

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministre de l'enseignement supérieur et de la
recherche scientifique

UNIVERSITE SAAD DAHLEB DE BLIDA



وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

جامعة سعد دحلب - البليدة

Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires
et Biologiques

Département de Biologie

كلية العلوم الزراعية البيطرية
والبيولوجية

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

En vue de l'Obtention du Diplôme de Master II en Biologie

Option : Entomologie Médicale

Thème

**Evaluation de l'efficacité d'un champignon entomopathogène
Metarhizium anisopliae (Metchnikoff, 1880) sur des populations de
Culex pipiens (Linné, 1758) et comparaison avec la cyperméthrine
en conditions contrôlées**

Date de soutenance : 27/06/2013

Présenté par :

-MOHAMEDI-BOUZINA Amine

Devant le jury :

M^{me} HARKET S.

M^{me} SAIGHI H.

M^{me} OUARAB S.

Dr KARA TOUMI F.

Dr HAMMADI D.

Présidente

Examinatrice

Examinatrice

Promotrice

Co-promotrice

Maitre assistante A

Maitre assistante A

Maitre assistante A

Maitre de conférences A

Chef de département de
soutien Technique

Université de Blida

Université de Blida

Université de Blida

Université de Blida

INSP

Année universitaire : 2012/2013

Remerciements

Je remercie le Dieu Tout Puissant qui m'a donné l'occasion de réaliser ce travail.

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à **Dr KARA TOUMI F.**, ma promotrice, pour le sujet proposé, pour ses conseils précieux et pour sa bienveillance.

Je remercie **Dr HAMMADI D.**, ma co-promotrice, de m'avoir accueilli dans son laboratoire, et veillé à fournir tout le matériel nécessaire.

Toutes mes respectueuses reconnaissances à **Mme HERKAT S.**, d'avoir accepté de présider ce jury.

Je tiens également à exprimer ma gratitude à **Mme SAIGHI H.**, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Je remercie vivement **Mme OUARAB S.**, qui m'honoré en acceptant d'examiner ce travail.

Je remercie les membres des laboratoires d'entomologie de l'INSP, de m'avoir encadré lors de mon travail entomologique.

De même les ingénieurs du laboratoire PFE du département de biologie de l'université Saad Dehlab de Blida pour sa serviabilité.

Je saisis l'occasion pour exprimer ma gratitude à tous mes enseignants de la formation Master Entomologie Médicale, qui ont contribué à ma formation.

DEDICACE

A toute personne m'ayant inspiré,

A mes chers parents qui m'ont toujours motivé et soutenu,

A ma fiancée pour tous ses encouragements et son entière disponibilité

A mes deux frères et ma sœur,

A ma belle-famille,

A toute ma famille,

A tous mes enseignants depuis le primaire, qui m'ont fait aimer la science,

A ma promotrice, pour tout ce qu'elle m'a appris,

A mes amis, avec lesquels j'ai passé mes meilleurs moments à l'université,

A toute la promotion d'Entomologie Médicale,

Amine

Résumé :

Ce travail consiste à étudier l'effet du champignon *Metarhizium anisopliae* sur le moustique *Culex pipiens* de la région de Baba Ali, et comparaison avec un insecticide chimique la Cyperméthrine, dans les conditions du laboratoire.

Après traitement des adultes de *Culex pipiens* avec la cyperméthrine les taux de mortalité enregistrés diffèrent selon la dose utilisée. Après 72h de traitement le taux de mortalité est de 87,5% à la dose $D1 = 1,55 \times 10^7$ spores/ml, de 70,84% pour la dose $D2 = 1,28 \times 10^5$ spores/ml, cependant pour la dose $D3 = 1,28 \times 10^4$ spores/ml elle est de 16,67% de mortalité uniquement.

Ces résultats montrent que le *Metarhizium anisopliae* est un bio pesticide prometteur pour la lutte préventive contre le *Culex pipiens*, il pourrait être une alternative aux pesticides chimiques.

Mots clés : *Culex pipiens*, Cyperméthrine, Lutte biologique, *Metarhizium anisopliae*.

Abstract:

This work is consisting to study the effect of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* of the *Culex pipiens* mosquito of region of Baba Ali, and comparison with a chemical insecticide in laboratory conditions.

After treatment of adult *Culex pipiens* with Cyperméthrine, recorded mortality rates differ depending on the dose used. After 72h, mortality rate was 87.5% at the dose $D1 = 1.55 \times 10^7$ spores / ml; 70, 84% at the dose $D2 = 1,28 \times 10^5$ spores/ml and 16, 67% at the dose $D2 = 1,28 \times 10^4$ spores/ml.

These results show that the *Metarhizium anisopliae* is a promising biological pesticide against the *Culex pipiens* and it could be an alternative to chemical pesticides.

Key words: Biological control, *Culex pipiens*, Cyperméthrine, *Metarhizium anisopliae*.

المخلص:

يتناول هذا البحث دراسة مدى تأثير الفطر *Metarhizium Anisopliae* على بعوض *Culex pipiens* ، من منطقة "بابا علي" بالمقرنة مع المبيد الكميائي Cypermhtrine في شروط المختبر . بعد 72 ساعة من المعاملة قدرت نسبة الوفاة ب 87,5% بالنسبة إلى الجرعة $1,55 \times 10^7$ فطر/مل, ب 70,84% بالنسبة إلى الجرعة $1,28 \times 10^5$ فطر/مل أما بالنسبة إلى الجرعة $1,28 \times 10^4$ فطر/مل فقدرت نسبة الوفيات ب 16,67% فقط.

وتبين هذه النتائج أن الفطر *Metarhizium Anisopliae* هو المبيدات الحيوية واعدة لمكافحة الوقائية ضد بعوض *Culex pipiens* ، يمكن أن يكون بديلا للمبيدات الكيميائية

كلمات المفتاح : المحاربة البيولوجية . *Metarhizium anisopliae*, Cyperméthrine , *Culex pipiens*.

Sommaire :

Liste des abréviations.

Liste des figures.

Liste des photos.

Liste des tableaux .

Introduction 1

Premier Chapitre : Synthèse bibliographique.

I. Données bibliographiques *Culex pipiens*

I.1. Morphologie.....	3
a. La tête.....	3
b. Le thorax.....	4
c. L'abdomen.....	4
I.2. Position systématique	5
I.3. Biologie.....	5
I.3.1. Cycle de vie de <i>Culex pipiens</i>	5
I.3.1.1 Phase aérienne.	6
I.3.1.2 Phase aquatique	6
I.3.2. Habitat et nutrition	9
I.4. Aire de répartition.....	10
I.4.1 – Dans le monde.....	10
I.4.2 – En Algérie.....	10
I.5. Les principales nuisances causées par <i>Culex pipiens</i>	11
I.5.1. La pique de la femelle.....	11
I.5.2. La transmission de maladies.....	11

II. Moyens de contrôle

II.1. La lutte chimique	13
II.2. La lutte biologique	14
II.3. La lutte mécanique	15
II.4. La lutte écologique.....	15

III. Données bibliographiques sur le champignon l' entomopathogène *Metarhizium anisopliae*

III.1. Morphologie.....	16
III.2. Position systématique	17
III.3. Voies d'infection.....	17
III.4. Le mécanisme d'infection.....	17
III.4.1. Les processus tégumentaires	18
III.4.1.1. L'adhésion au tégument	18
III.4.1.2. La germination des propagules.....	18
III.4.1.3. La pénétration	18
III.4.2. Les processus intrahémocoeliens	19
III.4.3. La phase non parasitaire	19
III.5. Symptomatologie.....	20
III.6. Formulation.....	20
III.7. L'application en lutte biologique.....	21

IV. Données bibliographiques sur la cyperméthrine :

IV.1. Les pyréthrinoïdes.....	22
IV.2. Mode d'action des pyréthrinoïdes.....	22

Deuxième Chapitre : Matériel et méthodes de travail

I. Matériel utilisé :

I.1. Matériel biologique	24
I.1.1. Matériel fongique	24
I.1.2. Matériel entomologique.....	24
I.2. Matériel chimique.....	24
I.3. Matériel de travail.....	24

II. Méthodes utilisées :

II.1. Culture et production du champignon	25
II.1.1. Choix du milieu de culture.....	25
II.1.2. Composition du milieu de culture PDA.....	25
II.1.3. Préparation du milieu.....	25
II.1.4. mise en culture.....	26
II.1.5. Purification du champignon.....	27
II.1.6. Multiplication du champignon.....	27
II.1.7. Isolation et conservation du champignon.....	28
II.1.8. Evaluation des concentrations.....	28
II.1.9. Préparation des dilutions.....	29
II.2. Préparation de la cyperméthrine.....	30
II.3. Récolte et élevage des moustiques	31
II.3.1. Technique de récolte sur terrain.....	32
II.3.2. Technique d'élevage	33
II.3.3. Nutrition	33
II.3.4. Identification des moustiques	33
II.4. Traitement de <i>Culex pipiens</i> par <i>M.anisopliae</i>	34
II.5. Traitement des données.....	36
II.5.1. Calcul du pourcentage de mortalité	36
II.5.2. Analyse de probit	36
II.5.3. Mesure de la croissance pondérale.....	37

Troisième Chapitre : Résultats et discussion

I. L'identification de moustique

I.1. Les larves.....	38
I.2. Les adultes.....	39

II. Effet du *M.anisopliae* sur *C.pipiens*

II.1. Evaluation du taux mortalité	44
II.2. Estimation de la DL50	46
II.3. Estimation de TL50	50
II.4. La croissance pondérale.....	53

III. Evaluation de l'effet de la cyperméthrine sur *Culex pipiens*.....54

IV. Discussion.....56

Conclusion et perspectives

57

Références bibliographiques

Annexe

Liste des abréviations

µm : Micromètre.

mm : Millimètre.

cm: Centimètre.

mm³ : Millimètre cube.

ml: Millilitre.

g : Gramme.

% : pourcent.

mn : Minute.

C : Concentration.

V : Volume.

D : Dose.

DL : Dose létale.

TL : Temps léthal.

R : Répétition.

M : Moyenne.

Et : Ecart type.

MC% : Pourcentage de mortalité corrigée.

T : Témoin

C° : Degré celsius

M .anisopliae :*Metarhizium anisopliae var acridum*.

C.pipiens :*Culex pipiens*.

Liste des figures :

Figure 1: Principale parties d'un moustique adulte.....	4
Figure 2: Larve stade 4.....	7
Figure 3: Cycle <i>Culex pipiens</i>	8
Figure 4: Distribution de <i>Culex pipiens</i> dans le monde.....	10
Figure 5: Répartition géographique de <i>Culex pipiens</i> en Algérie.....	11
Figure 6: Infection et croissance du champignon.....	18
Figure 7: Cycle de développement d'un entomopathogène	19
Figure 8: Schéma du dispositif expérimental.....	35
Figure 9: Taux de mortalité des moustiques traités avec <i>M. anisopliae</i>	46
Figure 10: Effet du traitement sur <i>Culex pipiens</i> à 24h.....	47
Figure 11 : Effet du traitement sur <i>Culex pipiens</i> à 48h.....	48
Figure 12 : Effet du traitement sur <i>Culex pipiens</i> à 72h.....	49
Figure n°13 : Efficacité de la D1 sur <i>C. pipiens</i> dans le temps.....	50
Figure n°14: Efficacité de la D2 sur <i>C. pipiens</i> dans le temps	51
Figure n°15 : Efficacité de la D3 sur <i>C. pipiens</i> dans le temps	52
Figure n°16 : La croissance pondérale en fonction du temps.....	54
Figure n° 17 : Comparaison pourcentage de mortalité entre la cyperméthrine et <i>M. anisopliae</i>	55

Liste des photos :

Photo 1 : Amas d'œufs de <i>Culex pipiens</i>	6
Photo 2: La nymphe culex.....	8
Photo 3: spores <i>M. anisopliae</i>	16
Photo 4: Milieu de culture PDA.....	25
Photo 5: Ecoulement du milieu PDA.....	26
Photo 6: Refroidissement des boites.....	26
Photo 7: Apparition du <i>M. anisopliae</i>	26
Photo 8: Ensemencement du <i>M. anisopliae</i>	27
Photo 9: Boite de Petri envahies par <i>Metarhizium anisopliae</i>	27
Photo 10 : Filtration.....	28
Photo 11 : Filtrat dans tubes à essai.....	28
Photo 12 : Cellule de Malassez.....	29
Photo 13 : Les 3 doses du <i>M. anisopliae</i>	30
Photo 14: Cyperméthrine concentrée.....	30
Photo 15 : Cyperméthrien diluée.....	31
Photo 16: Vue de l'endroit de la récolte.....	31
Photo 17 : Récipient contenant les larves.....	32
Photo 18 : Bac d'eau contenant les larves.....	32
Photo 19 : Cage pour moustique.....	33
Photo 20: Identification du moustique.....	34
Photo 21 : Pulvérisateurs des différentes doses.....	34
Photo 22 : Réalisation du traitement	35
Photo 23 : <i>Culex pipiens</i> identifié.....	44
Photo 24 : <i>C. pipiens</i> morts après traitement	44
Photo 25 : <i>C. pipiens</i> déposé dans boite de Petri.....	53
Photo 26: Croissance de <i>M. anisopliae</i> sur PDA.....	53

Liste des tableaux :

Tableau n° 1 : Les hôtes de <i>M. anisopliae</i>	16
Tableau n°2 : Pourcentage de mortalité de <i>Culex pipiens</i> traités au <i>M. anisoploae</i> aux différentes doses	45
Tableau n°3 : Les logarithmes décimaux des doses et les probits des taux de mortalité après 24h	47
Tableau n°4 : Les logarithmes décimaux des doses et les probits des taux de mortalité après 48h	48
Tableau n°5 : Les logarithmes décimaux des doses et les probits des taux de mortalité après 72h	49
Tableau n°6: Les logarithmes décimaux des tempss et les probits des taux de mortalité à la D1	50
Tableau n° 7: Les logarithmes décimaux des tempss et les probits des taux de mortalité à la D2.....	51
Tableau n° 8 : Les logarithmes décimaux des tempss et les probits des taux de mortalité à la D3.....	52
Tableau n° 9 : La croissance pondérale en gramme de <i>M. anisopliae</i> pour la dose D1.....	53
Tableau n°10 : Pourcentage de mortalité de <i>Culex pipiens</i> traités avec la cyperméthrine.....	55
Tableau n°11 : variation des taux de mortalité de <i>Cluex pipiens</i> traités avec la cyperméthrine et ceux traités avec le <i>M. anisopliae</i>	55

Introduction



Introduction :

Les maladies à transmission vectorielle sont des maladies pour lesquelles l'agent pathogène (virus, bactérie ou parasite) est transmis d'un individu infecté (un hôte vertébré : homme ou animal) à un autre par l'intermédiaire d'un arthropode (insecte, tique) hématophage. Ces maladies, notamment les maladies humaines comme le paludisme ou la dengue, contribuent de façon majeure à l'impact global des maladies dans le monde (Anonyme, 2004).

Ces maladies ont ainsi des effets non seulement sur la santé mais également sur le développement socio-économique des pays touchés.

Les moustiques jouent un rôle important dans la transmission d'un certain nombre de maladies tropicales comme le paludisme, les filarioses et plusieurs viroses: dengue, encéphalite japonaise et fièvre jaune notamment. Dans les pays tempérés, ils constituent davantage une nuisance que des vecteurs de maladies. Il existe environ 3000 espèces de moustiques, dont une centaine sont vectrices de maladies. Les mesures de lutte ne sont en général dirigées que contre une ou quelques-unes des espèces vectrices les plus importantes (Anonyme, 1999).

La famille des *culicidae* est la plus importante, elle comprend trois espèces principales, pathogènes pour l'homme : les anophèles, les aèdes et les culex (Feuillet & *al.*, 2006).

L'utilisation des moyens chimiques (pesticides) a toujours permis le contrôle de ce fléau, que ce soit en lutte préventive ou en lutte curative. Cependant les conséquences sur l'environnement et la faune auxiliaire induites par l'utilisation des pesticides chimiques ne sont plus à démontrer (Greathead et *al.*, 1994). De même certains produits chimiques utilisés dans cette lutte sont devenus moins efficaces du fait de la résistance développée par certains moustiques (Anonyme, 1999).

Ainsi pour réduire les répercussions sur l'environnement, de nouvelles orientations ont été considérées et intéressent l'utilisation des entomopathogènes comme moyen de lutte biologique. L'utilisation des biopesticides à base d'entomopathogènes a révélé des résultats



encourageants, comme cela a été démontré pour le *Metarhizium anisopliae* lors des essais aux laboratoires (Greathead et *al.*, 1994).

Dans ce contexte, notre contribution par cette étude est orientée vers un Objectif visant à évaluer l'impact du *Metarhizium anisopliae* vis-a-vis des moustiques adultes de *Culex pipiens*.

Le présent travail comprend trois chapitres. Le premier est consacré à un aperçu général sur *Culex pipiens* (Linné, 1758) d'une part et sur l'entomopathogène *Metarhizium anisopliae* d'autre part. Le second chapitre porte sur le matériel et les méthodes que nous avons utilisés. Enfin le troisième chapitre est consacré aux résultats et discussions, clôture par une conclusion générale.

Premier Chapitre

Synthèse bibliographique



I. Données bibliographiques sur *Culex pipiens*

I.1. Morphologie :

L'adulte mesure de 3 à 6 mm de long, leur corps est élancé. Ils possèdent de longues antennes à plus de six articles. Leurs pattes sont fines et longues. Seules les femelles sont hémaphages. La famille des Culicidés dont fait partie *Culex* se caractérise par des ailes recouvertes d'écailles. La trompe des adultes est d'une taille égale à celle de la tête et du thorax combiné (Kettle, 1995).

Le *Culex* possède les caractéristiques suivantes :

- ✓ palpes allongés chez le mâle (plus longs que la trompe) et légèrement recourbés vers le haut.
- ✓ palpes plus courts que la trompe chez la femelle (environ un quart de sa taille),
- ✓ au repos, l'abdomen des adultes est quasiment parallèle au support
- ✓ larves avec antennes allongées
- ✓ siphon respiratoire des larves long. (Bussieras & Chermette, 1991).

a. La tête : Sa tête est sombre, couverte d'écailles fourchues dressées et sombres entre lesquelles sont situées des écailles blanches et des poils bruns. Sur les joues se trouvent des écailles plus courtes formant une tache blanche (Andreo, 2003).

Les antennes sont de calibre uniforme, très plumeuses à 15 articles chez le mâle, peu plumeuses et à 14 articles chez la femelle, dont les soies sont plus courtes. Les mâles ont à la base de l'antenne un deuxième article dilaté comprenant des organes sensoriels disposés radialement : organe de Johnston, siège de l'audition (Georgi & *al.*, 1999).

Les femelles possèdent des pièces buccales de type piqueur-suceur qui font saillie devant la tête, et sont composées de 7 articles : acérée en biseau, la trompe comprend, entre autres, les six pièces vulnérantes (labium-epipharynx, hypopharynx, 2 mandibules, 2 mâchoires). Le tout est protégé par une enveloppe souple : le labium. Les mandibules et les maxilles, en forme de piquet, sont bien adaptées à la fonction de piqueur. Le labre pointu et l'hypopharynx pénètrent également dans la plaie. Le labre est creux en gouttière, avec l'hypopharynx, forme le canal alimentaire par lequel le sang est aspiré. Chez le mâle, les maxilles et mandibules sont réduits. A la base de chaque mâchoire se trouve un palpe maxillaire à 4-5 articles, plus long que la trompe chez les mâles (Andreo, 2003).



b. Le thorax : Composé de trois segments soudés (le prothorax, le mésothorax et le métathorax), il porte les ailes et les pattes. Le thorax est brun recouvert d'écailles fauves foncées avec quelques écailles claires sur les côtés. Les pattes grêles sont brunes et non annelées, le fémur est noir au-dessus et blanc au-dessous, on distingue une tache blanche au niveau du genou. Elles sont formées de 5 pièces en tout, et le tarse, à 5 articles, porte 2 griffes. Les ailes sont non tachées. Comme le corps et les pattes, les ailes sont recouvertes d'écailles fixées sur les nervures et sur le bord postérieur. Au repos, elles sont repliées sur l'abdomen. En arrière des ailes se trouvent les balanciers, qui sont de petits organes sensoriels oscillatoires servant au contrôle du vol (Bussieras & Chermette, 1991).

c. L'abdomen : Grêle et allongé, il est composé de 9 segments terminés par 2 cerques, appendices courts protégeant l'anus et l'orifice génital. Il est recouvert d'écailles claires, brunes et blanches avec de longs poils sur la face dorsale. Une ligne longitudinale sombre ainsi que quelques taches sombres sur les côtés ornent la face ventrale. Chez les mâles, l'abdomen se termine en une armature génitale servant à maintenir la femelle durant l'accouplement. Chez les femelles, on trouve un oviscapte qui intervient lors de la ponte (Bussieras & Chermette, 1991).

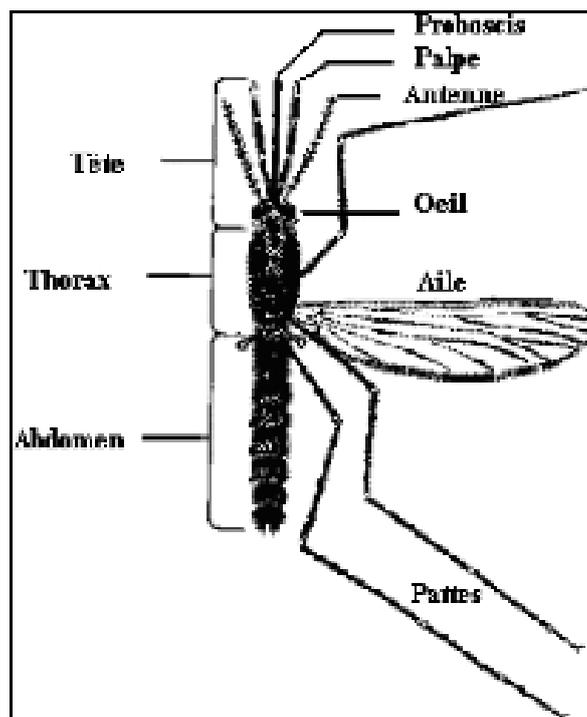


Figure 1 : Morphologie parties d'un moustique adulte (Anonyme, 2003).



I.2. Position systématique :

Les moustiques sont des insectes ptérygotes holométaboles appartenant à l'ordre des Diptères et au sous-ordre des Nématocères. Le *Culex* appartient à la sous-famille des Culicines (Kettle, 1995).

La place des *Culex* dans le règne animal d'après Lane et Crosskey (1993) est la suivante :

Règne	: Animalia
Embranchement	: Arthropoda
Sous-embranchement	: Hexapoda
Classe	: Insecta
Sous-classe	: Pterygota
Ordre	: Diptera
Sous-ordre	: Nematocera
Famille	: Culicidae
Sous-famille	: Culicinae
Genre	: <i>Culex</i>
Espèce	: <i>Culex pipiens</i> (Linné, 1758).

I.3. Biologie :

I.3.1- Cycle de vie du *Culex pipiens* :

Les moustiques sont des insectes holométaboles dont le cycle de vie comporte 4 étapes : la phase embryonnaire, la phase larvaire, la phase nymphale et la phase adulte. Les trois premières phases nécessitent la présence d'eau pour se développer alors que la dernière a besoin d'air (Fig. 2).

Le cycle de développement des moustiques dure environ douze à vingt jours (Adisso & Alia, 2005).



I.3.1.1. Phase aérienne : Les adultes mâles et femelles se nourrissent de jus sucrés, de nectars et d'autres sécrétions végétales. Pourtant, une fois fécondées, les femelles partent en quête d'un repas sanguin duquel, elles retirent les protéines et leurs acides aminés, nécessaires pour la maturation des œufs. Ce repas sanguin prélevé sur un vertébré tel qu'un mammifère, un amphibien et un oiseau, est ensuite digéré dans un endroit abrité (Guillaumot, 2006).

Dès que la femelle est gravide, elle se met en quête d'un gîte de ponte adéquat pour le développement de ses larves. La ponte a lieu généralement au crépuscule. Le gîte larvaire est une eau stagnante ou à faible courant, douce ou salée (Ayitchedji, 1990).

I.3.1.2. Phase aquatique : Quelques jours après la fécondation, suivant les espèces, les œufs de diverses formes sont pondus par la femelle dans différents milieux. La ponte est souvent de l'ordre de 100 à 400 œufs et le stade ovulaire dure deux à trois jours dans les conditions favorables à savoir : la température du milieu, le pH de l'eau, la nature et l'abondance de la végétation aquatique ainsi que la faune associée. La taille d'un œuf est d'environ 0,5 mm (Rodhain & Perez, 1985). Ils sont perpendiculairement à la surface de l'eau en amas groupés (Photo 1). Blanchâtres au moment de la ponte, ils s'assombrissent dans les heures qui suivent. Une corolla est présente au niveau du pôle inférieur de l'œuf. Leur arrangement leur permet d'être insubmersibles (Ripert, 2007).



Photo 1 : Amas d'œufs de *Culex pipiens* (Starosta, 2003).

A maturité, les œufs s'éclosent et donnent 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 des proies vivantes (pour les espèces carnassières). Malgré leur évolution aquatique, les larves de moustiques ont une respiration aérienne qui se fait à l'aide de stigmates respiratoires ou d'un siphon (Fig.2). La larve du quatrième stade est bien visible à l'œil nu par sa taille. Elle a une tête, qui porte latéralement les taches oculaires et les deux antennes. Viennent ensuite le



thorax et l'abdomen (Rodhain & Perez, 1985). Elle est disposée obliquement par rapport à la surface de l'eau et se déplace par mouvements saccadés (Andreo, 2003). Elle se développe indifféremment dans les eaux claires ou polluées. D'aspect vermiforme, son corps se divise en trois segments : tête, thorax trapu et dépourvu d'appendices locomoteurs, abdomen souple. Elle est dépourvue d'appareil locomoteur, ce qui ne signifie pas qu'elle soit immobile. Ses pièces buccales sont de types broyeurs, adaptées à un régime saprophyte (Kettle, 1995).

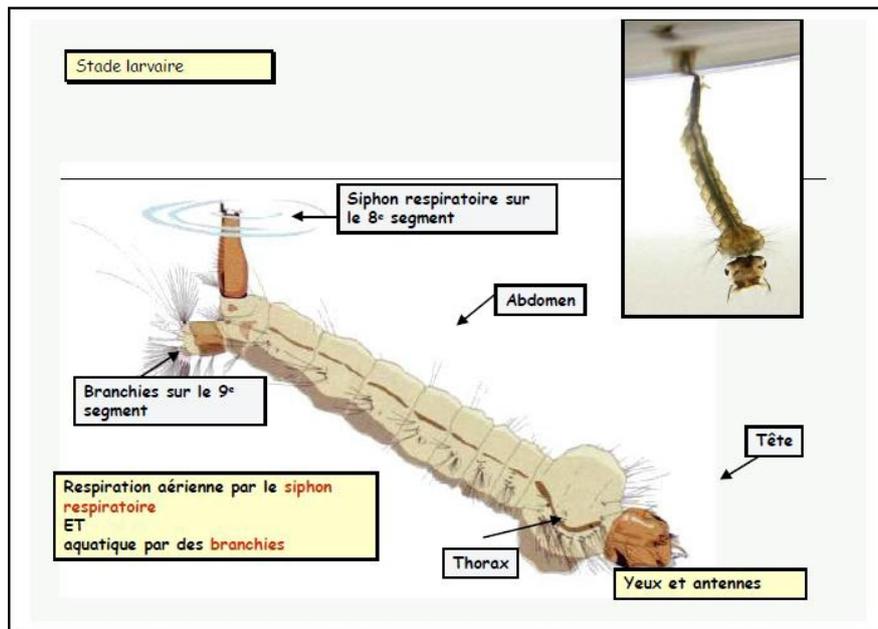


Figure 2: Larve stade 4 (Cachareul, 1997).

Au bout de six à dix jours et plus, selon la température de l'eau et la disponibilité en nourriture, la quatrième mue donne naissance à une nymphe: c'est la nymphose. Généralement sous forme de virgule ou d'un point d'interrogation (Photo 2), la nymphe, mobile, ne se nourrit pas durant tout le stade nymphal (phase de métamorphose) qui dure un à cinq jours. Elle remonte de temps à autre à la surface de l'eau pour respirer et plonge vers le fond, dès qu'elle est dérangée (Guillaumot, 2006). Ses palettes natatoires, situées sur l'abdomen, lui permettent de se déplacer (Cachereul, 1997).

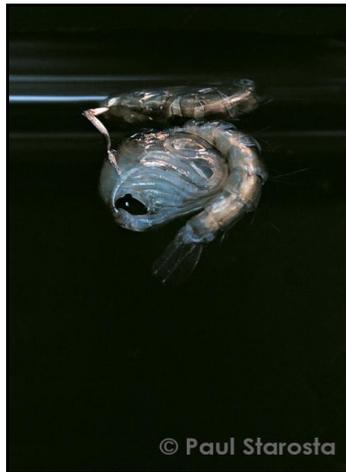


Photo 2: Nymphe *Culex* (Starosta, 2003).

A la fin de ce stade, la nymphe s'étire, son tégument se fend dorsalement et, très lentement, le moustique adulte (imago) s'extirpe de l'exuvie : c'est l'émergence, qui dure environ quinze minutes au cours desquelles l'insecte se trouve exposé sans défense face à de nombreux prédateurs de surface (Rodhain et Perez, 1985).

Toutes ces étapes sont résumées dans la figure n°3 ci-dessous :

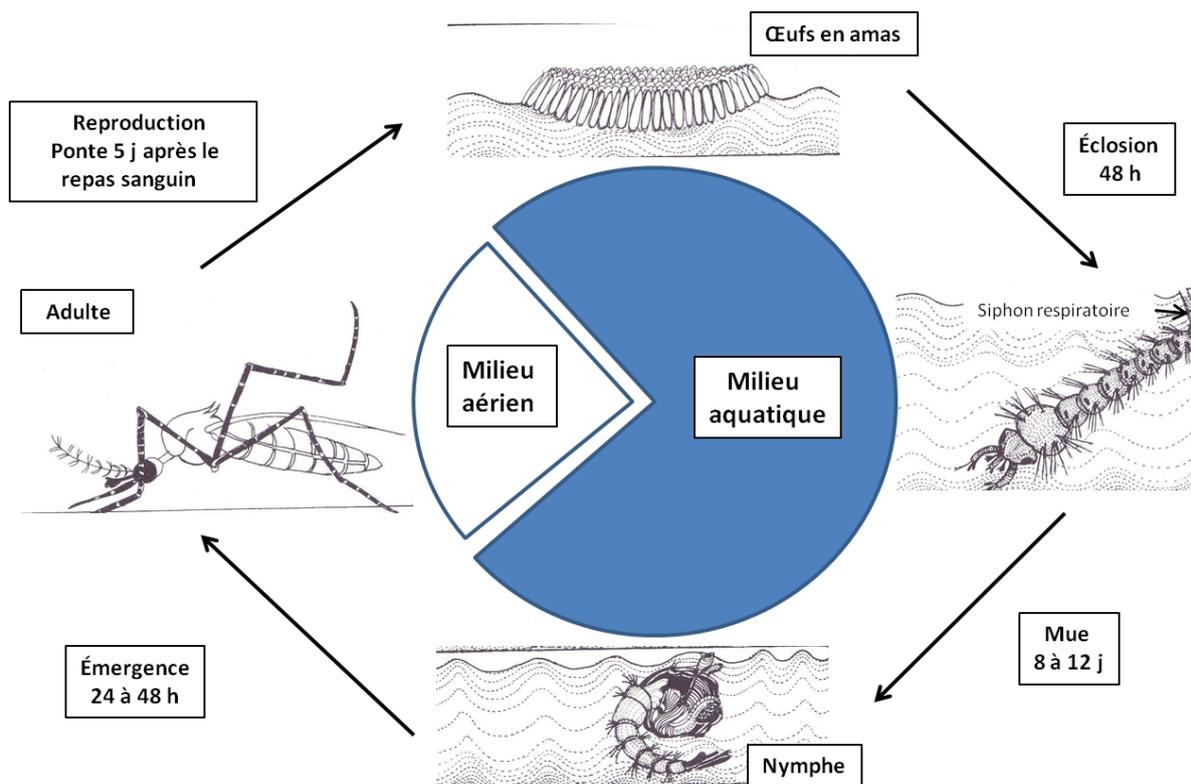


Figure 3: Cycle de *Culex pipiens* (Urquhart & al, 1996).



I.3.2. Habitat et nutrition :

Les *Culex* sont surtout abondants dans les pays chauds, où on les retrouve toute l'année. Dans les pays tempérés, ils sont abondant surtout en été et automne. Très hygrophiles, ils ont une activité principalement nocturne, et leur développement est lié à la présence d'eau (Bussieras & Chermette, 1991).

Durant les premiers jours de leur existence, les adultes mâles et femelles sont au repos dans des lieux abrités. Leur premier repas, pris au crépuscule, est composé de nectar. Il permet, entre autres, la maturation des organes génitaux ainsi que la constitution de réserves énergétiques pour le vol. Après la reproduction, les femelles prennent un repas sanguin nécessaire à l'élaboration des œufs. Cependant, les femelles de *Culex pipiens* peuvent produire une première ponte sans repas : elles sont dites « autogènes ». Elles utilisent les réserves accumulées par la larve (Kettle, 1995).

La femelle de *Culex pipiens* est zoophile, c'est-à-dire qu'elle prend ses repas sanguins préférentiellement sur les animaux. Elle repère son hôte par les mouvements, les formes et les couleurs de celui-ci (sombre en particulier), puis par l'odeur de substances chimiques, comme le gaz carbonique, qu'il dégage en respirant. Ce repérage se fait grâce à ses palpes maxillaires. Certaines odeurs, telle que la transpiration, poussent la femelle à piquer. En outre, les moustiques sont sensibles aux radiations infrarouges, qui les guident vers les animaux à sang chaud (Andreo, 2003).

La pique se fait par introduction des six stylets ; le labium, non perforant, se replie à la surface de la peau. Les stylets pénètrent directement dans un capillaire (solenophagie), dans lequel la salive est injectée à plusieurs reprises au cours du repas. Cette salive contient une substance inhibant l'hémostase ainsi que l'agrégation plaquettaire. La salive est également composée de substances immunogènes responsables des réactions cutanées caractéristiques secondaires à la pique. Elle constitue également, le cas échéant, le support à la transmission vectorielle (protozoaires, virus). En 20 minutes maximum, la femelle peut ingérer jusqu'à quatre fois son poids en sang, soit 10,2 mm³. Une fois repue, elle se sert du labium comme d'un levier pour retirer ses stylets de la plaie (Cachereul, 1997).



I.4. Aire de répartition :

I.4.1. Dans le monde :

Culex pipiens est le moustique le plus fréquent dans le monde (Fig. 4). C'est un moustique extrêmement commun dans l'ensemble des zones tempérées d'Europe, d'Afrique, d'Asie, d'Amérique du Nord et du Sud (Senevet & al., 1999).

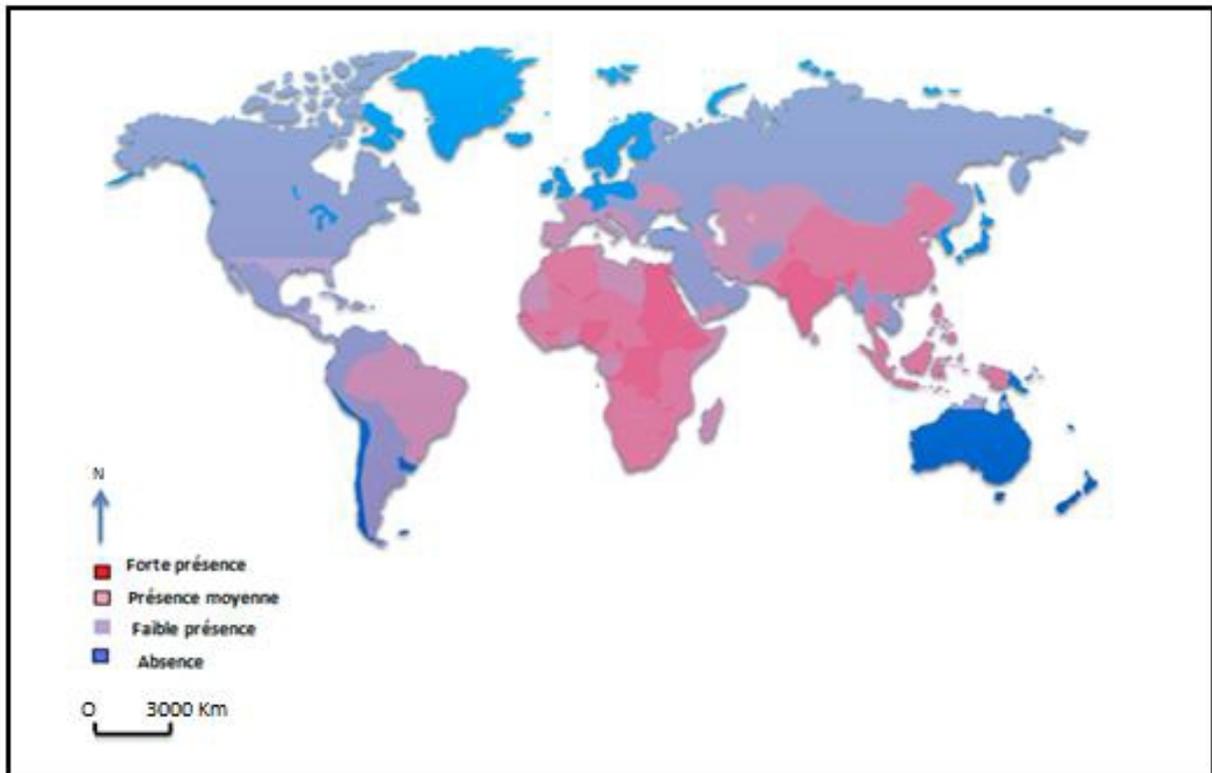


Figure 4: Distribution du *Culex pipiens* dans le monde (Senevet & al., 1999).

I.2.2. En Algérie :

On recense environ 50 espèces de moustiques appartenant principalement aux genres *Aedes*, *Anopheles*, *Culex*, *Coquillettidia* et *Culiseta* (Senevet & al., 1999).

Culex pipiens est l'espèce de moustique qui présente le plus d'intérêt en raison de sa large répartition géographique (Fig. 5), de son abondance et de sa nuisance réelle, surtout dans les zones urbaines (Bendalif & al., 2001).

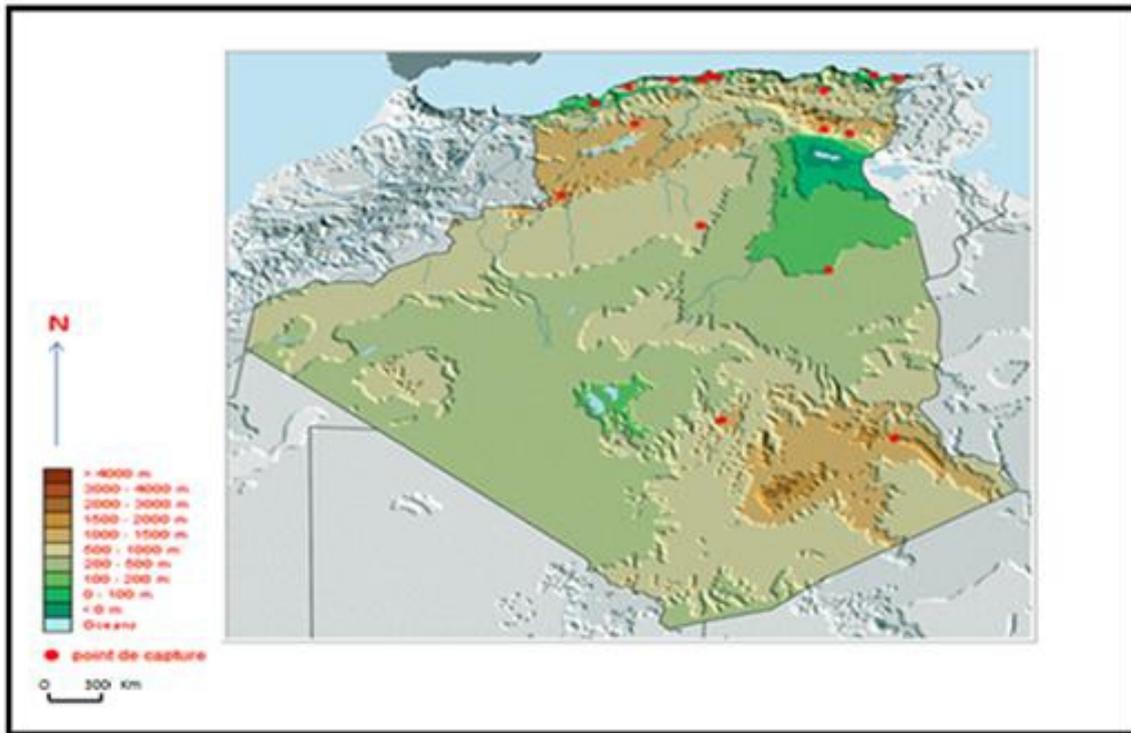


Figure 5: Répartition géographique du *Culex pipiens* en Algérie (Senevet & al., 1999).

I.5. Les principales nuisances causées par *Culex pipiens* :

On distingue deux types de nuisances causées par *Culex pipiens* :

I.5.1. La piqure de la femelle : La piqure va entraîner, chez l'homme comme chez l'animal, une lésion ronde érythémateuse de quelques mm à 2 cm de diamètre. Il est à noter que la piqure ne provoque aucune douleur immédiate grâce à un anesthésique local contenu dans la salive (Andreo, 2003). Les lésions sont très souvent suivies d'une réaction allergique due aux allergènes présents dans la salive injectée durant le repas sanguin. Cela entraîne généralement un fort prurit (Toral y Caro, 2005).

I.5.2. La transmission de maladies : Le moustique se contamine au cours du repas sanguin sur un hôte infecté. L'agent pathogène va alors subir un cycle de maturation et sera transmis au cours du repas sanguin suivant (Andreo, 2003).



On distingue 2 types d'agents pathogènes transmis par les *Culex* :

✓ Les virus :

De la famille des *Bunyaviridae* genre *Phlebovirus*, comme le virus de la Fiebre de la Vallée du Rift, zoonose dont l'espèce cible principale est le bétail (Petit & al., 2009).

De la famille des *Flaviviridae* genre *Flavivirus* :

- Le West Nile atteint les oiseaux mais peut aussi toucher l'homme (Hamer, 2008).
- L'encephalite de Saint Louis atteint également l'oiseau et l'homme.
- L'encéphalite japonaise humaine a pour réservoirs le porc et les oiseaux sauvages.
- Le virus de la dengue atteint exclusivement l'homme.
- La fièvre jaune peut se transmettre aux singes et à l'homme (Andreo, 2003).

✓ Des parasites :

Dirofilaria immitis, responsable de la dirofilariose cardio-pulmonaire du chien. Ce parasite vit essentiellement dans le cœur droit et l'artère pulmonaire. Il entraîne des troubles cardiaques décomposés en 2 phases. Lors de la première, dite phase de compensation, le chien souffre de toux chronique, de dyspnée, de tachycardie, d'anémie et éventuellement d'hémoptysie. Un souffle cardiaque est audible. La fonction cardiocirculatoire se dégrade petit à petit, et le chien entre alors dans la deuxième phase, celle de décompensation : il souffre d'insuffisance cardiaque droite avec hépatomégalie, ascite, œdèmes sous-cutanés et insuffisance rénale. Le pronostic varie selon l'avancée des signes cliniques et la précocité du traitement. Plus rarement, l'animal peut développer un syndrome veine cave, caractérisé par un choc cardiogénique avec tachycardie, arythmie, tachypnée, dyspnée. La survie n'est que de quelques heures (Fremont, 1996).

D'autres espèces peuvent néanmoins être atteintes : le chat, les canidés sauvages et même l'homme (Toral y Caro, 2005).

Dirofilaria repens, agent de la filariose sous-cutanée chez le chien, mais aussi chez le chat et l'homme. L'adulte se développe dans le tissu conjonctif sous-cutané. Cliniquement, des nodules de quelques millimètres à quelques centimètres de diamètre apparaissent. Ils sont indolores, prurigineux et localisés préférentiellement en région postérieure du corps (Toral y Caro, 2005).

Wuchereria bancrofti, responsable de la filariose lymphatique de l'homme (Toral y Caro, 2005).



Le nombre d'agents transmis, le nombre d'espèces atteintes dont l'homme justifie les campagnes de lutte contre les moustiques.

II. Moyens de contrôle :

Les premiers moyens de lutte furent l'élimination de certaines zones humides permanentes ou temporaires (étangs, marais, marécages, étangs d'eau printanière). C'est le développement de l'élimination de ces zones d'eau, et donc de l'habitat naturel du moustique, qui a permis de diminuer les populations de moustiques et d'éradiquer certaines maladies (Pautou & *al.*, 1995). Cette idée, séduisante au départ, a entraîné des problèmes au niveau de la gestion des zones humides, notamment une perte de « habitats remarquables ». Une prise de conscience de la valeur patrimoniale de tels habitats a eu comme conséquence le développement de stratégies nouvelles de lutte contre les moustiques. C'est ainsi que les premières luttes insecticides ont commencé avec la lutte chimique (Boyer, 2006).

II.1. La lutte chimique :

Les insecticides chimiques utilisés à l'encontre à la fois des adultes et des larves de moustiques ont connu une forte utilisation dans la deuxième moitié du siècle dernier.

A partir du moment où un traitement chimique contre les nuisibles est entamé, il apparaît difficile de revenir rapidement en arrière. Explicitement, l'insecte avec son turn-over important de générations (1 voire 3 ou 4 par an pour le moustique) s'adapte très vite à ses nouvelles conditions environnementales, comme la présence de molécules insecticides. Aussi, en matière de lutte contre les insectes ravageurs et vulnérants, il apparaît impossible de baisser la garde (Boyer, 2006).

Cet emploi systématique d'insecticides pour lutter contre les larves de moustiques a conduit et conduit encore à l'apparition de phénomènes de résistance réduisant considérablement l'efficacité des traitements (Brogdon & McAllister, 1998). Entre 1948 et 1990, le nombre de cas de résistance chez les insectes est en constante progression : 14 espèces en 1948, 224 en 1969 et plus de 500 en 1990 (Mouches & *al.* 1990). Chez différentes espèces de moustiques, dont *Culex pipiens*, ces résistances ont déjà été démontrées pour des insecticides conventionnels (Raymond & *al.*, 1998). La résistance est d'ailleurs étudiée à plusieurs niveaux biologiques, utilisant des techniques moléculaires, génétiques, cellulaires, métaboliques et écologiques entre autres (Liu & Scott 1997).

Le tableau de l'annexe 1 montre les différents insecticides chimiques et leurs dangers.



II.2. La lutte biologique :

Une méthode alternative à la lutte chimique est l'utilisation d'organismes vivants, autrement dit la lutte biologique, contre les moustiques, soit par prédation, soit par infection. La définition officielle de l'OILB-SROP stipule que la lutte biologique est l'utilisation d'organismes vivants pour prévenir ou réduire les dégâts causés par des ravageurs. Celle-ci s'illustre de différentes manières. La lutte par entomophage, qu'il soit parasitoïde ou ravageur, s'effectue par l'introduction d'un animal ravageur de l'organisme cible. La lutte microbiologique est l'utilisation de microorganismes (champignons, bactéries) qui infectent la cible souvent par ingestion. Si l'organisme antagoniste doit être lâché ou inoculé (en grand nombre) à chaque fois que l'effectif du ravageur croît dangereusement, c'est la lutte biologique inondative. Enfin, aux frontières de la lutte biologique ; la lutte autocide (encore dénommée lutte par mâles stériles) a pour principe l'introduction en grand nombre, dans une population naturelle, d'individus mâles de la même espèce rendus stériles mais au comportement sexuel intact (Boyer, 2006).

Deux grands types de luttés biologiques ont été utilisés à l'encontre des moustiques. La première méthode biologique est l'utilisation d'un poisson prédateur, la gambusie (*Gambusia holbrooki*), qui a souvent été utilisée mais avec plus ou moins de succès (Pates & Curtis, 2005). Ce poisson est un prédateur généraliste à utiliser avec grande précaution pour éviter les dommages sur les autres organismes aquatiques. D'autres formes de contrôles biologiques ont été tentées avec d'autres espèces de poissons, de champignons, de bactéries, de nématodes, des parasites protozoaires, des insectes prédateurs... mais peu d'entre elles ont été concluantes et donc adoptées (Fargues & Bourguet, 2005).

La deuxième méthode est l'utilisation d'organismes microbiens tels que le *Bacillus sphaericus* (Bs) et le *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti). Ces bacilles sont d'ailleurs considérés comme des agents de contrôle biologique efficace (Becker, 1998). Ils agissent sur les larves des moustiques, des simuliides et des diptères en général et sont aujourd'hui utilisés dans un large panel de gîtes larvaires, du fait de leur efficacité et leur spécificité qui respectent largement la faune compagne. D'ailleurs, le Bt est le micro-organisme le plus utilisé comme bio-insecticide et représentent plus de 90% du marché des bioinsecticides, mais seulement 2% à peine du marché global des insecticides (Fargues & Bourguet, 2005).



II.3. La lutte mécanique :

C'est un moyen de lutte individuelle qui est basé sur l'utilisation des moustiquaires de lit, des grillages aux portes et aux fenêtres, l'emploi des tortillons (fumigènes), les dispositifs d'électrocution et les vibreurs électroniques (Choi & *al.*, 1995).

II.4. La lutte écologique :

C'est l'ensemble des mesures environnementales qui font obstacle à la reproduction des moustiques ou qui conduisent à l'élimination des gîtes larvaires et la modification de l'environnement de façon à le rendre défavorable à la survie de l'arthropode.

Selon Azondekon (2006), l'ensemble de ces moyens se résume comme suit:

- Le drainage : assèchement des zones marécageuses à des fins agricoles, comme les plantations d'arbres ou des plantes destinées à produire de l'ombre et gêner la multiplication des larves de moustiques.
- La suppression des récipients abandonnés.
- L'obturation des creux d'arbre par des ciments.
- Le ramassage et le traitement des ordures ménagères.
- La régulation des berges, des fleuves et des étangs évitant la formation de mares résiduelles.
- les pièges qui attirent les moustiques par l'odeur, le *Geranium citrosa* ornemental et la vitamine B1 par voie orale n'ont pas fait la preuve de leur efficacité (Anonyme, 2005).

III. Données bibliographiques sur le champignon entomopathogène

Metarhizium anisopliae :

Le *Metarhizium* est un champignon microscopique qui infecte une large gamme d'insectes (entomopathogène) et provoque la maladie de la « muscardine verte » (Greathead & *al.*, 1994).

Inféodé à une large gamme d'hôtes, *M. anisopliae* a été isolé de plus de 200 d'insectes issus de sept ordres.

Ce champignon s'est co-développé en association avec les insectes. Metchnikoff est le premier qui l'a identifié sur la paille de céréales sous le nom de *Anisopliae austriaca* et il l'a nommé *Entomophthora anisopliae*. En 1879, Sorokin assigna ce champignon à la muscardine verte, au genre *Metarhizium*, depuis il est connu sous le nom de *Metarhizium anisopliae* (Metch) (Zimmermann, 1993).



Tableau 1 : Les hôtes de *Metarhizium anisopliae* (Zimmermann, 1993).

ORDRES	NOMBRES D'ESPECES
-Orthoptera	11 spp
-Dermaptera	1 spp
-Hemitera	21 spp
-Lepidoptera	27 spp
-Diptera	4 spp
-Hymenoptera	6 spp
-Coleoptera	134 spp

III.1. Morphologie :

La couleur des spores est un critère majeur dans l'identification du champignon. *M. anisopliae* produit des spores vertes, allongées avec des cotés parallèles mesurant 6µm de longueur pour 2 à 3µm de diamètre (Photo 3). Les conidiophores sont relativement courts irrégulièrement ramifiés ou non et arrangés en groupes compacts formant une masse de spores (Greathead & al., 1994).

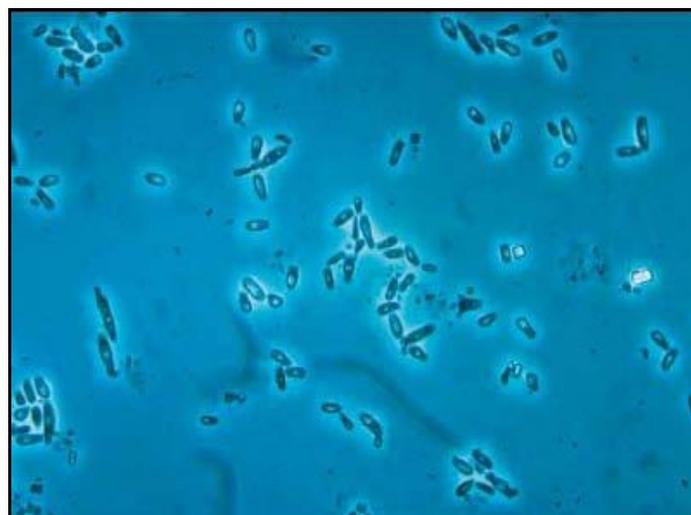


Photo 3 : Les spores de *Metarhizium anisopliae* (Kleespies & al., 2000).



III.2. Position systématique :

D'après Taylor (1995) in index fungorum, *Metarhizium anisopliae* est classé comme suit :

Règne	: Fungi
Division	: Ascomycota
Classe	: Sordariomycetes
Sous classe	: Hypocreomycetidae
Ordre	: Hypocreales
Famille	: Clavicipitaceae
Genre	: <i>Metarhizium</i>
Espèce	: <i>Metarhizium anisopliae</i>

III.3. Voies d'infection :

Contrairement aux autres germes qui nécessitent l'ingestion de la particule infectieuse ou la toxine, les champignons entomopathogènes infectent leur hôte en traversant le tégument externe de l'insecte. La pénétration de la cuticule permet l'infection de l'hôte même lorsqu'il est inactif comme au stade œuf ou en diapause (Fargues, 1984).

Les propagules infectieuses pénètrent généralement dans l'hôte de différentes manières :

- ✓ Par le biais de la cuticule : appelée par contact.
- ✓ Par les stigmates : appelée par inhalation.
- ✓ Par voie digestive : appelée par digestion.

III.4. Le mécanisme d'infection :

Les processus étiologiques de mycoses d'insectes sont très variés, le plus simple d'entre eux concerne l'évolution des muscardines (Riba & SiIvy, 1993).



III.4.1. Les processus tégumentaires :

Les conidiospores, unité de base de la reproduction asexuée des Hyphomycètes, sont les propagules infectieuses. Parvenues au contact du tégument de l'insecte, les spores traverseront le tégument en trois processus (Paillot, 1933).

III.4.1.1. L'adhésion au tégument de l'hôte : elle a été démontrée grâce à certaines souches sauvages ou mutées qui ne sont pas pathogènes pour un insecte du seul fait qu'elles sont incapables à se fixer sur son tégument (Riba & SiIvy, 1993) (Fig. 6 et 7).

III.4.1.2. La germination des propagules : elle exige d'une part l'assimilation de sources carbonées et azotées qui ne sont prélevées qu'à la condition de disposer de l'équipement enzymatique approprié, et d'autre part une compétitivité satisfaisante par rapport à la flore tégumentaire de l'insecte (Rajncpel-Massi, 1990) (Fig. 6 et 7).

III.4.1.3. La penetration : elle est facilitée ou non par la différenciation d'un organe de fixation ou appressorium et s'effectue soit directement, soit après un cheminement de l'hyphe sur la cuticule qui sera progressivement hydrolysée par des lipases, des protéases et des chitinases exocellulaires (Bidochka & *al.*, 1997) (Fig. 6 et 7).

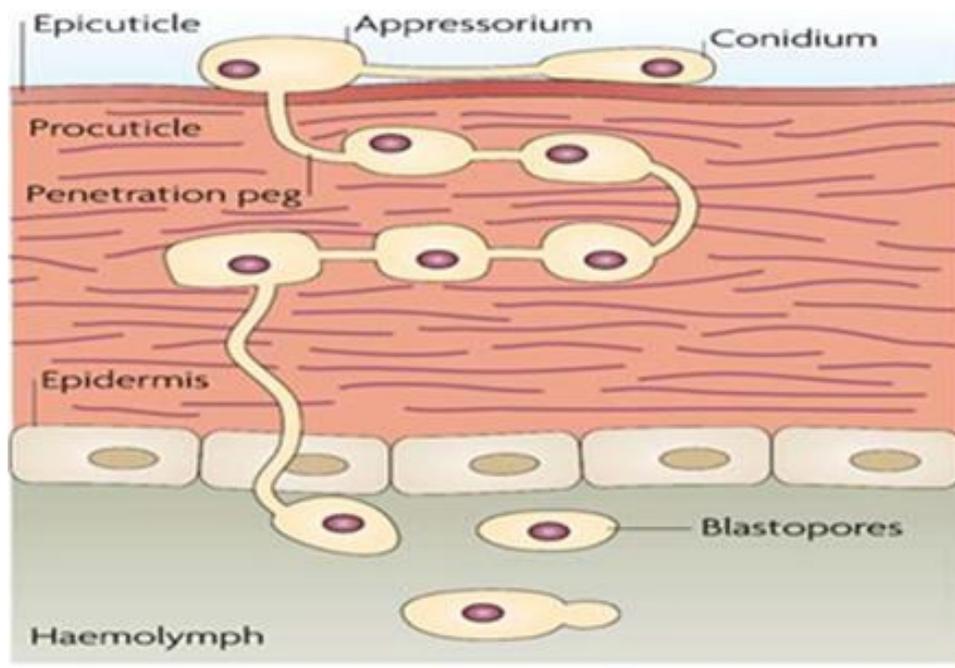


Figure 6: Infection et croissance du champignon (Riba, 2000).

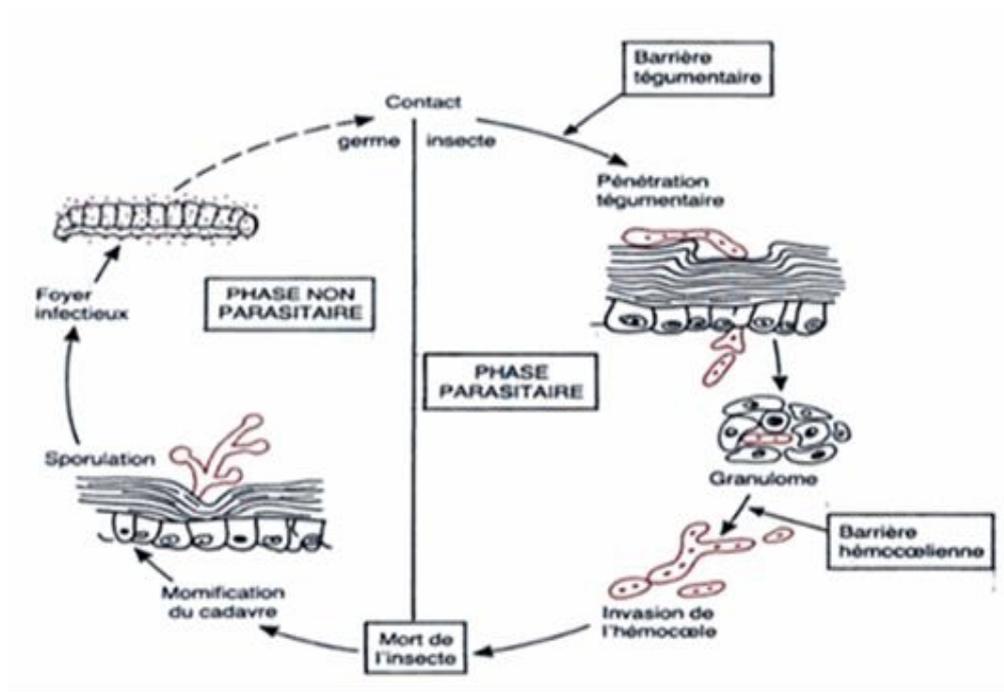


Figure 7: Cycle de développement d'un Hyphomycète entomopathogène (Riba & SiIvy, 1993).

III.4.2. Les processus intrahémocœliens :

Une réaction de mélanisation accompagne le plus souvent la pénétration du tube germinatif jusque dans l'hémocoele (Fig. 7), où se déroule le bourgeonnement des blastopores propagules de multiplication de la forme levure (Riba & SiIvy, 1993).

Prisonnier au sein de granulome, le champignon sera progressivement encapsulé par les plasmatoctes, cependant, la rapidité de multiplication du champignon et la sécrétion de toxines polypeptidiques de gros poids moléculaire (protéases) ou de petites tailles (cyclodepsipeptides), peuvent altérer l'efficacité de ce processus de défense (McCoy & al.,1988).

III.4.3. La phase non parasitaire :

Souvent la mort de l'insecte survient avant que le germe n'ait colonisé toute l'hémocœle, en règle générale l'attaque des tissus n'intervient qu'après la mort (Hunter & al., 2001).



Le développement saprophytique s'achève par l'apparition du germe à la surface de l'hôte (Fig. 7) et par une sporulation intense si les conditions physiques du milieu environnant sont favorables (Hernandez-Velazquez & *al.*, 2003).

III.5. Symptomatologie :

Metarhizium anisopliae infecte une large gamme d'insecte et provoque la maladie de la « muscardine verte » (Greathead & *al.*, 1994). Elle débute par un durcissement du corps et une coloration jaunâtre du tégument. Après la mort de l'insecte, ce dernier se recouvre d'un mycélium blanc réparti en touffe chez les larves et les imagos. Au bout d'un certain temps, le champignon fructifie et le cadavre devient vert, l'animal est plus ou moins transformé en matière pulvérulente gris-vert et se dissémine peu à peu dans le sol (Amouriq, 1973).

III.6. Formulation :

En octobre 1988 dans une station près de Niamey (Niger), Lecoq, Launois-Luong et Van Derwent ont été surpris par la quantité exceptionnelle de cadavres d'*Ornithacris cavroisi* découverts au sol et sur la végétation herbacée. Quatre champignons, deux bactéries et une levure furent isolés. Parmi ces champignons une souche de *Metarhizium flavoviride* fut enregistrée sous le numéro IMI 33 0189 à institut international de mycologie (Greathead & *al.*, 1994).

Ces mêmes auteurs notent qu'en Australie ce champignon *Metarhizium sp.* est utilisé en lutte biologique contre diverses espèces de criquet.

Dans de nombreux pays d'Amérique du sud et d'Asie de l'Est, le *Metarhizium anisopliae* est produit dans du riz ou des céréales, dans des sacs en plastique ou en bouteille. Il est aussi produit en condition in vitro, c'est-à-dire dans un milieu non vivant grâce à un processus de fermentation qui représente le moyen le plus économique pour produire d'importantes quantités de spores (Dobson, 2001).

L'utilisation du *Metarhizium anisopliae* est entrée dans la phase de concrétisation, il est actuellement commercialisé sous le nom de *Green Muscle* (Bateman, 1997).



III.7. L'application en lutte biologique :

La pathogénicité de l'inoculum sporal et la spécificité de l'hôte sont deux paramètres importants dans le choix de l'isolat fongique. Le microchampignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* est un agent de lutte très intéressant car il peut infecter l'hôte par ingestion ou par simple contact. Ce mode d'action particulier rend tous les stades (œuf, larve, adulte) sensibles. Il peut être produit en masse à moindre coût et peut être appliqué avec les méthodes conventionnelles (Greathead & al., 1994).

Les premiers essais portant sur un myco-pesticide à base de *Metarhizium* sur criquet pèlerin (isolat IMI 33 0189) ont été décrit par Price et al. (1999).

Ces mêmes auteurs ont noté que des essais sur le terrain ont été effectués au Niger, au Bénin et au Mali à la dose de 5.10 puissance 12 spores/ hectare, la mortalité s'élevait à 80% voir 95% après 10 à 15 jours.

Des résultats satisfaisants en 2005 lors des essais de *Green Muscle* effectués en Algérie dans la Wilaya d'El-Oued, sur des nymphes de criquet pèlerin, montrant 80% de mortalité au bout du 7 et 8 jours (Kooyman et al., 2005).

IV. Données bibliographiques sur la cyperméthrine :

Des produits utilisés pour tuer les insectes et les animaux par la perturbation des processus vitaux par action chimique. Les Insecticides peuvent être des produits chimiques organiques ou inorganiques. La source principale est la fabrication de produits chimiques, bien que quelques-uns sont issus de plantes (Rozendaal, 1999).

Les insecticides sont classés par leurs structures chimiques et par leurs modes d'action en plusieurs familles dont on va citer les plus importantes :

- 1-Les insecticides organophosphorés
- 2-Insecticides carbamates
- 3-Insecticides organochlorés
- 4-Les insecticides organo-chloro-phosphoré
- 5-Les avermectines
- 6-Les pyréthriinoïdes
- 7-Insecticides d'origine végétale



IV.1. Les pyréthrinoïdes :

Insecticides dits « de troisième génération », cette famille de pesticide dérive de l'acide chrysanthémique, un insecticide naturel présent dans les variétés sauvages de pyrèthres, la sélection a affaibli les facultés de résistance de ces plantes aux insectes, en même temps que la chimie multipliait par mille ou davantage la toxicité de ses dérivés vis-à-vis des invertébrés. Dotés d'une toxicité considérable et agissant par contact, ils tuent presque instantanément les insectes par effet choc neurotoxique, permettant de les utiliser à des doses très réduites (10 à 40 g de matière active par ha). Comme les organochlorés, ils tuent l'insecte en bloquant le fonctionnement des canaux sodium indispensables à la transmission de l'influx nerveux (Liu & Scott 1997).

Réputés peu toxiques pour l'homme, on leur attribue le coefficient de sécurité (rapport des toxicités pour les insectes et pour les mammifères) le plus élevé parmi les insecticides chimiques. Très biodégradables, ils ne persistent pas dans le milieu édaphique, mais ils sont très toxiques pour certains organismes aquatiques (poissons) ainsi que pour les auxiliaires de l'agriculture (dont les abeilles). Ils possèdent des propriétés diverses. Une molécule donnée présente de nombreux isomères aux degrés d'activités variés. La synthèse industrielle cherche à ne produire que l'isomère le plus actif de la molécule (Rozendaal, 1999).

IV.2. Mode d'action des pyréthrinoïdes :

Très tôt il apparut que l'essence de pyrèthre prolonge la conduction nerveuse, en induisant des décharges répétées, les mécanismes moléculaires impliquent une altération ou fonctionnement des canaux sodiques et potassiques. La synthèse organique a conduit l'industrie à développée deux classes principales de dérivés, les pyrèthres de type 1, qui sont des esters de l'acide chrysanthémique et ceux du type 2 qui comportent un radical cyanhydrique, parmi les composés de type 1 figurent tétraméthrine, l'allétrine, la phénothrine, la perméthrine, et parmi les dérivés du type 2: la cyperméthrine, la deltaméthrine, la fenvalérate, la cyphénothrine. La stéréospécificité structurale des molécules conduit à des différences de mode d'action, sans que des corrélations générales aient été clairement établies la lipophilicité des molécules explique globalement leur implication dans la perturbation des phénomènes membranaires. La deltaméthrine provoque chez les insectes cibles un dérèglement général hormonal, avec rupture de l'homéostasie glucido-lipidique (Rozendaal, 1999).



Le radical cyclopropane joue certainement un rôle à part dans la toxicité des pyréthroides, ses propriétés de franchissement des barrières cérébrales et de perturbations neuronales lui confèrent des propriétés anesthésiques, qui pourrait être impliquées dans le phénomène, de « Knock down » KD qui immobilise les insectes avant que les processus thanatogènes n'aillent à leur terme, curieusement on trouve également un cyclopropane dans des molécules herbicides de conception récente ainsi que dans nombre de médicaments, les effets respectifs des pyréthroides de type 1 et 2 ont fait l'objet de nombreux travaux, sans aboutir à des résultats parfaitement tranchés (Rozendaal, 1999).

La sélectivité des pyréthroides s'exprime de manière uniquement quantitative, par les valeurs comparées des DL50 et les concentrations actives sur la conduction nerveuse mesurées chez divers organismes (Liu & Scott 1997).

Deuxième Chapitre :
Matériels et méthodes



I. Matériel utilisé :

Dans ce présent chapitre, nous avons abordé le matériel et les méthodes qui intéressent la conduite de l'élevage du *Culex pipiens*, la culture du mycoentomopathogène *Metarhizium anisopliae*, la préparation de la cyperméthrine et leurs impacts sur le stade adulte.

Le stage a été réalisé au niveau de deux structures scientifiques :

Le laboratoire d'entomologie de l'Institut National de Santé Publique (INSP)

Le laboratoire du Projet de Fin d'Etude de l'université de Blida (PFE)

I.1. Matériel biologique :

I.1.1. Matériel fongique :

Notre souche *Metarhizium anisopliae*, a été isolé à partir d'échantillon d'une solution huileuse « Green Muscle » provenant de l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV) d'El Harrach. Après centrifugation et ensemencement, le champignon est conservé dans un tube à essai.

I.1.2. Matériel entomologique :

L'étude de l'activité biologique du *Metarhizium anisopliae* a été effectuée sur les adultes du moustique *Culex pipiens*, récoltés dans la région de Baba Ali (Alger). L'identification de l'espèce ainsi que la conduite de l'élevage ont été réalisés au sein du laboratoire d'entomologie de l'Institut National de Santé Publique d'Alger.

I.2. Matériel chimique :

Nous avons utilisé comme pesticide la cyperméthrine, obtenue de l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV) d'El Harrach, sous forme concentrée émulsionnable.

I.3. Matériel de travail :

Voir annexe II.



II. Méthodes utilisées :

II.1. Culture et production de *Metarhizium anisopliae* :

II.1.1. Choix du milieu de culture :

Concernant le genre *Metarhizium*, le milieu de culture qui lui est spécifique est le milieu PDA (Potatos Dextros Agar). C'est un milieu riche en amidon, milieu préférentiel pour ce genre d'hyphomycete.

II.1.2. Composition du milieu de culture PDA :

Composition du milieu PDA selon Rappilly (1968) :

- ✓ 200 g de pommes de terre coupées en dés.
- ✓ 20 g de poudre d'agar.
- ✓ 20 g de glucose.
- ✓ 1 litre d'eau distillé.

II.1.3. Préparation du milieu :

200 g de pomme de terre épluchée, coupée en petits dés, ont été bouillée dans 500 ml d'eau distillée, puis filtré.

Par ailleurs on mélange 500 ml d'eau distillée avec le glucose, après agitation, ce dernier est mélangé avec de l'Agar jusqu'à son homogénéisation. On ajoute à ce mélange le filtrat qu'on a obtenu, et on le passe à l'autoclave à 120°C/ 20min pour sa stérilisation (Photo 4).



Photo 4: Milieu de culture PDA (Original).



II.1.4. Mise en culture :

La culture de la souche fongique sur milieu PDA a été réalisée selon les étapes suivantes :

- ✓ Stérilisation du milieu de culture dans l'autoclave (120°C pendant 20 minutes).
- ✓ Refroidissement du milieu.
- ✓ Ecoulement du milieu dans des boîtes de Petri stériles (remplir le 3/4 de boîte) (Photo 5).
- ✓ Refroidissement des boîtes jusqu'au la solidification du milieu (Photo 6).
- ✓ Ensemencement de champignon dans les boîtes par une once de platine, les boîtes sont fermées hermétiquement.
- ✓ Incubation de champignon dans une étuve à 25°C pendant 7 jours. (Photo 7).



Photo5: Ecoulement du milieu PDA (Original)

Photo6: Refroidissement des boîtes (Original)



Photo 7: Développement du *M. anisopliae* lors de la première incubation (Original).



II.1.5. Purification du champignon :

L'ensemencement du champignon pour sa purification se réalise par inoculation du champignon sous forme de strie à l'aide d'une pipette Pasteur sur les milieux, puis incubation dans une étuve à 25°C pendant 10 à 15 jours (Photo 8).



Photo 8: Ensemencement en stries du *M. anisopliae* sur milieu PDA (Original).

II.1.6. Multiplication du champignon :

Préparation de plusieurs boîtes de Petri contenant le milieu PDA à l'aide d'un explantât. On prélève de la première boîte de Petri le champignon à l'aide d'un explantât en présence d'un bec Benzène. La partie prélevée est ensemencée dans plusieurs boîtes Petri. Ces dernières sont placées dans une étuve à 25°C pendant 10 à 15 jours jusqu'à l'envahissement du champignon les boîtes de Petri (Photo 9).

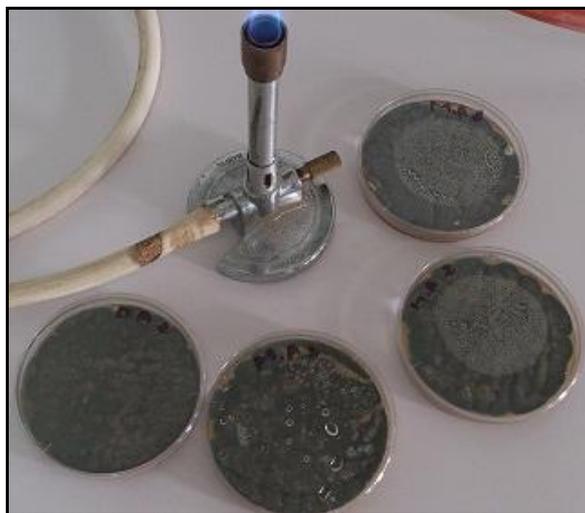


Photo 9: Boîtes de Petri envahies par *M. anisopliae*(Original)



II.1.7. Isolation et conservation du champignon :

A l'aide d'une pipette pasteur les surfaces des boîtes sont grattées, la gratture obtenue est versée dans une petite fiôle contenant 10 ml d'eau physiologique. Après agitation pendant 10min, le mélange est filtré (Photo 10), le filtrat est conservé dans des tubes à essais hermétiquement fermés à 4°C (Photo 11).

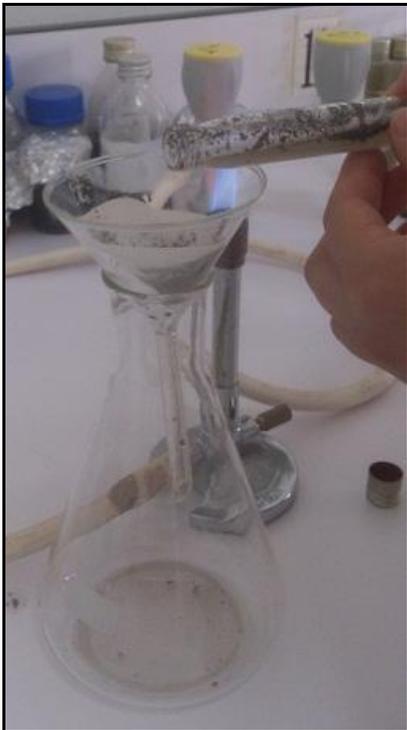


Photo 10: Filtration du mélange (original)



Photo 11: Filtrat dans des tubes à essais (Original)

II.1.8. Evaluations des concentrations :

Pour avoir la concentration voulue en spores de la solution entomopathogène, on réalise directement un comptage au microscope photonique, à l'aide d'une cellule de Malassez (Photo 12, 13).

Le volume de comptage est déterminé par :

- ✓ La surface du quadrillage gravé sur la lame.
- ✓ La profondeur de la chambre.

La cellule 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 (Singleton, 2005).



Photo 12: Cellule de Malassez (Original).

Les concentrations des solutions sont évaluées en utilisant la relation suivant :

$$\text{Spores/ml} = \frac{\text{le nombre de spore comptés}}{\text{surface (mm}^2\text{)} \times \text{profondeur(mm)} \times \text{dilution}}$$

- Les caractéristiques de la cellule de Malassez :
 - Surface : 5 mm²
 - Profondeur : 0,2 mm

II.1.9. Préparation des dilutions :

Une fois la concentration de la solution mère calculée, on déduit les autres concentrations qu'on veut obtenir (Photo 13) à l'aide de la loi d'équilibre :

$$C1V1 = C2V2$$

C1 : La concentration en spores obtenue à partir du volume V1.

C2 : La concentration voulue (à obtenir).

V1 : Volume initial d'eau mis dans l'Erlen Meyer.

V2 : Volume d'eau correspondant à la concentration choisie C2.



Photo 15 : Cyperméthrine diluée (Original).

II.3. Récolte et élevage des moustiques :

Les larves de moustiques sont récupérées d'un pneu de camion rempli d'eau de pluie, dans la zone industrielle de Baba Ali, Alger (Photo 16).



Photo 16: Vue de l'endroit de la récolte (Original).



II.3.1. Technique de récolte sur terrain :

Les larves et les nymphes de moustiques sont récoltées en plongeant rapidement le cuillère métallique dans l'eau plusieurs fois, l'eau prélevée peut contenir des œufs.

Le contenu du récipient est versé à chaque fois dans un autre récipient en plastique étiqueté (Photo 17). Les larves dans le récipient en plastique légèrement fermés sont transportées vers le laboratoire d'entomologie de L'INSP.

Aussitôt après le retour du terrain à l'aide d'une pipette compte-goutte, les larves et les nymphes sont mises dans un petit bac étiqueté avec une quantité d'eau que l'on ferme avec une moustiquaire (Photo 18).



Photo 17: Récipient en plastique contenant les larves (Original).



Photo 18: Bac d'eau contenant les larves (Original).



II.3.2. Technique d'élevage :

Après leur émergence dans les bacs, les moustiques adultes sont récoltés avec un tube d'aspiration, et mis dans une cage cubique voilées de volume 25x25x25cm (Photo 19).



Photo 19: Cage voilée pour moustiques (Original).

II.3.3. Nutrition :

Régulièrement, les larves sont nourries avec de la nourriture pour poisson alors que le stade nymphal ne nécessite pas de nourriture.

Les adultes sont nourris avec une solution sucrée à 10% dans du coton imbibé qui est déposé sur la cage.

II.3.4. L'identification des moustiques :

L'identification de l'espèce *Culex pipiens* est réalisée au laboratoire d'entomologie de l'INSP, et on s'est basé sur l'aspect morphologique des adultes, après observation directe sous loupe binoculaire (Photo 20), en utilisant un logiciel d'identification « Les *Culicidae* d'Afrique Méditerranéenne ».



Photo 20: Identification de moustique sous la loupe (Original)

II.4. Traitement de *Culex pipiens* par le champignon *Metarhizium anisopliae* :

- ✓ Pour le traitement des moustiques adultes avec le *M. anisopliae*, nous avons retenu trois doses : $D1= 1,55 \times 10^7$ spores/ml, $D2=1,28 \times 10^5$ spores/ml et $D3=1,28 \times 10^4$ spores/ml. Ces dernières ont été effectuées par contact et ingestion à l'aide de pulvérisateurs (Photo 21), remplis avec un volume égale. Les pulvérisations sont effectuées sur toutes les surfaces des boîtes et sur l'aliment.

Nous avons choisi le mode par contact et ingestion, recommandé par divers chercheurs et constitue une voie d'entrée préférentielle et habituelle des champignons entomopathogènes.



Photo 21: Pulvérisateurs contenant les différentes doses, la cyperméthrien et l'eau (Original).



- ✓ Le dispositif expérimental est composé de cinq blocs, chaque bloc renferme 15 individus. Les blocs 1, 2 et 3 constituent les blocs traités au *M. anisopliae* aux différentes doses, le bloc 4 constitue le témoin (pulvérisés avec de l'eau) et le cinquième bloc traité avec la *cyperméthrine* (pesticide). Les populations sont placées dans des boîtes ouvertes et recouvertes de moustiquaire (Photo 22), chaque test est répété 2 fois.



Photo 22: Réalisation du traitement (Original).

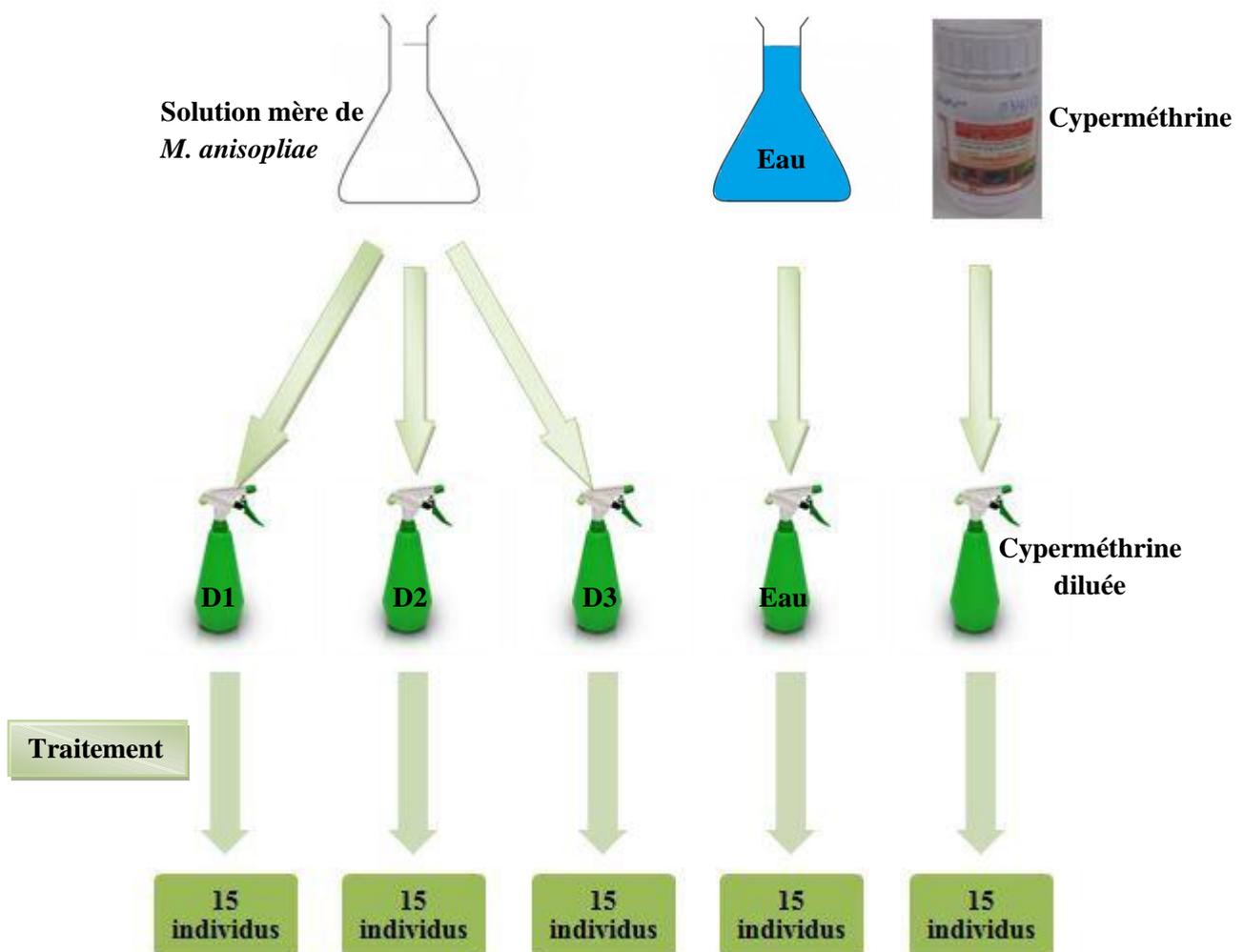


Figure 8: Schéma du dispositif expérimental.



II.5. Traitement des données :

II.5.1. Calcul du pourcentage de mortalité :

Le pourcentage de mortalité observée chez les individus témoins et traités est estimé par la formule suivante :

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

La mortalité observée est ensuite corrigée par la formule d'Abbott (1925):

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

M1 : Pourcentage de mortalité dans le témoin.

M2 : Poucentage de mortalité dans le lot traité.

MC : Pourcentage de mortalité corrigé.

II.5.2. Analyse de probite :

Pour calculer la DL50 (dose nécessaire pour tuer la moitié d'une population) pour chaque dose, nous avons transformé en probit les pourcentages de mortalité corrigés et le temps en logarithme décimal de la dose.

Ces transformations nous ont permis d'établir des équation des droites de régressions « probit-logarithme » de type :

$$y = a x + b$$

y : probit des mortalités corrigées.

x : logarithme de la dose ou du temps.

a : la pente



A partir des équations des droites de régression, nous avons calculé la dose létale 50 en remplaçant y par le probit de 50. Les doses létales peuvent être déterminées également graphiquement en recherchant l'abscisse du point correspondant au probit 5, ainsi la DL50 ou le TL50 sera égal :

Anti log₁₀ x spores/ml avec x = log₁₀ de temps ou de dose correspondant au probit 5 sur le graph

II.5.3. Mesure de la croissance pondérale :

La croissance pondérale est évaluée par pesage des boites de Petri tous 3 jours pendant 15 jours avec une balance de précision.

Troisième Chapitre :
Résultats et discussions



I. L'identification de moustique

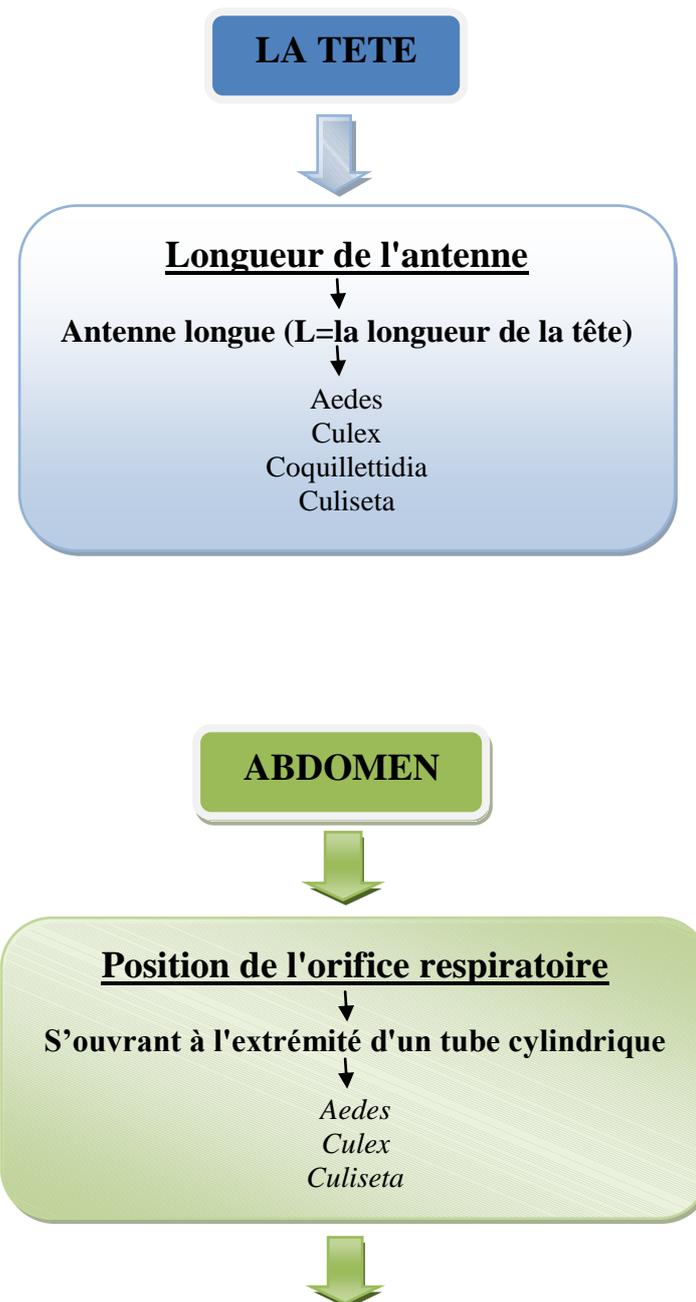
Le logiciel d'identification est basé sur l'aspect morphologique des moustiques, qui permet de déterminer notre espèce, avec un principe simple basé sur des critères à choix multiple,

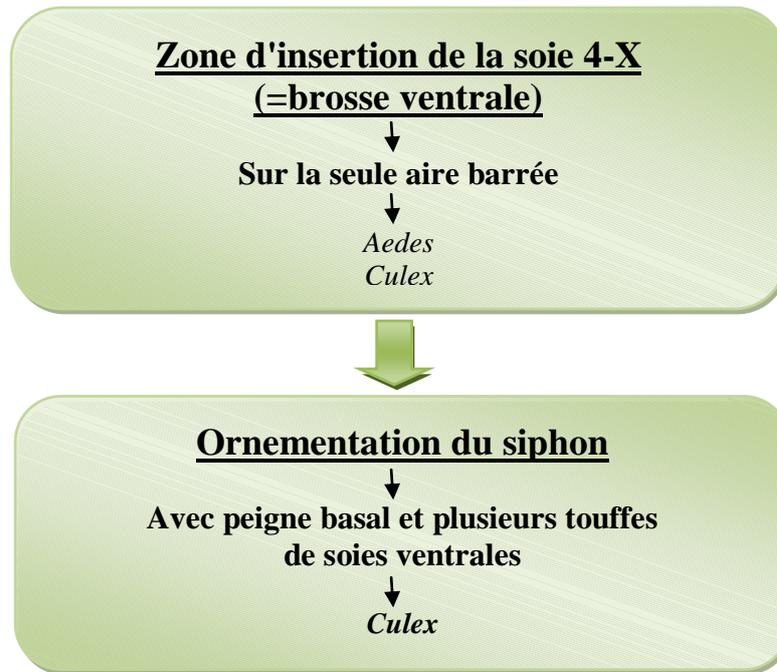
Nous avons suivi les étapes comme tel dans le logiciel :

I.1. Les larves

Les étapes de l'identification des larves sous microscopique sont les suivantes :

Identification du genre

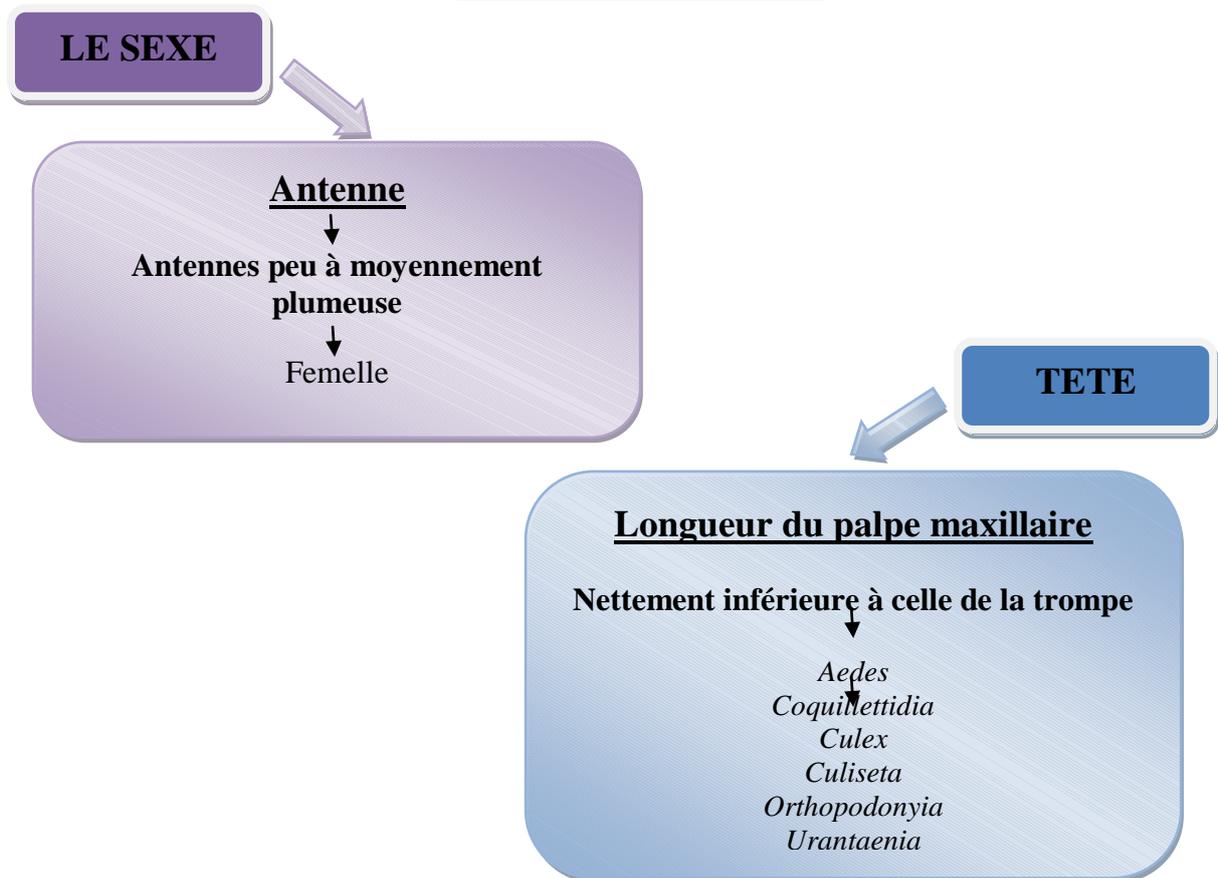




I.2. Les adultes :

Les étapes de l'identification des adultes de *Culex* sous la loupe binoculaire sont les suivantes :

1) Identification du genre





AILE

Ornementation de la base (alula)
↓
Présence d'une frange d'écailles
↓
Aedes
Coquillettidia
Culex
Culiseta
Orthopodomyia
Urantaenia

Position de l'apex de la nervure 1-A
↓
Postérieure à la fourche mcu/cuA (flèche bleue)
↓
Aedes
Coquillettidia
Culex
Culiseta
Orthopodomyia

PATTES

PATTE I : Longueur du tarsomère 4
↓
Egale, ou supérieure, à celle du tarsomère 5
↓
Aedes
Coquillettidia
Culex
Culiseta

PATTES : Organes sensoriels portés à l'apex des tarsomères 5
↓
un empodium et 2 pulvilli
↓
Culex

Le genre identifié est le genre : *Culex*



2) Identification de l'espèce de *Culex*

LA TETE

Coloration du labium

Sans anneau ou avec un anneau diffus

C. adairi	C. antennatus	C. arbieeni
C. brumpti	C. deserticola	C. duttoni
C. hortensis	C. impudicus	C. laticinctus
C. martinii	C. modistus	C. perexiguus
C. pipiens	C. pusillus	C. quinquefasciatus
C. simpsoni	C. sinaiticus	C. territans
C. theiteri		

PATTES

PATTE II : Coloration de la face externe du fémur

Avec des écailles claires et sombres mêlées

C. adairi	C. antennatus	C. arbieeni
C. brumpti	C. deserticola	C. duttoni
C. hortensis	C. impudicus	C. laticinctus
C. martinii	C. modistus	C. perexiguus
C. pipiens	C. pusillus	C. quinquefasciatus
C. simpsoni	C. sinaiticus	C. territans

PATTE III : Tailles relatives du tarsomère 1 et du tibia

Tarsomère sensiblement égal au tibia

C. antennatus	C. arbieeni	C. brumpti
C. deserticola	C. duttoni	C. hortensis
C. impudicus	C. laticinctus	C. martinii
C. perexiguus	C. pipiens	
C. quinquefasciatus	C. simpsoni	
C. sinaiticus	C. territans	



PATTE III : Couleur du tarsomère 1

Entièrement sombre

- | | | |
|---------------------|----------------|--------------|
| C. antennatus | C. arbieeni | C. brumpti |
| C. deserticola | C. duttoni | C. hortensis |
| C. impudicus | C. laticinctus | C. martinii |
| C. perexiguus | C. pipiens | |
| C. quinquefasciatus | C. simpsoni | |
| C. sinaiticus | C. territans | |

AILE

Coloration de la nervure costale

Entièrement sombre

- | | | |
|----------------|---------------------|---------------|
| C. antennatus | C. arbieeni | C. brumpti |
| C. deserticola | C. hortensis | C. impudicus |
| C. laticinctus | C. martinii | C. perexiguus |
| C. pipiens | C. quinquefasciatus | |
| C. simpsoni | C. sinaiticus | C. territans |

Position de la base de la fourche R2-R3 par rapport à l'apex de la sous-costale

Base de R2-R3 située avant l'apex de la sous-costale ou à son niveau

- | | |
|----------------|------------|
| C. antennatus | C. brumpti |
| C. laticinctus | C. pipiens |



ABDOMEN

Coloration du tergite III

Avec une bande antérieure claire

C. brumpti

C. laticinctus *C. pipiens*

PATTES

PATTE I : Couleur des écailles recouvrant la coxa

avec une très large majorité d'écailles claires

C. brumpti

C. pipiens

PATTE I : Coloration du tibia

Entièrement sombre ou avec quelques écailles claires à l'apex

C. pipiens

- On obtient l'identification de notre espèce : *Culex pipiens* (Photo 23).



Photo 23: *Culex pipiens* identifié

II. Effet du *M. anisopliae* sur *Culex pipiens* :

L'application des différentes doses de *Metarhizium anisopliae* vise à évaluer l'impact de ces dernières sur les individus adultes de *Culex pipiens*, dans le but de déterminer leurs niveaux de mortalités (létales), les temps létaux pour chaque dose utilisée ainsi que la DL50.

II.1. Evaluation du taux de Mortalité :

Chez les populations de moustiques traités on assiste à une diminution des mouvements puis une mortalité. Les taux de mortalité journalier cumulés des moustiques traités au *M. anisopliae* sont illustrés par la photo n°24, et portés sur le tableau n°2 et les figures n°9.



Photo 24: *Culex pipiens* morts après traitement au *M. anisopliae*



Tableau n°2: Pourcentage de mortalité de *Culex pipiens* traités au *M. anisoploae* aux différentes doses

Dose \ Temps		Temps		
		24H	48H	72H
D1	R1	53,83	58,33	91,66
	R2	61,53	75	83,34
	M±E	57,68±5,44	66,67±11,79	87,5±5,88
D2	R1	46,14	58,34	58,34
	R2	53,84	75	83,34
	M±E	49±5,44	66,67±11,78	70,84±17,68
D3	R1	0	0	0
	R2	7,67	33,34	33,34
	M±E	3,84±5,42	16,67±23,57	16,67±23,57
Cyper.	R1	100	100	100
	R2	100	100	100
	M±E	100±0	100±0	100±0
Tém.	R1	6,67	13,33	13,33
	R2	20	26,67	26,67
	M±E	13,34±9,43	20±9,43	20±9,43

Tém. : Témoin.

M : Moyenne.

E : Ecart type.

D1, D2, D3 : Doses expérimentées.

R1, R2 : Répétitions.

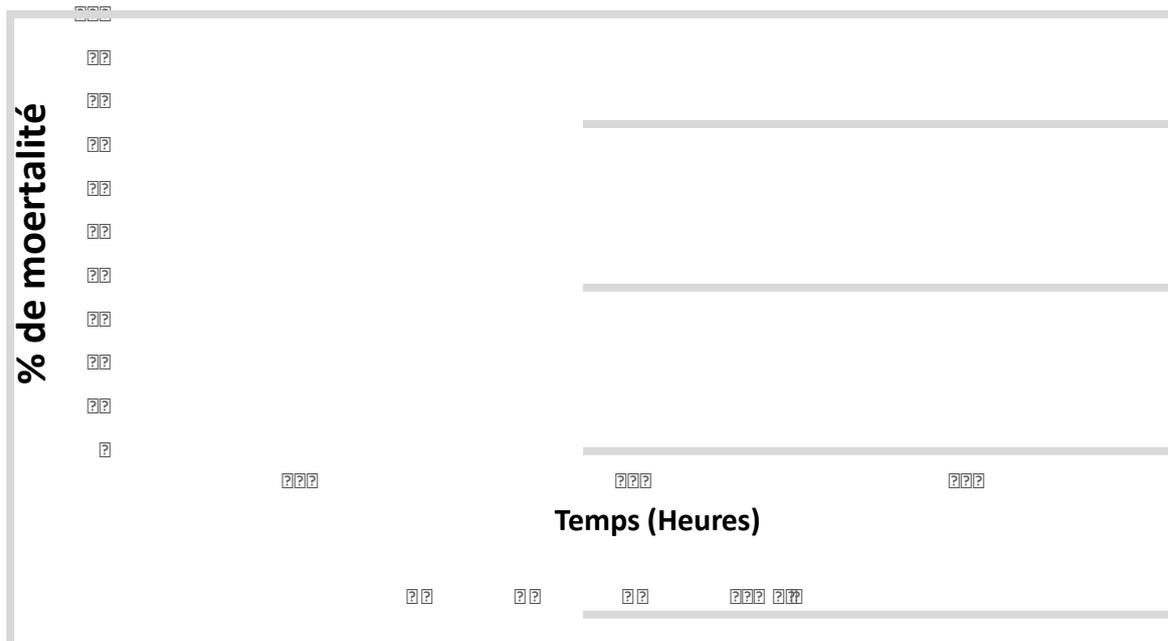


Figure n° 9 : Taux de mortalité chez les moustiques traités à différentes doses de *M. anisopliae*

D'après les tableaux n°2 et la figure n°9, on remarque que la mortalité des moustiques évolue dans le temps mais varie selon les doses testées.

En effet la plus forte mortalité est enregistrée à la forte dose D1 suivi de la dose moyenne D2 et finalement une mortalité insignifiante à la faible dose D3. 91,66% de mortalité sont obtenues au bout du 72h de traitement à la dose D1.

Parallèlement durant la même période la plupart des individus témoins ont marqué quelques mortalités qui ne dépassent pas les 20%.

II.2. Estimations des DL50 :

Les doses létales au bout desquelles 50% des individus de *Culex pipiens* sont morts sont obtenues à partir des droites de régression (Figures n°10, 11, et 12) des logarithmes décimaux des doses (Tableau n°3, 4 et 5) en fonction des taux de mortalité corrigés chez les moustiques traités par le *Metarhizium anisopliae*.



Tableau n°3: Les logarithmes décimaux des doses et les probits des taux de mortalité après 24h :

Doses		Mortalité	
Dose (spores/ml)	Log ₁₀ Dose	Taux de mortalité (%)	Probit
4,04 x 10 ⁶	6,61	50	5,00
1,01 x 10 ⁶	6,01	50	5,00
0,25 x 10 ⁶	5,40	25	4,00
0,06 x 10 ⁶	4,79	25	4,00

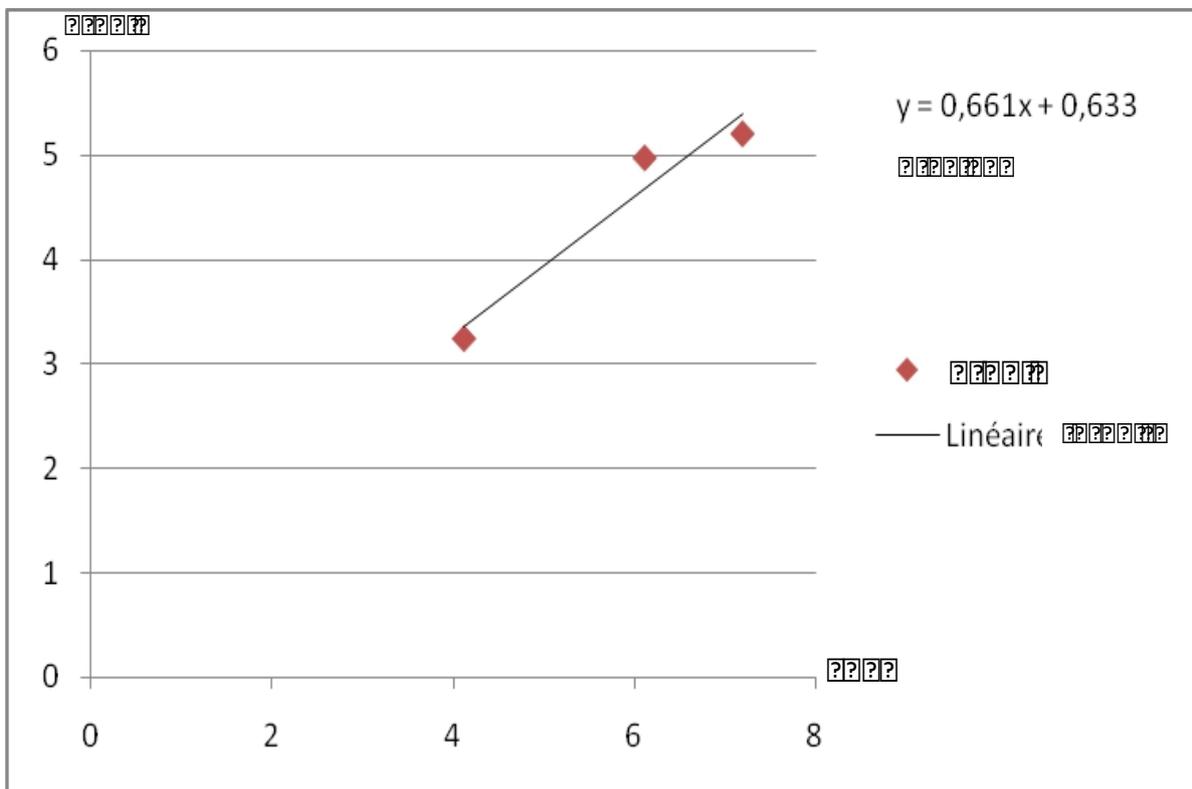


Figure n°10: Effet du traitement par le *M.anisoplae* sur *Culex pipiens* au bout de 24h.

A partir de cette droite de régression ci-dessus nous avons pu dégager la DL50 du traitement par contact de *M. anisopliae* sur les *Culex pipiens* à 24h et le résultat est égal à $4,04 \times 10^6$ spores/ml.



Tableau n°4: Les logarithmes décimaux des doses et les probits des taux de mortalité après 48h :

Dose		Mortalité	
Log ₁₀ Dose	Dose	Taux	Probit
2,70	5x10 ⁴	66,67	2,82
2,70	5x10 ⁴	66,67	2,82
2,70	5x10 ⁴	16,67	2,22

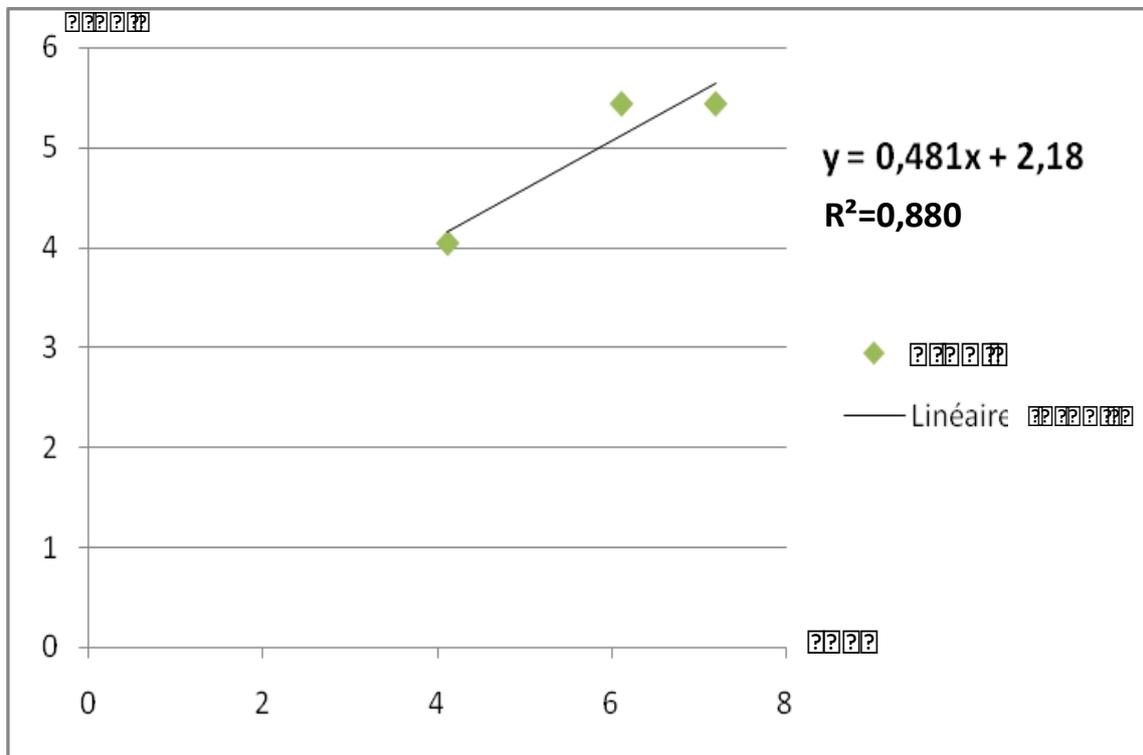


Figure n°11: Effet du traitement par le *M.anisoplae* sur *Culex pipiens* au bout de 48h

La DL50 de traitement par contact de *M. anisopliae* sur *Culex pipiens* à 48h est égale à 7,29x10⁵ spores/ml.



Tableau n°5: Les logarithmes décimaux des doses et les probits des taux de mortalité après 72h :

Dose		Mortalité	
Log ₁₀ Dose	Dose	Taux	Probit
5,74	5,48x10 ⁵	87,5	2,33
5,24	1,74x10 ⁵	70,84	2,15
4,74	5,48x10 ⁴	16,67	1,22

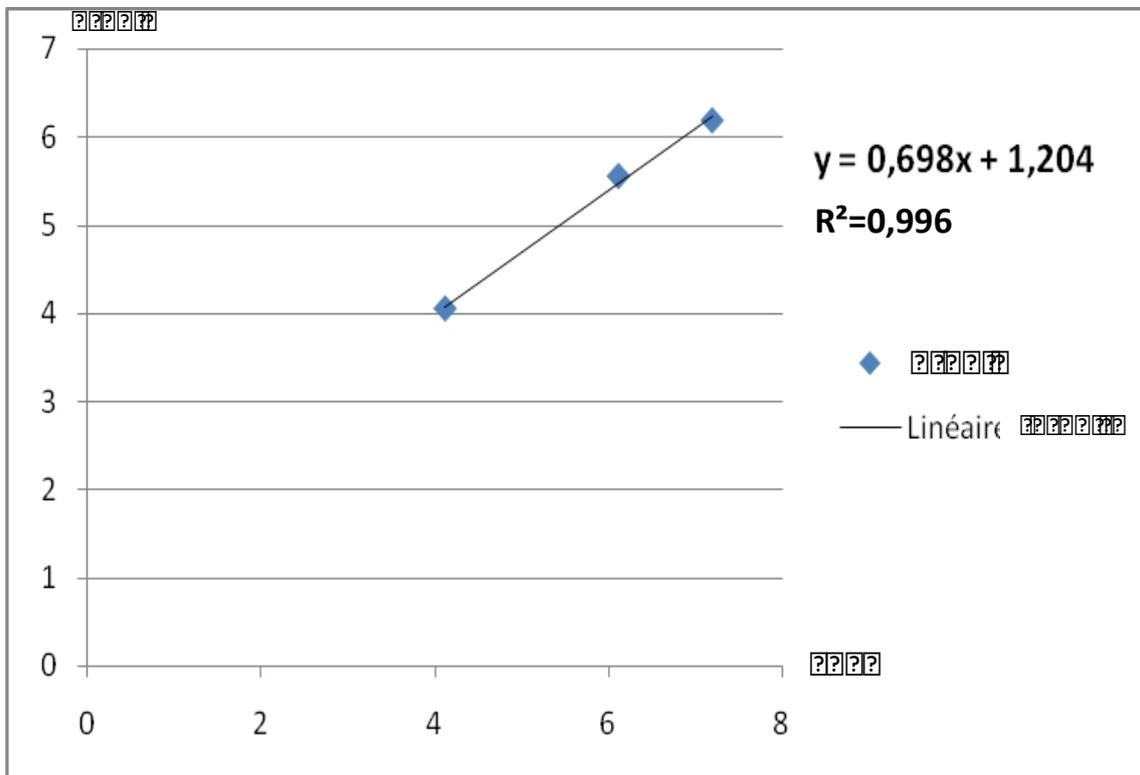


Figure n°12: Effet du traitement par le *M.anisoplae* sur *Culex pipiens* au bout de 72h

La DL50 de traitement par contact de *M. anisoplae* sur *Culex pipiens* à 72h est égale à $2,74 \times 10^5$ spores/ml.



II.3. TL 50

Le calcul de la TL50 de *M. anisopliae*, rapporté aux doses nous renseigne sur l'importance de l'effet du champignon dans le temps. Les probits des pourcentages de mortalités cumulées ainsi que le logarithme décimal des temps pour chaque dose, sont portés sur le tableau n°6, 7 et 8. Les valeurs des TL50 relatives à chaque dose et chaque traitement sont tirées directement des équations de régressions (Figure 13, 14 et 15).

Tableau n°6: Les logarithmes décimaux des temps et les probits des taux de mortalité à la D1.

Dose		Mortalité	
Temps (h)	Probit	Mortalité (%)	Probit
12	2,77	57,68	5,20
15	2,77	66,67	2,77
21	2,77	87,5	2,77

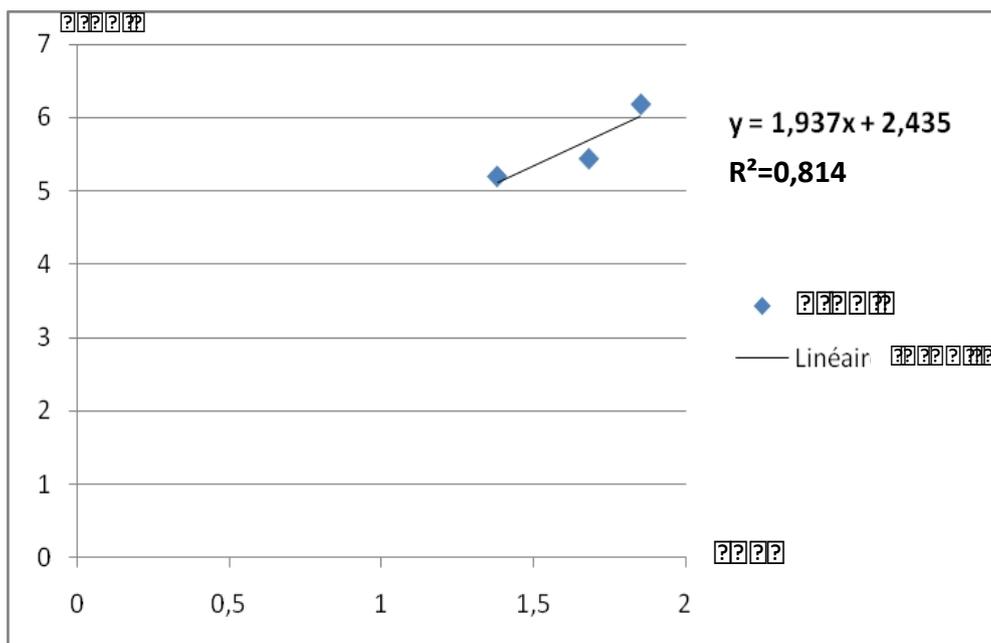


Figure n°13: Efficacité de la D1 de *M. anisopliae* sur *Culex pipiens* dans le temps.

Pour la D1 la TL50 est égale à 21,10h



Tableau n°7: Les logarithmes décimaux des temps et les probits des taux de mortalité à la D2.

Durée (h)		Taux de mortalité (%)	
Temps (h)	Probit	Taux (%)	Probit
24,14	4,97	49	4,97
33,33	5,47	66,67	5,47
37,70	5,54	70,84	5,54

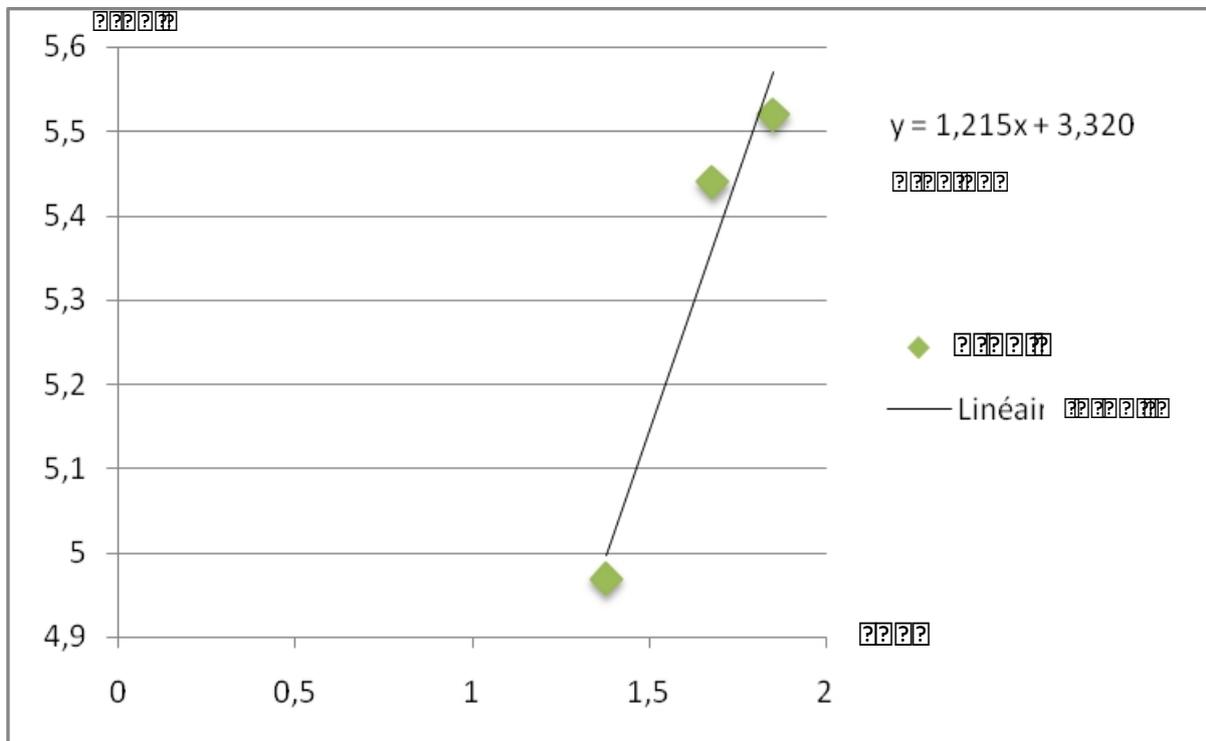


Figure n°14: Efficacité de la D2 de *M. anisoplae* sur *Culex pipiens* dans le temps

Pour la D2 la TL50 est égale à 24,14h



Tableau n°8: Les logarithmes décimaux des temps et les probits des taux de mortalité à la D3.

		Mortalité	
Dose	Temps (h)	Log ₁₀ temps	Probit
1,55x10 ⁷	21,10	1,32	3,25
1,28x10 ⁴	203,73	2,31	3,84
1,28x10 ⁴	203,73	2,31	3,84

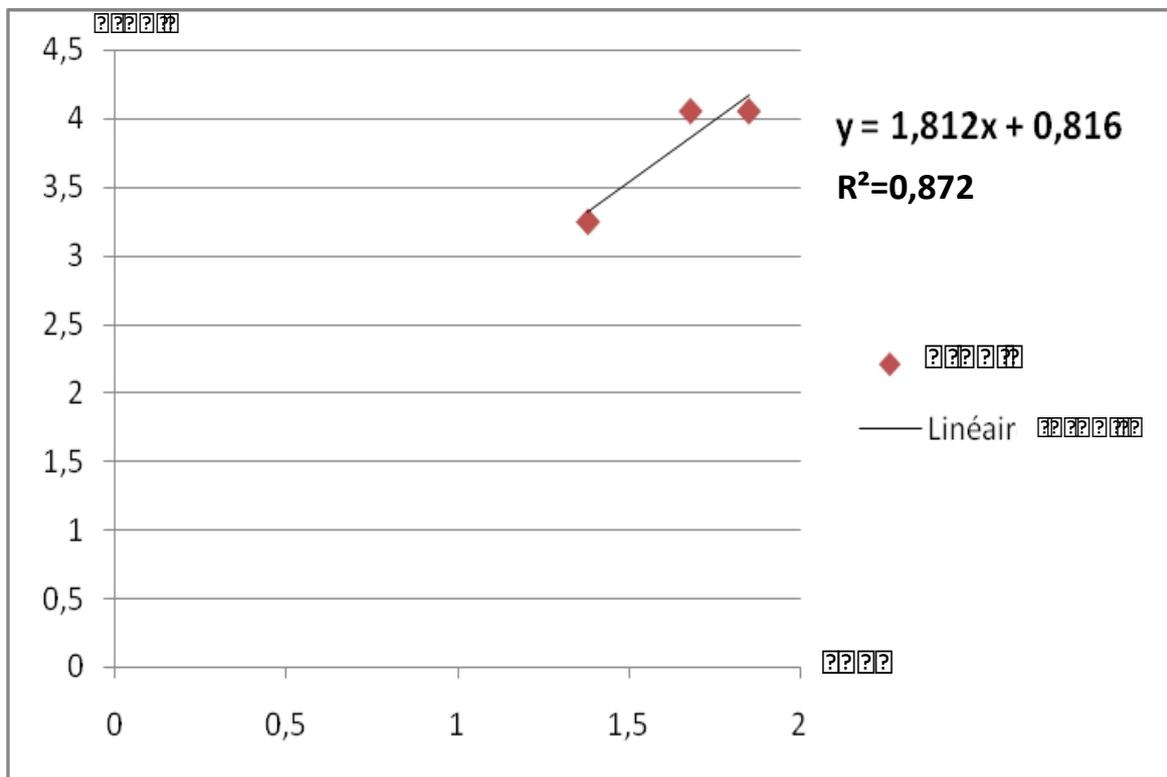


Figure n°15: Efficacité de la D3 de *M. anisoplae* sur *Culex pipiens* dans le temps

Pour la D3 la TL50 est égale à 203,73h qui correspond à 8 jours et 11heures.

Les temps létaux calculés, varient d’une dose à une autre. Le temps le plus élevé est obtenu à la dose $D3 = 1,28 \times 10^4$ spores/ml. Le temps le plus court est de 21,10h à la dose $D1 = 1,55 \times 10^7$ spores/ml.



II.4. La croissance pondérale :

Pour connaître la croissance pondérale du *M. anisopliae*, on place un moustique mort après traitement traité à la dose D1 sur milieu PDA (Photo 25).

Après quelques jours on remarque une croissance du champignon *M. anisopliae* (Photo 26).

Le tableau n°9 donne les résultats du pesage des boîtes de Petri après 15 jours.

Tableau n° 9 : La croissance pondérale en gramme de *M. anisopliae* pour la dose D1

Jours	1er	3eme	6eme	9eme	12eme	15eme
Poids	0	3,84	7,26	9,32	11,93	14,36



Photo 25 : *Culex pipiens* mort après traitement, déposé sur milieu PDA



Photo 26 : Croissance de *M. anisopliae* sur milieu PDA



La figure n°16 résume le tableau n°9 sous forme de graphe.

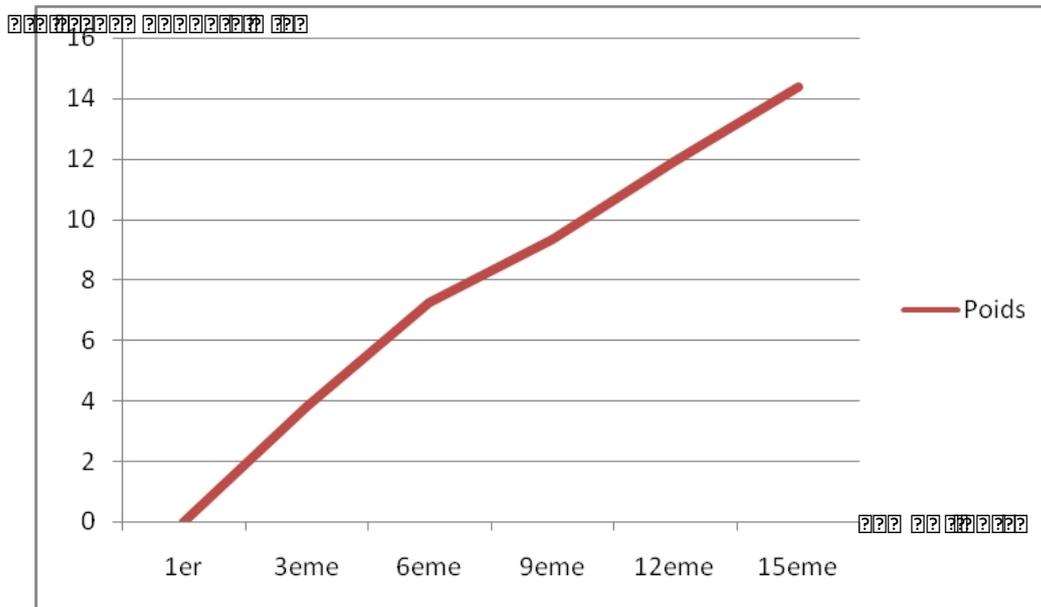


Figure n°16 : la croissance pondérale de *M. anisopliae* en fonction du temps sur milieu PDA

On remarque une bonne croissance de champignon en fonction du temps, et au bout de 15 jours d’incubation sur milieu PDA, la croissance pondérale du *M. anisopliae* est égale à 14,36g.

III. Evaluation de l’effet de la cyperméthrine sur *Culex pipiens* :

Les taux de mortalité des moustiques du *Culex pipiens* traités avec la cyperméthrine, sont illustrés dans le tableau n°10.

Tableau n°10: Pourcentage de mortalité de *Culex pipiens* traités avec la cyperméthrine

Dose \ Temps		Temps		
		24H	48H	72H
Cyper.	R1	100	100	100
	R2	100	100	100
	M±E	100±0	100±0	100±0
Tém.	R1	6,67	13,33	13,33
	R2	20	26,67	26,67
	M±E	13,34±9,43	20±9,43	20±9,43

Tém. : Témoin.

M : Moyenne.

E : Ecart type.

Cyper. : Cyperméthrine

R1, R2 : Répétitions.



Le tableau n° 11 et l’histogramme de la figure n°1è ci-dessous, illustrent l’effet comparatif entre le taux de mortalité de *Culex pipiens* de la dose la plus forte du *M. anisopliae* D1 ($1,55 \times 10^7$ spores/ml) et la cyperméthrine.

Tableau n° 11 : variation des taux de mortalité de *Cluex pipiens* traités avec la cyperméthrine et ceux traités avec le *M. anisopliae*

Temps (heures)	24h	48h	72h
<i>M. anisoplaie</i> (%)	57,68	66,67	87,5
Cyperméthrine (%)	100	100	100

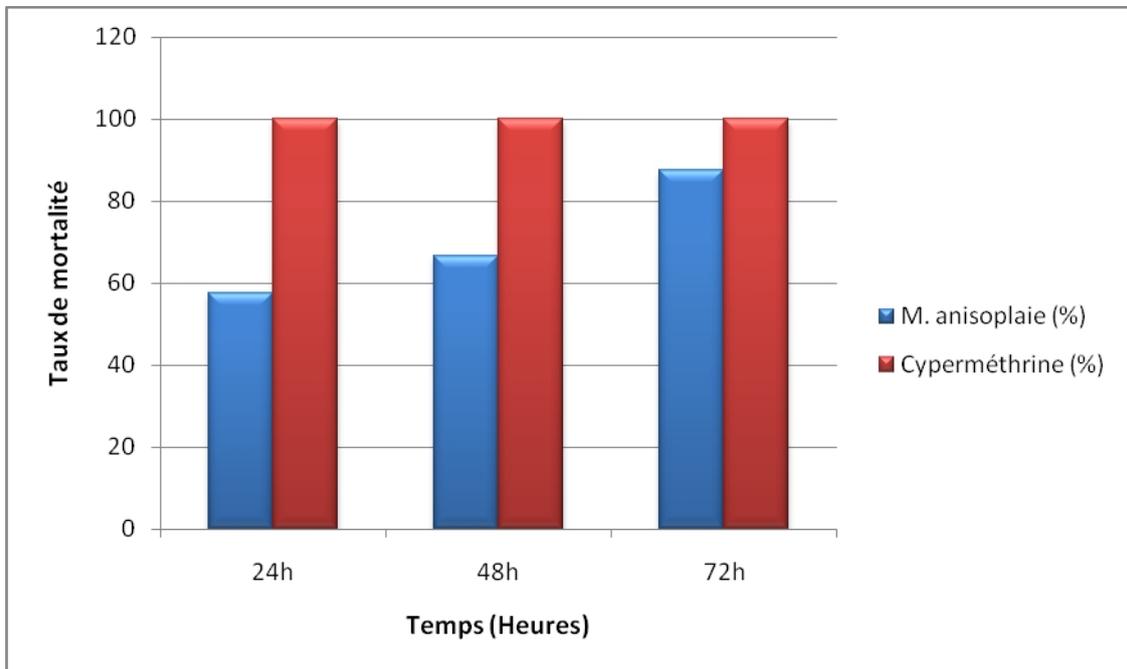


Figure n°17 : Comparaison des pourcentages de mortalité chez *Cluex pipiens* traités avec la cyperméthrine et ceux traités avec le *M. anisopliae*

On constate que le taux de mortalité pour les moustiques de *culex pipiens* traités avec la cyperméthrine est à 100% dès 24h par rapport au *M. anisopliae* qui atteint les 87,5% de mortalité après 72h.

La cyperméthrine est très toxique et efficace contre les moustiques du *Culex pipiens*, avec un temps de réaction très court.



IV. Discussion :

Les résultats des essais biologiques au bout de 72h montrent que l'activité pathogène la plus élevée du champignon *Metarhizium anisopliae* chez les moustiques, exprimée par la mortalité est à la dose D1 ($1,55 \times 10^7$ spores/ml). Ce taux de mortalité diminue avec la baisse des concentrations pour atteindre un minimum de 16,67% à la dose D3 ($1,28 \times 10^4$ spores/ml).

Les taux de mortalité chez les témoins varient de 13,34% après 24h à 20% au bout de 72h, Ces mortalités peut être dues aux variations des conditions du laboratoire : température, oxygène, nutriment.

La DL50 a été déterminée à $4,04 \times 10^4$ spores/ml à 24h, $7,29 \times 10^5$ spores/ml après 48h et $2,74 \times 10^5$ spores/ml au bout de 72h .Cette dernière constitue la dose la plus faible mais avec un temps le plus important.

Les TL50 varient en fonction des doses, nous avons 21,10h qui représentent le temps le plus court à la dose la plus élevée D1 ($1,55 \times 10^7$ spores/ml) et 203,73h (8 jours et 11heures) qui représente le temps le plus long à la dose la plus faible D3 ($1,28 \times 10^4$ spores/ml).

Nous remarquons aussi que les taux de mortalité n'ont jamais atteint 100% de mortalité chez les moustiques de *Culex pipiens* traités avec le *Metarhizium anisopliae*, et ce même pour la dose la plus élevée la D1 ($1,55 \times 10^7$ spores/ml).

Divers chercheurs se sont intéressés à l'étude de l'activité biologique des entomopathogènes vis-à-vis de divers ordres d'insectes et dont les résultats sont assez comparable aux nôtre.

D'après Kooyman (2007), le *Metarhizium* infecte les insectes par contacte, pas par ingestion, ce qui est similaire à l'action de beaucoup d'insecticides chimiques.



Selon Ravallec (1986) la sensibilité du moustique aux spores du champignon est significative aux doses élevées $> 10^7$ spores/ml. Par contre, les mortalités apparaissent tardivement après une période d'incubation lorsque la dose est égale ou inférieure à 10^6 spores/ml, dans ces conditions le mode d'action du champignon suit une voie de type parasitaire normale c'est-à-dire qu'il parvient à coloniser entièrement l'hémocèle.

La non corrélation entre les doses peut être due aux populations traitées qui ne sont pas homogènes car elles contiennent un mélange des deux sexes, et la sensibilité des mâles diffère de celle des femelles envers le produit testé. Ca peut être due aussi aux larves traitées par le champignon qui ne sont pas issues de la même génération donc elles ne se comportent pas de la même manière (Glaser, 2004).

On signale que le traitement par *M. anisopliae* soit par contact ou par ingestion démontre que ce champignon est efficace vis-à-vis de *Culex pipiens*. Le calcul de la croissance pondérale montre aussi cette efficacité.

Riba et al. (1985) observent que la souche de *M. anisopliae* est la souche la plus agressive sur *Culex pipiens*.

Pour les insecticides utilisés dans notre travail, la cyperméthrine reste la plus importante en termes de toxicité. L'ensemble des résultats en comparaison avec le *M. anisopliae*, montre que le pesticide chimique à savoir la cyperméthrine utilisée dans la lutte anti-vectorielle s'est révélée très efficace contre *Culex pipiens*.

Conclusion et **perspectives**



Conclusion et perspectives :

Dans ce travail, nous avons étudié l'effet d'un bio-pesticide *Metarhizium anisopliae* sur le moustique *Culex pipiens*. Nous avons pris en considération la mortalité sur le plan quantitatif et qualitatif.

L'effet du *Metarhizium anisopliae* sur les adultes de *Culex pipiens* se manifeste par des taux de mortalité qui diffèrent selon la dose utilisée. Après 72h de traitement le taux de mortalité est de 87,5% à la dose D1= $1,55 \times 10^7$ spores/ml et de 70,84% pour la dose D2= $1,28 \times 10^5$ spores/ml, cependant pour la dose D3= $1,28 \times 10^4$ spores/ml elle est de 16,67% de mortalité uniquement .

Les résultats concernant la DL50 et la TL50, nous confirment l'efficacité satisfaisante de ce champignon (*Metarhizium anisopliae*), contre les adultes de *Culex pipiens*. Cependant nous remarquons une proportionnalité dans le traitement, plus la dose est élevée plus le taux de mortalité est élevé lui aussi, cela est dû principalement à la capacité pathogénique des spores.

La pathogénicité de ce germe n'affecte que quelques arthropodes par rapport aux insecticides chimiques tels que les pyréthriinoïdes (cyperméthrine), qui ont un spectre plus large et une efficacité plus importante. Cependant il faut toujours garder à l'esprit que les dégâts écologiques que pourrait causer ce champignon seront toujours inférieurs à ceux des insecticides chimiques.

À travers notre travail préliminaire nous avons pu constater que pour atteindre des mortalités plus importantes il faudrait utiliser des doses supérieures à 10^7 spores /ml.

En perspectives, il serait intéressant de chercher le mode adéquat d'inoculation du champignon dans l'insecte avec une meilleure précision de la dose administrée.

Pour réaliser un traitement à large échelle, il faudrait maîtriser tous les paramètres : dose, mode d'inoculation et une très grande connaissance de la faune autour car l'emploi des champignons entomopathogènes dans le cadre d'une lutte intégrée contre les arthropodes exige au préalable la sélection de souche dont le spectre parasitaire est plus restreint.

Il serait intéressant aussi d'approfondir les études sur cet entomopathogène (*M. anisopliae*), afin d'augmenter leur virulence vis-à-vis des moustiques (*Culex pipiens*) et pour obtenir une meilleure efficacité dans les délais les plus courts possibles.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Adisso D. N., 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. *Mém. Fin de formation en. ABM-DITEPAC-UAC*. Cotonou, 79p.
2. Amouriq L. (1973). *Elément sur la relation entre les insectes et les champignons*. Ed. Harman, Paris, 135p.
3. Andreo S. (2003). L'effet anti-gorgement sur chien d'un shampoing à 0,07% de deltaméthrine sur un moustique du complexe *Culex pipiens*. *Th. Med.Vet.*, Toulouse, 128-163pp.
4. Anonyme (2003). Entomologie du paludisme et contrôle des vecteurs: Guide du stagiaire. Provisoire, *Organisation Mondiale de la Santé*. Genève, 102p.
5. Anonyme (2004). Global Strategic Framework for Integrated Vector Management. *Organisation Mondiale de la Santé*. Geneve, 3p.
6. Anonyme (2005). Déclaration relative aux mesures de protection individuelle pour prévenir les piqûres ou morsures d'arthropodes. *Comité Consultatif de la Médecine Tropicale et de la médecine des voyages et Santé*. RMTTC 31, Canada, 15–18pp.
7. Ayitchedji A.M. (1990). Bioécologie d'*Anopheles melas* et de *Anopheles gambiae s.s*, Comportement des adultes vis-à-vis de la transmission du paludisme en zone côtière lagunaire, République du Bénin. *Mém.Fin. de formation en TLM-DETS-CPU-UNB*. Cotonou, 76p.
8. Azondekon R. (2006). *Contrôle de qualité des moustiquaires imprégnées commercialisées*. Mém. Fin. Et. Univ, Benin, 78-90pp.
9. Bateman R.P. (1997). The development of a mycoinsecticide for the control of locusts and grasshoppers. *Outlook on Agriculture*, 26: 13-18.

10. Becker N. (1998). The use of *Bacillus thuringiensis subsp. Isr.* (BTI) against mosquitoes, with special emphasis of the ecological impact. *Isr. Jour. of Entomo*, 32: 63-69.
11. Bendalif, Djebbarf, Soltanin. (2001). Comparative efficiency of some mosquitofish species on different stages of *Culex pipiens* L. under laboratory conditions. *Rev.Parasitica ISSN 0031-1812*. Vol. 57, n°4, 255-265pp.
12. Bidochka M. J., Kachatourians G. G. (1991). The implication of matabolic acid produced by *Beauveria bassiana* in pathogenesis of the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes*. *J. Invert. Path.*, n°58, 106-117pp.
13. Budavari S., O'Neil M. J., Smith A., Heckelman, P. E. (1989). *The Merck Index. 11th edition*. Rahway, New-Jersey, USA, Merck & Co., Inc.
14. Bussieras J., Chermette R. (1991). Parasitologie Vétérinaire, Entomologie, Service de Parasitologie, *ENVA*, 58-61pp.
15. Brogdon W. G., McAllister J. C. (1998). *Insecticide resistance and vector control. Emergence of infectious diseases*, 4: 605-613.
16. Cachareul A.(1997). Les moustiques : cycle de développement, aspects anatomo-physiologiques et régulation du cycle ovarien. *Th. : Med.Vet.*, Nantes, 024-131pp.
17. Dobson H.M. (2001). *Lutte antiacridienne*. 2eme Ed. F.A.O., 82p.
18. Fargues J., Bourguet D. (2005). La lutte microbiologique contre les insectes ravageurs descultures: cintraintes, bilan et perspectives. *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture etl'environnement*. E. T. DOC. Paris-Londres-New-York, Lavoisier: 1013.
19. Feuillet C., Dasonval F., Lavaud H., Viniaker L., Bidat E. (2006). Mosquito bites allergy, which prevention. *Archives de Pédiatrie*, Vol.13, Issue 1, France, 93-99pp.
20. Fremont F. (1996). *Les vecteurs de la dirofilariose canine dans le Var, étude bibliographique*. Th. : Med.Vet., Toulouse, 03-63pp.

21. Georgi J. R., Georgi M. C., Theodorides V. J. (1999). *Parasitology for Veterinarian*. 7th Ed. W.B. Saunders Company London, 3-5pp.
22. Glaser A. (2004). West Nile virus and North American unfolding story. *Rev Scientifique et Technique de l'Office International des Epizooties*, 23: 557-568.
23. Greathead P.J., Kooyman C., Launois-luong M.H., Popov G.B. (1994). les ennemis naturels des Criquets du Sahel. *Coll.Acrid.operat.* Ed. cirad-gerdat-prifas, France, 147p.
24. Guillomot L., (2006). Les moustiques et la dengue. Article , *Institut Pasteur de Nouvelle Calédonie*, 15p.
25. Hamer G. L., Kitron U. D., Brawn J. D., Loss S. R., Ruiz M. O., Goldberg T. L., Walker E. D. (2008). *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae) : a bridge vector of West Nile virus to humans. *Journal of Medical Entomology*, janvier, 45: 125-128.
26. Hernandez-velazquez V. M., Hunter D. M., Barrientos-Lozano L., Lezama-Gutierrez R., Reyes-Villanueva F. (2003). Susceptibility of *Schistocerca piceifrons* (Orthoptera: Acrididae) to *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (Deuteromycotina: Hyphomycetes): laboratory and field trials. *J. Orthoptera Res.*12: 89-92.
27. Hunter D.M., Milner R.J., Spurgin P.A. (2001). Aerial treatment of the Australian plague locust, *Chortoicetes terminifera* (Orthoptera: Acridae) with *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes), *Bull. Entomol. Res.*, 91: 93–99.
28. Kettle D.S. (1995). *Medical and Veterinary Entomology*, 2ed., Wallingford: CAB international, 725 p.
29. Kitron U., (1998). Landscape ecology and epidemiology of vector-borne diseases: tools for spatial analysis. *J Med Entomol*, 35(4): 435-45.
30. Kooyman C. (2007). *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*, la matière active du Green Muscle®, *Atelier international sur l'avenir des biopesticides en lutte contre le criquet pèlerin*. Ed. The orthopterist's society Saly, Sénégal 12-15 février, 32 p

31. Kooyman C., Ammati M., Moumène K., Chaouch A., Zeyd A., (2005). Essai de Green muscle sur les nymphes du criquet pèlerin dans la wilaya d'El Oued, Nord Est Algérien. avril-mai 2005. *Rapport FAO TAC 715*, 22p.
32. Lane R. P., Crosskey R. W. (1993). *Medical Insects and Arachnids*. Chapman & Hall, London, 723pp.
33. Liu N., Scott J. G., (1997). Phenobarbital induction of CYP6D1 is due to a trans acting factoron autosome 2 in house flies, *Muscadomestica*. *Insect Molecular Biology*, 6(1): 77-81.
34. McCoy C. W., Samson R. A., Boucias D. G., (1988). Entomogenous fungi, In Ignoffo C. M., & N. B. Mandava (eds.) Handbook of natural pesticides. *Microbial insecticides, part A*. CRC Press, Inc., Boca Raton, Vol 5, 151-236pp.
35. Pates H., Curtis C., (2005). *Mosquito behavior and vector control*. *Annual Review OfEntomology*, 50: 53-70.
36. Pautou G., Girel J., Pautou M. P., Gruffaz R., (1995). Hydrologie, paludisme et démoustication, l'exemple de la région Rhône-Alpes. *Revue de Géographie Alpine*, 1:33-52.
37. Petit S., Gogny M., Martel J.L., Pellerin J.L., Pinault L., Pouliquen H., Puyt J.D., Vandaele E. (2009). *Dictionnaire des Médicaments Vétérinaires*. 15ème Ed., Rueil-Malmaison : Editions du Point Vétérinaire, 2009. 1808 pp.
38. Price R.E., Müller E.J., Brown H.D., D'Uamba P., Jone A.A. (1999). The first trial of a *Metarhizium anisopliae* var. *Acridummyco-insecticide* for the control of the red locust in a recognised outbreak area. *Insect Science and its Application*, Vol.19, No.4, 323-331pp.
39. Rajnchpel-Massi J. (1990). *Les biopesticides*. *Rev, Biofutur*, Paris, 23-24pp.
40. Rappily, F. (1968). *Eléments d'écologie fondamentale*. Ed. Mac. Graw. Hill, Paris, 197p.

41. Ravallec M., Robert P. H., Coz J. (1986). Susceptibility of a culiciphagous predator, *Toxorhynchites amboinensis* (Doleschall), to the entomopathogenic hyphomycete *Metarhizium anisopliae* (Sorokin). *Cahiers ORSTOM, Entomologie Medicale et Parasitologie*, 24(4): 275-278.
42. Raymond M., Chevillon C., Guillemaud T., Lenormand T., Pasteur N. (1998). An overview of the evolution of overproduced esterases in the mosquito *Culex pipiens*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London, Biological Sciences*, 353: 1-5.
43. Regnault-Roger C. (2005). *Enjeux phytosanitaires pour l'agriculture et l'environnement*. Londres-Paris-New York, Lavoisier.
44. Riba G., (2000). *Fungi diagnosis and pathology of diseases from locust*, France, 72p.
45. Riba G., Azevedo J. L., Messias (c.), Dia Da Silveira W., Tuveron R. (1985). Studies on the inheritance of virulence in the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *J. Inaert. Pathol.*, 46 : 20-25.
46. Riba G., Silvy C., (1993). *Perspectives de la lutte microbiologique contre les ravageurs des cultures*, La lutte biologique, France, 230p.
47. Ripert C., (2007). Epidémiologie des maladies parasitaires. *Infections provoquées ou transmises par les arthropodes*, Tome 4, Cachan : EM inter, 581pp.
48. Rodhain F., Perez C., (1985). *Précis d'Entomologie Médicale et Vétérinaire*, Ed. Maloine, 114p.
49. Rozendal J.A . (1999). *La lutte anti vectorielle : Organisation Mondiale de la Santé*. Genève, 1p.
50. Toral Y Caro M. (2005). Evaluation in vitro de l'efficacité du fipronil sur *Culex pipiens pipiens*. *Th. : Med.Vet. : Toulouse*, 99-53pp.
51. Tran A., Coroller F., Guis H., François R., (2005). *Rev. Epidémiol et santé anim*, France, 47,51pp.

52. Senevet G., Andarelli L. (1999). Les moustiques de l'Afrique du Nord et du Bassin Méditerranéen, les genres *Culex*. *Encyclopédie entomologique*, ed. Lechevalier P, Paris, 383p.
53. Singleton P. (2005). *Bacteriologie pour la médecine, la biologie et la biotechnologie-cours*. Ed. dunob collection sciences sup, Vol.6, France, 542p .
54. Starosta P. (2003). *Insectes*. Ed. Du Chêne, Rev. Insectes, vol 3, France, 146p.
55. Urquhart G. M., Armour J., Duncan J. L., Dunn A. M., Jennings F. W. (1996). *Veterinary parasitology*. 2nd edition. Blackwell science, Oxford, 307 pp
56. Zimmermann G. (1993). The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Pesticide Science*, 37: 375-379.

Annexe I

Tableau 1 : Produits chimiques insecticides et leurs dangers (Rozendaal, 1999).

Produit chimique	Liste des dangers
<p>Classe I</p> <p>Les organochlorés : exemple : Lindane et l'endosulfan</p>	<p>Insecticides extrêmement dangereux pour l'homme.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Produit extrêmement toxique. -Utilisés en agriculture, vendus au pays du tiers monde. -Sont immunodépresseurs, suspectés d'être cancérigènes (associer au cancer du sein et aux tumeurs cérébrales chez es enfants)
<p>Classe III</p> <p>Les organophosphorés : Diazimon Malathion</p>	<p>Insecticides peu dangereux pour l'homme dans les conditions normales d'utilisation.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Un Grand nombre d'entre eux est mutagènes et suspectés d'être cancérigènes (leucémie, lymphome, myélome). -S'accumulent dans les organes. -Provoquent le développement d'une forme de résistance chez les insectes.
<p>Classe II</p> <p>Le pyrèthre et les pyrèthre-noïdes de synthèse : Cyperméthrine</p>	<p>Insecticides modérément dangereux pour l'homme dans les conditions normales d'utilisation.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Agit en perturbant la cinétique d'inactivation du canal sodium, entraînant la paralysie puis la mort de l'insecte -Se présentent sous forme de vaporisateurs et diffuseurs. -Se dégrade très rapidement sous l'effet de la lumière (atout de point de vue écologique) -Toxique pour les organismes à sang froid, suspectés d'être cancérigènes.
<p>Classe U</p> <p>Aérosols et vaporisateurs et évaporateurs électriques</p>	<ul style="list-style-type: none"> - insecticides peu susceptibles de présenter un danger pour l'homme dans les conditions normales d'utilisation. -Leurs minuscules gouttelettes toxiques peuvent pénétrer dans le sang par l'intermédiaire des poumons. <p>Pour les vaporisateurs leurs gouttelettes sont plus grosses d'ont beaucoup tombent immédiatement sur le sol d'où sa pollution.</p>

Annexe II

Matériel de travail

1. Petit matériel:

- | | |
|--------------------|----------------------|
| -Erlen Meyer | -Cages d'élevages |
| -Tubes à essai | -Boite de dissection |
| -Bécher | -Tube d'aspiration |
| -Eprouvette | -Coton |
| -Lamelles | -Pulvérisateurs |
| -Flacons | -Boites en plastique |
| -Spatule | -Moustiquaire |
| -Entonnoir | -Bac d'eau |
| -Pipettes pasteurs | -Boites de Petri |
| -Pipette graduées | -Papier filtre |
| -Lames/Lamelles | -Cellule de Malassez |
| -Gants | -Elastiques |
| -Parafilm | -Béchers |

2. Appareillage :

- | | |
|-----------------------|------------------------|
| -Plaque chauffante | -Etuve Memmert |
| -Agitateur magnétique | -Bec Bunsen |
| -Balance de précision | -Distillateur |
| -Réfrigérateur | -Hotte |
| -Autoclave | -Microscope photonique |
| -Loupe binoculaire | |

3. Réactifs et produits utilisés :

-Glucose

-Agar-agar

-Pomme de terre

-L'eau distillée

-L'eau de Javel

-Alcool

-Miel

-Nourriture pour poisson