

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Frères Mentouri Constantine 1



Département de Microbiologie

N ° de série :

MEMOIRE

Présenté en Vue de l'Obtention du Diplôme de Master domaine :

Science de la nature et de la vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

Intitulé :

**L'activité antibactérienne de champignons
entomopathogènes**

Présenté et soutenu par :

Bouabdallah Samia

Litim Afaf

Sahnoune Chemseddine

Soutenu le : 11 / 07 / 2019

Devant le jury :

Président : Mme. Mergoud Lilia (M.A.A) UFM Constantine

Examineur : Mme Belmesikh Aicha (M.A.A) UFM Constantine

Encadreur : Mme. Abdelaziz Ouided (M.C.B) UFM Constantine

Année Universitaire 2018-2019

REMERCIEMENT

Au terme de ce humble travail nous tenons à remercier en premier lieu notre professeur et encadreur Melle. Abdelaziz ouided pour le temps qu'elle a consacré et pour son suivi et énorme soutien, qu'elle n'a cessé de nous prodiguer tout au long de la période de ce travail

Nous tenons également à remercier Melle Arabet dalel pour les précieuses informations qu'elle nous a prodigué avec intérêt et compréhension.

Nous adressons aussi nos vifs remerciements aux membres des jurys pour avoir bien voulu examiner et juger ce travail.

Nous tenons aussi à remercier nos familles et amis pour le soutien moral et encouragements

Dédicaces

Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux qui me sont chers,

A ma mère

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon

bien être

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Puisse Dieu , vous accorder santé, bonheur, et longue vie.

A mon père

Aucune dédicace ne saurait exprimer mes sentiments d'amour et de gratitude pour tous les soutiens et les sacrifices dont vous avez fait preuve à mon égard.

Que dieu vous préserve et vous procure santé et longue vie.

*A mes frères et mes sœurs qui ont partagé avec moi
tous les moments difficiles de ma vie, qui m'ont
supporté encouragé tout au long de mon parcours.*

*A mon très cher fils Nazim tu es ma raison de
vivre, tu es ce que j'ai de plus cher au monde*

*A mes neveux Louai, lokmane, Djarwad et Mohamed
à ma petite nièce adorée Loudjaine ;je vous aime
énormément .*

Litim afaf

Table des matières

	Page
Liste des abréviations	
Liste de figures	
Liste des tableaux	
INTRODUCTION	1
PARTIE BIBLIOGRAPHYQUE	
1. Les champignons	3
2. Les champignons entomopathogènes	4
2.1. Généralité	4
2.2. Mode d'action	4
2.3. Les métabolites secondaires	6
3. Aspergillus	7
3.1. Taxonomie	8
3.2. Caractéristiques générales	8
3.3. Production des métabolites secondaires	9
3.4. L'effet d'Aspergillus sur les insectes (<i>Aspergillus clavatus</i>)	8
Matériel et Méthodes	
1. Les insectes	11
2. Etude mycologique	12
2.1. Isolement des champignons	12
2.2. Purification	12
2.3. Identification	13
2.3.1. Identification macroscopique	14
2.3.2. Identification microscopique	14
3. Activité antibactérienne	15
3.1. Matériels biologiques	15
3.1.1. Champignons	15
3.1.2. Bactéries	15
3.2. Le test antibactérien	17
Résultats et Discussion	
1. Isolement, purification et identification	18
2-Activité antibactérienne	20
Conclusion	28
Référence bibliographique	29

Liste des abréviations

C/N	Rapport carbone ,Azote
aw	Activité d'eau
ONPG	O-Nitrophényl- β -D-galactopyranoside
TDA	Tryptophane désaminase
VP	Voges-Proskauer (test d'acétoine)
Ca et Ca`	Cafards
P et p`	Papillons
Ab et Ab`	Abeilles
C et C`	Collembole

Listes des figures

	page
Figure 1 : Schéma du cycle d'infection	5
Figure 2 : Schéma d'une tête Aspergillaire	7
Figure 2 : la désinfection des insectes	12
Figure 4 : Technique de préparation des lames.	14

Liste des tableaux

	page
Tableau 1 : Les insectes collectés	11
Tableau 2 : Les bactéries tests	15
Tableau 3 : Identification macroscopique et microscopique des souches isolées	18
Tableau 4: L'activité antibactérienne	22

Introduction

Introduction

Les champignons pathogènes d'insectes, appelés également « Champignons entomopathogènes » occupent une place particulière en pathologie des invertébrés et dans la recherche d'organismes capables de réguler les pullulations d'invertébrés nuisibles, en santé végétale, humaine ou animale. Ils ont souvent une activité très dépendante des conditions environnementales notamment climatiques (Ferron *et al.*, 1991 ; Lacey *et al.*, 1996). Ils sont utilisés comme moyen écologiques pour la lutte contre les maladies qui touchent les cultures agricoles et constituent donc une alternative aux différents pesticides. Ces derniers sont non seulement toxiques pour l'environnement mais surtout, peuvent être véhiculés par la suite vers l'homme à travers les produits agricoles consommés.

Il existe actuellement environ 700 espèces de champignons répertoriées comme agents de lutte contre les insectes. Parmi les champignons à pouvoir entomopathogène, on peut citer les espèces appartenant au genre *Aspergillus*.

Aspergillus est un genre qui compte 250 espèces de champignons filamenteux saprophytes appartenant aux Ascomycètes. Le cycle de vie des *Aspergillus* comprend des scénarios asexués, parasexués et sexués.

Lors de la germination, les spores asexuées haploïdes se développent en filaments ramifiés ou hyphes, formant ainsi un mycélium. Différentes espèces d'*Aspergillus* se retrouvent dans l'environnement de l'insecte. Mais peu ont un effet insecticide direct (Bawin, 2016). Les espèces les plus souvent citées sont *A. flavus* et *A. parasiticus*. Concernant le mode d'action d'*Aspergillus*, deux hypothèses sont émises suite aux observations effectuées. En effet, des développements de mycélium ont été observés sur la cuticule de l'insecte mais aussi dans le tube digestif. Ce qui rejoint le mécanisme d'action des hypocréales (Seye *et al.*, 2014).

Les métabolites produits par les espèces d'*Aspergillus*, qui pourraient intervenir dans leur activité insecticide, sont principalement les protéines enzymatiques et des métabolites secondaires comme des toxines. Ainsi Medina *et al.* (2015) ont montré l'influence de la composition du milieu de culture sur l'excrétion des protéines par *A. flavus*. Ils ont pu identifier 14 protéines différentes notamment, une seule décrite sur l'extrait de pomme de terre dextrosé.

L'étude des champignons entomopathogènes, constitue un bon modèle pour aborder le principe de lutte biologique et intégrée contre les pucerons mais il demeure cependant en Algérie que la connaissance et la maîtrise des paramètres biologiques et physiologiques sous-tendant les champignons entomopathogènes restent encore négligés voire absentes. Ainsi La pathogénicité que l'on définit comme la capacité d'un agent microbien à provoquer une maladie et la virulence correspondant au caractère nocif et violent d'un pathogène sont deux

Introduction

éléments essentiels dans le choix d'un bon candidat de lutte biologique (**Lacey,1997 ; Ferron et al., 1993**).

Dans ce contexte, notre contribution dans cette étude est orientée vers un objectif visant à évaluer l'effet « entomopathogène » des champignons isolés à partir des insectes sur les bactéries :

1. Isolement, purification et identification des champignons entomopathogènes ;
2. Effet des champignons entomopathogènes sur les bactérie (Activité antibactériennes)

Partie

Bibliographique

Partie bibliographique

1. Les champignons

Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystème (Mueller et Schmit, 2007).

Les champignons, mycètes ou Fungi sont des organismes nucléés Eucaryotes (Blandeau , 2012). Immobiles (Chabasse *et al.*, 1999). Aérobie stricte et rarement anaérobie (Grigoriu , 1984). La majorité des champignons ont une préférence pour les milieux à pH acides (Jesu , 1998). Tallophytes (ils ne possèdent ni feuilles, ni tiges, ni racines) (Bouchet *et al.* , 1999 ; Boiron, 1996). Non chlorophylliens (ils ne peuvent pas comme les plantes synthétiser leur matière organique à partir du CO₂ atmosphérique) (Bouchet *et al.*, 2005). Sont des chimio-hétérotrophes (Larpent, 1997)

Tous les champignons ont une paroi constituée de (chitine, glucosane, chitine mananne, mananne-glucane,..) (Chabasse *et al.*, 1999) la présence de glycogène, comme substance de réserve (Tabuc, 2007).

Certains vivent en symbiose avec les végétaux, d'autres sont des parasites des végétaux ou des animaux, d'autres sont des saprophytes, se développant sur des déchets organiques.

Les moisissures sont aérobies, en général, acidophiles (pH compris entre 3 et 7) ((Nicklin *et al.*, 2000) et mésophiles (température optimale 20-30°C)(Botton *et al.*, 1990). Cependant, certaines espèces sont psychrophiles, se développant à basse température ($T^{\circ} < 15^{\circ}\text{C}$ ou même parfois $< 0^{\circ}\text{C}$, comme *Cladosporium herbarium*, *Thamnidium elegans*). Elles ont, en générale, un faible besoin en eau par rapport à d'autres microorganismes ($a_w = 0.65$) (Boiron, 1996). Elles sont souvent dotées de propriétés lytiques importantes (cellulolytique, pectinolytique, amylolytique, protéolytique, lipolytique, etc...) qui en font des agents de dégradation dangereux mais aussi parfois des alliés utiles (affinage des fromages, production d'enzymes).

La sporulation des moisissures est sous la dépendance des facteurs nutritifs ; en particulier du rapport C/N égale à 20 (Barker et Worgan, 1981 ; Botton *et al.*, 1990) ainsi que des facteurs environnementaux, essentiellement la lumière qui influence fortement la croissance de certaines moisissures, soit par destruction photochimique de constituants du milieu, soit en agissant directement sur le métabolisme fongique. Ainsi, l'induction de la synthèse des pigments caroténoïdes sous l'influence de la lumière, colore en orange le mycélium de certaines espèces.

Partie bibliographique

D'autres pigments voient également leur production stimulée par la lumière et colore diversement les moisissures (Boiron, 1996). Cependant, beaucoup de moisissures n'exigent pas de lumière pour sporuler (Botton *et al.*, 1990).

2. Les champignons entomopathogènes

2.1. Généralité

Un champignon entomopathogène est un champignon parasite d'insectes ou d'autre arthropodes, entraînant leur mort, les champignons entomopathogènes étant considérés comme des agents de mortalité des insectes naturels et surs par rapport à l'environnement, on s'intéresse dans le monde entier à leur utilisation et leur manipulation pour la lutte biologique contre les insectes et d'autres ravageurs (également appelée canidés).

Les champignons entomopathogènes sont des eucaryotes avec des noyaux, des organites bien définis et une paroi cellulaire chitineuse, ils se présentent parfois sous forme de cellules individuelles, mais le plus souvent sous forme de filaments constituant le mycélium et dans lesquels sont rangées les cellules. leur reproduction se fait par formation de spores sexuées ou asexuées. la sous-division des deutéromycètes regroupe les ascomycètes et les basidiomycètes qui sont des champignons filamenteux à hyphes septés, se reproduisant de façon végétative dont on connaît pas leur forme de reproduction sexuée (champignons imparfaits). (Ksentini, 2009).

Chez les champignons hyphomycetes ,environ 500 espèces (starnes *et al.*,1993) parmi lesquels, les genres *Beauveria*, *Metarhizium*, *Tolypocladium*, *Verticillium* et *Paecilomyces* sont les plus utilisées en lutte biologique (Kamp et Bidochka,2002).

2.2.Mode d'action :

Généralement, les champignons entomopathogènes tuent ou réduisent la vigueur des hôtes qu'ils infectent. ces ennemis naturels sont plus efficaces lorsque l'insecte ciblé est préalablement affaibli par un autre facteur comme un stress nutritif. Compte tenu de leur mode de transmission et de leurs besoins abiotiques, ils sont généralement très efficaces lorsque la densité des populations d'insectes ciblés est très élevées, quoi qu'il en soit, le système immunitaire des insectes peut fortement influencer la pathogénicité de ces ennemis naturels. La cuticule de l'insecte est une barrière structurellement et chimiquement complexe pour la pénétration du champignon (Clarkson et Charnley, 1996). Les champignons peuvent infecter les insectes par pénétration directe à travers la cuticule (Clarkson et Charnley, 1996), au contact de la cuticule de l'insecte, la spore, l'unité

Partie bibliographique

infectieuse du champignon, germe et pénètre au travers du tégument en combinant des pressions mécanique et enzymatiques (St Leger,1993).

Le champignon croit rapidement dans l'hémocoel. Les insectes susceptibles au champignon meurent généralement dans un délai de 3 à 10 jours. quand l'insecte meurt, le champignon entre dans un stade hyphal, colonise les organes internes puis sporule à la surface de l'insecte.

Le cycle infectieux est généralement le même pour tous les champignons entomopathogènes le processus de pénétration est l'étape la plus importante de la pathogène (Ferron *et al.*,1993).

Le mode d'infection des champignons entomopathogènes se divise en quatre étapes distinctes : l'adhésion, la germination, la pénétration et la dissémination (Figure 1)

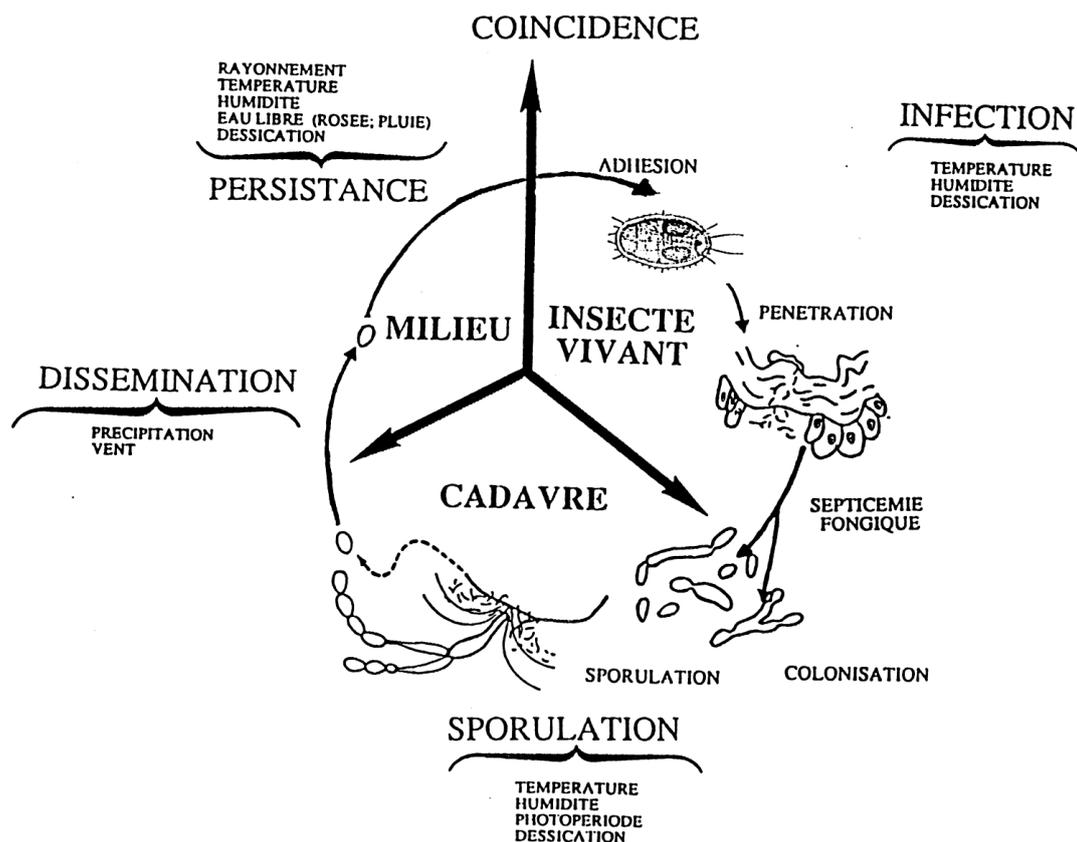


Figure 1 : Schéma du cycle d'infection (Vidal, 1997)

Partie bibliographique

2.3. Les métabolites secondaires

En effet, les champignons entomopathogènes méritent une attention bien particulière et pourraient être utilisés dans cette lutte biologique (Lacey et Undeen, 1986). On connaît plus de 400 espèces de mycètes entomopathogènes (Papierok, 1982). Ceux affectant les diptères sont regroupés dans les classes suivantes: Chytridiomycètes, Oomycètes, Trichomycètes, Zygomycètes et Métarhizium Deutéromycètes (De Barjac, 1987). Chez certains de ces champignons entomopathogènes, il y a production de mycotoxines. Les toxines sont souvent supposées être des armes chimiques, soit pour la défense des micro-organismes, soit pour l'attaque de l'hôte. On distingue deux types de toxines: les endotoxines: ce sont des toxines produites à l'intérieur de la cellule; les exotoxines: ce sont des toxines secrétées dans le milieu de culture par les cellules durant la phase active de leur croissance (Burgess et Hussey, 1971).

Plusieurs mycotoxines ont été identifiées et/ou isolées de filtrats de cultures ou de mycélium de: *Beauveria*, *Métarhizium*, *Nomuraea*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Verticillium*, *Paecilomyces*, *Isaria*, *Cordyceps* et *Entomophtho*. Parmi les mycotoxines déjà purifiées, on distingue: les destruxines: l'hyphomycète *Métarhiziumanisopliae* appartenant à la classe des Deuteromycètes produit plusieurs composés toxiques tels que: la prodestruxine, les destruxines A, B, C, D et la desmethyldestruxine B, et par la suite, on a isolé, à partir de ce champignon, les destruxines E1' A1' A.z, B1' ra (Ignoffo, 1988). *Anisopliae* (d'aB2' C2, D1' O2 et E1'. Ces dernières sont des cyclodepsipeptides. On a aussi isolé les protéases, les cytochalasines à partir du milieu de culture de ce même champignon (Païs et al., 1981). *Métarhiziumanisopliae* s'attaque aux Orthoptères, Coléoptères, Lépidoptères, Hémiptères, Hyménoptères et Arachnides (Ignoffo, 1988). Il s'attaque aussi aux Diptères

acordycépine (3'-déoxyadénosine): c'est une toxine produite par le Pyrenomycète clavicipitale *Cordycepsmilitaris* appartenant à la classe des Ascomycotina. Plus de 250 espèces de cordyceps ont été trouvées sur des espèces de Diptères, Hyménoptères, Coléoptères, Lépidoptères, Hémiptères Isoptères et Araignées (Ignoffo, 1988). Aflatoxines: Ce sont des toxines produites par *Aspergillus flavus* et *A. parasiticus*. On distingue les aflatoxines B1' B2' G1 et G2. *A. flavus* est un organisme ubiquiste qui constitue un contaminant d'aliments et de produit des aflatoxines (Wright, 1982). D'autre part, ces substances constituent pour les vertébrés des cancérigènes hépatiques (Vey, 1970). Un mélange d'aflatoxines provoque une réduction de fertilité chez les moustiques (*Aedes aegypti*)

Partie bibliographique

(Wright *et al.*, 1982). Chez les lépidoptères, les orthoptères et les coléoptères, les aflatoxines administrés à fortes doses provoquent une paralysie et des cas de mortalité rapide (Vey, 1970).

3-Aspergillus

Le nom *Aspergillus* est donné à un genre de champignons imparfaits (Deutéromycètes) qui comprend environ 180 espèces, appartiennent à l'embranchement des Ascomycota (Caillaud *et al.*, 2006). C'est un genre appartenant à la classe des Ascomycètes. Le thalle, hyalin ou coloré, présente un mycélium cloisonné portant de nombreux conidiophores dressés, terminés en vésicule (Figure 2) (Chermette et Bussiéras, 1993). Ce genre comprend environ 185 espèces réparties en 18 groupes morphologiquement, génétiquement et physiologiquement proches (Raper et Fennell, 1965 ; Botton *et al.*, 1990 ; Roquebert, 1998). Une vingtaine d'espèces est impliquée dans des pathologies animales et humaines. Les *Aspergillus* ont une large répartition géographique, mais sont plus souvent associés aux régions à climat chaud (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002); ils se développent sur la matière organique en décomposition, dans le sol, le compost, les denrées alimentaires, les céréales. De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont présentes dans l'environnement humain, notamment dans la poussière et l'air (Morin, 1994). Certaines espèces peuvent être directement pathogènes pour l'homme et les animaux en étant capable d'envahir les tissus vivants et provoquer des aspergilloses (*Aspergillus fumigatus* responsable de mycoses pulmonaires ; *Aspergillus niger* responsable d'aspergillose du conduit auditif) (Morin, 1994).

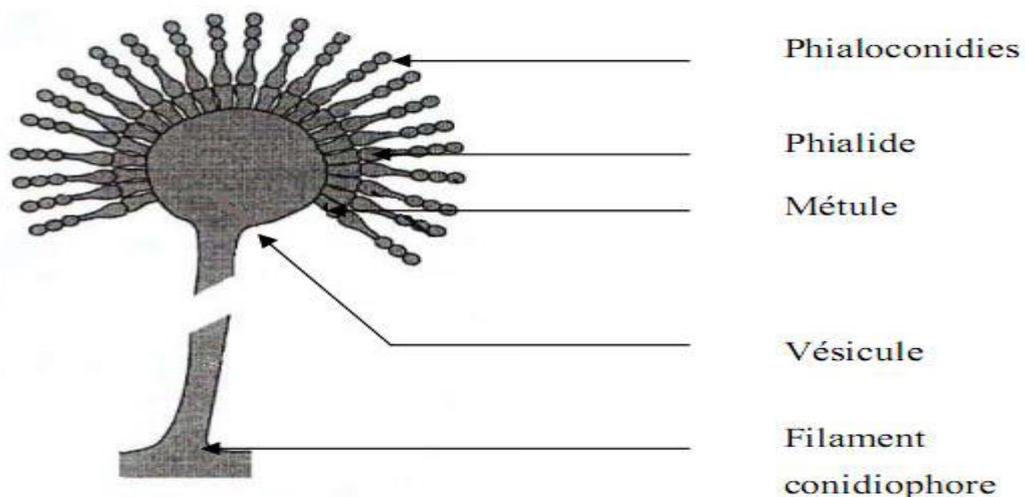


Figure 2 : Schéma d'une tête aspergillaire (modifié d'après Chermette et Bussiéras, 1993)

Partie bibliographique

De nombreuses espèces d'*Aspergillus* sont aussi connues pour leur capacité à produire des mycotoxines responsables de pathologies animales et humaines. Enfin, certaines espèces d'*Aspergillus* sont utilisées dans l'industrie agro-alimentaire et dans l'industrie des produits biotechnologiques notamment pour la production d'enzymes, d'acides organiques (Botton *et al.*, 1990).

3.1. Taxonomie

Les espèces du genre *Aspergillus* appartiennent au règne des Fungi, à l'embranchement des Ascomycota qui regroupe des champignons à mycelium cloisonné (champignons septomycetes) présentant une reproduction sexuée avec formation d'asques contenant des ascospores. Les *Aspergillus* sont inclus dans le sous-embranchement des Pezizomycotina, la classe des Eurotiomycetes, la sous-classe des Eurotiomycetidae, et l'ordre des Eurotiales qui est caractérisé par des asques contenus dans des ascocarpes de type cleistothèce ou plus rarement gymnothèce, et par une multiplication asexuée par phialides produisant des phialoconidies (Hibbett *et al.* 2007 ; Bennett, 2010).

3.2. Caractéristiques générales

Les *Aspergillus* présentent une croissance rapide sur les milieux de culture classiques (gélose au malt, Sabouraud) additionnés d'antibiotiques. Après 48 heures d'incubation, on observe des colonies plates, formées de courts filaments aériens, blancs ; après 96 heures d'incubation, les colonies vont prendre leur teinte caractéristique, brune, verte, jaune ou noire selon les espèces. La majorité des *Aspergillus* poussent à 22-25°C ; les espèces thermophiles (*A. fumigatus*) se développent à 37-40°C est parfois jusqu'à 57°C (Badillet *et al.*, 1987 ; Morin, 1994). Les *Aspergillus* forment des colonies souvent poudreuses ou granuleuses. La couleur de colonies permet une orientation rapide dans l'identification d'espèces : gris-vert pour *A. fumigatus*, vert-jaune pour *A. flavus* et les espèces du groupe *A. glaucus*, vert foncé à chamois pour *A. nidulans*, brun cannelle pour *A. terreus*, chamois clair, jaune et rose pour *A. versicolor*, jaune puis noir pour *A. niger* et blanche pour *A. candidus*. Le revers de la colonie est incolore ou jaune, mais il peut brunir ou rougir avec l'âge (Chermette et Bussieras, 1993).

Microscopiquement, les *Aspergillus* sont caractérisés par un appareil végétatif (thalle) formé de filaments mycéliens hyalins, de diamètre fin et régulier, septés et ramifiés. Sur les filaments végétatifs prennent naissance des filaments dressés, non cloisonnés (conidiophores) qui se terminent par une vésicule de forme variable sur laquelle sont disposées les cellules

Partie bibliographique

conidiogènes ou phialides. Les phialides peuvent être insérées directement sur la vésicule (têtes unisériées) ou portées par des petites structures insérées sur la vésicule (têtes bisériées) nommées métules ou stérigmates (Badillet *et al.*, 1987 ; Raper et Fennell, 1965). Les conidies, sèches, disposées en chaînes divergentes ou associées en colonnes compactes, sont toujours unicellulaires, globuleuses, sub-globuleuses ou elliptiques, lisses ou ornementées, hyalines ou pigmentées en jaune, vert, brun ou noir. L'ensemble vésicule ± métules + phialides + conidies constitue la tête aspergillaire caractéristique du genre *Aspergillus*. Pour certaines espèces, des formations sexuées apparaissent parfois en culture. Il s'agit de cléistotèques qui contiennent des ascques arrondis renfermant chacun 8 ascospores. Les « hülle cells » ou les cellules en noisette, sont des formations arrondies, réfringentes à très verruqueuses. Les sclérotés parfois différenciés.

3.3. Production des métabolites secondaires

Au cours de ces dernières années, de nombreux métabolites secondaires ont été découverts. Ce sont des molécules ayant des activités nouvelles dans divers champs d'applications : pharmacie, cosmétique, alimentation et agriculture. Ils sont utilisés en tant qu'anti-inflammatoires, hypotenseurs, anti-tumoraux, anti-cholestérolémiques, insecticides, régulateurs de la croissance végétale ainsi qu'en tant qu'herbicides et pesticides écologiques. Ils comprennent les acides, les alcaloïdes, les antibiotiques, les immunodépresseurs, les immunostimulants, les arômes et les enzymes (Boiron, 1996).

Les métabolites secondaires se caractérisent par le fait que leur production n'est pas indispensable à la croissance du micro-organisme, qu'ils sont de structure et d'activité biologique des plus diverses, qu'ils possèdent des voies de synthèse qui leur sont propres à partir de produits du métabolisme primaire et qu'ils sont généralement produits en faible quantité (Larpen-Gourgaud et Sanglier, 1992 ; Tortora *et al.*, 2003).

Parmi les métabolites secondaires nous pouvons citer :

➤ Les mycotoxines sont des produits peu volatiles, de faible poids moléculaires, élaborés par diverses moisissures sous certaines conditions environnementales. Chaque mycotoxine n'est pas nécessairement spécifique à une moisissure donnée. La gliotoxine, par exemple, peut aussi bien être produite par *Aspergillus fumigatus* que par *Trichoderma viridae*. De même, une moisissure donnée peut produire plusieurs toxines ; *Aspergillus fumigatus*, agent étiologique de certaines atteintes pulmonaires, fabrique plus de huit toxines différentes (Maheux, 1998) : fumigaclavine, fumigatoxine, fumitremorgène, gliotoxine, acide helvéolique, etc. *A.niger* fabrique

Partie bibliographique

l'acide oxalique, *A. versicolor* fabrique l'aspercolorine, la sterigmatocystine, la versicolorine. (Halewyn *et al*, 2001).

➤ les antibiotiques sont des substances chimiques et/ou organiques produites par un petit nombre de microorganismes et exerçant une action toxiques envers d'autres microorganismes dont principalement les bactéries. Parmi un total de quelques 10700 antibiotiques décrits pour l'ensemble du monde vivant, environ 1600 proviennent des champignons. Les genres *Aspergillus* et *Penicillium* ainsi que les espèces de l'ordre des Monilliales constituent les réservoirs les plus importants (Botton *et al*, 1990) par exemple *Aspergillus flavus* fabrique comme antibiotique l'acide aspergillique, *Aspergillus fumigatus* fabrique la fumagilline.

3.4. L'effet d'*Aspergillus* sur les insectes (*Aspergillus clavatus*)

Les *Aspergillus* font partie de cette deuxième catégorie. Ces champignons saprophyte présentent sous la forme de longs filaments. On en trouve partout dans le monde et dans des écosystèmes très divers, depuis les matières organiques qui se décomposent dans la nature jusqu'aux aliments oubliés qui pourrissent au fond de nos frigidaires. Du fait de leurs interactions étroites avec les insectes dans l'environnement, certaines espèces d'*Aspergillus* peuvent développer un comportement pathogène sur ceux-ci. Sur le plan scientifique, ce phénomène reste globalement peu documenté. Si quelques souches ont bien été isolées depuis divers insectes malades et montrées responsables de leurs maux, les mécanismes d'action menant à la mort de l'insecte, les composés impliqués et le spectre d'hôtes potentiellement infectés ont été peu étudiés. Cette zone d'ombre rend très aléatoire - voire dangereuse - toute utilisation de ces champignons dans l'environnement.

Matériels

Et

Méthodes

Matériels et Méthodes

Ce travail porte sur la production des substances antibactériennes secrétées par des mycètes isolés à partir des insectes . En effet, les insectes utilisés pour cet objectif sont collectées des différents sites (Jardin à pot) de la région de Sétif .

1.Les insectes

Les échantillons ont été collectés d'un jardin à pots, région de Sétif (Un cafard ;une abeille ; un papillon et une collembole) (Tableau 1)

Tableau 1 : Les insectes collectés

Insectes	Genre	Photo
Un cafard des caves	<i>Blatta orientalis</i>	
Un papillon	<i>Pieris brassicae</i>	
Une abeille	<i>Apis mellifera</i>	

Matériels et Méthodes

Une collembole	<i>Dicyrtoma sp</i>	 http://francois.juignet.over-blog.net
----------------	---------------------	---

2. Etude mycologique

2.1. Isolement des champignons

Les insectes sont mis sur un sol humide dans des boîtes sombres et fermées pendant quelques jours ; après ils sont récupérés et désinfectés à l'eau de javel (16°) ; puis rincés par l'éthanol (95%) et en fin l'eau distillée stérile (figure 3) ; ensuite ils ont été déposés dans des boîtes de pétri contenant le milieu de culture PDA+ la Gentamycine à la raison de 1 mg /l (**voir annexe**). Les boîtes sont incubées à 30°C pendant une semaine.

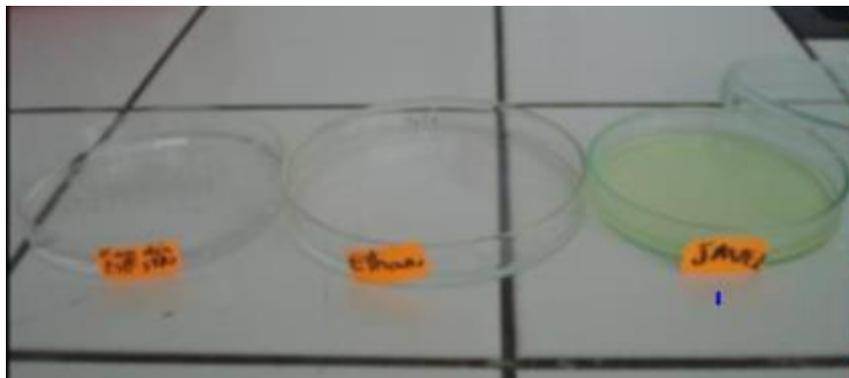


Figure 3 : La désinfection des insectes

2.2. Purification

La purification concerne principalement les colonies dont les caractères cultureux sont différents. Il s'agit donc de prélever quelques spores ou une petite bouture mycélienne à la marge du thalle et de l'ensemencer de manière aseptique dans des boîtes de Pétri contenant le milieu PDA. Afin d'obtenir un développement typique du champignon, l'inoculation est réalisée en un seul point au centre de la boîte (**Botton et al. ,1990**).

2.3. Identification

2.3.1. Identification macroscopique

L'examen macroscopique des souches isolées, permet de déterminer les caractères culturaux suivants : la croissance et le développement du champignon, le diamètre de la colonie, sa texture, la couleur du thalle, la couleur du revers ainsi que son odeur (Harrigan et Mc Cance, 1976 ; Botton *et al.*, 1990 ; Rinaldi *et al.*, 1998).

2.3.2. Identification microscopique

L'observation microscopique s'effectue sur un petit fragment mycélien soigneusement prélevé à la marge du thalle à l'aide d'une Anse de Platine stérile. Le fragment prélevé est ensuite coloré au Lactophénole Bleu de Cotton (Annexe 1) (Packer et Thomas, 1990), ce qui permet ainsi de détecter la présence et la nature du mycélium, la présence ou l'absence du septum, les caractéristiques des fructifications et les spores etc. (figure 2)(Samson *et al.*, 1988 ; Hawksworth *et al.*, 1994 ; DeHoog and Guarro, 1995 ; Gamset *et al.*, 1998).

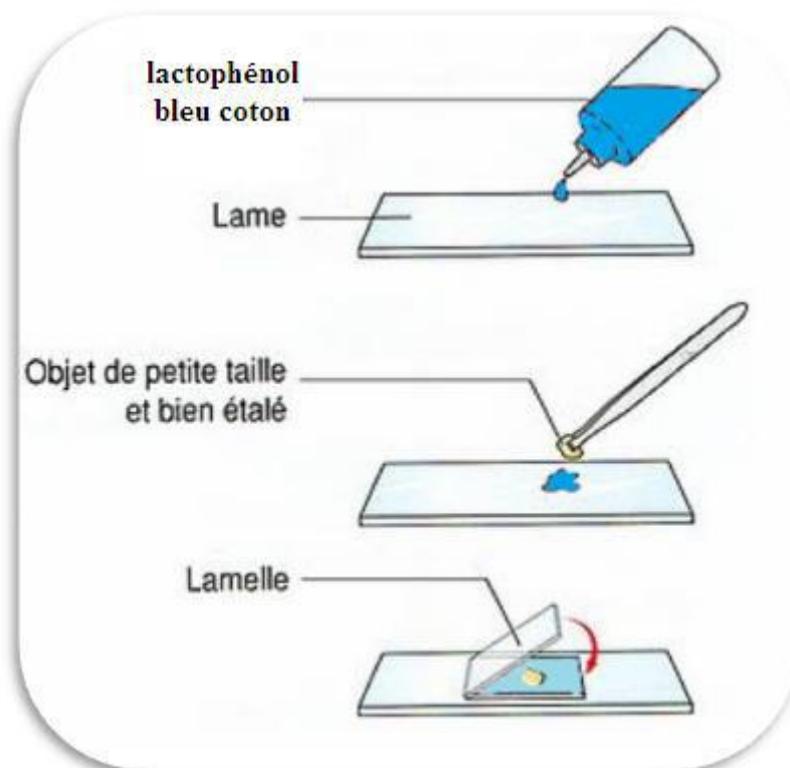


Figure 4: Technique de préparation des lames.

3. Activité antibactérienne

3.1. Matériels biologiques

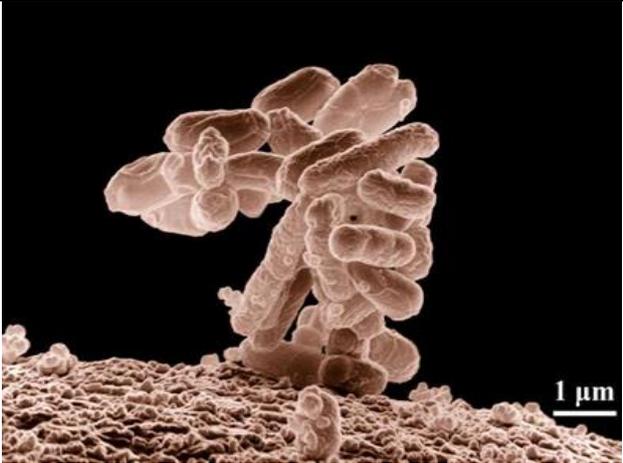
3.1.1. Champignons

18 isolats fongique ont été obtenus des échantillons des insectes représentant 2 espèces : *Aspergillus parasiticus* et *Aspergillus fumigatus*

3.1.2. Bactéries

Les bactéries test (*E. coli* , *Pseudomonas sp* , *Staphylococcus sp* , *Citrobacter sp* , *Proteus sp* , *est Morganella sp*) sont fournis par le laboratoire de microbiologie RDC, Faculté de science de la nature et de la vie, Université des frères Mentouri Constantine (Tableau 2)

Tableau 2 : Les bactéries tests

Bactérie	Image microscopique
<p>-E.Coli Forme : bacille Gram : négatif Culture : aérobic Genre : <i>Escherichia</i> Espèce : <i>coli</i> Nom courant : colibacille Habitat : constitue la majorité de la flore intestinale aérobic; peut se retrouver également au niveau des muqueuses de l'homme et de l'animal. www.antibio-responsable.fr</p>	 <p>www.futura-sciences.com</p>
<p>-Pseudomonas Le genre <i>Pseudomonas</i> comprend des bactéries en forme de bâtonnets, aérobies à Gram négatif et mesurant de 2 à 4 μm de longueur. Leur flagelle en assure la mobilité et joue un rôle dans la pathogénicité. <i>Pseudomonas</i> peut produire des pigments comme la pyocyanine (vert- bleu) et la pyorubrine (jaune- vert), fluorescentes. www.futura-sciences.com</p>	 <p>www.aquaportail.com</p>

Matériels et Méthodes

Staphylococcus sp

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative
<http://www.chups.jussieu.fr>



microbes-edu.org

Citrobacter sp

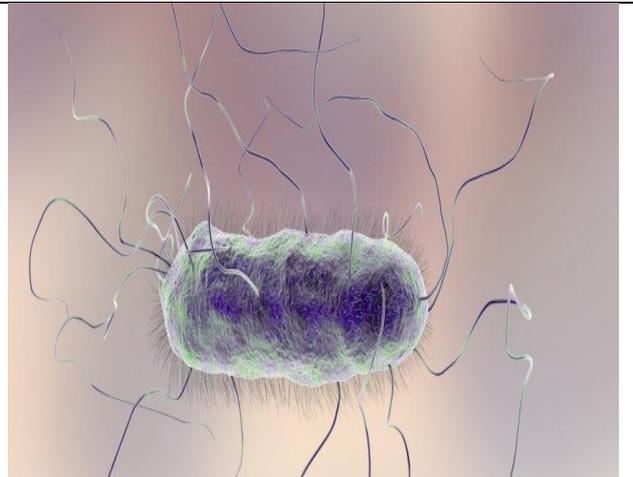
Les bactéries du genre *Citrobacter* font partie de la famille des Enterobacteriaceae; il s'agit de bacilles ou de coccobacilles Gram négatif et facultativement anaérobiques de 0,3 à 1 µm de diamètre et de 0,6 à 6 µm de long dont la mobilité est assurée par des flagelles péritriches. Les bactéries du genre *Citrobacter* fermentent le mannitol et produisent du H₂S gazeux; elles sont aussi capables d'utiliser le citrate de sodium comme unique source de carbone
<https://www.canada.ca>



123RF.com

Proteus

Les bactéries du genre *Proteus* sont des bacilles (en forme de bâtonnets) Gram négatif aérobies mobiles qui font partie de la famille des entérobactéries. Les entérobactéries mesurent habituellement de 0,3 à 1,0 µm de large par 0,6 à 6,0 µm. Il s'agit de bactéries uréase positives capables d'essaimage lorsque cultivées en milieu solide. Elles font partie de la flore gastro-intestinale normale de l'humain
<https://www.canada.ca>



Hygiene-in-practice.com

Morganella sp

Famille des Enterobacteriaceae.

Bacille à Gram négatif, initialement appelé *Proteus morganii*.

Morganella morganii appartient au groupe des bactéries ONPG-négatives.

fermentation des sucres : glucose +
réduction des nitrates en nitrites +++
métabolisme du tryptophane en indole +++,
ONPG ---, H₂S ---
uréase +, TDA +, VP ---,
gélatinase ---

<http://www.chups.jussieu.fr>



alamyimages.fr

3.2. Le test antibactérien

Le test de l'activité des isolats identifiés consiste à rechercher son effet antibactérien sur le développement des bactéries test (*E.coli* , *Pseudomonas sp* , *Staphylococcus sp* , *Citrobacter sp* , *Proteus sp* , est *Morganella sp*).

Un écouvillon stérile trempé dans la suspension bactérienne standardisé a servi à ensemercer uniformément toute la surface de la boîte de gélose Muller Hinton voir annexe. Après séchage de la surface (environ 5 min), des disques de 5 mm de diamètre d'une colonie mycélienne de 6 à 9 jours (suivant le développement) réactivée sur PDA sont déposés sur la gélose précédente. Après deuxième séchage, les boîtes de Pétri sont incubées à 37°C pendant 24h. Les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés au millimètre près (Prescot, 1995 ; Madigan *et al.*, 1997).

Résultats

Et

Discussion

Résultats et discussion

1. Isolement, purification et identification

L'isolement des moisissures est fait à partir des insectes de la région de Sétif .

Sur 4 échantillons prélevés, nous avons isolé 18 souches représentant deux espèces :
Aspergillus fumigatus et *Aspergillus parasiticus* (tableau 3)

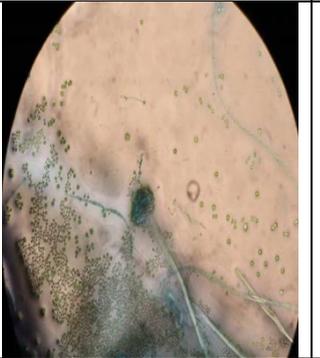
Le genre majoritaire

Les souches isolées de Ca Ca` : 100% *Aspergillus fumigatus*

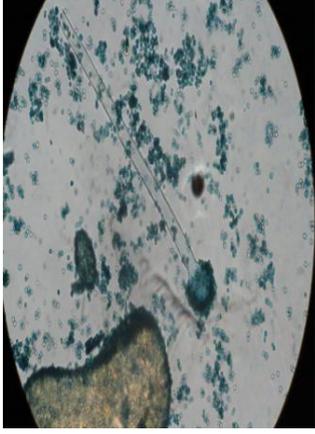
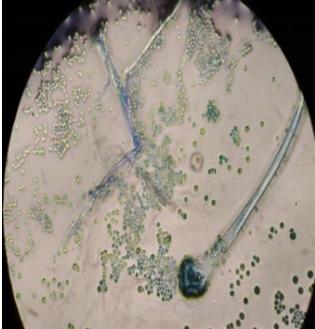
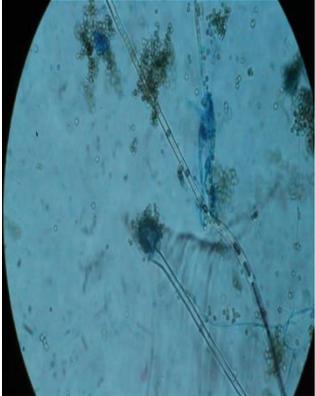
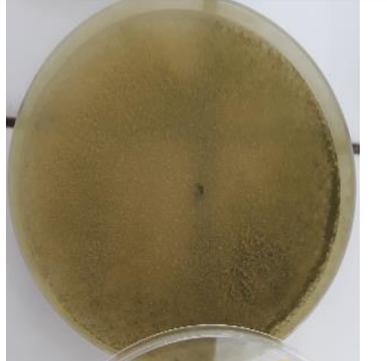
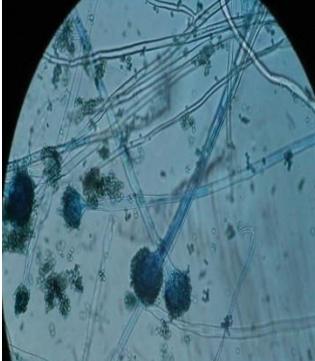
Les souches isolées de P et P` : 100% *Aspergillus parasiticus*

Les souches isolées de C et C` : 50% *Aspergillus fumigatus* ; et
50%*Aspergillus parasiticus*

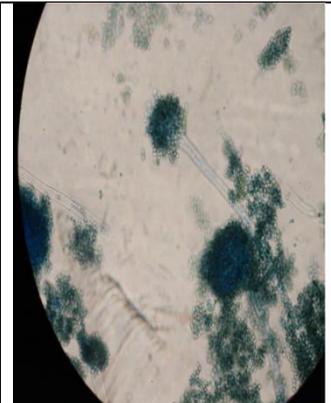
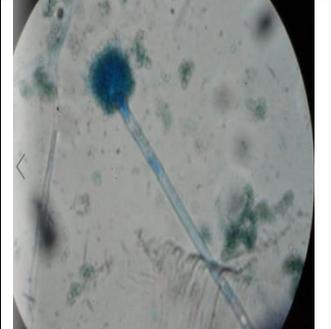
Tableau 3 : Identification macroscopique et microscopique des souches isolées

Souche	Macroscopique	Microscopique	Espèce
Ca`3			<i>Aspergillus fumigatus</i>
P`2			<i>Aspergillus parasiticus</i>

Résultats et discussion

Ca 2	 <p>23/04/19 FDA Ca 2</p>		<i>Aspergillus fumigatus</i>
Ca 3	 <p>23/04/19 FDA Ca 3</p>		<i>Aspergillus fumigatus</i>
Ca 2	 <p>23/04/19 FDA Ca 2</p>		<i>Aspergillus fumigatus</i>
C 2			<i>Aspergillus parasiticus</i>

Résultats et discussion

P 2			<i>Aspergillus parasiticus</i>
C 3			<i>Aspergillus fumigatus</i>

2-Activité antibactérienne

Le tableau 4 révèle que les isolats fongiques peuvent être divisés en 3 groupes en fonction de diamètre de la zone d'inhibition :

- Des isolats à fort effet antibactérien, le diamètre de la zone d'inhibition sur les bactéries test est égal ou supérieur à 13mm. Il s'agit d'*Aspergillus fumigatus*(ca1 ,ca`1) *Aspergillus parasitus* (p1, c1, p`)
- Des isolats à effet moyen, le diamètre de la zone d'inhibition sur les bactéries test est égal ou inférieur à 13 mm : *Aspergillus fumigatus* (c1 ,ca`1)*Aspergillus parasiticus* (c1,p`1)
- Des isolats à effet faible : Le diamètre de la zone d'inhibition sur les bactéries test est égal ou inférieur à 6 mm :*Aspergillus fumigatus* (ca1, ca`1) *Aspergillus parasiticus* (p`1)

Résultats et discussion

Par ailleurs, la fréquence d'effet antibactérien des isolats sur l'ensemble des bactéries est :

- **Sur *E. coli* :**

Des isolats à fort effet antibactérien sont : *Aspergillus fumigatus* (ca1, ca`1)

Aspergillus parasiticus(p1)

- **Sur *Staphylococcus* :**

Des isolats à fort effet antibactérien sont : *Aspergillus parasiticus*(p`, c1, p1)

- **Sur *Pseudomonas sp* :**

Des isolats à fort effet antibactérien sont : *Aspergillus parasiticus*(p1, p`1)

Aspergillus fumigatus(ca`1, ca1)

- **Sur *Proteus sp* :**

Des isolats à fort effet antibactérien sont : *Aspergillus parasiticus*(p1, c1, p`1)

Aspergillus fumigatus (ca`1, ca1)

- **Sur *Citrobacter sp***

Des isolats à fort effet antibactérien sont *Aspergillus parasiticus*(p1,

c1), *Aspergillus fumigatus*(ca1, ca`1)

- **Sur *Morganella sp***

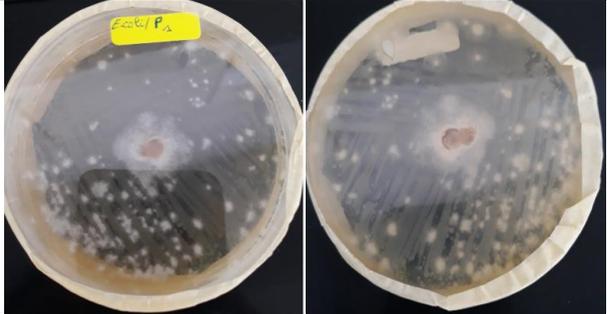
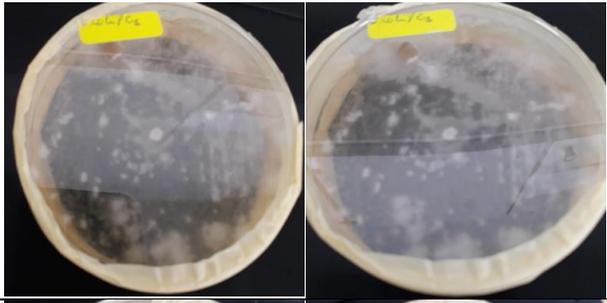
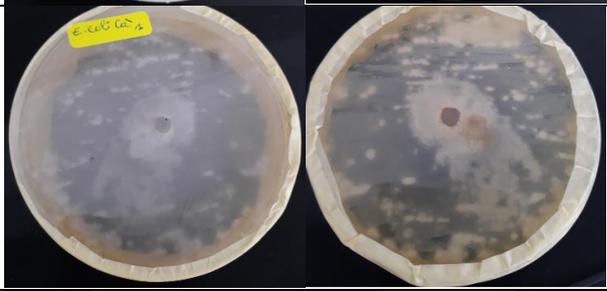
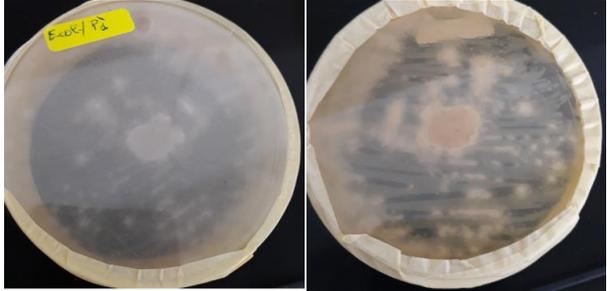
Des isolats à fort effet antibactérien sont : *Aspergillus parasiticus* (p1, c1)

L'évaluation de l'activité antibactérienne des souches isolées par la méthode de diffusion sur gélose est la méthode de détermination des zones d'inhibition autour les disques. Les résultats sont présentés dans le tableau .

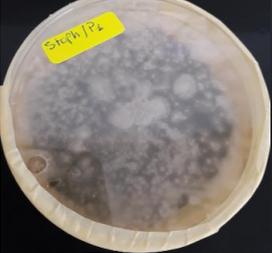
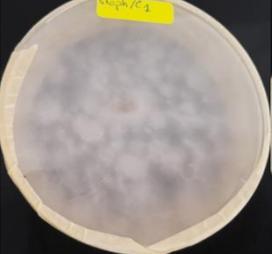
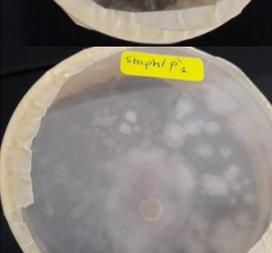
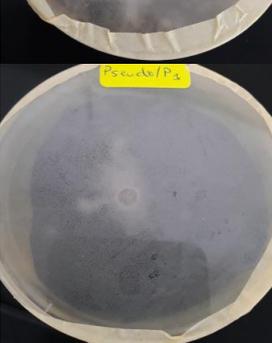
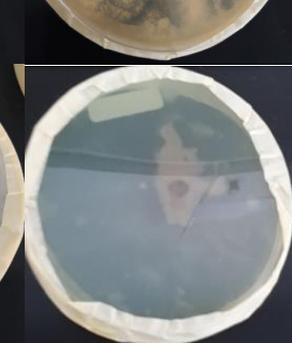
On remarque que l'espèce *A. parasiticus* isolée depuis p ; c ; p` avais un effet inhibiteur sur toutes les souches bactériennes testés, où ces derniers démontrent une grande sensibilité vis-à-vis *A. parasiticus* qui est présentée par une importante zone d'inhibition mesure jusqu'à 3,25 cm qu'on a noté chez *Morganella* cependant l'espèce *Aspergillus fumigatus* venant de Ca ; Ca`, avais le même effet inhibiteur chez toutes les souches à l'exception de *Morganella* où les résultats étaient négatifs.

Résultats et discussion

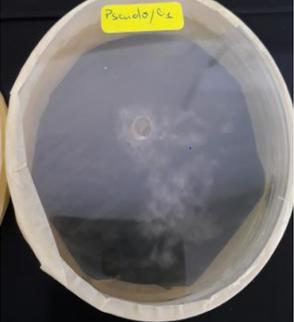
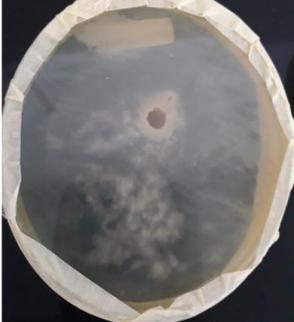
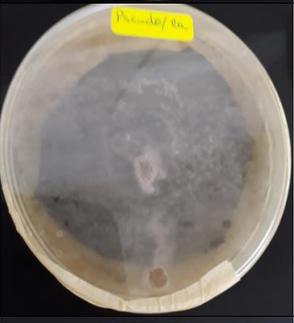
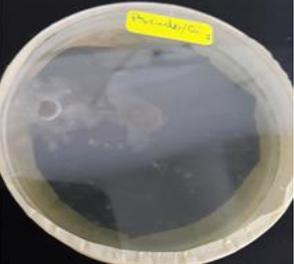
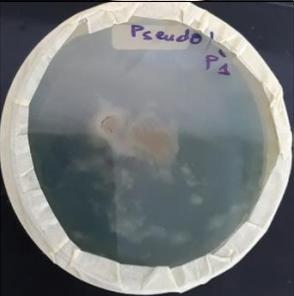
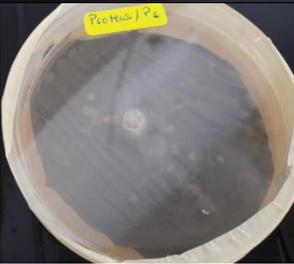
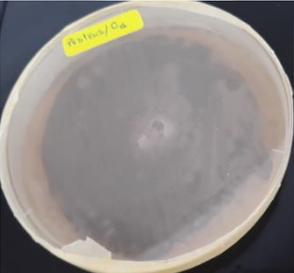
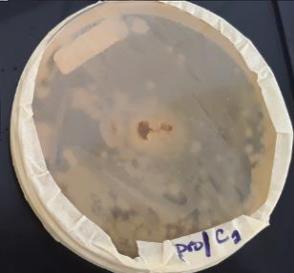
Tableau 4: L'activité antibactérienne

Bactérie	Souche	Diamètre	Photo
<i>E. Coli</i>	P 1	22,5 mm	
	C 1	10 mm	
	Ca 2	2 5 mm	
	Ca 1	23,5 mm	
	P 1	---	

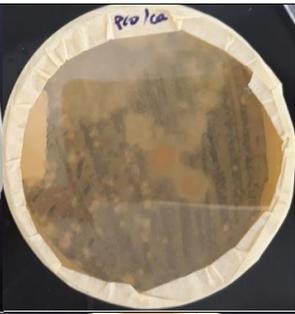
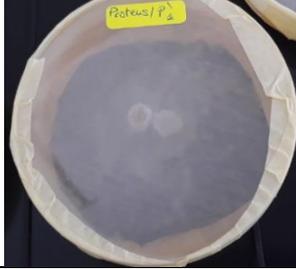
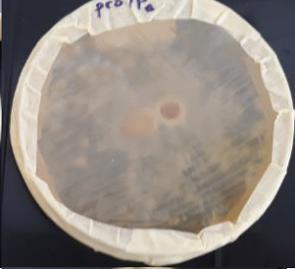
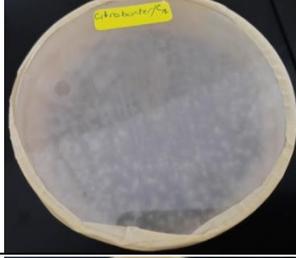
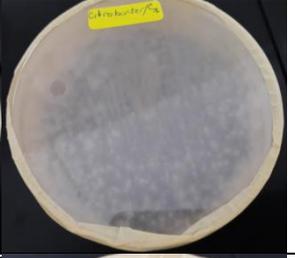
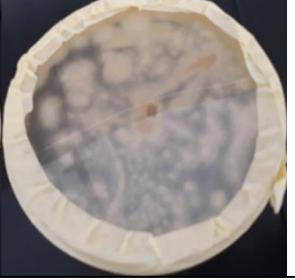
Résultats et discussion

<i>Staphylococcus</i>	P 1	27,5 mm		
	C 1	27,5 mm		
	Ca 2	15 mm		
	Ca 1	12,5 mm		
	P 1	30 mm		
<i>Pseudomonas</i>	P 1	27,5 mm		

Résultats et discussion

	C1	12,5 mm		
	Ca 2	17,5 mm		
	Ca`1	22,5 mm		
	P`1	17,5 mm		
<i>Proteus</i>	P 1	22,5 mm		
	C 1	21 mm		

Résultats et discussion

	Ca 1	15 mm		
	Ca`	22,5 mm		
	P`1	22,5 mm		
<i>Citrobacter</i>	P 1	22,5 mm		
	C 1	16 mm		
	Ca	17,5 mm		

Résultats et discussion

	Ca`	14 mm		
	P`	---		
<i>Morganella</i>	P 1	32,5 mm		
	C 1	17,5 mm		
	Ca	----		
	Ca 1	----		

Résultats et discussion

	P ^o	12,5 mm	
--	----------------	---------	--

Résultats et discussion

Les champignons du genre *Aspergillus* produisent des métabolites secondaires qui agissent comme un système de défense chimique contre les prédateurs fungivores. Ceux-ci incluent des composés insecticides tels que les acides tétramiques, les terpénoïdes d'indole, les pyridones et les dicétopipérazines (Calvo et Cary, 2015).

Les espèces appartenant au genre *Aspergillus* sont également connues pour avoir une activité antibactérienne. Dans une étude réalisée par Aouarib et Lasmara en 2016, des souches d'*Aspergillus* ont montré une forte activité bactéricide contre des bactéries aussi bien de Gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*) que de Gram négatif (*P. aerogenosa*, *E.coli*). Une étude semblable a été réalisée par Mansour et Mazzi en 2017. Dans cette étude, trois souches du genre *Aspergillus* ont montré une grande capacité à inhiber le développement des souches de *Bacillus subtilis* et de *Staphylococcus aureus*.

Génétiquement, les gènes responsables de la biosynthèse des métabolites secondaires chez les mycètes en générale, sont habituellement arrangés dans des faisceaux contenant également les gènes responsables de la résistance à l'action toxique et parfois, des gènes précurseurs de la biosynthèse d'antibiotiques (Martin and Liras, 1989 ; Cundliff, 1989 ; Chater and Bibb, 1997 ; Martin, 1998). Ce processus constitue chez les mycètes un régulateur global de métabolites secondaires appelé Lae A. En effet, ce facteur a été identifié chez *A. nidulans* et plus récemment chez *A. fumigatus*. Cette découverte a permis d'augmenter ou diminuer la production des métabolites secondaires chez un mycète en modulant l'expression de Lae A. Par exemple, l'overexpression du gène Lae A augmente considérablement la production de pénicilline chez *A. nidulans*, d'autres métabolites secondaires et diminue la virulence de ce mycète pathogène (Woobok and Keller, 2004 ; Keller and Woobok, 2005).

Conclusion Générale

Dans ce modeste travail de recherche, nous nous sommes intéressés aux champignons entomopathogènes et à leur effet antibactérien vis-à-vis de certaines souches bactériennes.

A partir de quatre insectes testés (*Blatta orientalis*, *Pieris brassicae*, *Apis mellifera*, *Dicyrtoma sp*), il s'agit de *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus parasiticus*.

L'isolement des moisissures est fait à partir des insectes de la région de Sétif. Sur 4 échantillons prélevés, nous avons isolé 18 souches représentant deux espèces : *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus parasiticus*

Les souches isolées de Ca Ca` : 100% *Aspergillus fumigatus* et les souches isolées de P et P` : 100% *Aspergillus parasiticus*

Les souches isolées de C et C` : 50% *Aspergillus fumigatus* ; et 50% *Aspergillus parasiticus*

L'effet antibactérien de ces deux souches d'*Aspergillus* a été par la suite étudié sur les bactéries suivantes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Citrobacter sp.* et *Morganella sp.*

Les résultats ont démontré que les deux souches d'*Aspergillus* présentent un fort effet antibactérien sur toutes les souches testées et ce avec des diamètres d'inhibitions qui dépassent les 13mm. La souche d'*Aspergillus parasiticus* s'avère plus efficace avec un effet sur toutes les bactéries testées sans exception. La souche *A. fumigatus* n'a cependant pas d'effet sur la souche de *Morganella sp.*

Cette étude vient comme confirmation à beaucoup d'études précédentes. La lutte biologique en utilisant des souches de champignons dans tous les domaines (agricole, médical ou autre) demeure une alternative non négligeable.

Référence Bibliographique

Références Bibliographiques

- ↑ (en) William C. Nierman, Arnab Pain, Michael J. Anderson et Jennifer R. Wortman, « Genomic sequence of the pathogenic and allergenic filamentous fungus *Aspergillus fumigatus* », *Nature*, vol. 438, no 7071, 22 DOI ,0836-ISSN 0028) 1156–décembre 2005, p. 1151 (nature04332, lire en ligne [archive], consulté le 17 février 2017/10.1038
- ↑ « Paris : l'hôpital Pompidou contraint de fermer 9 de ses 24 blocs opératoires » [archive] (consulté le 12 juillet 2016).
- ↑ a b et c (en) « Entomopathogens and biological control » [archive], Université de Warwick (Royaume-Uni) (consulté le 13 mai 2014)
- ↑ a et b (en) Anna Augustyniuk-Kram et Karol J. Kram, « Entomopathogenic Fungi as an Important Natural Regulator of Insect Outbreaks in Forests », *Forest Ecosystem*, ([lire en ligne [archive) 2012
- Horn, B. et Wicklow, D.T., 1983. Factors influencing the inhibition of aflatoxin
- Academie Press, New York, 861
- Ame. Rev. Entomo!., 31: 265-296
- And cell culture. Academic Press, New-York, 63-73 p
- Anonyme 1 : Généralité sur les champignons
- Anonyme 2 :les champignons entomopathogènes
- Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp., Panoply of biological control. *Biochem. Eng. J.*, 37: 1–20.
- Badillet G., de Briève C., Guého E.(1987). Champignons contaminants des cultures, champignons opportunistes, Atlas clinique et biologique, vol II, Ed VARIA, Paris.
- Barker T.W., Worgan J.T.(1981). The application of air. Lift fermenters to the cultivation of filamantous fungi. *European J. Appl. Microbiol. Biotechnol.*13 p: 77 -148.

Références Bibliographiques

- Bawin, T. (2016). Insect pathogenic aspergillus species in mosquito (diptera : culicidae) control compared to, 200.
- Bennett, J. 2010. An Overview of the Genus Aspergillus. In M. Machida and K. Gomi (ed.), Aspergillus Molecular Biology and Genomics.
- Blandeau E .(2012). Etat des lieux du potentiel anticancéreux de neuf champignons macroscopiques .thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. université angers .
- Boiron ,P. (1996). Organisation et biologie des champignons. Edition Nathan.p:13-19-69-79. - Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Reymond P.,Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P. (1990) . Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2ème édition. Masson. Collection Biotechnologies. p :34-428.
- Boiron P .(1996). organisation et biologie des champignons Nathan .Paris.
- Botton B., Bretton A., Fever M., Gautier S., Guy Ph., Larpent J.P., Reymond P.,Sanglier J-J., Vayssier Y and Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles, importance industrielle, (edn) Masson, Paris.
- Bouchet P .,Guirgnard J L ., Pouchus Y V. (2005) .les champignons Mycologie fondamentale et appliquée Masson Paris
- Bouchet PH .,Guignard J L .,Villard J .(1999) .les champignons Mycologie fondamentales et appliqué Masson Paris
- BURGES, H.D. et HUSSEY, N.W. 1971. Microbial Control of Insects and Mites.
- Calvo, A. M., & Cary, J. W. (2015). Association of fungal secondary metabolism and sclerotial biology. *Frontiers in Microbiology*, **6**, 1–16. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00062>
- Castegnaro M., Pfohl-Leskowicz A. (2002). Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans La sécurité alimentaire du consommateur, Lavoisier, Tec&Doc.

Références Bibliographiques

- Chater K & Bibb M. (1997). Regulation of bacterial antibiotic production, Klein Kauf & H. Vandhoven edn. INK
- Chermette R., Bussieras J. (1993). Parasitologie vétérinaire. Mycologie, Edité par le Service de Parasitologie de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort.
- Clarkson J.M et Charnley A.K .(1996).New insights into the mechanisms of fungal
- classification of the Fungi. Mycol Res 111:509-47.
- Cundliffe E. (1989). How antibiotic- producing organisms avoid suicide .Ann. Rev.Microbiol .43 : 207-333.
- DE BARJAC, H. 1987. Operational bacterial insecticides and their potential for future
- Document d'internat
- Documents d'internet
- Ferron, P., Fargues, J. & Riba, G., 1991. Fungi as microbial insecticides against pests. In *Handbook of Applied Mycology*. (Arora, D.K., Ajello, L., Mukerji, K.G., Eds.) Vol 2, 665-706, *Marcel Dekker*, New York.
- Florida, 272p
- Grigoriu ,D., Delacretaz B D .(1984) .Traité de Mycology Medicale Doin editeurs Paris edition Payot lausane suisse p 21
- Halewyn M. A.,Lercterc J. M., King N., Belonger M., Legris M. and Frenett Y. 2001.Les risqué à la santé associés à la presence de moisissure en milieu intérieur (edn) Quebec. Canada.
- HALL, R.A. et PAPIEROK, B. 1982. Fungi as a biological control agents of arthropods
- Hibbett, D. S., M. Binder, J. F. Bischoff, et al., 2007. A higherlevel phylogenetic
- <http://fr.Wikipédia.org/wiki>

Références Bibliographiques

- <https://doi.org/10.1584/jpestics.D14-006>
- IGNOFFO, C.M. 1988. CRC Handbook of Natural Pesticides volume V Microbial
- Improvement. K. Maramorosch (Ed.), Biotechnology in invertebrate pathology
- Insecticides Part A Entomogenous Protozoa and Fungi. CRC Press, Inc.
- insecticides.Amer.Entomol.39 :83-91.
- Jesus, A.(1998).Isolement, Identification et Physiologie des champignons thermophile en vue de la Production de Lipases par fermentation en milieu solide.
- Journal of Invertebrate pathology ,Vol.58,pp.448-449.
- Kamp A.M et Bidochka M.J .(2002).Conidium production by insect pathogenic fungi on commercially available agars.Lett.App.Microbiol.35 :74-77
- Keller N.P. & Woobok.J. (2005) . Aglobal regulatory of secondary metabolite biosynthesis in fungi , (edn) Warfe
- Ksentini I.(2009). Lutte biologique contre la pyrale des caroubes *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera : Pyralidae), à l'aide de parasitoïdes oophages du genre *Trichogramma* (Hymenoptera : Trichogrammatidae). Mise en valeur et régulation d'un écosystème à l'échelle locale : Les salins de Sfax. Colloque organisé par la Maison de France, Sfax (Tunisie), les 8 et 9 mai 2009. 02p.
- Lacey, L. A., Fransen, J. J., and Carruthers, R. I. (1996) Global distribution of naturally occurring fungi of *Bemisia*, their biologies and use as biological control agents. In: *Bemisia 1995: Taxonomy, Biology, Damage, and Management'* (Gerling, D. and Mayer, R., Eds.), pp. 401-433. Intercept, Andover.

Références Bibliographiques

- LACEY, L.A. et UNDEEN, A.H. 1986. Microbial control of black flies and mosquitoes.
- Larpent J.P ., Gourgoud M.l .(1997) Mémonto technique de microbiologie ; technique & Documentation lavoisier Paris 3ème édition
- Larpent-Gourgaud M., Sanglier J.J. (1992). Biotechnologies. Principes et
- M., 2008. Trichoderma - plant - pathogen interactions. Soil. Biol. Biochem, 40: 1-10
- Maheux L .1998 Session on microbial contamination occupational and environmental health services agency, (edn) Health Canada .Canada.
- Marcel Dekker Inc., New-York, p. 559-583
- Martin J.F. & Liras P. (1989). Organisation and expression of genes involved in the biosynthesis of antibiotics and other secondary metabolite. Annu. Rev. Microbiopl.43:173-206.
- Martin J.F. (1998). New aspect of genes and enzymes for B- Lactam. Biosynthesis. App. Microbiol. Biotechnol.50: 1-15
- Medina, M. L., Haynes, P. A., Brechi, L., & Francisco, W. A. (2005). Analysis of secreted proteins from *Aspergillus flavus*. *Proteomics*, 5(12), 3153–3161. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401136>
- metabolites as insecticides. Microbora and Viral pesticides. Editeur Kurstak, E.
- méthodes. Doin. Paris.
- MOHAMED, A.K.A. et NELSON, F.R.S. 1985. Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae*
- Morin O. (1994). *Aspergillus* et aspergilloses: biologie, Ed. Techniques Encyl. Med. Chir. (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses 8-600-A-10.
- Mueller G.M., Schmit J.P. (2007). Fungal biodiversity: what do we know ? What can we predict? *Biodiversity and Conservation*. 16: 1-5.

Références Bibliographiques

- Nicklin J., Graeme-Cook K., Paget T., Killington R.(2000) . L'essentiel en microbiologie.. Edition Berti. p :210-216.
- of agricultural and medical importance. *Parasitology*, 84: 205-24
- PAIS, M., DAS, B.C. et FERRON, P. 1981. Depsipeptides from *Metarhizium anisopliae*.
- pathogenesis in insects.*Trends Microbiol* .4 :197-204.
- *Phytochemistry*, 20: 715-723
- Pimenterl ,D.,1986 Statuts of integrated pest management.In Pimentel,D. :some aspects of integrated pest management. Cornell University,Ithaca, N .Y .
- production in corn by *Aspergillus niger*. *Canadian Journal of Microbiology*, 29: 1087- 1091.
- Raper K.B. & Fennell . (1965). The genus *Aspergillus*. *Food Microbiol* 5: 163-176.
- Roquebert M.F .(1998). Taxonomie des moisissures ; Méthodes de culture et techniques d'observation ; Identification”, in “Moisissures des aliments peu hydratés”, Ed. Tec & Doc
- Seye, F., Bawin, T., Boukraa, S., Zimmer, J.-Y., Ndiaye, M., Delvigne, F., & Francis, F. (2014). Pathogenicity of *Aspergillus clavatus* produced in a fungal biofilm bioreactor toward *Culex quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Pesticide Science*, **39**(3), 127–132.
- St Leger R.j.(1993).Biology and mechanisms of insect-cuticle invation by deuteromycete fungal pathogens,in :Parasites and pathogens of insects.Beckage Ne,Thompson SN,(eds),Federici BA(eds.)Academic Press Inc,New York,USA.2 :211-225.
- Starnes R.L; Liu C .L et Marone P.G .(1993).History,use and future of microbial

Références Bibliographiques

- Tabuc, C.(2007). flore fongique de differents substrats et conditions optimales de production des mycotoxines.these de docteur de l'institut national polytechnique de toulouse et de l'universite de bucarest. these présentée à l'université de montpellier ii sciences et techniques du languedoc pour obtenir le diplôme de doctorat
- Tortora J., Funk B.F. and Case Ch.I. (2003). Introduction à la microbiologie, (edn) ISBN.Canada.
- Univ-brest .fr/esiabscientifique/Mycology/Technopole Brest boise 29280 Plouzané-France.
- var. anisopliae to mosquito larvae. Journal of parasitologica, 35: 379-381
- Verma, M., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y. and Valér, J.R., 2007.
- VEY, A. 1970. Cahiers de diététique, 5: 73-74.
- Vidal, 1997 (Variabilité et potentialités de l'hyphomycète . Thèse Univ. Montpellier II, 148p.)
- Vinale F., Sivasithamparam K., Ghisalberti L.E., Marra R., Woo L.S. and Lorito
- Woobok J. and Keller N.P. (2004). Lae A regulator of secondary metabolism in Aspergillus sp. Eucaryotic Cell. 3(2): 527-535.
- WRIGHT, V.F., VESONDER, R.F., CIEGHER, A. 1982 Mycotoxins and other fungal
- Wright,JE.,Chandler,L.D.,1991.Laboratory evaluation of the entomopathogenic fungus,Beauveria bassiana against the boll weevil (Coléoptera :Curculionidae)

Résumé

Résumé

Le but de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne des champignons entomopathogène (*Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus parasiticus*) qui ont été isolés à partir de quatre insectes (*Blattaorientalis*, *Pieris brassicae*, *Apis mellifera* , *Dicyrtomasp*) collectés de la région de Sétif, sur six souches bactériennes tests (*E.Coli* ,*Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Morganella*) par la méthode de diffusion sur gélose Muller Hinton durant 24 à 72h d'incubation et de déterminer leurs effets. *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus parasiticus* ont montré une activité sur toutes les souches tests avec un effet variable d'une souche à une autre . On note un fort effet antibactérien d'*A.parasiticus* et d'*A.fumigatus* sur *E.Coli* ,*Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Citrobacter* tandis que *Aspergillus fumigatus* n'a exhibé aucun effet sur *Morganella* .

Mots clés : champignons entomopatogènes , activité antibactérienne, *Aspergillus*

Résumé

ملخص

الهدف من هذا العمل هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للفطريات المسببة للأمراض (*Aspergillus fumigatus*) و (*Aspergillus parasiticus*) المعزولة من أربع حشرات (*Blatta orientalis*) ، (*Pieris brassicae*)

التي تم جمعها من منطقة سطيف على ستة سلالات اختبار بكتيري (*E. coli*) ، (*Dicyrtoma sp*) ، (*Apis mellifera*) ، (*Staphylococcus*) ، (*Pseudomonas*) ، (*Proteus*) ، (*Citrobacter*) ، (*Morganella*) بواسطة طريقة الأنتشار أجار مولر هينتون لمدة 24 إلى 72 ساعة من الحضنة وتحديد تأثيرها.

أظهرت *Aspergillus fumigatus* و *Aspergillus parasiticus* نشاطاً على جميع سلالات الاختبار بتأثير متغير من سلالة إلى أخرى. هناك تأثير مضاد للجراثيم قوي من *Aspergillus parasiticus* و *Aspergillus fumigatus* على *Staphylococcus* ، *E.coli* ، *Pseudomonas* ، *Proteus* ، *Citrobacter* بينما *Aspergillus fumigatus* لم تظهر أي تأثير على *Morganella*.

الكلمات المفتاحية: الفطريات الحشرية ، النشاط المضاد للبكتيريا ، اويزى

Résumé

Abstract

The aim of this work is to evaluate the antibacterial activity of the entomopathogenic fungi (*Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus parasiticus*) that have been isolated from four insects (*Blatta orientalis*, *Pieris brassicae*, *Apis mellifera*, *Dicyrtoma sp*) collected from the region of Setif on six bacterial test strains (*E. coli*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Morganella*) by the Muller Hinton agar diffusion method for 24 to 72 hours of incubation and to determine their effects. *Aspergillus fumigatus* and *Aspergillus parasiticus* showed activity on all test strains with a variable effect from one strain to another. There is a strong antibacterial effect of *A. parasiticus* and *A.fumigatus* on *E. coli*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Citrobacter* while *Aspergillus fumigatus* exhibited no effect on *Morganella*

Key words: entomopatogenic fungi, antibacterial activity, Aspergillus

Annexe

Annexe

Annexe

PDA (Potato dextrose agar) :

Pomme de terre.....	200g
glucose.....	20g
Agar.....	25g

Mueller-Hinton (MH), HIMEDIA

Infusion de viande de bœuf	300,00 g/L
Hydrolysate acide de caséine	17,50 g/L
Amidon	1,50 g/L
Agar	17,00 g/L
PH	7,3 ±0,1

Préparation

Dissoudre 38,00 g de poudre Mueller-Hinton dans un litre d'eau distillée. Autoclaver à 120° pendant 20 min.

Lactophénol bleu coton :

(= BCL) : ce colorant est le meilleur bleu d'aniline utilisable en mycologie générale. Il est spécifique de la chitine, de la callose et du collagène. Il colore principalement la chitine présente dans les parois des hyphes. Chez de nombreux Ascomycètes il met également en évidence l'ornementation sporale (qualifiée alors de cyanophile) souvent caractéristique des espèces. L'acide lactique préserve les structures

L'ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DES CHAMPIGNONS ENTOMOPATHOGÈNES

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Mycologie et
Biotechnologie fongique

Résumé :

Le but de ce travail est d'évaluer l'activité antibactérienne des champignons entomopathogène (*Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus parasiticus*) qui ont été isolés à partir de quatre insectes (*Blattaorientalis*, *Pieris brassicae*, *Apis mellifera* , *Dicyrtomasp*) collectés de la région de Sétif, sur six souches bactériennes tests (*E.Coli* ,*Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Morganella*) par la méthode de diffusion sur gélose Muller Hinton durant 24 à 72h d'incubation et de déterminer leurs effets. *Aspergillus fumigatus* et *Aspergillus parasiticus* ont montré une activité sur toutes les souches tests avec un effet variable d'une souche à une autre . On note un fort effet antibactérien d'*A.parasiticus* et d'*A.fumigatus* sur *E.Coli* ,*Staphylococcus*, *Pseudomonas*, *Proteus*, *Citrobacter* tandis que *Aspergillus fumigatus* n'a exhibé aucun effet sur *Morganella* .

Mots clés : champignons entomopatogènes , activité antibactérienne, *Aspergillus*

Laboratoire de recherche :laboratoire de microbiologie RDC, SNV , Université frères
Mentouri Constantine

Jury d'évaluation :

Président	:Mme. Mergoud Lilia	(M.A.A) UFM Constantine
Examineur	:Mme Belmesikh Aicha	(M.A.A) UFM Constantine
Encadreur	: Mme.Abdelaziz Ouided	(M.C.B) UFM Constantine

Date de soutenance : 11/07/2019