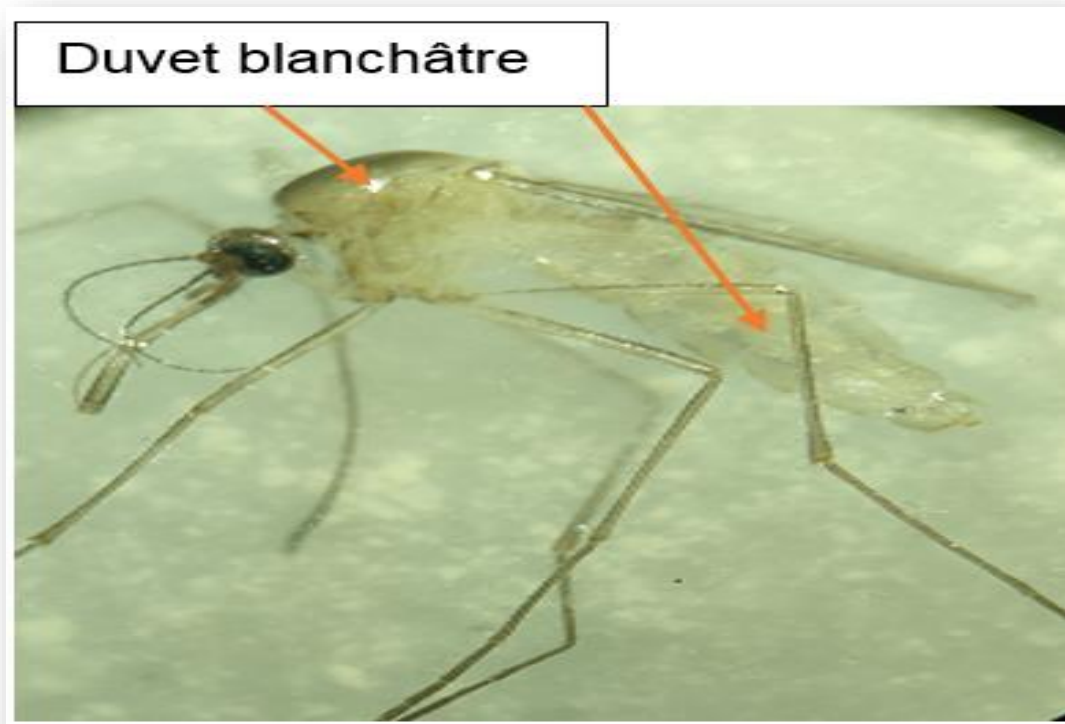


Figure n°33: Développement du champignon *V.sp* à la surface de l'adulte déformé vu sous loupe

## *Conclusion*

---

Ce travail a été initié dans le but d'étudier l'activité biologique des entomopathogènes isolés du sol (*Beauveria sp* et *Verticillium sp*) contre les stades aquatiques du moustique domestique *Culex pipiens*, ainsi que pour explorer leur toxicité et les symptômes associés.

L'étude a porté sur l'analyse des caractéristiques macroscopiques et microscopiques des moisissures isolées du sol de deux régions: Bouira et Bejaia. Elle nous a permis d'identifier six genres de champignons entomopathogènes parmi les 13 isolats. Les résultats ont montré qu'*Aspergillus* était le genre le plus fréquent, avec un taux de 30,07%, suivi par *Penicillium sp* à 23,07%. Deux genres potentiellement entomopathogènes, *Beauveria sp* et *Verticillium sp*, ont été identifiés avec un taux global de 15,3%.

L'étude de l'efficacité de *Beauveria sp* et *Verticillium sp* contre les stades aquatiques de *Culex*, montre des taux de mortalité qui varient dans le temps et dépendent des suspensions fongiques utilisées. Cependant, le taux de mortalité le plus élevé a été enregistré chez les larves de stade 4 traitées avec *Beauveria sp* environ 100% dès le quatrième jour de traitement, ce qui représente la mortalité la plus accentuée par rapport aux autres stades aquatiques. En outre, les larves de stade 3 et 4 traitées avec *Verticillium sp* ont montré une mortalité plus rapide et plus intense que celles traitées avec les souches de *Beauveria sp* avec un taux de mortalité atteignant 100% dès le cinquième jour de traitement.

L'étude de caractères externes de l'infection des moustiques par les souches entomopathogènes isolées montre d'abord une diminution des mouvements suivie de la mortalité. Immédiatement après la mort, les spores du champignon adhèrent à la cuticule, et une interruption de l'émergence a également été observée. De plus, les nymphes écloses donnent naissance à des adultes déformés présentant parfois des ailes atrophiées.

Cette étude non seulement enrichit nos connaissances sur les interactions complexes entre les pathogènes et leurs hôtes, mais elle ouvre également la voie à des stratégies de lutte plus durables et respectueuses de l'environnement pour réduire les risques sanitaires associés aux maladies vectorielles ainsi que les résidus chimiques.

Enfin, ces résultats ouvrent d'autres perspectives qui consistent à :

- Établir un élevage en laboratoire pour approfondir la compréhension du cycle de développement de *Culex pipiens*.

## *Conclusion*

---

- Procéder à une étude histologique afin d'identifier les diverses structures corporelles par impactées le traitement fongique.
- Envisager la réalisation de nouveaux essais à grande échelle en conditions naturelles pour valider les résultats obtenus dans notre étude.
- Évaluer l'efficacité des champignons entomopathogènes sur les adultes du moustique *Culex pipiens* et comparer la sensibilité entre les femelles et les mâles lors du traitement, en tenant compte des éventuelles différences de réaction entre les deux sexes.
- Poursuivre ces recherches permettra d'approfondir nos connaissances sur l'utilisation des champignons entomopathogènes dans la lutte contre les moustiques *Culex pipiens*, facilitant ainsi le développement de stratégies de contrôle plus efficaces et ciblées contre ces vecteurs de maladies.

## *Références bibliographiques*

---

**ADISSO, D. N ET ALIA A. R., 2005.** Impact des fréquences de lavage sur l'efficacité et la durabilité des moustiquaires à longue durée d'action de types olyset net ® et permanet ® dans les conditions de terrain. Mémoire Fin de formation en. ABM-DITEPAC-UAC, Cotonou, 79p.

9- 2 andreo V., 2003. L'effet anti-gorgement sur un chien d'un shampoing à 0,07% de Deltaméthrine sur un moustique du Complexe Culex pipiens ; Thèse de Médecine Vétérinaire, toulouse, 70 p.

**AISSAOUI, L., (2008).** Etude systématique et lutte biologique avec *Le Bacillus thuringiensis Vectobac* (W. D. G.) contre les moustiques. (Memoire de master, Université chikh –alaarabi tbessi,tebessa. 8p.

**ALLEN, D. J., 1982.** *Verticillium lecanii* sur le champignon de la rouille du haricot *Uromyces appendiculatus*. Trans. Br. Mycol. Soc. 79, 362-364.

**ANDREO, V., 2003.** L'effet anti-gorgement sur un chien d'un shampoing à 0,07% de Deltaméthrine sur un moustique du Complexe Culex pipiens ; Thèse de Médecine Vétérinaire, toulouse, 70 p.

**ANONYME ,A., (2000).** Lignes directrices applicables à l'évaluation et l'élimination de la contamination fongique en milieu intérieur. NewYork City Departement of Health (NYC) service d'hygiène de la ville NewYork.

**ANONYME, B., (2004).** Clearing the air : Asthma and indoor air exposure. Comite on the assessment of Asthma and indoor air. Division of health and disease. Institute of Medecine (IOM). National Academy Press – Washington.

**ARIEE F, ERNST WH, SIJM DT., (2001).** Natural and synthetic organic compounds in the environment- a symposium report. Environ Toxicol Pharmacol 10:65-80

**AYITCHEDJI, M., 1990.** Bioécologie de *Anopheles melas* et de *Anopheles gambiae s.* Comportement des adultes vis-à-vis de la transmission du paludisme en zone côtière lagunaire, République du Bénin. Mémoire de fin de formation en TLM-DETS-CPU-UNB, Cotonou.76p.

**BADAOU, M., 2017.** Contribution à l'étude de la dynamique des populations de *Tuta absoluta Meyrick* (Lepidoptera : Gelechiidae) et essais de contrôle biologique sur la culture de tomate. Thèse de doctorat ; université de Mostaganem, Algérie,151p.

**BAKER, DALTON., STEVEN, RICE., DIANA, LEEMON., ROSAMOND, GODWIN ET PETER, JAMES., 2020.** « Development of a Mycoinsecticide Bait Formulation for the

## **Références bibliographiques**

---

Control of House Flies, *Musca Domestica* L. » Insects 11 (1): 47.

**BALENGHIEN, T., 2007.** Les moustiques vecteurs de la fièvre du Nil occidental en Camargue.

**BARNET, H. C., HUNTER BARRY, B., 2000.** Illustrated genera of imperfect fungi. 4th edition. Freedom Palestine.

**BEHIE, S.W., ZELISKO, P. M., BIDOCHKA, M. J., 2012.** Endophytic insect-parasitic fungi translocate nitrogen directly from insects to plants. Science (80-.) 336, 1576-1577.

**BENDALIF, DJEBBAR, F., SOLTANIN., 2001.** Comparative efficiency of some mosquitofish species on different stages of *Culex pipiens* L. under laboratory conditions, Parasitica ISSN 0031-1812, vol. 57, no4, pp: 255- 265.

**BENKALFATE-EL,H.C., 1991.**Cartographie écologique de *Culex pipiens* (Diptera), Bensemira, S. and Z. Meraihi (2006). Isolement et caractérisation de souches fongiques de milieux extrêmes (sol et sebkha de la région de Biskra) productrices de cellulase thermostable à intérêt industriel, Université Frères Mentouri-Constantine 1.

**BENSMIRA,S.,2006.** Isolement et caractérisation de souches fongiques de milieux extrêmes (Sol et Sebkha de la région de Biskra) productrices de cellulase thermostable à intérêt industriel. Mémoire Présenté pour obtenir le diplôme de Magistère En Biochimie- Microbiologie Appliquées. Faculté des sciences, département des sciences de la nature et de la vie. Université Mentouri- Constantine.

**BENZIDANE, JUGURTA ET IBESSAINE NABILA., 2022.** Evaluation de la toxicité de deux huiles essentielles Basilic (*Ocimum basilicum*) et Romarin (*Rosmarinus officinalis*) à l'égard des populations des moustiques *Culex pipiens* (Diptère : Culicidae). FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES AGRONOMIQUES DEPARTEMENT DE BIOLOGIE Mémoire de fin d'étude.

**BERCHI, S., 2000.** Bioécologie de *Culex pipiens* L. (Diptera : Culicidae) dans Constantine et perspectives de lutte thèse Doc. Es. Scien. Univ. constantine :133p

**BERCHI, S., A. AOUATI ET AL., 2012.** "Typologie des gîtes propices au développement larvaire de *Culex pipiens* L.1758 (Diptera : Culicidae), source de nuisance à Constantine (Algérie). Ecologia Mediterranea 38(2): 5-16.

**BERRY, C., 2011.** La bactérie *Lysinibacillus sphaericus* en tant que pathogène pour les

## *Références bibliographiques*

---

insectes. J Invertebr Pathol 109:1-10.

**BOIRON, P., 1996.** Organisation et biologie des champignons. Nathan Edition. 128p.

**BOKHARI,T.,TAKKEN, W ET 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.

**BOTTON, B., BRETON, A., FEVRE, M., GAUTHIER, S., GUY, P. H., LARPENT, J.P., REYMOND, P., SANGLIER,J., VAYSSIER, Y ET VEAU, P., 1990.** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. P : 34-428.

**BOUTELLIS, A., RAMDENE, A ET 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* (Linée 1758) agent de maladies vectorielles. Mémoire présenté pour l'Obtention du Diplôme de Master en : Biologie, spécialité : BTM, faculté des sciences, Boumerdes, Algérie, 69p.

**BOUZID, N.,2015.** Les champignons et Pseudo-champignons pathogènes des plantes cultivées. L'INAT, 199p.

**BOYER, S., 2011.** Résistance métabolique des larves de moustiques aux insecticides: conséquences environnementales. Thèse pour l'obtention du titre de docteur de l'Université Joseph Fourier – Grenoble i spécialité, Biologie : 78p.

**BUCKNER, EA., WILLIAMS, KF., MARSICANO, AL., LATHAM, MD., LESSER, CR., 2017.** Evaluat- ing vector control potential of the In2Care® mosquito trap against *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* under semifield conditions in Manatee. county, Florida. J Am Mosq Control Assoc 33:193-199.

**BUSSIERAS, J., CHERMETTE, R., 1991.** Parasitologie Vétérinaire, Entomologie, Service de Parasitologie, ENVA, 58-61.

**BUTT, T. AND M, GOETTEL., 2000.** "Bioassays of entomogenous fungi." Bioassays of entomopathogenic microbes and nematodes: 141-195.

**CABANILLAS, H. E., JONES, W. A., 2009.** Pathogénicité *d'Isaria sp.* (Hypocreales : Clavicipitaceae) contre le biotype B de l'aleurode de la patate douce, *Bemisia tabaci* (Hemiptera : Aleyrodidae). Crop Prot. 28, 333-337.

## ***Références bibliographiques***

---

**CANDACE, A., SOUSA., RICHARD, E. W ET HALLIWELL., 2001.** The ACVD task force on canine atopic dermatitis (XI): the relationship between arthropod hypersensitivity and atopic dermatitis in the dog, *Veterinary Immunology and Immunopathology*, 2001, 81,233-2327.

**CARREÑO M., 2003.** Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Centro Internacional dela Papa (CIP), Lima, Perú. pp 62.

**CASIDA, J. E & QUISTAD, G. B., 1998.** Golden age of insecticide research : past, present, or future. *Annual Review of Entomology* 43, 1 16.

**CHABANE, A., HARRACHE, M., 2013.** La lutte microbiologique en utilisant deux champignons entomopathogènes *Verticillium lecanii* et *Alternaria* sp contre le moustique domestique *Culex pipiens* (Linné, 1758). Mémoire Présenté pour obtenir le diplôme de l'Ingénieur d'état en Biologie Spécialité : Génie Biologie. Faculté des sciences, département des sciences de la nature et de la vie. Université M'Hamed Bougera de Boumerdes. Champion, R. (1997). "Identifier les champignons transmis par les semences." Identifier les champignons transmis par les semences : 1-400.

**CHABASSE, D., BOUCHARA, J. P., CENTILE, L., BRUN, S., CIMON, B ET PENN, P., 2002.** Les moisissures d'intérêt médical.Cahier de formation biologie médicale n°25, laboratoire de Parasitologie-Mycologie du CHU d'Angers, Cedex, 159p.

**CHEVILLON, C., 1994.** Evolution de mécanismes adaptatifs : flux géniques, sélection et contre sélection. Thèse de doctorat, Université de Montpellier,140p.

**CLEMENTS, A. N., 1999.** The biology of mosquitoes. Volume 2: sensory reception and behaviour, CABI publishing.

**DAKHEL, WAHID. H., ALEXANDRE, V. LATCHININSKY, ET STEFAN, T. JARONSKI. 2019.** « Efficacy of Two Entomopathogenic Fungi, *Metarhizium Brunneum*, Strain F52 Alone and Combined with *Paranosema Locustae* against the Migratory Grasshopper, *Melanoplus Sanguinipes*, under Laboratory and Greenhouse Conditions ». *Insects* 10 (4): 94. <https://doi.org/10.3390/insects10040094>.

**DARDE, M. L., 2011.** L'Aspergillus : Le point de vue du mycologue, Service de parasitologie de Parasitologie-Mycologie. CHU Dupuytren-Limoges.



## *Références bibliographiques*

---

**DARRIET, F., 1998.** "La lutte contre les moustiques nuisant et vecteurs de maladies." Editions Karthala 111.

**DE HOOG, G. S., GUARRO J., GENE J ET FIGUERAS, M. J., 2000.** Atlas of Clinical Fungi, 2nd ed, vol. 1. Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands.

**DE KOUASSI, M., 2001.** "Les possibilités de la lutte microbiologique." Vertigo-la revue électronique en Sciences de l'Environnement. De Tlemcen.144p.

**DUBOVSKIY, I.M., WHITTEN, M.M.A., KRYUKOV, V.Y., YAROSLAVTSEVA, O.N., GRIZANOVA, E.V., GREIG, C., MUKHERJEE, K., VILCINSKAS, A., MITKOVETS, P.V., GLUPOV, V.V., ET AL. 2013.** Plus qu'un changement de couleur : le mélanisme des insectes, la résistance aux maladies et la fécondité. Proc. Roy. Soc. B : Biol. Sci. 280, 20130584.

**DUFRESNE, P., ST-GERMAIN, G., 2013.** Identification des champignons d'importance médicale. Institut national de santé publique. Laboratoire e santé publique de Québec.

Et larves de Culex. Biocontrol Sci. Technol. 25, 487-502.

**FAILLOUX, A. B ET RODHAIN, F., 1999.** Apport des études de génétique des populations de moustiques (Diptera : culicidae) en entomologie médicale. Exemples choisis en Polynésie française. Anna. Soci ; Entomol France .35 (1): 1-16.

**FARAJOLLAH, A., 2015., CRANS, W., BRYANT, P., BURKHALTER, K. I ET GODSEY, M., DETECTION OF FENGHOUR, H., LADJAMA, A. , ET AL., 2002.** "Recherche de l'activité pectinolytiques chez 22 souches de champignons microscopiques isolées d'un sol de la région d'el kala." Technologies Avancées 14: 55-60.

**FARAJOLLAH, A., FONSECA, D., KRAMER, M., LAUR, D ET KILPATRICKILA, M.,**

**FARAJOLLAHI, A., FONSECA, D, KRAMER, L, KILPATRICK, AM., 2011.** "Bird biting" mos- quitoes and human disease : a review of the role of Culex pipiens complex mosquitoes in epidemiology. Infect Genet Evol 11:1577-1585.

**FENGHOUR, H., LADJAMA, A., TAIBI, Z., 2002.** Recherche de l'activité pectinolytique 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 - (23000) Annaba Algérie. Technologies Avancées – Numéro 14.

**FERREIRA, J. F., MARQUES, E. J., MARQUES, I. M. R., OLIVEIRA, J.V ET SANTOS**

## *Références bibliographiques*

---

**JUNIOR, H. J. G., 2005.** Efeito de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin sobre ovos de *Alabama argillacea* (Huebner.) (Lepidoptera : Noctuidae). *Magistra* 17 (3), 19–123.

**FERRON, P., 1975.** Les champignons, entomopathogènes: évolution des recherches au cours des dix dernières années. *Bull. S.R.O.P.* (3):1-54.

**GEDEN, C. J., D.A. RUTZ ET D.C. STEINKRAUS., 1995.** « Virulence of Different Isolates and Formulations of *Beauveria Bassiana* for House Flies and the Parasitoid *Muscidifurax Raptor*». *Biological Control* 5 (4): 615-21. <https://doi.org/10.1006/bcon.1995.1073>.

**GILLESPIE, A.T., CLAYTON N., 1989.** The use of entomopathogenic fungi for pest control and the role of toxins in pathogenesis. *Pestic. Sci.* 27:203-215.

**GREENFIELD, B. P. J., PEACE, A., EVANS, H., DUDLEY, E., ANSARI, M. A., BUTT, T. M., 2015.**

**GUILLOMOT, L., 2006.** Les moustiques et la dengue. Article, Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie, 15 p. 97.

**GUIRAUD, J., 1998.** Microbiologie alimentaire. p 8- 101. Edition Donod, Paris.

**HALL, R. A., 1982.** Lutte contre l'aleurode, *Trialeurodes vaporariorum* et le puceron du coton, *Aphis gossypii* dans les serres par deux isolats du champignon *Verticillium lecanii*. *Ann. Appl. Biol.* 101, 1-11.

**HALL, R. A., 1984.** Potentiel épizootique pour les pucerons de différents isolats du champignon *Verticillium lecanii*. *Entomophaga* 29, 311-321.

**HAMID,S.,2015.** Isolement et caractérisation de souches fongiques entomopathogènes locales du groupe des hyphomycètes et application sur le moustique responsable des arboviroses, Faculté des Sciences Biologiques.

**HARBACH, R., 2007.** The Culicidae (Diptera), a review of taxonomy, classification and phylogeny. Zootaxa.

**IGNOFFO, C. et Hostetter, D. L., 1977.** Environmental stability of microbial insecticides. *Misc. Publ. Entomol. Soc. Am.* 10: 1-80.USA.

**HARBACH, R., HOWARD, TM .,2007.** Index des espèces de moustiques actuellement reconnues (Diptera : Culicidae). *EUR. Mosquée. Taureau.*, 23 , 1–66.

## *Références bibliographiques*

---

**HEMINGWAY, J., Ranson, H., 2000.** Insecticide resistance in insect vectors of human disease (Résistance aux insecticides chez les insectes vecteurs de maladies humaines). *Ann. Rev. Entomol.* 45, 371-391.

**HEND, H. A. SALEM., SHAIMAA, H. MOHAMMED., RANDA, I. ELTALY., MOATAZ, A. M. MOUSTAFA., ADRIEN, FO'NAGYC., SHAIMA, M. FARAG., 2023.** Application conjointe de champignons entomopathogènes et d'insecticides chimiques contre *Culex pipiens*. *Journal of Invertebrate Pathology*.

**HOOG, GERRIT SIJBRAND AND JOSEP GUARRO.** Atlas of clinical fungi. Centraalbureau voor schimmel cultures, 1995. <https://www.hannainstruments.fr>.

[Http// www. Botany.utoronto.ca/researchlabs/malloch/moulds/html](Http://www.Botany.utoronto.ca/researchlabs/malloch/moulds/html).

<http://aesgsf.free.fr/V5/varios- hongos-beauveria-bassiana.html>

**HUANG, YS., HIGGS, S., VANLANDINGHAM, DL., 2017.** Stratégies de lutte biologique contre les moustiques vecteurs d'arbovirus. *Insects* 8: E21.

**Huang,YS.,Higgs,S.,Vanlandingham,DL.,(2017).**Stratégies de lutte biologique contre les moustiques vecteurs d'arbovirus. *Insects* 8:E21. <https://doi.org/10.3390/insects8010021>

**HUMBER, R. A., 2012.** Identification of entomopathogenic fungi. *Manual of techniques in invertebrate pathology*. Published by Elsevier Ltd. pp151-187.

Identification de souches de *Metarhizium* hautement efficaces contre *Aedes Anopheles*

**IROKO,F.A. ,1994.**Une histoire des hommes et des moustiques en afrique.cotés des esclaves (XVIe-XIXe siècle)l'harmattan.1994.Racines du présent.169p.

**JABER, L. R., Ownley, B. H., 2018.** Peut-on utiliser les champignons entomopathogènes comme endophytes pour la lutte contre les maladies infectieuses ? double lutte biologique contre les insectes nuisibles et les agents pathogènes des plantes ? *Biol. Control* 116, 36-45.

**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.

**KABALUK, J. T., ERICSSON, J. D., 2007.** *Metarhizium anisopliae* seed treatment increases yield of field corn when applied for wireworm control. *Agron. J.* 99, 1377-1381.

## Références bibliographiques

---

**KETTLE, D.S., 1990.** Medical and Veterinary Entomology, 2<sup>o</sup> edition, Wallingford: CAB international, 725 p.

**KHAIBOULLINA, S., UPPAL, T., MARTYNOVA, E., RIZVANOV, A., BARANWAL, M., VERMA, SC., 2018.** Histoire des infections par le ZIKV en Inde et gestion des épidémies. *Front Microbiol* 9:2126.

**KOUASSI, M., 2001.** Les possibilités de la lutte microbiologique, Emphase sur le champignon.

**KUNO, G., 1973.** Biological notes of *Amoebidium parasiticum* found in Puerto Rico. *Journal of Invertebrate Pathology* 21: 1-8.

**KPONDJO, N. M., 2008.** "Développement des larves de moustiques dans un écosystème particulier : milieu sous jacinthe d'eau *Eichhornia crassipes* (Mart) Solms-Laubauch." Rapport de fin de cycle, Université d'Abomey-Calavi, 50p.

**KRAEMER, M., SINKA, M., DUDA, K., MYLNE, A., SHEARER, F., BARKER, C., MOORE, C., CARVALHO, R., COELHO, G., VAN BORTEL, W., HENDRICKX, G., SCHAFFNER, F., ELYAZAR, I., TENG, H., BRADY, O., MESSINA, J., PIGOTT, D., SCOTT, T., SMITH, D., WINT, G., GOLDING, N., HAY, S., 2015.** The global distribution of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Ae. albopictus*. *eLife* 4:e08347.

**LACEY, LA., GRZYWACZ, D., SHAPIRO-ILAN, DI., FRUTOS, R., BROWNBRIDGE, M., GOETTEL, MS., 2015.** Insect pathogens as biological control agents : back to the future. *J Invertebr Pathol* 132:1-41.

**LAIRD, M., LACEY, LA ET DAVIDSON, EW., 1990.** Safety of microbial insecticides. *CRC Press Inc., Baton Rouge.* pp. 55-63.

**LARONE, D. H., 1995.** Medically Important Fungi - A Guide to Identification, 3rd ed. ASM.

**2011.** Birdbiting mosquitoes and humandisease: A review of the role of *Culex pipiens* complex mosquitoes epidemiology. *Infection, Genetics and Evolution*, v.11, no.7, p.1577(9).

**LARONE, D. H., 1995.** Medically Important Fungi - A Guide to Identification, 3rd ed. ASM.

**2011.** Birdbiting mosquitoes and humandisease: A review of the role of *Culex pipiens* complex mosquitoes epidemiology. *Infection, Genetics and Evolution*, v.11, no.7, p.1577(9).

**LEVEAU, J. Y ET BOUIX, M., 1993.** Les moisissures. In Florent J Microbiologie industrielle.

**LINNE., 1758.** [en ligne], (page consultée le : 15/05/2019). [https://www.kaefer-derwelt.de/amphimallon\\_solstitiale.htm](https://www.kaefer-derwelt.de/amphimallon_solstitiale.htm).

## Références bibliographiques

---

**LIPA, J. J., 1975.** White muscardines (*Beauveria sp.*). In: An Outline of Insect Pathology. Foreign Sci. Publ. Dept NCSTEI, Warsaw, Poland, pp 139-142.

**LIU ,N., (2015).** Insecticide resistance in mosquitoes : impact, mechanisms, and research directions. *Annu Rev Entomol* 60:537-559. <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010814-020828>.

**LOPEZ-PEREZ, M., RODRIGUEZ-GOMEZ, D., LOERA, O., 2015.** Production of conidia of *Beauveria bassiana* in solid-state culture : current status and future perspectives. *Crit Rev Biotechnol* 35:334-341.

**LOUNIBOS ,LP., (2002).** Invasions by insect vectors of human disease. *Annu Rev Entomol* 47:233-266. <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.47.091201.145206>

**LÜTTGE, U., KLUGE, M., BAUER, G., 2002.** La botanique 3ème édition. Lavoisier, Paris. 600p.

**MAJEED, M. Z., FIAZ, M., MA, C.-S., AFZAL, M., 2017.** Entomopathogénicité de trois champignons muscardinaux, *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* et *Metarhizium anisopliae*, contre le psylle asiatique des agrumes, *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera : Psyllidae). Égypte. *J. Biol Pest Control* 27.

**MALLOCH, D., 1997.** Moulds isolation, cultivation and identification. University of Toronto.

**MARTI, S., 2009.** *Moustique : attention, il pique encore sur la dépêche.a (consulté le 13 septembre 2010).*

**MARTIN-LAPIERRE, A., 2011.** Application de composts et de fumigants pour lutter contre la verticilliose (*Verticillium dahliae*) du fraisier. Mémoire présenté pour l'obtention du grade de Maître des Sciences (M. Sc.). Département de phytologie, faculté des sciences de l'Agriculture et de l'Alimentation. Université Laval, Québec.

**MASCARIN, GABRIEL MOURA ET STEFAN, T. JARONSKI., 2016.** « The Production and Uses of *Beauveria Bassiana* as a Microbial Insecticide ». *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 32 (11): 177.

**MASCARIN, GABRIEL MOURA ET STEFAN,T. JARONSKI., 2016.** « The Production and Uses of *Beauveria Bassiana* as a Microbial Insecticide ». *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 32(11): 177. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3>.

## *Références bibliographiques*

---

**MATHEW, R., 1995.** *Biologie Campbell*, (edn) ISBN Canada.

**MAYER, SV, TESH, RB, VASILAKIS, N.,(2017).** L'émergence des maladies virales transmises par les arthropodes : une prospective mondiale sur les fièvres de la dengue, du chikungunya et du Zika. *Acta Trop* 166:155-163.

**MEJIAS- L., M. ESTRADA, R. BARRENA ET T. GEA ,** A novel two-stage aeration strategy for *Bacillus thuringiensis* biopesticide production from biowaste digestate through solid-state fermentation.,2020. *Biochemical Engineering Journal*, Elsevier.

**MESSAI, N., S. BERCHI ET AL., 2010.** "Inventaire systématique et diversité biologique de Culicidae (Diptera: Nematocera) dans la région de Mila (Algérie)." *Entomologie faunistique-Faunistic entomology*.

**MEYER, C., 2009.** Dictionnaire des Sciences Animales. Montpellier, France, Cirad.

**MEYLING, N.V., LÜBECK, M., BUCKLEY, E. P., EILENBERG, J ET REHNER, S. A., 2009.** Community composition, host range and genetic structure of the fungal Entomopathogen *Beauveria* in adjoining agricultural and seminatural habitats. *Mol ecol* 18:1282–1293.

**MICHAEL.,2002.** [en ligne], (page consultée le : 15/05/2019)

**MISHRA, SAPNA., PEEYUSH, KUMAR., ANUSHREE, MALIK., ET SANTOSH, SATYA., 2011.** « Adulticidal and Larvicidal Activity of *Beauveria Bassiana* and *Metarhizium Anisopliae* against Housefly, *Musca Domestica* (Diptera: Muscidae), in Laboratory and Simulated Field Bioassays ». *ParasitologyResearch* 108 (6): 1483-92.

**MULLER, GM ET SCHIMT, JP. 2007.** Fungal biodiversity: what do we know What can we predict? *Biodiversity and Conservation*, 182p.

**ORTIZ-URQUIZA, A., LUO, Z., KEYHANI, N. O., 2015.** Améliorer les mycoinsecticides pour la lutte biologique contre les insectes. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 99, 1057-1068.

**OULD TALEB ,R., SAHIR-HALOUANE, F.,HARRAT,Z.,2022.**isolement et caractérisation de cinq souches de *Purpureocillium* des sols algeriens et evaluation de leur activité larvicide contre *Culex pipiens* (Dipeteria,Culicidae).*Biologie*78,505-513(2023).

**PATTERSON, GM .,(2016).** Looking backward, looking forward : the long, torturous struggle with mosquitoes (Regarder en arrière, regarder en avant : la longue et tortueuse lutte contre les moustiques). *Insects* 7:E56.

## *Références bibliographiques*

---

**PHILIPPE, J., PHILIPPE, D., MARC, O., PHILIPPE, L., PIEIRE, C., NICO, K., LOUIS, N ET PHILIPPE, T., 1993.** Les mécanismes biochimiques développés par les *Pseudomonas fluorescens* dans la lutte biologique contre les maladies des plantes transmises par le sol. Edition Médicale et Scientifiques. France.

**PIERRICK, H., 2014.** *Culex pipiens* - Définition. Réalisé en collaboration avec des Polytechnique de Toulouse, 22-38.

**POIVRE P., 2003.** Phytopathologie. Édition De Boek université. Bruxelles. 426p.

**PRELAUD, P., 1991.** Urticaire provoquée par une hypersensibilité aux piqûres de moustiques chez un boxeur, L'Action Veterinaire. 1189 :11-13.

**REBOUX, G., BELLANGER, AP., ROUSSEL, S., GRENOUILLET, F., MILLION, L., 2010.** Moisissures et habitat : risques pour la santé et espèces impliquées. Revue des Maladies Respiratoires. 27:169-179.

**REID, B. L., BENNETT, G. W & BARCAY, S. J., 1990.** Topical and oral toxicity of sulfuramid on delayed insecticide action, against the German Cockroaches (Dictyoptera : Blattellidae). J. Econ. Entomol., 83, 148-152.

**RISPAIL, P., 2008.** Champignons, principaux Champignons impliqués et pathologie humaine. Mycoses chez l'Homme. 1er cycle – PCEM2 – MB7 – Parasitologie – M1 Champignons et mycoses. Faculté de Médecine Montpellier-Nîmes

**RITIKA, BHATTACHARJEE ET DEY, UTPAL., 2014.** « An Overview of Fungal and Bacterial Biopesticides to Control Plant Pathogens/Diseases ». *African Journal of Microbiology Research* 8 (17): 1749-62.

**ROBEJEAN., 2013.** Entomologie médicale et vétérinaire : regard sur une situation, Rev. Isectes 26 France n°131.

**RODHAIN, F., Perez, C., 1985.** Précis d'entomologie médicale et vétérinaire. Ed. Maloine. Paris. Chapitre 5. p. 157-175.

**ROTH, M., 1980.** Initiation à la morphologie, la systématique et la biologie des insectes. Doc. Tech. ORSTOM, n°23 : 213pp.

## *Références bibliographiques*

---

**ROZENDAAL, J. A. and W. H., Organization., 1999.** La lutte antivectorielle: Méthodes à usage individuel et communautaire, Organisation mondiale de la Santé.

**SAHIR-HALOUANE, F., HAMID, S., Ouldtaleb, R et Benzina, F., 2021.** Évaluation de l'activité larvicide de *Bacillus thuringiensis* vis à vis des larves du 4<sup>ème</sup> stade de moustique domestique *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). Afrique Science. ISSN 1813-548X.

**SAIAH, F., 2014.** Contribution à L'étude sur la lutte biologique à l'égard de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lépidoptera ; Gracillariidae), mineuse des Citrus. Thèse de doctorat ; Université de Mostaganem, Algérie, 119 p.

**SAIAH, F., Bendahmane, B.S., Benkadda, M.Y., Berkani, A., Lakhdari, W et Kolai, N., 2011.** Isolement de champignons entomopathogènes à partir de *Phyllocnistis citrella* Stainton (Lepidoptera : Gracillariidae), Université de Mostaganem, BP 300, 27000 ALGERIE. Entomologie faunistique - Faunistic Entomology 2011 (2010) 63 (3), 199-202.

**SAMADA, LUKMANUL HAKIM, ET USMAN SUMO FRIEND TAMBUNAN. ,2020.** « Biopesticides as Promising Alternatives to Chemical Pesticides: A Review of Their Current and Future Status ». OnLine Journal of Biological Sciences 20 (2): 66-76.  
[https://doi.org/10.3844/ojbsci.2020.66.76.\\*](https://doi.org/10.3844/ojbsci.2020.66.76.*)

**SANCHEZ-RODRIGUEZ, A. R., RAYA-DÍAZ, S., ZAMARREÑO, Á. M., GARCÍA-MINA, J. M., DEL CAMPILLO, M. C., QUESADA-MORAGA, E., 2018.** Une souche endophytique de *Beauveria bassiana* augmente la production d'épis dans les plantes de blé panifiable et de blé dur et contrôle efficacement les larves de la tordeuse du coton (*Spodoptera littoralis*). Biol. Control 116, 90-102.

**SEGUY., 1951.** Ordre des Diptères (*Diptera* Linné, 1758): 449-744 in Grasse P-P., Traité de zoologie, anatomie, système nerveux, biologie. Insectes Supérieurs et Hémiptéroïdes. Tome X, fasc.,975p.

**Shuman .EK., (2011).** Global climate change and infectious diseases. Int J Occup Environ Med 2:11-19

**Snetselaar, J., Andriessen, R., Suer. RA., Osinga AJ., Knols ,BG., Farenhorst. M., (2014)** Development and evaluation of a novel contamination device that targets multiple life-stages of *Aedes aegypti*. Parasit Vectors 7:200. <https://doi.org/10.1186/1756-3305-7-200>



## *Références bibliographiques*

---

**SPENCER, D. M., ATKEY, P. T., 1981.** Parasitic effects of *Verticillium lecanii* on two rust fungi. Trans. Br. Mycol. Soc. 77, 535-542.

**STARNES, R. L., LIU C. L., ET MARONE P.G., (1993).** History, use and future of microbial insecticides. amer.

**STEINKRAUS D.C. ET N.P. TUGWELL., (1997).** Beauveria bassiana (Deuteromycotina: Moniliales) Effects on LJ'gus lineolaris (Hemiptera:Miridae). J. Entomol. Sei. 32: 79-90

**ST-GERMAIN, G et SUMMERBELL, R., 1996.** Identifying Filamentous Fungi - A Clinical

**Sudakin, D.,2003.,** « Biopesticides »: Toxicological                      Reviews 22 (2): 83-90.

<https://doi.org/10.2165/00139709-200322020-00003>

**SUTTON, D. A., A.W. FOTHERGILL et al., 1998.** Guide to clinically significant fungi, Williams & Wilkins.

**TABTI, N., 2017.** Étude comparée de l'effet de *bacillus thuringiensis* sur les populations purifiées et des populations des gites artificiels de *Culex pipiens* (diptera : culicidae) dans la ville de Tlemcen, (Université Abou- Bakr Belkaid Tlemcen). 271p.

**TALIPOUO, A., MAVRIDIS, K., NCHOUTPOUEN, E., DJIAPPI-TCHAMEN, B., FOTAKIS, E.A., KOPYA, E., BAMOU, R., KEKEUNOU, S., AWONO-AMBENE, P., BALABANIDOU, V., ET AL, 2021.** Forte résistance aux insecticides médiée par différents mécanismes dans les populations de *Culex quinquefasciatus* de la ville de Yaoundé. Cameroun. Sci. Rep. 11, 7322.

**TODOROVA, S. L., CÔTÉ, L C ET COD ERRE, D., 1996.** Evaluation of the effects two *Beauveria bassiana* (Balsamo) *vuillemin* strains on the development of *Coleomegilla maculata* (L.) (col, Coccinellidae). J. Appl. Ent. 120: 159-163.

**TODOROVA, S., COTE, J., MARTEL, P & CODERRE, P., 1994.** Heterogeneity of two *Beauveria bassiana* strains revealed by biochemical tests, protein profiles and bio-assays on *Leptinotarsa decemlineata maculata* L. (Col: Coccinellidae) Karvae.

**TONG-KWEE, L., MUHAMAD, R., FEE GAIT, C ET LAN CHIEW, C., 1989.** Studies on *Beauveria bassiana* isolated from the cocoa mirid, *Helopeltis theobromae*. Crop Protection 8: 358-362.

## *Références bibliographiques*

---

**TORAL, Y., CARO, M. G., 2005.** Evaluation in vitro de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*. Th. : Med.Vet. : Toulouse. 55 pp.

**TORTORA ,J., FUNK B.F ET CASE CH.I.,(2003).** Introduction à la microbiologie , (edn). ISBN.Canada.

**TRARI, B., DAKKI, M., HIMMI, O., EL AGBANI, M, A., 2002.** Les moustiques (Diptera: Culicidae) du Maroc. Revue bibliographique (1916-2001) et inventaire des espèces. Bull Soc Pathol Exot 95(4): 329-334.

**VEGA, F. E., GOETTEL, M. S., BLACKWELL, M., CHANDLER, D., JACKSON, M. A., KELLER, S., KOIKE, M., MANIANIA, N. K., MONZON, A., OWNLEY, B. H., 2009.** Fungal entomopathogens: new insights on their ecology. Fungal Ecol. 2, 149-159.

**VEGA, F. E., MEYLING, N.V., LUANGSA-ARD, J. J ET BLACKWELL, M., 2012.** Fungal entomopathogènes Insect Pathology. Elsevier Inc.150p.

**VEY A ,RIBA G., 1996.** Toxines insecticides issues de champignons entomopathogenes, état actuel des connaissances et nouvelles stratégies d'utilisation de leurs activités. Comptes Rendus de l'Académie d'Agriculture de France 75: 143- 149.

**WALL, R., SHEARER, D., 1992.** Veterinary Entomology, *Chapman & Hall*, 88-191.

**WEISER, J., 1972.** *Beauveria Vuill.* In: Nemoci hmyzu. Naklad. Ceskoslov. Akademie, Praha, pp 361-377.

**WILSON, R ET AL., 6 JANVIER 2023.** « The spectral composition of a white light influences its attractiveness to *Culex pipiens* mosquitoes », *Wiley*.

**WRAIGHT, S AND D. W. ROBERTS., 1987.** Insect control efforts with fungi. Developments in Industrial Microbiology 28: 77-87.

**WRAIGHT, S. P., CARRUTHERS, R. I., 1999.** Production, delivery, and use of mycoinsecticides for control of insect pests on field crops. In : Biopesticides : Use and Delivery. Humana Press, pp. 233-269.

**Yokomi, R.K., Gottwald, T.R., 1988.** Virulence of *Verticillium lecanii* isolates in aphids determined by detached-leaf bioassay. J. Inver- tebr. Pathol. 51, 250-258.

**ZIMMERMANN, GISBERT., 2007.** « Review on Safety of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria Bassiana* and *Beauveria Brongniartii* ». Biocontrol Science and Technology 17 (6): 553-96.

## Annexes

### Annexes

#### Annexe 01 : Matériels non biologique (Tableau I)

Les verreries	. Equipements
Béchers (15ml, 25ml, 50ml, 100ml, 500ml)	Balance
<u>Fioles</u>	Plaque chauffante
<u>Pipettes pasteurs</u>	Microscope optique
<u>Boites de pétri</u>	Etuve
<u>Lames</u>	Agitateur / - Baromètre
<u>Les tubes</u>	
<u>Anse de platine</u>	
<u>Entonnoir</u>	
<u>Passoire</u>	

#### Annexe 02 : Milieux de culture

Milieu Sabouraud	Milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar)
- Peptone 10 g	- Pomme de terre 200g
- Glucose massé 20 g	- Glucose 20g
- Agar-agar 15 g	- Agar-agar 20g
- Chloramphénicol .....0,5 g	- Eau distillé 1000ml
- Eau distillée ..... 1000 ml	- pH= 6,0
- pH= 6,0	

#### Annexe 03 : Calcul de la concentration de la solution mère

##### **Principe**

La numération cellulaire est la détermination du nombre de cellules contenues dans un volume précis de milieu liquide. On exprime le résultat de la numération en concentration cellulaire, c'est à dire en nombre de cellules par litre.

La numération cellulaire est réalisée directement par comptage au microscope, à l'aide d'une lame de comptage spéciale ou cellule de Malassez

## Annexes

---



Le volume de comptage est déterminé par :  
-la surface du quadrillage gravé sur la lame.

-la profondeur de la chambre.

La cellule de Malassez possède un quadrillage spécifique comportant 100 rectangles.

Parmi les 100 rectangles totaux, on trouve 25 rectangles qui sont divisés en 20 petits carrés afin de faciliter le comptage

### **\*Remplissage de la cellule de numération**

- Humecter les deux plateaux latéraux. Faire adhérer parfaitement la lamelle aux plateaux latéraux : pour cela placer la lamelle sur ces plateaux, puis à l'aide des pouces posés sur la lamelle, exercer une pression sur la lamelle tout en pratiquant un mouvement de va-et-vient jusqu'à perception d'une résistance.

- Placer la cellule de comptage sur une surface plane. Homogénéiser la suspension cellulaire, et prélever celle-ci à l'aide d'une pipette Pasteur. Remplir la chambre de comptage par capillarité, en plaçant la pointe de la pipette légèrement inclinée près de la lamelle sur la plate-forme centrale quadrillée

- Le remplissage doit être fait en une seule fois, sans bulles d'air, et sans faire déborder le liquide dans les rigoles. Laisser sédimenter les cellules sur le quadrillage quelques minutes, et passer à la numération

- Après utilisation, la lame porte-objet et la lamelle planée sont immergées dans un bain d'eau de Javel pendant 5 minutes, puis sont rincées avec de l'eau distillée et essuyées avec du papier (sans frotter, en particulier au niveau du quadrillage).

### **Numération**

## Annexes

• Observer à l'objectif x10 pour repérer la position du quadrillage, et vérifier l'homogénéité de la répartition des cellules à compter (si la répartition est mauvaise, recommencer).

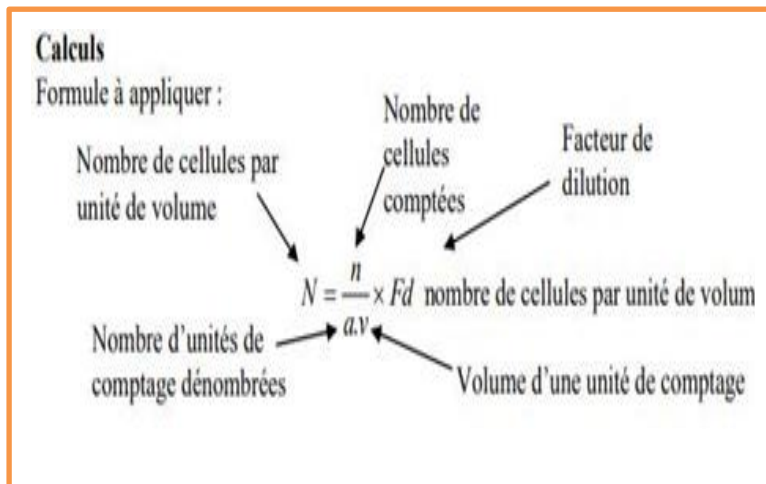
• Observer ensuite à l'objectif x40 pour réaliser le comptage (1 rectangle par champ).

**Méthode de calcul :** Le quadrillage est donc constitué de 10 bandes verticales de 0.25 mm de large et de 10 bandes horizontales de 0,22 mm de large formant ainsi 100 rectangles. On ne comptera les cellules que dans 10 des 25 rectangles non contigus pris au hasard dans la cellule.

On totalise le nombre des cellules présentes dans chaque rectangle, arbitrairement, il est convenu de ne tenir compte que des cellules positionnées sur les cotés droits et supérieurs.

On fait ensuite la somme des cellules observées dans chaque rectangle, on divise ce nombre par le nombre de rectangles comptés, on obtient ainsi le nombre de cellules par rectangle, il suffit de multiplier le nombre obtenu par 100 pour connaître le nombre d'entités cellulaires par  $\text{mm}^3$ . Sachant que  $0.01\text{mm}^3 = 10^{-5}\text{ml}$  ( $1\text{ml} = 1\text{cm}^3 = 10\text{mm}^3$ ).

Donc la concentration cellulaire (**nombre de spore/ml**) = **nombre de spores dans un rectangle x 105 x facteur de dilution**).



### Annexe 04 : dénombrement des mortalités

**Tableau II** : Mortalité journalière des larves et des nymphes de *Culex pipiens* témoins et traitées au *Beauveria sp.*

Les stades					
Les jours	L2	L3	L4	N	Témoins

## Annexes

J1	00	00	01	00	00
J2	02	00	02	00	00
J3	03	02	05	03	00
J4	04	04	08	03	00
J5	04	05	08	03	00
J6	04	07	08	03	00
J7	04	07	08	03	00
J8	05	07	08	03	00
J9	05	07	08	03	00
J10	05	07	08	03	00

**Tableau III** : : Mortalité journalière des larves de *Culex pipiens* témoins et traitées au champignons *Verticillium .sp*

Les stades Les jours	L4	L3	Témoins
J1	01	02	00
J2	03	0	00
J3	04	0	00
J4	06	04	00
J5	08	06	00
J6	08	08	00
J7	08	08	00
J8	08	08	00
J9	08	08	00
J10	08	08	00

## Résumé

L'étude a porté sur l'analyse des caractéristiques macroscopiques et microscopiques des moisissures isolées du sol de deux régions, Bouira et Bejaia. Elle nous a permis d'identifier six genres de champignons entomopathogènes parmi les 13 isolats. Les résultats ont montré qu'*Aspergillus* était le genre le plus fréquent, avec un taux de 30,07%, suivi par *Penicillium sp* à 23,07%. Deux souches potentiellement entomopathogènes, *Beauveria sp* et *Verticillium sp*, ont été identifiées avec un taux global de 15,3%. Les essais de toxicité réalisés sur les stades aquatiques de *Culex pipiens* ont révélé une mortalité significative dès le quatrième jour du traitement avec *Beauveria sp* à une concentration de  $0,8 \times 10^6$  spores/ml, et avec *Verticillium sp* à une concentration de  $0,15 \times 10^7$  spores/ml. De plus, les adultes émergés après traitement ont présenté des anomalies morphologiques telles que des ailes atrophiées. Ces observations soulignent l'importance potentielle de ces champignons dans la lutte biologique contre les moustiques, en particulier *Culex pipiens*,

**Mots clés:** sol, champignons entomopathogènes, lutte biologique, *Culex pipiens*, toxicité, *Beauveria sp* et *Verticillium sp*,

## Abstract:

"The study focused on the analysis of macroscopic and microscopic characteristics of molds isolated from the soil of two regions, Bouira and Bejaia. It allowed us to identify six genera of entomopathogenic fungi among the 13 isolates. The results showed that *Aspergillus* was the most common genus, with a rate of 30.07%, followed by *Penicillium sp* at 23.07%. Two potentially entomopathogenic strains, *Beauveria sp* and *Verticillium sp*, were identified with an overall rate of 15.3%. Toxicity tests carried out on the aquatic stages of *Culex pipiens* revealed significant mortality from the fourth day of treatment with *Beauveria sp* at a concentration of  $0.8 \times 10^6$  spores/ml, and with *Verticillium sp* at a concentration of  $0.15 \times 10^7$  spores/ml. In addition, the adults emerged after treatment exhibited morphological anomalies such as atrophied wings. These observations underline the potential importance of these fungi in biological control against mosquitoes, particularly *Culex pipiens*.

**Keywords:** soil, entomopathogenic fungi, biological control, *Culex pipiens*, toxicity, *Beauveria sp* and *Verticillium sp*"

## ملخص:

"ركزت الدراسة على تحليل الخصائص المجهرية والميكروسكوبية للفطريات المعزولة من تربة منطقتين، بويرة وبجاية. سمحت لنا بتحديد ستة أجناس من الفطريات الحشرية الممرضة من بين 13 عزلة. أظهرت النتائج أن جنس الأسبرجيلوس كان الأكثر تواتراً، بنسبة 30.07٪، يليه *Penicillium sp* بنسبة 23.07٪. تم تحديد سلالتين بإمكانية حشرية مرضية، *Beauveria sp* و *Verticillium sp*، بمعدل إجمالي 15.3٪. أظهرت اختبارات السمية التي أجريت على الأطوار المائية للبعوضة *Culex pipiens* موتاً كبيراً من اليوم الرابع للمعاملة مع *Beauveria sp* بتركيز  $0.8 \times 10^6$  جرثيم/مل، ومع *Verticillium sp* بتركيز  $0.15 \times 10^7$  جرثيم/مل. علاوة على ذلك، أظهرت البالغين التي ظهرت بعد العلاج تشوهات مورفولوجية مثل تقزم الأجنحة. تبرز هذه الملاحظات الأهمية الإمكانية لهذه الفطريات في مكافحة البعوض، وخاصة *Culex pipiens*

**الكلمات الدلالية:** التربة، الفطريات الحشرية الممرضة، مكافحة البيولوجية، *Culex pipiens*، السمية، *Beauveria sp* و *Verticillium sp*"