

Recherche sur l'utilisation de champignons entomopathogènes chez *Musca Domestica* (L., 1758) et suivi de cette espèce dans un environnement naturel à l'aide de pièges attractifs

Auteur : Doetsch, Léa

Promoteur(s) : Caparros Megido, Rudy

Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT)

Diplôme : Master en bioingénieur : gestion des forêts et des espaces naturels, à finalité spécialisée

Année académique : 2022-2023

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/18125>

Avertissement à l'attention des usagers :

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

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

**RECHERCHE SUR L'UTILISATION DE
CHAMPIGNONS ENTOMOPATHOGENES CHEZ
MUSCA DOMESTICA (L., 1758) ET SUIVI DE CETTE
ESPECE DANS UN ENVIRONNEMENT NATUREL A
L'AIDE DE PIEGES ATTRACTIFS**

LÉA DOETSCH

**TRAVAIL DE FIN D'ETUDES PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MASTER BIOINGENIEUR EN GESTION DES FORETS ET DES ESPACES NATURELS**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2022-2023

PROMOTEUR : RUDY CAPARROS MEGIDO

"Toute reproduction du présent document, par quelque procédé que ce soit, ne peut être réalisée qu'avec l'autorisation de l'auteur et de l'autorité académique¹ de Gembloux Agro-Bio Tech." ;

"Le présent document n'engage que son auteur."

¹ Dans ce cas, l'autorité académique est représentée par le(s) promoteur(s) membre du personnel(s) enseignant de GxABT

**RECHERCHE SUR L'UTILISATION DE
CHAMPIGNONS ENTOMOPATHOGENES CHEZ
MUSCA DOMESTICA (L., 1758) ET SUIVI DE CETTE
ESPECE DANS UN ENVIRONNEMENT NATUREL A
L'AIDE DE PIEGES ATTRACTIFS**

LÉA DOETSCH

**TRAVAIL DE FIN D'ETUDES PRESENTE EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME DE
MASTER BIOINGENIEUR EN GESTION DES FORETS ET DES ESPACES NATURELS**

ANNÉE ACADÉMIQUE 2022-2023

PROMOTEUR : RUDY CAPARROS MEGIDO

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier la totalité des personnes m'ayant soutenue durant mes années d'études et aidées de près ou de loin à réaliser ce travail de fin d'études.

Premièrement, je remercie mon promoteur, M. Rudy Caparros pour son accompagnement tout au long de ce travail. Un grand merci également à Ibtissem Ben Fekih pour son aide et ses conseils précieux, mais aussi à Émilie Bera pour son encadrement et son partage de connaissances lors des manipulations en laboratoire. Merci à Grégoire Noël pour son aide plus qu'indispensable dans le cadre des analyses statistiques, mais également pour ses retours lors des présentations. Merci à Arnaud Segers pour son aide, ses conseils et sa relecture. Je remercie grandement le département d'Entomologie fonctionnelle et évolutive pour leur accueil et leur accompagnement durant ce travail de fin d'études.

Ensuite, je remercie ma chère Maman, pour toujours avoir su trouver les bons mots, pour son soutien infaillible, lors de ces 6 années d'études, mais également un grand merci à mon Papou pour ses encouragements, à Inge, toujours à l'écoute et avec qui discuter sur la terrasse au Portugal avec Chloé reste un de mes moments préféré, et Guy, un super beau-père depuis le début, dont je n'aurais pas pu rêver mieux. Merci à mes frères ; Antoine, pour ton soutien et surtout de m'avoir fait découvrir Gembloux et Félix, pour tes encouragements et pour tous les moments passés ensemble que je chéris tant. Un grand merci également à Maya et Zayn, les plus belles surprises de ces 5 dernières années, pour leur innocence enfantine qui redonne de la motivation à n'importe quel moment de l'année. Merci à la Blended d'avoir agrandi la famille, plus on est de fous, plus on rit, c'est toujours le cas avec vous. Merci à la petite Luna, à Moka et à Lisette pour leur compagnie et le réconfort apporté.

Je ne peux continuer ses remerciements sans mentionner les zigotos rencontrés lors de ces belles années à la fac. Je remercie l'entière de la ruche ; Djul, Eleya, Loulou, Mimi, Clarita, Marjane, Tom & Flo pour les fous rires, les merveilleux repas dégustés ensemble et j'en passe. Merci à la team, Lucas, Stefan, Simon, Grygry et Hugo, le petit dernier rencontré en cours de route, d'avoir bien voulu m'accompagner pendant 6 ans, trop sympa. Pour continuer sur cette belle lancée, je remercie les Sisters Clem et Floche pour vos conseils, votre soutien, les pleurs ensemble en bibli ; Spispi pour sa générosité, pour me faire toujours autant rire et d'être toujours partante pour faire des bêtises ; les brocanteurs parce que vous êtes fun et que Marseille c'était estra ; l'Open-Space (oui floche t'es citée 2 fois) créée pendant cette période sombre ; le Mijolles pour m'avoir accueilli pendant le Co-Co (oui... floche, ça fait bien 3 fois.) ; la petite Cam's pour ses nombreux coups de griffes et finalement celui qui m'a fait rencontrer toutes ces merveilleuses personnes : Martin. Ce jeune homme croisé en cours de route, la 3^e surprise, merci pour ton soutien infaillible, de trouver les mots pour m'encourager, de m'engueuler quand je fais n'importe quoi (oups), de supporter mes angoisses et d'accepter de vivre avec toutes mes qualités, ça ne doit pas être facile. Merci à vous tous pour ces dernières années, j'ai hâte de continuer à faire des bêtises avec chacun d'entre vous. Mais aussi, merci à l'AG et au comité 2021, ça a été un plaisir de « travailler » avec vous et de nouer de nouvelles amitiés. Merci aux homistes, au Drama's, avec une mention spéciale en faveur de Zoé, Adèle, Charline et Hugo pour cette colocation de rêve, merci au Master GFEN pour les partages enrichissants, la semaine forêt, la semaine sylvi (on n'oublie pas Tommy). Merci aux copains, Gipsy, Rem's, Kmy, Bossche et tous les anciens, qui m'ont fait vivre l'aventure gembloutoise à fond (ou presque). Merci à Jb pour tes précieux commentaires lors de ta relecture et tes encouragements. Merci à Cricri et J-L pour leur soutien depuis notre rencontre et pour m'avoir accepté au sein de leur famille. Merci, aussi, à tous ceux que j'oublie peut-être de citer, veuillez m'en excuser.

Une pensée s'en va pour toi aussi, ma Kiki, qui nous a quittée trop tôt et à qui je pense encore énormément. Merci d'avoir été toi jusqu'au bout, merci de rayonner tellement fort qu'encore maintenant, je te sens encore auprès de moi.

Résumé

La mouche domestique, *Musca domestica* L., 1758, est un Diptère largement répandu dans le monde. Les larves de cet insecte se nourrissent principalement de matière organique animale, essentiellement de leur déjections. De ce fait, sa relation avec l'homme s'est accentuée avec le développement d'élevages d'animaux. Cette mouche joue un rôle dans la transmission de nombreux agents pathogènes tant dangereux pour l'homme que pour les animaux. Par conséquent, la gestion de ses populations est essentielle, particulièrement lorsqu'elles sont abondantes.

Diverses méthodes de contrôle sont élaborées, incluant l'utilisation d'insecticides chimiques, de pièges attractifs, et plus récemment, des biopesticides, notamment basés sur des champignons entomopathogènes. Dans le cadre de cette étude, des souches de *Beauveria bassiana* et de *Metarhizium brunneum* ont été utilisées.

Des essais biologiques ont été réalisés, au cours desquels, trois solutions sporales de champignons ainsi que deux essais témoins ont été vaporisés sur des individus adultes, dans le but d'évaluer la virulence de ces champignons. Parallèlement, un suivi des populations a été mené dans un village exposé à des invasions récurrentes de cette espèce de mouches. Pour cela, dix pièges ont été positionnés dans le village de Moiry. Des relevés hebdomadaires des insectes capturés dans les pièges ont été effectués entre le 5 mai 2023 et le 30 juin 2023.

Les résultats ont montré qu'aucune différence significative n'a été observée entre les essais utilisant les trois souches de champignons et le témoin négatif. En revanche, le témoin positif, traité avec un insecticide, a montré des différences significatives avec un temps médian de survie (TL50) de 24 h et une probabilité de survie de 0 %. Pour l'instant, aucun champignon n'a pu être mis en avant. Cependant des améliorations peuvent être mises en place afin d'obtenir des résultats probants. Le suivi des populations a permis d'identifier une zone particulièrement dense en mouches domestiques dans le sud-ouest du village. L'analyse de la biodiversité a révélé que les familles prédominantes étaient les Muscidae, les Calliphoridae et une autre famille de l'ordre des *Diptera* non identifiée, ce qui était attendu étant donné la présence d'élevages de volailles, de vaches et de tas de fumier dans le village, des habitats typiques pour ces familles. Les pièges ont été regroupés en deux catégories ; l'une présentant une forte concentration de Muscidae, l'autre avec une prédominance de Calliphoridae. Ces observations suggèrent l'existence d'une compétition entre ces deux espèces, voire une répartition du village entre elles, influencée par des possibles disparités environnementales créant des niches différenciées.

Mots-clés : *Musca domestica*, champignon entomopathogène, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium brunneum*, pièges attractifs.

Abstract

The housefly, *Musca domestica* L., 1758, belongs to the *Diptera* order and is widely distributed across the globe. The larvae of this insect feeds primarily on animal organic matter, especially animal feces. Consequently, its interaction with humans has expanded alongside the growth of animal farming. This fly plays a significant role in transmitting numerous pathogens that are dangerous to both humans and animals' health. As a result, managing its populations is essential, especially when they are abundant.

Various control methods have been developed, including the use of chemical insecticides, attractant traps and, more recently, biopesticides based on entomopathogenic fungi. Within this study, strains of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium brunneum* were used.

Bioassays were carried out, during which three fungal spore solutions and two controls were sprayed onto adult individuals, in order to assess the virulence of these fungi. Simultaneously, population monitoring was conducted in a village experiencing recurrent infestations of this fly species. Ten traps were positioned in the village of Moiricy. Weekly surveys of captured insects were performed between May 5, 2023 and June 30, 2023.

The results indicated that no significant differences were apparent between the trials using the three fungus strains and the negative control. In contrast, the positive control treated with an insecticide showed significant differences, with a median survival time (TL50) of 24 h and a survival probability of 0%. As of now, no fungi have been identified. Nonetheless, enhancements can be made to yield more convincing outcomes. The population monitoring identified a notably concentrated zone of houseflies in the southwestern part of the village. Examination of biodiversity revealed that the predominant families were Muscidae, Calliphoridae and another unidentified family of the order Diptera, as anticipated due to the presence of poultry farms, cattle and dung piles in the village, which are typical habitats for these families. The traps were categorized in two groups: one characterized by a high concentration of Muscidae and the other with a prevalence of Calliphoridae. These observations suggest the potential existence of competition between these two species, and possibly a distribution of the village between them influenced by possible environmental disparities creating differentiated niches.

Key words: *Musca domestica*, entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium brunneum*, attractant traps.

Table des matières

1.	Introduction.....	1
1.1.	<i>Musca domestica</i>	1
1.2.	L'utilisation actuelle des biopesticides	3
1.3.	Les champignons entomopathogènes.....	4
1.3.1.	Schéma infectieux de <i>B. bassiana</i> et <i>M. brunneum</i>	4
1.3.2.	Étude sur la virulence et la cinétique de croissance des champignons entomopathogènes.....	5
1.3.3.	Les effets des champignons entomopathogènes sur la reproduction de <i>Musca domestica</i>	6
1.3.4.	Formulations des champignons entomopathogènes en biopesticides	6
1.3.5.	<i>Metarhizium brunneum</i>	7
1.3.6.	<i>Beauveria bassiana</i>	7
2.	Objectifs.....	8
3.	Matériel et Méthodes	9
3.1.	Bio Essais.....	9
3.1.1.	L'élevage de <i>Musca domestica</i>	9
3.1.2.	Culture et solutions sporales des champignons entomopathogènes.....	9
3.1.3.	Test de viabilité des spores	10
3.1.4.	Test de pathogénicité	10
3.1.5.	Analyses statistiques	12
3.2.	Campagne de terrain	12
3.2.1.	Piégeage	12
3.2.2.	Identification	13
3.2.3.	Analyses statistiques	14
4.	Résultats.....	15
4.1.	Bio essais sur les champignons entomopathogènes	15
4.2.	Campagne de terrain	16
4.2.1.	<i>Musca domestica</i>	16
4.2.2.	Analyse de biodiversité.....	18
5.	Discussion et perspectives	20
5.1.	Bio essais sur les champignons entomopathogènes	20
5.2.	Campagne de terrain	22
5.2.1.	<i>Musca domestica</i>	22
5.2.2.	Analyse de diversité.....	24
6.	Contribution personnelle.....	26
7.	Conclusion	26
8.	Bibliographie.....	27

9. Annexes.....	30
-----------------	----

Table des figures :

Figure 1: <i>Musca domestica</i> L., 1758.....	1
Figure 2 : Le cycle de vie pathogène de base de <i>Beauveria bassiana</i> (Mascarin et Jaronski 2016).....	4
Figures 3 à 8 : Cage d'élevage (3). Eau (4).Nourriture des mouches (5). Substrat de ponte et de nourriture des larves avec la présence de quelques pupes (6). Œufs (7). Larves (8).	9
Figures 9 à 11 : Hémocytomètre de Bürker (9). La grille de l'hémocytomètre, le carré rouge représente un carré de comptage (10). Photographie des spores présentes dans l'hémocytomètre (11).	10
Figure 12 : Dispositif expérimental lors du relevé des cadavres.	11
Figures 13 à 25 : Contamination à <i>Metarhizium brunneum</i> USDA, 2 ^e répétition (13 à 17). Contamination à <i>Beauveria bassiana</i> , 1 ^{ère} (18) et 3 ^e répétition (19). Contamination à <i>Metarhizium brunneum</i> Gembloux, 2 ^e (20 à 23) et 4 ^e répétitions (24 et 25).....	12
Figure 26 : Carte de Wallonie avec un zoom sur la commune de Libramont-Chevigny.....	12
Figure 27 : Localisation des 10 pièges dans le village de Moircy (27).....	12
Figures 28 à 30 : Piège utilisé pour la récolte d'insectes (28). Piluliers contenant les échantillons récoltés (29). Grands contenants pour les échantillons plus importants (30).....	13
Figures 31 et 32 : Insectes étalés.....	13
Figure 33 : Courbes de survies de Kaplan-Meier.....	15
Figure 34 : Graphique de la qualité de l'ajustement au modèle n°1 grâce aux résidus observés (gauche) et les résidus en fonction de la valeur prédite (droite) résultant du package DHARMA.....	16
Figure 35 : Graphique de la qualité de l'ajustement au modèle n°2 grâce aux résidus observés (gauche) et les résidus en fonction de la valeur prédite (droite) résultant du package DHARMA.....	16
Figures 36 à 40 : Graphiques du logarithme du nombre de mouches en fonction de : la latitude des pièges (36), la modalité environnementale (1 : Ferme, 2 : Milieux humide, 3 : Habitants) (37), les jours de relevé (38), les numéros des pièges (39) et la distance à la ferme la plus proche (40).	17
Figure 41 : Diagramme circulaire des abondances de mouches récoltées pour chaque piège.....	18
Figure 42 : Diagramme circulaire des abondances de mouches récoltées pour chaque jour de récolte.	18
Figure 43 Diagramme circulaire de chaque famille retrouvée dans le village de Moircy.	19
Figure 44 : Dendrogramme de cluster.....	19
Figure 47 : Carte de Moircy avec la localisation des 10 pièges et un code couleur en fonction de l'abondance de <i>Musca domestica</i>	23

Table des Tableaux :

Tableau 1 : Tableau reprenant la quantité triée et identifiée pour chaque piège par jour de relevé.....	13
Tableau 2 : Tableau des résultats de l'analyse de Kaplan-Meier.....	15
Tableau 3 : Résultats de la régression de Cox.....	15

Table des Annexes :

Annexe 1 : Tableau des résultats du test de Log-Rank, contrôle positif comparé au contrôle négatif.	30
Annexe 2 : Tableau des résultats du test de Log-Rank, essai Beauveria bassiana comparé au contrôle négatif.	30
Annexe 3 : Tableau des résultats du test de Log-Rank, essai Metarhizium brunneum Gembloux comparé au contrôle négatif.	30
Annexe 4 : Tableau des résultats du test de Log-Rank, essai Metarhizium brunneum USDA comparé au contrôle négatif.	30
Annexe 5 : Tableau des résultats du test de Log-Rank	30
Annexe 6 : Résultats de la comparaison par paire du test de Log-Rank.	30
Annexe 7 : Tableau des résultats du test de normalité.	30
Annexe 8 : Tableau des résultats du test d'homoscédasticité.	31
Annexe 9 : Tableau des résultats du GLMM pour le premier modèle choisi.	31
Annexe 10 : Tableau des résultats du GLMM pour le deuxième modèle choisi.	31
Annexe 11 : Graphique du coefficient de silhouette moyen en fonction du nombre de clusters.	32
Annexe 12 : Graphique de l'inertie en fonction du nombre de clusters.	32
Annexe 13 : Graphiques de chaque famille, et de l'abondance en insectes, pour 2 clusters.	33
Annexe 14 : Graphiques de chaque famille, et de l'abondance en insectes, pour 3 clusters.	34
Annexe 15 : Graphiques de chaque famille retrouvée dans le village de Moircy pour chaque piège...	35
Annexe 16 : Graphiques de chaque famille retrouvée dans le village de Moircy pour chaque jour de relevé.	36

Liste des Abréviations

e.g.	exempli gratia
<i>B.</i>	<i>Beauveria</i>
<i>Bb</i>	<i>Beauveria bassiana</i>
<i>Mb</i>	<i>Metarhizium brunneum</i>
<i>MbU</i>	<i>Metarhizium brunneum</i> USDA
<i>MbG</i>	<i>Metarhizium brunneum</i> Gembloux
<i>M.</i>	<i>Metarhizium</i>
UV	Ultra-Violet
HR	humidité relative
TL50	Taux Létal à 50%
GLMM	Generalized Linear Mixed Model
h	heure
mm	millimètre
ml	millilitre
mg	milligramme
°C	Celsius
g	gramme
cm	centimètre
km	kilomètre
L	litre
μL	microlitre
CO ₂	Dioxyde de Carbone

1. Introduction

1.1. *Musca domestica*

- Embranchement : *Arthropoda*
- Super-Embranchement : *Hexapoda*
- Classe : *Insecta*
- Ordre : *Diptera*
- Sous-Ordre : *Brachycera*
- Infra-Ordre : *Cyclorhapha*
- Famille : *Muscidae*
- Sous-Famille : *Muscinae*
- Genre : *Musca*
- Espèce : *Musca domestica* L., 1758



Figure 1: *Musca domestica* L., 1758.

La mouche domestique (*Musca domestica* L., 1758) fait partie de l'ordre des Diptères. Elle est en relation étroite avec l'homme et il est désormais inhabituel de la retrouver dans les environnements naturels et sauvages où ce dernier est absent (Dahlem 2009). Cette relation s'est renforcée lorsque l'homme a commencé à rassembler un grand nombre d'animaux d'élevages et de matière organique animale dans des bâtiments d'élevage. Cette matière est indispensable au développement larvaire de *M. domestica* étant donné que les larves se nourrissent de matière fécale animale, de matière végétale en décomposition et d'ordures ménagères (Geden et al. 2021).

La mouche domestique (Figure 1), *Musca domestica*, mesure entre 3 et 8 millimètres (mm) de long à l'état adulte. Elle possède des yeux rougeâtres, des pièces buccales spongieuses. Les femelles ont un écartement plus marqué des yeux comparé à ceux des mâles. Sur le dos du thorax, quatre bandes noir foncé sont présentes, la partie basale de l'abdomen est quant à elle jaunâtre. Une autre différence notable entre les deux sexes, est le jaunissement latéral plus prononcé chez les mâles que chez les femelles. La mouche possède six pattes composées notamment de cinq tarses segmentés de couleur gris mat (Geden et al. 2021; Iqbal et al. 2014).

Des récepteurs sont situés sur les pièces buccales et les tarses. Ils servent à la chémoréception de contact, permettant notamment au mâle de percevoir les phéromones sexuelles libérées par la femelle. Parmi ces phéromones, le Z-9-Tricosène est retrouvé et synthétisé afin d'être ajouté dans les attractifs des pièges à mouches (Dahlem 2009; D. Baker et al. 2020).

La mouche se nourrit de toute matière humide, en décomposition, comme la nourriture humaine, la sueur, les excréments, les ordures. L'eau fait partie intégrante de son régime alimentaire, elle ne peut survivre plus de 48 heures (h) sans eau (Iqbal et al. 2014). Les adultes utilisent leur pièce buccale pour aspirer les aliments liquides ou pour humidifier les aliments solides via l'exsudation (ou régurgitation) d'une goutte de salive facilitant ainsi leur assimilation. Cette exsudation serait réalisée également par la mouche pour réaliser sa thermorégulation et éliminer l'excès d'eau, ce qui concentre les nutriments dans les aliments ingérés. Ces gouttes de salives sont déposées dans l'environnement de la mouche et peuvent être une source de transmission de pathogènes, notamment envers l'homme lorsque la mouche est retrouvée dans les habitations (Geden et al. 2021).

La mouche domestique est un insecte holométabole qui passe donc par quatre stades de développement distincts : l'œuf, la larve, la pupa et l'adulte. Les adultes vivent en général 15 à 25 jours (Sanchez-Arroyo 2003).

Environ 36 h après leur émergence, les femelles peuvent s'accoupler contrairement aux mâles qui peuvent se reproduire directement après l'émergence. Les mâles s'accouplent avec plusieurs femelles

sur une même période tandis que la femelle ne procréé qu'une fois avec son partenaire choisi. Par accouplement, environ 120 œufs sont produits avec une ponte se déroulant entre 4 et 8 jours après la copulation (Dahlem 2009). Au cours de sa vie, la mouche femelle déposera entre 500 à 600 œufs (Leyo et al. 2021).

Les œufs sont déposés en une seule masse ou individuellement sur des substrats humides (Dahlem 2009; Geden et al. 2021). Ils sont de couleur blanc crème et mesurent 1 mm de long (Geden et al. 2021). Le fumier animal est le substrat favori pour l'oviposition, mais toute matière organique en décomposition convient. Les œufs éclosent généralement 24 h après avoir été pondus. Une fois que les larves ont éclos, elles passent par trois stades différents avant d'émerger en tant qu'adultes, l'entièreté des trois stades larvaires dure entre 5 et 9 jours (Dahlem 2009; Geden et al. 2021). Au stade larvaire, la forme du corps est hémicylindrique, de couleur blanc crème, acéphale, apode avec deux crochets buccaux et mesure entre 1 et 1,3 centimètres (cm) de long. Les larves se développent dans le même substrat que celui sur lequel les œufs ont été pondus et se nourrissent de matière animale ou végétale en décomposition. Pendant les deux premiers stades, les larves s'enfoncent dans leur substrat, où elles se nourrissent pendant 3 à 5 jours. Le troisième et dernier stade sert à l'accumulation de nutriments et des réserves indispensables à la métamorphose. Le stade de pupes arrive lorsque les larves commencent à migrer vers des milieux plus secs (Leyo et al. 2021). Les pupes sont de couleur rouge clair à brun foncé, mesurant 4 à 7 mm de long (Geden et al. 2021). Le stade de pupes dure entre 3 à 5 jours, sans besoin de s'alimenter et en restant immobile (Dahlem 2009; Leyo et al. 2021). Le cycle complet de la mouche domestique prend entre deux à trois semaines pour se réaliser, dans des conditions de températures optimales (Iqbal et al. 2014).

En hiver, *Musca domestica* hiverne principalement au stade larvaire ou de pupes dans des amas de fumier ou dans des milieux protégés (Dove 1916; Kisliuk 1917; Sanchez-Arroyo 2003). Ces lieux restent en général suffisamment chauds pour permettre la survie des larves ou des pupes. Lorsque les températures commencent à monter et que les journées sont plus chaudes, les mouches sortent de leur hibernation et vont à la recherche de nourriture et de zone optimales pour leur développement.

Bien que cet insecte puisse voler jusqu'à 7 kilomètres (km), les mouches restent en général proches des sources de nourriture ou des zones où elles peuvent se développer (Tein 2005).

Des fortes densités de mouches peuvent également déranger l'homme dans ses habitations ainsi que réduire la productivité des animaux de rente (e.g. réduction de la production d'œufs et de lait dans les fermes) (Mishra et al. 2011). Elles ont pour habitude de se déplacer de leur zone de repas vers des zones utilisées par les hommes et les animaux (Dahlem 2009).

La présence de cette mouche peut engendrer des problèmes sanitaires significatifs, car elle peut potentiellement être porteuse de nombreux pathogènes qu'il est possible de transmettre par contact. Les agents pathogènes transmis peuvent permettre l'apparition de la fièvre typhoïde, la dysenterie, le choléra, la mammite bovine, la conjonctivite, la poliomyélite et bien d'autres maladies (Dahlem 2009; Mishra et al. 2011). Plus de 100 organismes pathogènes ont été recensés sur la mouche domestique pouvant causer des maladies tant chez l'homme que chez l'animal.

Les pathogènes sont retrouvés en grande quantité dans les intestins de la mouche et en moindre quantité sur sa cuticule (Sales, Costa, et Bittencourt 2002). Ces pathogènes ne se multiplient pas et ne sont pas en association avec la mouche hôte, la transmission est uniquement physique (Dahlem 2009). Elle se fait principalement par la salive régurgitée et les fèces mais également par les pattes, les ailes et le reste de la surface du corps (Sales, Costa, et Bittencourt 2002; Khamesipour et al. 2018).

Ce Diptère peut causer des myiases, infections des humains ou des animaux vivants par des larves de Diptères. Ces dernières se nourrissent des tissus, des substances liquides ou de nourriture ingérée par l'hôte pendant un certain temps (Sehgal et al. 2002).

La mouche domestique cause plus précisément des myiases intestinales, phénomène se déroulant lorsque les œufs ou larves sont déposés sur de la nourriture qui sera ingérée. Ils ont la capacité de survivre dans le tube digestif et sortent par les fèces sous forme de larves. Il est important de mentionner que dans la plupart des cas les larves ne se trouvent pas dans des conditions de nutrition adéquates et ont un développement ralenti (Burgess et Davies 1991). Ces infections sont généralement sans symptômes, mais il est possible que les larves causent des dégâts aux intestins menant à l'apparition de diarrhées, d'une perte de poids et d'appétit. Des pseudo-myiases peuvent également se produire lorsque les œufs ingérés éclosent en larves dans l'intestin (Sehgal et al. 2002). Des cas de myiases cutanées ont également été reportées, cela consiste en l'invasion de la peau par les larves (Burgess et Davies 1991). Ces infections sont principalement retrouvées lorsque les conditions de vie sont peu hygiéniques voir insalubres ou que l'individu a des blessures à plaies ouvertes avec des tissus nécrosés (Burgess et Davies 1991).

Afin de contrôler ces populations de mouches, l'utilisation d'insecticides est fortement répandue entraînant l'apparition de possibles résistances au sein de ces populations. De plus, leur utilisation devient de plus en plus limitée suite aux préoccupations environnementales (Mishra et al. 2011). Des pièges olfactifs sont également utilisés mais l'odeur attirant les mouches est nauséabonde et dérange fortement les populations humaines. De plus malgré leur utilisation aisée, leur temps d'action est limité dans le temps, nécessitant le remplacement régulier de l'attractif (Geden 2005). Une solution complémentaire en lutte biologique serait l'utilisation de champignons entomopathogènes (Mishra et al. 2011). Ils sont la cause la plus récurrente d'infection microbienne chez les invertébrés. Ils se développent sur leur hôtes et les utilisent pour se propager, tout en menant à la mort de l'hôte (Zimmermann 2007b). Ces champignons sont naturellement présents au sein des population de mouche domestique et ne présentent pas de danger pour l'homme ou les mammifères (Mishra et al. 2011). Plusieurs champignons étant actuellement disponibles sur le marché pour la lutte contre les insectes ravageurs, il est nécessaire d'étudier la virulence et l'efficacité des différentes souches disponibles (Mishra et al. 2011; Zimmermann 2007b). Tout en prenant en compte la présence naturelle de ces champignons dans les populations de mouches, comme *Beauveria bassiana* ((Bals.- Criv.) Vuill., 1912) et *Metarhizium brunneum* (Petch, 1935) (Mishra et al. 2011; Sales, Costa, et Bittencourt 2002).

1.2. L'utilisation actuelle des biopesticides

Les biopesticides sont définis comme étant une alternative aux pesticides synthétiques, dérivés de matériaux naturels qui limitent ou réduisent les populations de ravageurs (Samada et Tambunan 2020; Sudakin 2003). Ils sont largement répandus dans le monde. Les biopesticides microbiens obtiennent leur renommée par les demandes sociétales, gouvernementales et commerciales pour obtenir de la nourriture sans résidus chimiques, une diminution de l'utilisation des pesticides chimiques et un développement de la pratique d'agriculture biologique. Le développement de ces biopesticides permettrait une lutte durable contre les ravageurs et les maladies des cultures (Mascarin et Jaronski 2016).

Les insectes développent des résistances aux insecticides chimiques utilisés. La production et le développement de nouveaux pesticides chimiques sont complexes et onéreux. Notamment, par le fait qu'il soit de plus en plus difficile de trouver des produits chimiques, commercialement acceptables, ces recherches supplémentaires nécessitent un investissement de plus de 250 millions de dollars et une dizaine d'années avant d'être commercialisées. En plus des effets néfastes de ses produits sur les espèces non ciblées, comme les mammifères et les oiseaux, les effets nuisibles des néonicotinoïdes sur les populations d'abeilles sont inquiétants (Mascarin et Jaronski 2016; Samada et Tambunan 2020).

L'investissement pour les biopesticides microbiens est bien moindre, soit un à deux millions de dollars et nécessite entre 3 à 5 ans avant d'être mis sur le marché (Mascarin et Jaronski 2016). De plus, les biopesticides de tous types (bactérien, fongiques) ont l'avantage de pouvoir toucher des espèces

spécifiques et les risques de développement d'une résistance par les insectes sont minimisés comparés aux insecticides chimiques conventionnels (Ritika et Utpal 2014; Samada et Tambunan 2020; Sudakin 2003).

Le secteur du biocontrôle est en plein développement, avec un taux de croissance annuel moyen de 18,8 % entre 2015 et 2020, selon les prévisions (Mascarin et Jaronski 2016). La vente et l'utilisation des biopesticides augmentent chaque année, avec le marché le plus important se trouvant en Afrique du Nord, représentant 40 % du marché en 2010 (Samada et Tambunan 2020).

Il est important de préciser que la production de biopesticides de tous types reste coûteuse, les produits sont peu stables et sensibles aux conditions environnementales. Mais des améliorations des formulations permettent d'augmenter et de maintenir l'activité de ces biopesticides (Samada et Tambunan 2020).

1.3. Les champignons entomopathogènes

C'est le mode de vie parasitaire des champignons qui est exploité dans le cadre de la lutte biologique contre les ravageurs et les maladies. En effet, les champignons sont la cause la plus récurrente de maladies microbiennes chez les invertébrés, près de 1.000 espèces jouent un rôle clé dans la mortalité naturelle de certains insectes. De plus, la majorité des champignons entomopathogènes ont un schéma d'infection direct, par la cuticule de l'hôte, ils fonctionnent par contact et non par ingestion. Les biopesticides fongiques sont faits principalement à partir de *Beauveria spp.*, *Metarhizium spp.*, *Isaria spp.* et *Lecanicillium spp.*, ces champignons font partie du phylum *Ascomycota* de la classe des Sordariomycetes et de l'ordre des Hypocreales (Mascarin et Jaronski 2016).

1.3.1. Schéma infectieux de *B. bassiana* et *M. brunneum*

Le schéma infectieux de ces champignons suit plusieurs étapes schématisées sur la figure 2 (Zimmermann 2007b; Dakhel, Latchininsky, et Jaronski 2019):

- Fixation des spores à la cuticule de l'insecte,
- Germination et formation des appressoria, un tube hyphal initial,
- Pénétration par la cuticule du tube hyphal pour atteindre l'hémocèle,
- Survie à la réponse de l'hôte, aux réactions immunitaires,
- Propagation dans l'hôte via des fragments d'hyphes ou blastospores,
- Reproduction des conidies à partir de l'hôte mort.

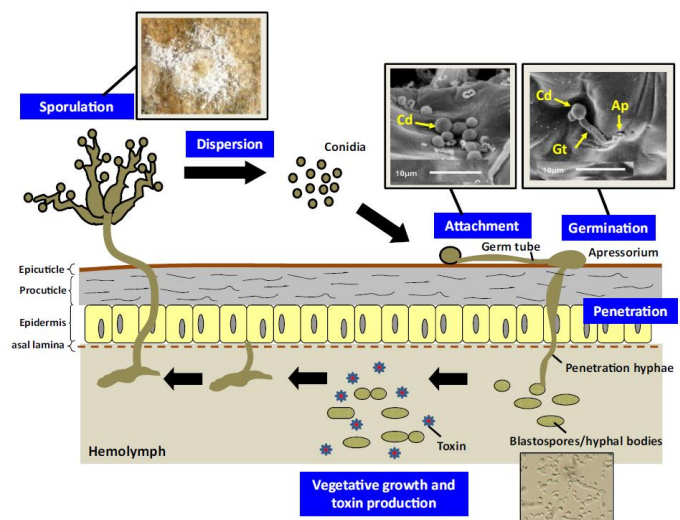


Figure 2 : Le cycle de vie pathogène de base de *Beauveria bassiana* (Mascarin et Jaronski 2016).

Le processus d'infection est percutané, ce sont les zones plus fines et non sclérosées de la cuticule qui sont pénétrées par le champignon, au niveau des articulations et des pièces buccales (Zimmermann 2007a). Ce processus est réalisé grâce à des dégradations mécaniques et enzymatiques de la cuticule, en utilisant les protéases, chitinases et lipases, des enzymes hydrolytiques (Dakhel, Latchininsky, et Jaronski 2019; Mascarin et Jaronski 2016; Zimmermann 2007a).

La fixation des conidies se réalise grâce à l'hydrophobie des conidies et de la surface de la cuticule de l'insecte. La germination et l'infection dépendent de la sensibilité de l'hôte et de son stade, mais aussi de certains facteurs environnementaux comme la température et l'humidité relative. La température optimale pour le développement du champignon se trouve entre 23 et 28 °C avec une gamme entre 5 et 38 °C. La gamme d'humidité relative se trouve entre 92 % et 100 % (Zimmermann 2007a).

Lorsque l'hémolymphe contenant les éléments nutritifs est atteint par les hyphes, le champignon peut bourgeonner en blastospores unicellulaires (ou corps d'hyphes). Ces derniers sont spécialisés et capables de se répandre rapidement, exploiter les nutriments, coloniser les tissus internes et survivre au-delà des réactions immunitaires de l'hôte (Mascarin et Jaronski 2016).

Metarhizium brunneum produit un métabolite toxique, possiblement responsable de la mort de l'insecte. Ce métabolite nuit au métabolisme de l'hôte et permet le développement du mycélium fongique, consommant les nutriments de l'hôte de l'hémolymphe (Dakhel, Latchinsky, et Jaronski 2019).

Ce champignon cause une paralysie musculaire, autrement appelée tétanie, en découle une faiblesse musculaire et la mort. Ces symptômes pourraient expliquer la réduction du taux d'oviposition chez la femelle (D. K. Baker et al. 2018). Différents facteurs interviennent dans la mort de l'hôte : mort par inanition, l'épuisement des nutriments et l'obstruction du corps par la prolifération des corps d'hyphes (Dakhel, Latchinsky, et Jaronski 2019).

1.3.2. Étude sur la virulence et la cinétique de croissance des champignons entomopathogènes

La virulence d'un champignon entomopathogène contre un insecte hôte dépend de nombreux facteurs, bien que ces derniers soient encore peu clairs. La compréhension des facteurs contribuant à la virulence des isolats des champignons est importante, cela permettrait de comprendre l'écologie et l'évolution des interactions insectes-pathogènes (Anderson et al. 2011). Selon Anderson et al. 2011, un isolat peut agir selon deux stratégies, soit il produit une grande quantité de toxines, soit il concentre son énergie sur sa croissance végétative. La disparité dans la virulence pourrait résulter d'un continuum entre ces deux stratégies, et chaque isolat peut occuper une position différente le long de ce continuum (Anderson et al. 2011).

Concernant la production de toxines, tant *Beauveria bassiana* que *Metarhizium brunneum* produisent des métabolites dans les insectes hôtes capables d'avoir des effets paralysants et immunodépresseurs. Mais pour l'instant, peu d'études ont analysé l'éventuel lien entre la virulence d'un champignon et les différences de cinétique de croissance entre isolats fongiques. Cela signifie qu'en plus de l'effet toxique des métabolites, la croissance végétative des champignons dans l'insecte pourrait avoir un effet mortel. En effet, cela serait réalisé lorsque les hyphes fongiques atteignent les organes vitaux, bloquant le flux d'hémolymphe et puisant les ressources nutritives de l'hôte. Dans le cas de *M. domestica*, Anderson et al. 2011 avait comparé la cinétique croissance de quatre souches de champignons entomopathogènes (*B. bassiana*, souches *GHA* et *5344*, et *M. anisopliae*, souches *MaF52* et *Ma189*) pour expliquer les différences en termes de virulence. Grâce à des quantifications relatives de séquences d'ADN spécifique aux différentes souches testées par RT-qPCR, cette étude a démontré que les souches les plus virulentes étaient celles qui avaient la concentration la plus élevée (10^9 conidies/ml) et eu la vitesse de croissance la plus rapide au sein de leur hôte (Anderson et al. 2011). Une autre possibilité viendrait d'une stratégie spécifique du champignon, la production de métabolites immunosuppresseurs, mène à une désactivation de la réponse immunitaire par la suite, des hyphes sont produits et libérés par les hémocytes pour continuer le processus infectieux, mais le temps que cela se produise le champignon attend que l'hôte soit suffisamment immunodéprimé (Anderson et al. 2011).

1.3.3. Les effets des champignons entomopathogènes sur la reproduction de *Musca domestica*

Bien que certaines souches de champignons entomopathogènes n'induisent pas de mortalité directe vis-à-vis de leur hôte, ils peuvent toutefois manifester des effets sub-létaux en altérant des caractéristiques comportementales ou la fécondité de leur hôte. Une baisse de fitness est bien souvent observée lorsqu'un individu est infecté. En effet, la fécondité des femelles traitées est réduite de plus de 70 % avant leur mort (Acharya et al. 2015; Barson, Renn, et Bywater 1994). La réduction du taux d'oviposition passe de 53 % à 98 % entre le 3^e et 4^e jour après une infection des femelles au champignon *M. anisopliae* ((Metschn.) Sorokīn, 1883) (D. K. Baker et al. 2018). Les infections des champignons ont également eu un effet sur la viabilité des œufs, elle est réduite de 13 à 20 % (Acharya et al. 2015). De plus, le temps de latence entre le traitement et la mort permet au champignon d'être transmis entre différents individus. Il a été observé que des mâles de zéro à deux jours, traités avec *Metarhizium anisopliae*, avaient causé 88 % de mortalité chez des femelles non traitées après neuf jours (Renn, Bywater, et Barson 1999).

1.3.4. Formulations des champignons entomopathogènes en biopesticides

Les formulations à base de champignons entomopathogènes, utilisés dans la lutte biologique, doivent posséder certaines propriétés importantes. En effet, la préparation et l'application doivent être simples à effectuer, le produit doit être stable, économique et avoir une concentration suffisante en conidies. Dans le cadre du développement de produits de biocontrôle, une étude a analysé trois types de formulations : l'encapsulation des conidies, l'appât et l'émulsion (Mishra, Kumar, et Malik 2013).

Dans cette étude, l'appât était une solution à base de déchets de thé, servant de substrat au développement du champignon *Beauveria Bassiana*, et de glucose pour attirer l'insecte. Bien que cette formulation soit peu coûteuse, que sa préparation et son transport soient également facilités, le stockage est quant à lui limité (deux - trois mois). Sur le terrain, un taux de mortalité de 100 % a été constaté pour les insectes piégés. Les résultats obtenus sont encourageants. De plus, la formulation décrite ci-dessous permet le transfert indirect de l'infection entre mouches infectées et non-infectées, les déchets de thé sont facilement accessibles par tous (Mishra, Kumar, et Malik 2013).

L'encapsulation des conidies protège ces dernières des conditions environnementales défavorables, augmente la durée de conservation et la bio-efficacité tout en facilitant la prise en main de la formulation. Les résultats obtenus sont satisfaisants, la durée de conservation est remarquable et l'utilisation du sucre permet d'améliorer la viabilité des conidies. Le champ d'application est quant à lui limité du fait du type de formulation qui est considéré comme sec. C'est pour cela que des formulations à base d'émulsions liquides ont été testées (Mishra, Kumar, et Malik 2013).

Les émulsions des champignons entomopathogènes associés à des huiles végétales protègent les conidies de la lumière ultra-violette (UV) et permettent une meilleure adhésion des conidies sur la cuticule de l'insecte. De plus, des formulations à base d'huile ; permettent de renforcer la pathogénicité contre les insectes, sont simples à utiliser et persistent dans l'environnement (Mishra, Kumar, et Malik 2013).

L'émulsion et l'encapsulation ont l'avantage de pouvoir cibler les stades de larves, de pupes et adultes pour plus d'efficacité en plus d'avoir des capacités de stockage intéressantes. Bien que la durée de conservation des formulations encapsulées soit supérieure aux émulsions, la pulvérisation est plus complexe et moins adaptée à une utilisation sur le terrain (Mishra, Kumar, et Malik 2013).

D'autres recherches précisent que des formulations sèches sont mieux adaptées pour l'auto-dissémination comparée aux formulations liquides. Cependant, pour favoriser cette stratégie, un grand nombre d'individus infectés devraient être libérés pour que cela soit efficace (D. K. Baker et al. 2018).

1.3.5. *Metarhizium brunneum*

Metarhizium anisopliae Sorokin est connu mondialement et utilisé comme un agent de biocontrôle. Il a été récemment subdivisé en quatre espèces : *M. pingshaense*, *M. anisopliae*, *M. robertsii* et *M. brunneum* (Eckard et al. 2014). Certaines souches originellement appelées *M. anisopliae* ont été renommées *M. brunneum*. C'est pour cette raison qu'autant *M. anisopliae* et *M. brunneum* sont mentionnés dans ce travail (Dakhel, Latchininsky, et Jaronski 2019).

Ce champignon est un pathogène naturel retrouvé chez les insectes et particulièrement virulent chez la mouche domestique (D. Baker et al. 2020). Il est déjà utilisé dans le contrôle d'insectes par sa présence dans des produits commercialisés ou en cours de développement. Ce champignon a été découvert en 1880, il est réparti dans le monde entier, retrouvé tant sur les insectes hôtes que dans le sol. C'est pour ces raisons qu'il est directement utilisé en tant qu'agent de biocontrôle contre les insectes (Zimmermann 2007b)

Selon une étude, une mortalité des mouches de 50 % est atteinte au bout de 3-4 jours d'exposition au champignon *M. anisopliae* ($3,32 \times 10^8$ conidies/grammes (g)), contre 2 jours pour un insecticide classique. Lors des essais biologiques de cette même étude, c'est au bout de 7 jours, que 90 à 97 % des mouches sont retrouvées mortes, pour une concentration de *M. anisopliae* de $3,32 \times 10^8$ conidies/g et pour le même laps de temps, le taux de mortalité observé suite à une exposition au champignon ou à un produit chimique est similaire (D. Baker et al. 2020).

Un taux de mortalité de 100 % a été obtenu en 6 jours pour une concentration de 10^5 conidies (Renn, Bywater, et Barson 1999). Il est à noter qu'en ajoutant des composants attractifs aux formulations de champignons entomopathogènes, le taux de visite des formulations de la part des mouches augmente, permettant ainsi d'augmenter le taux de contamination (D. Baker et al. 2020). Quant aux isolats de *M. brunneum* (10^8 conidies/ml), il cause entre 73 et 83 % de mortalité pour des espèces de taupin (*Agriotes lineatus* et *Agriotes obscurus*) 56 jours après inoculation (Eckard et al. 2014). Pour des sauterelles (*Melanoplus sanguinipes*) 68 à 88 % de mortalité était constatée après 14 jours d'infection, à des concentrations variant de $0,15$ à $0,49 \times 10^9$ conidies/g (Dakhel, Latchininsky, et Jaronski 2019).

1.3.6. *Beauveria bassiana*

Ce pathogène a été découvert en 1835 et depuis son utilité dans le contrôle des insectes ravageurs est étudiée. *Beauveria bassiana* est caractérisé par des colonies blanches qui deviennent jaunâtres, voire rougeâtres (Zimmermann 2007a).

B. bassiana est l'espèce la plus répandue dans le monde dans son genre, retrouvé tant dans les régions tempérées que tropicales et sur une large variété d'insectes provenant de différents ordres (Zimmermann 2007a). Ce champignon est présent naturellement chez les insectes et est capable d'infester plus de 700 espèces d'hôtes (D. Baker et al. 2020; Mascarin et Jaronski 2016). *B. bassiana* possède une gamme d'hôtes supérieure à celle de *M. anisopliae* (Zimmermann 2007b).

Selon une étude réalisée, une mortalité complète (100%) est observée après 4-5 jours pour des essais biologiques en boîtes de pétri ou en mini-chambres, pour toutes les concentrations utilisées (10^3 à 10^9 conidies/ml) (Mishra et al. 2011). Une autre étude montre une mortalité de 100 % au bout de 5 à 7 jours, pour une concentration de 10^8 conidies/100 milligramme (mg) (Geden, Rutz, et Steinkraus 1995; Mishra et al. 2011). Les différences de mortalités peuvent être attribuées à la différence entre les isolats utilisés (Mishra et al. 2011).

Des études ont démontré que la pathogénicité et les virulences des isolats de *Beauveria* sont liées à la production des métabolites toxiques, à des enzymes dégradantes des cuticules et antioxydantes et le développement végétatif actif à l'intérieur de l'hôte menant à une famine physiologique de l'hôte. Les métabolites toxiques produits lors de la colonisation sont impliqués dans la suppression immunitaire de l'hôte, dans la destruction des tissus internes et dans l'épuisement des nutriments conduisant à la mort de l'hôte. Ensuite, le champignon émerge du cadavre et produit des conidies aériennes à la surface du corps lorsque les conditions environnementales précitées sont rencontrées (Mascarin et Jaronski 2016).

Plusieurs formes de conidies sont observées chez *B. bassiana*, les conidies aériennes, submergées et les blastospores. Les conidies aériennes adhèrent rapidement aux surfaces hydrophobes ou hydrophiles, mais peuvent en être facilement lessivées. Les blastospores ne se lient pas facilement aux surfaces hydrophobes et forment des agrégats, mais ils se lient aux surfaces hydrophiles. Les conidies submergées adhèrent à tous types de surfaces. Selon les formes utilisées, les moyens de dispersion sont variés, amenant plusieurs possibilités de contaminations et de formulations de solutions sporales (Holder et Keyhani 2005).

2. Objectifs

Ce travail a plusieurs objectifs centrés autour de la mouche domestique, *Musca domestica*.

Le premier objectif consiste à réaliser un suivi de la mouche domestique dans un environnement naturel, le village de Moiricy, situé dans la commune de Libramont-Chevigny. Une invasion s'y déroule tous les étés depuis désormais 4 ans, la commune a donc fait appel au département d'Entomologie fonctionnelle et évolutive de Gembloux Agro-Bio Tech afin de déterminer les causes de cette invasion. Le but est de déterminer la zone d'émergence des adultes et leur zone de reproduction à l'aide de pièges attractifs.

Le deuxième objectif porte sur la détermination de la virulence des champignons entomopathogènes ; *Metarhizium brunneum* et *Beauveria bassiana* contre *Musca domestica*. Ces champignons sont déjà répandus comme étant pathogènes de certains insectes et sont retrouvés naturellement dans certaines populations de mouche domestique.

Enfin, un sous-objectif lié au premier objectif, consiste à analyser la biodiversité en insectes retrouvés dans les pièges attractifs disposés dans le village de Moiricy.

3. Matériel et Méthodes

3.1. Bio Essais

3.1.1. L'élevage de *Musca domestica*

Un élevage de *Musca domestica* a été mis en place pour réaliser les essais avec les champignons entomopathogènes. Les mouches ont été achetées en ligne (www.Garnelio.de) et réceptionnées dans trois contenants de 0,5 litre (L). Elles ont été transférées dans une cage d'élevage de type *BugDorm* (60 x 60 x 60 cm) (Figure 3) placée dans une pièce avec des conditions contrôlées de température : 25 à 32 °C, d'humidité relative (HR) de 50 % et de photopériode de ratio 12 :12 h pour le jour et la nuit. En plus de l'eau disponible en quantité illimitée via du papier absorbant humide (Figure 4), une solution humidifiée à base de lait écrémé en poudre et de sucre granulé (1:2) a été mise à disposition comme substrat nutritif pour les mouches (Figure 5) (Leyo et al. 2021) .

Le substrat utilisé pour favoriser la ponte et nourrir les larves est composé de poudre de lait entier, de levure de bière, et d'agar-agar en poudre (10 : 10 : 1) et disposé sur du papier absorbant (Figure 6) (Blanchot 1991). Les œufs (Figure 7), les larves (Figure 8) et les pupes (Figure 4) se trouvent dans les mêmes conditions contrôlées que les mouches (Leyo et al. 2021) .



Figures 3 à 8 : Cage d'élevage (3). Eau (4).Nourriture des mouches (5). Substrat de ponte et de nourriture des larves avec la présence de quelques pupes (6). Œufs (7). Larves (8).

3.1.2. Culture et solutions sporales des champignons entomopathogènes

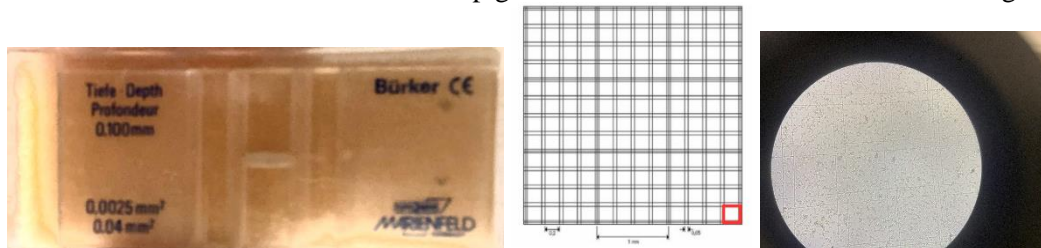
Les champignons utilisés dans le cadre de cette expérience sont *Metarhizium brunneum* GxABT-2 (Université de Liège - Gembloux Agro-Bio Tech, Belgique) ; *Metarhizium brunneum* USDA 4556 (Université Swansea, Royaume-Uni) et une souche de *Beauveria bassiana* GHA (BotaniGard 22WP).

Des milieux de culture Sabouraud Dextrose Agar (SDA) ont été produits en mélangeant 12 g de Sabouraud Dextrose B. (SDB) avec 6 g d'agar-agar et 400 ml d'eau distillée. Ce mélange a été placé dans un autoclave avant d'être coulé dans des boîtes de pétri sous hotte à flux laminaire. Les trois souches ont été mises en culture sur les milieux SDA en grattant avec un racloir autoclavé et à l'aide d'un mélange d'eau et de Tween 80 (0,03 %), les spores présentes sur les boîtes de pétri fournies sous hotte à flux laminaire. Les nouvelles boîtes de pétri sont ensuite laissées dans des incubateurs pendant 20 jours à une température de 23°C jusqu'à sporulation des champignons.

Après sporulation, un mélange d'eau et de Tween 80 (0,03%) a été appliqué dans les boîtes de pétri afin d'en extraire les spores. Le mélange de champignon et de liquide a été raclé à l'aide d'un racloir

autoclavé et passé sur un entonnoir muni d'une étamine autoclavée afin de prélever seulement les spores, le tout est ensuite placé dans des tubes Eppendorf de 45 ml.

Afin d'appliquer une concentration de 10^8 conidies/ml sur les mouches, la concentration des suspensions conidiales a été déterminée grâce à l'hémocytomètre de Bürker (Figure 9). La solution initiale a été diluée 10x et placée sur l'hémocytomètre puis le nombre de spores présentes dans cinq carrés choisis aléatoirement est comptabilisé (Figure 10 et 11). Le nombre moyen de spores a été multiplié par la dilution réalisée, par 2,5 et par 10^5 afin d'obtenir la concentration en conidies par ml de solution. Un simple calcul de concentration a été effectué afin d'obtenir 5 ml de solution sporale de 10^8 conidies/ml. Les solutions des différents champignons ont été conservées à 4 °C dans un frigo.



Figures 9 à 11 : Hémocytomètre de Bürker (9). La grille de l'hémocytomètre, le carré rouge représente un carré de comptage (10). Photographie des spores présentes dans l'hémocytomètre (11).

3.1.3. Test de viabilité des spores

Il est important de vérifier que les spores soient capables de germer, sans ceci, elles ne peuvent pas infester l'hôte. Pour réaliser cela, 100 microlitres (μ l) de suspension de conidies (10^5 conidies/ml) sont déposés sur un milieu SDA et mises à incubation pendant 24 h à 23 °C.

Ensuite, trois carrés (1 cm²) ont été découpés dans le milieu SDA au scalpel stérile, chaque morceau a été mis sur lame et la sporulation (apparition du tube germinatif) de 100 conidies a été observée au microscope. De cette manière, la proportion des conidies viables a été déterminée à 90 %.

3.1.4. Test de pathogénicité

Cent mouches (cinq mouches par répliques (n), n = 4) ont été prélevées de la cage d'élevage avant la manipulation des champignons afin d'éviter toute contamination. Un témoin négatif à base d'eau et de Tween 80 (0,03 %) et un témoin positif à base d'eau et de Karate zeon® (λ -cyhalothrin 100 g/l, Syngenta, Belgique) (0,04 %) ont été préparés.

Les mouches ont été réparties par cinq dans des piluliers pré-troués afin de les anesthésier au CO₂. Une pulvérisation manuelle de 1 ml de solution sporale ou de témoin a été réalisée pour chaque pilulier. Les insectes ont été déposés dans des pots en plastique (11 x 11 x 6 cm) (Figure 12). Ils contiennent du papier absorbant humide afin de favoriser la croissance des champignons, mais également des boîtes de pétri remplies de la solution nutritive de l'élevage mélangée à de l'eau distillée autoclavée. Si nécessaire la papier absorbant a été réhumidifié tous les jours.

Les insectes ont été maintenus à 23° C, avec une photopériode de 16 :8 h dans des incubateurs durant 10 jours. Les mortalités ont été relevées toutes les 24 h. Lorsqu'un cadavre de mouche a été retrouvé, il a été prélevé au pinceau stérilisé à l'éthanol (70 %) et trempé dans l'éthanol (70 %) pendant 15 secondes et rincé 3x à l'eau distillée autoclavée pendant respectivement 25 secondes, 1 minute et 2 minutes (Figure 12). Le cadavre a été déposé sur du papier filtre pour essuyer l'insecte puis disposé dans une boîte de pétri dans laquelle se trouvait un papier filtre légèrement humide. Les boîtes de pétri obtenues ont été mises à incubation à 23 °C et ont été observées toutes les 24 h pendant 5 jours au binoculaire pour confirmer l'infection (Figure 13 à 25).

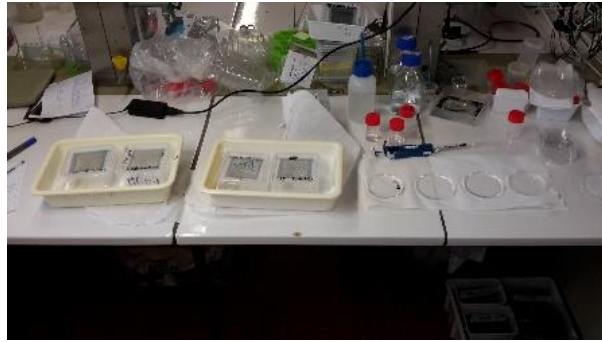


Figure 12 : Dispositif expérimental lors du relevé des cadavres.



13



14



15



16



17



18



19



20



21



22



Figures 13 à 25 : Contamination à *Metarhizium brunneum* USDA, 2^e répétition (13 à 17). Contamination à *Beauveria bassiana*, 1^{ère} (18) et 3^e répétition (19). Contamination à *Metarhizium brunneum* Gembloux, 2^e (20 à 23) et 4^e répétitions (24 et 25).

3.1.5. Analyses statistiques

Les tests statistiques ont été réalisés à l'aide du logiciel Rstudio version 4.3.1. La méthode non-paramétrique, de Kaplan-Meier a été utilisée. Elle estime les probabilités de survie, les courbes de survies et les temps létaux à 50 % de mortalité (TL50) également appelé médiane. Les courbes de survie générées ont été comparées par le test de Log-Rank et plus précisément le test de comparaison par paires afin de déterminer la présence de différences significative. Un test de Log-Rank plus spécifique a été réalisé en comparant les essais fongiques et le témoin positif (insecticide) au témoin négatif, choisi par convention, pour déterminer s'il y a une différence significative entre les courbes de survie des essais et celle du témoin négatif. La régression de Cox a également été appliquée au jeu de données dans le but d'identifier les essais présentant la meilleure survie grâce aux coefficients (coef) et donne les chances de mortalité ($\exp(\text{coef})$) de l'essai testé (Insecticide, Tween, *Metarhizium brunneum* Gembloux et USDA) par rapport à l'essai de comparaison (ici, *Beauveria Bassiana*).

3.2. Campagne de terrain

3.2.1. Piégeage

Après discussion avec l'administration communale de Libramont-Chevigny et certains habitants, dix zones ont été définies dans le village de Moiricy afin d'y disposer des pièges (Figure 26 et 27).

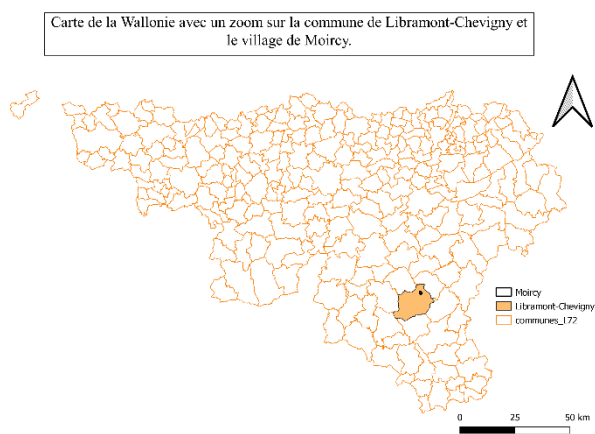


Figure 26 : Carte de Wallonie avec un zoom sur la commune de Libramont-Chevigny.

Village de Moiricy et la localisation des 10 pièges.



Figure 27 : Localisation des 10 pièges dans le village de Moiricy (27).

Des pièges de type Appibustergarden® (Figure 28) ont été achetés dans le commerce et ont été utilisés selon les instructions fournies. Environ 2 L d'eau ont été ajoutés, l'attractif a été versé et bien mélangé, les pièges ont été placés à environ 1 m du sol aux endroits convenus. Ils ont été disposés le 19 avril

2023 et ont été relevés toutes les semaines à partir du 5 mai 2023 jusqu'au 30 juin, soit pendant 9 semaines. Les insectes ont été prélevés à l'aide d'une petite passoire, disposés dans des piluliers (Figure 29) ou plus grands contenants en plastique (11 x 11 x 6 cm ou 17 x 12 x 6 cm) (Figure 30) selon le nombre d'insectes récoltés, et conservés dans de l'éthanol à 70 %.



Figures 28 à 30 : Piège utilisé pour la récolte d'insectes (28). Piluliers contenant les échantillons récoltés (29). Grands contenants pour les échantillons plus importants (30).

3.2.2. Identification

Les insectes de plus de 7 mm provenant des 4 premiers jours de relevé et de deux pièges du 5^e relevé ont été étalés pour permettre une identification des familles d'intérêt : Calliphoridae, Muscidae et Scathophagidae (Figure 31 et 32). Chaque insecte étalé a ensuite été étiqueté avec le jour de récolte, le numéro du piège, le type de piège, la longitude et la latitude du lieu du piège, la période de récolte (entre le relevé précédent et le nouveau relevé) et l'endroit de récolte. Chaque insecte a été identifié jusqu'à la famille, à l'exception de la mouche domestique, identifiée à l'espèce.



Figures 31 et 32 : Insectes étalés.

Les insectes des autres relevés et pièges ont été triés selon leur apparence physique et identifiés sans étalage afin de constituer la base de données. Vu le nombre important d'insectes récoltés, certains échantillons (i.e. contenu d'un piège pour un jour de relevé) n'ont été triés et identifiés qu'au quart, voire huitième de l'échantillon initial (Tableau 1).

Tableau 1 : Tableau reprenant la quantité triée et identifiée pour chaque piège par jour de relevé.

Pièges n° :	Jour de relevé					
	26.05.2023	02.06.2023	09.06.2023	16.06.2023	23.06.2023	30.06.2023
1	1	1	1/4	1/8	1/4	1/4
2	1	1/4	1	1/4	1/4	1
3	1	1	1	1/4	1	1/4
4	1	1	1	1/4	1	1
5	1	1	1/4	1/4	1	1
6	1/4	1/4	1/4	1/4	1/4	1
7	1/4	1/4	1/4	1/4	1/4	1
8	1/4	1	1	1	1	1
9	1	1	1	1	1	1
10	1	1	1	1	1	1

Les individus identifiés jusqu'à l'ordre sont repris sous le nom (O. « Ordre »). Certains individus, probablement de même famille, sont repris dans les groupes (*Diptera_1*, *Diptera_2*, *Diptera_3*), par manque de temps, l'identification de leur famille n'a pas pu être réalisée.

3.2.3. Analyses statistiques

Dans le but d'analyser les données concernant la mouche domestique, la normalité et l'homoscédasticité ont été testés via le test de Shapiro et Wilk et le test de Bartlett. Si ces tests ne se révèlent pas concluants, une transformation logarithmique de variable à expliquer sera réalisée et la loi de poisson sera utilisée dans les modèles linéaires généralisés mixtes (GLMM).

Les variables de longitude et de latitude ont été échelonnées pour permettre la réalisation du modèle correctement. Après cela, un modèle GLMM a été utilisé via le logiciel Rstudio® afin de déterminer quels facteurs, fixes ou aléatoires, expliquent le mieux le nombre de mouches domestiques présentes dans le village. Les facteurs fixes sont ; la latitude et la longitude du lieu des pièges, le jour de relevé (« N. Echantillon »), la modalité environnementale et la distance à la ferme la plus proche (en mètres). Le facteur modalité environnementale a trois valeurs : 1, le piège se trouve près d'une ferme (<250 m), 2, le piège se trouve près d'une rivière (<50 m), 3, le piège se trouve chez l'habitant sans rivière ou ferme à proximité. Le facteur aléatoire est le numéro des pièges (1 à 10, « Piège »). Le modèle de base est donc le suivant : $\log(\text{nombre de } Musca) = \text{latitude du piège} + \text{longitude du piège} + \text{jour de relevé} + \text{modalité environnementale} + (1|\text{Piège})$,

Une vérification de l'ajustement correct du modèle a été réalisée à l'aide du package « DHARMA ». En général, les résidus permettent d'évaluer la normalité ou l'homoscédasticité, donc l'ajustement correct du modèle. Dans le cas des GLMM, il est plus complexe d'interpréter les résidus, ce package permet de simplifier leur interprétation. Ici, les résidus ont été estimés grâce aux données prédites, simulées à partir du modèle ajusté. Un des graphiques obtenus a permis de détecter les écarts globaux par rapport à la distribution attendue et d'évaluer la qualité de l'ajustement du modèle aux données observées, l'autre graphique représente les résidus en fonction de la valeur prédite, indiquant la dispersion hétérogène des résidus. Des graphiques du logarithme du nombre de *Musca domestica* récoltées en fonction de chaque facteur sélectionné ont été réalisés afin de comprendre l'impact de ces derniers sur le nombre de *Musca domestica*.

Concernant l'analyse sur la totalité des insectes retrouvés dans les pièges, divers graphiques ont été générés via le logiciel Rstudio®. Le coefficient de similarité de Jaccard a permis de comparer la composition en familles des différents pièges et a servi de base pour réaliser un clustering hiérarchique. Ce dernier a permis de créer un dendrogramme rassemblant les pièges selon leurs ressemblances en termes de composition en familles pour ensuite pouvoir séparer en groupes les différents pièges. Afin de déterminer le nombre de groupes adéquats à faire, les méthodes du calcul du coefficient de silhouette moyen et de l'estimation de l'inertie ont été utilisées.

4. Résultats

4.1. Bio essais sur les champignons entomopathogènes

Les résultats de mortalité des mouches domestiques à l'aide de diverses souches de champignons entomopathogènes indiquent que l'insecticide témoin possède le taux létal à 50 % (TL50) le plus faible (24 h, $\chi^2 = 35,9$, ddl = 1, p-val = < 0,001 ; Figure 33, Tableau 2, Annexe 1) alors que la souche commerciale *Beauveria bassiana* présente le TL50 le plus élevé (156 h, $\chi^2 = 0$, ddl = 1, p-val = 0,9) ; Tableau 2, Annexe 2). Aucun TL50 ($\chi^2 = 0,6$, ddl = 1, p-val = 0,6 ; Annexe 3) n'a été calculé pour l'essai *Metarhizium brunneum* Gembloux (*MbG*) la mortalité étant inférieure à 50 % (45 %). Le témoin à base de Tween présente un TL50 (120 h) inférieur à celui des essais à base de champignons (entre 132h-156h) mais la probabilité de survie des mouches pour ce témoin (40 %) reste supérieure à celle de *Metarhizium brunneum* USDA (*MbU*) (35 %, $\chi^2 = 0,4$, ddl = 1, p-val = 0,4 ; Annexe 4).

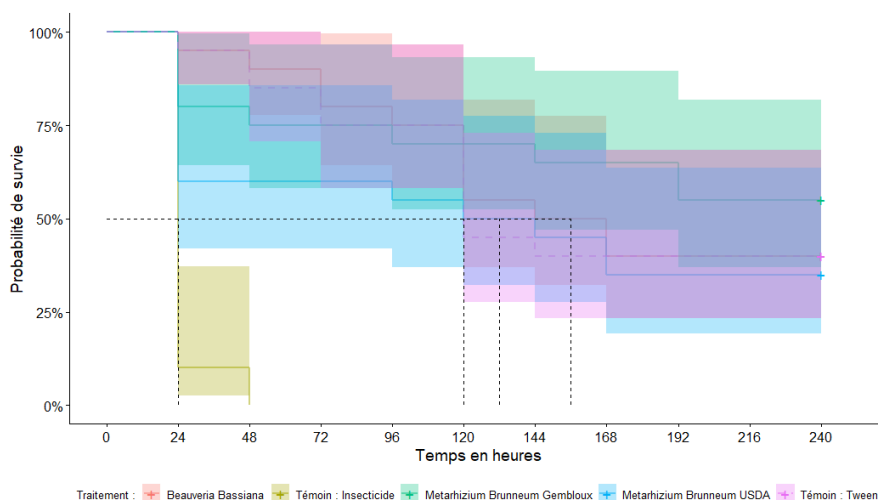


Figure 33 : Courbes de survies de Kaplan-Meier.

La courbe de survie de l'essai à base d'insecticide est significativement différente des autres courbes de survies d'après les test de Log-Rank ($\chi^2 = 50,8$, ddl = 4, p-val=<0,001 ; Annexe 5, Annexe 6, Annexe 1) contrairement aux courbes de survies des 4 autres essais considérées comme non significativement différentes (p-val => 0,05 ; Tableau 3, Annexe 2 à Annexe 5), ces essais semblent donc obtenir les mêmes effets.

Les mouches du témoin à base d'insecticide ont 11,41 x plus de chances de mourir que l'essai de comparaison, *Beauveria bassiana* (Tableau 3). Les autres essais ont entre 0,73 et 1,38 x plus de chance de mourir que *B.bassiana* sans différence significative entre eux (Tableau 3).

Tableau 2 : Tableau des résultats de l'analyse de Kaplan-Meier.

Essais :	Résultats de Kaplan-Meier					
	n	n.event	Probabilité de survie après 10 jours	Médiane	IC inférieur	IC supérieur
<i>Beauveria Bassiana</i>	20	12	40%	156	120	
Insecticide	20	20	0%	24	24	24
<i>Metharizium Brunneum</i> Gembloux	20	9	55%		144	
<i>Metharizium Brunneum</i> USDA	20	13	35%	132	24	
<i>Tween</i>	20	12	40%	120	120	

Tableau 3 : Résultats de la régression de Cox.

Essais :	Regression de Cox				
	Coefficient	exp(coef)	P-valeur	IC inférieur	IC supérieur
Insecticide	2,43	11,41	1,63E-08	4,90	26,56
<i>Metharizium Brunneum</i> Gembloux	-0,32	0,73	0,47	0,31	1,73
<i>Metharizium Brunneum</i> USDA	0,32	1,38	0,42	0,62	3,03
<i>Tween</i>	0,06	1,06	0,89	0,48	2,35

4.2. Campagne de terrain

4.2.1. *Musca domestica*

La distribution des données n'est pas normale ($p\text{-val} = < 0,001$; Annexe 7) et les variances présentes entre les modalités des variables ne sont pas homoscédastiques ($p\text{-val} = < 0,001$; Annexe 8).

Les variables expliquant le mieux le nombre de mouches domestiques retrouvées dans le village sont ; la latitude ($p\text{-val} = 0,087$), le jour de relevé ($p\text{-val} = < 0,001$) et les numéros des pièges ($p\text{-val} = < 0,001$) (Annexe 9). Suite à ces résultats, il est constaté que les concentrations de mouches se situent aux environs des exploitations de poules pondeuses et de poulets, afin de tester ce facteur, une nouvelle variable « distance à la ferme la plus proche » a été ajoutée au modèle et les variables explicatives de ce nouveau modèle sont les suivantes ; la modalité environnementale ($p\text{-val} = 0,0588$), le jour de relevé ($p\text{-val} = < 0,001$), les pièges ($p\text{-val} = 0,0384$) et la distance à la ferme la plus proche ($p\text{-val} = 0,0805$) (Annexe 10). Une corrélation est observée entre l'effet fixe « jours de relevé » et l'effet aléatoire « numéro du piège » (Coef : $-0,74$) mais également entre les effets fixes « distance à la ferme la plus proche » et « modalité environnementale » (Coef : $-0,77$). D'après les figures 34 et 35, les modèles choisis sont considérés valides et expliquent correctement les variations dans le nombre de mouches observées, cela consolide les résultats obtenus.

Plus les pièges se trouvent au sud du village (latitude faible) (Figure 36), proche des productions de volailles (« fermes ») (Figure 37), plus de *Musca domestica* y seraient retrouvées. Le nombre de mouches augmente également au fur et à mesure des relevés (Figure 38) et lorsque les numéros des pièges augmentent (Figure 39).

Cependant, l'impact de la distance à la ferme la plus proche sur le nombre de mouches est difficilement visible (Figure 40), une légère diminution est tout de même observée lorsque les pièges sont positionnés loin des fermes. Les diagrammes circulaires générés indiquent le piège n°9 comme le plus abondant suivi des pièges n°8, n°1 et n°10 (Figure 41), les jours de relevés récoltant le plus de *Musca domestica* sont les jours n°8, n°9 et n°7 (Figure 42).

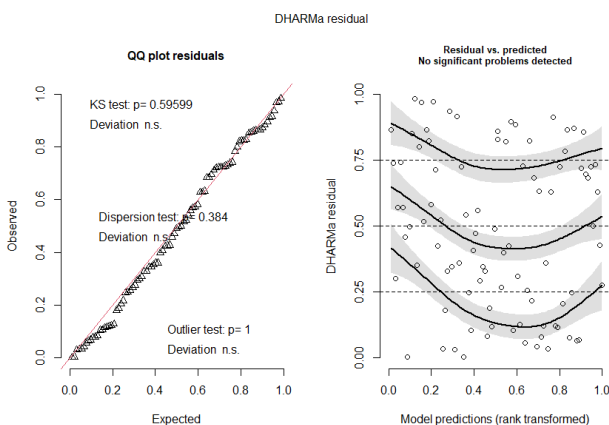


Figure 34 : Graphique de la qualité de l'ajustement au modèle n°1 grâce aux résidus observés (gauche) et les résidus en fonction de la valeur prédite (droite) résultant du package DHARMA.

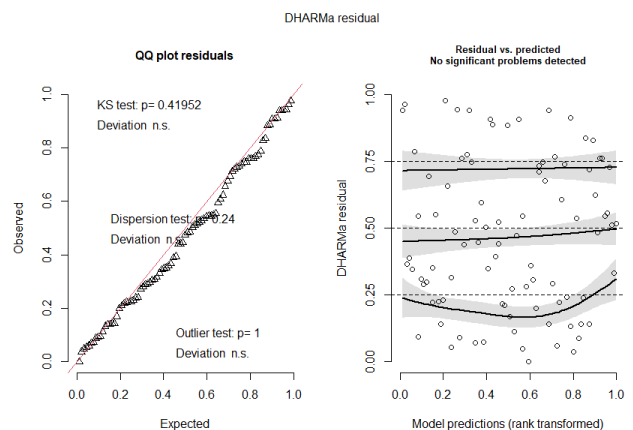
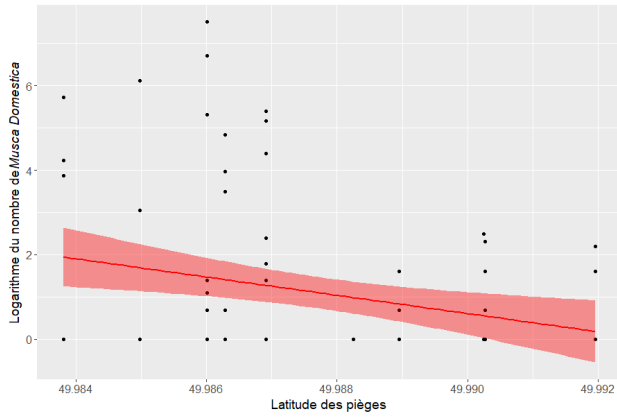
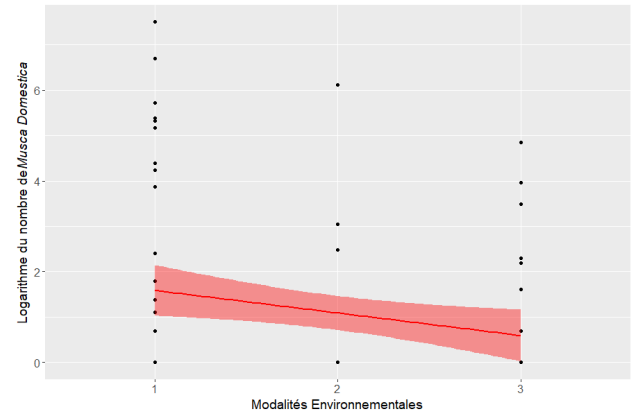


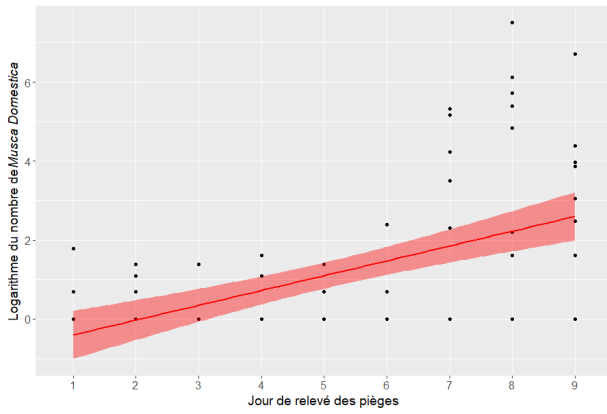
Figure 35 : Graphique de la qualité de l'ajustement au modèle n°2 grâce aux résidus observés (gauche) et les résidus en fonction de la valeur prédite (droite) résultant du package DHARMA.



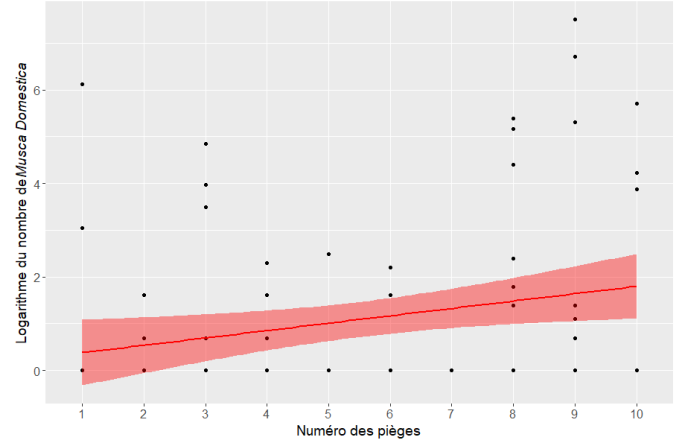
36



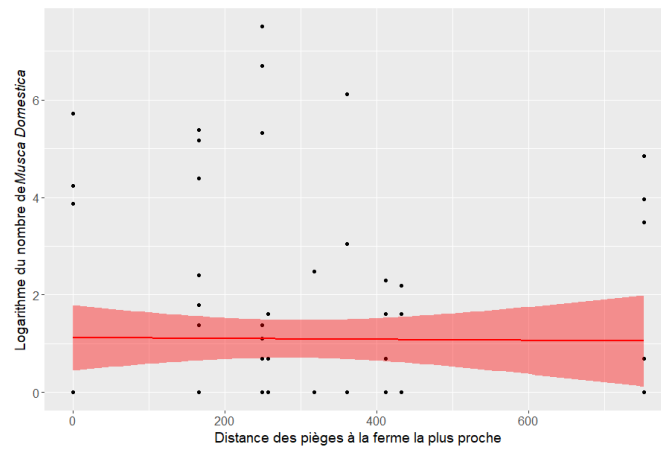
37



38



39



40

Figures 36 à 40 : Graphiques du logarithme du nombre de mouches en fonction de : la latitude des pièges (36), la modalité environnementale (1 : Ferme, 2 : Milieux humide, 3 : Habitants) (37), les jours de relevé (38), les numéros des pièges (39) et la distance à la ferme la plus proche (40).

Pourcentage des nombres de *Musca domestica* par pièges

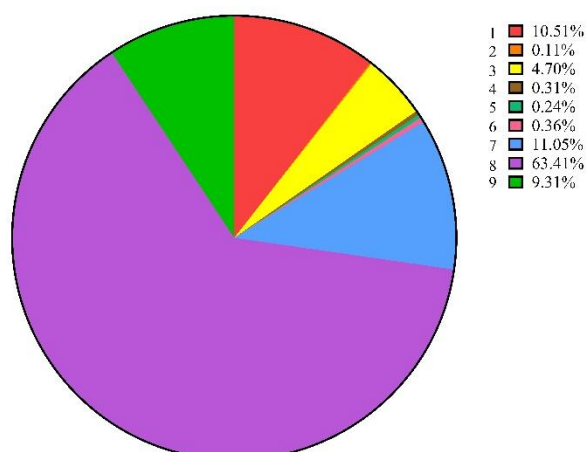


Figure 41 : Diagramme circulaire des abondances de mouches récoltées pour chaque piège.

Pourcentage des nombres de *Musca domestica* par jours

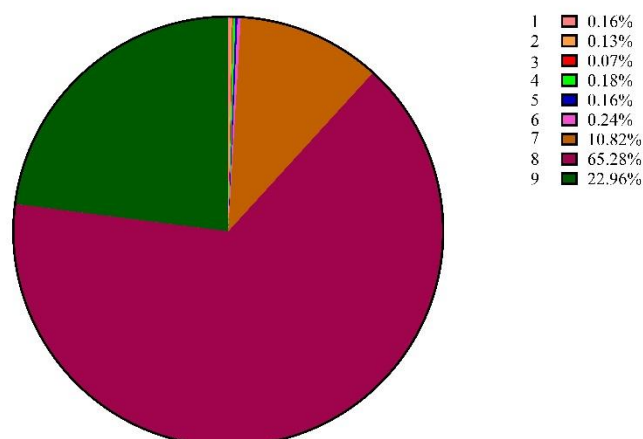


Figure 42 : Diagramme circulaire des abondances de mouches récoltées pour chaque jour de récolte.

4.2.2. Analyse de biodiversité

Un total de 27.880 insectes a été identifié et classés dans 6 ordres et 25 familles différentes. Entre 6 et 16 familles distinctes sont retrouvées par piège. Le diagramme circulaire généré sur base des données récoltées indique la prévalence des Calliphoridae, Muscidae et de la famille « Diptera_3 » non identifiée (Figure 43). Des Scathophagidae sont également représentés à hauteur de 4,41 %, présents principalement dans les pièges n°1, n°3, n°6 et n°7 (Annexe 15).

En plus de ces analyses, des rassemblements par clusters ont été réalisés, selon deux ou trois clusters (Figure 44), le graphique avec le coefficient de Silhouette moyen indique que 10 clusters est le nombre optimal (coefficient le plus élevé) (Annexe 11) tandis que celui de l'inertie, identifie deux ou trois clusters comme nombre optimal (lorsque l'inertie devient constante) (Annexe 12).

Pourcentage des différentes familles trouvées dans le village de Moircy

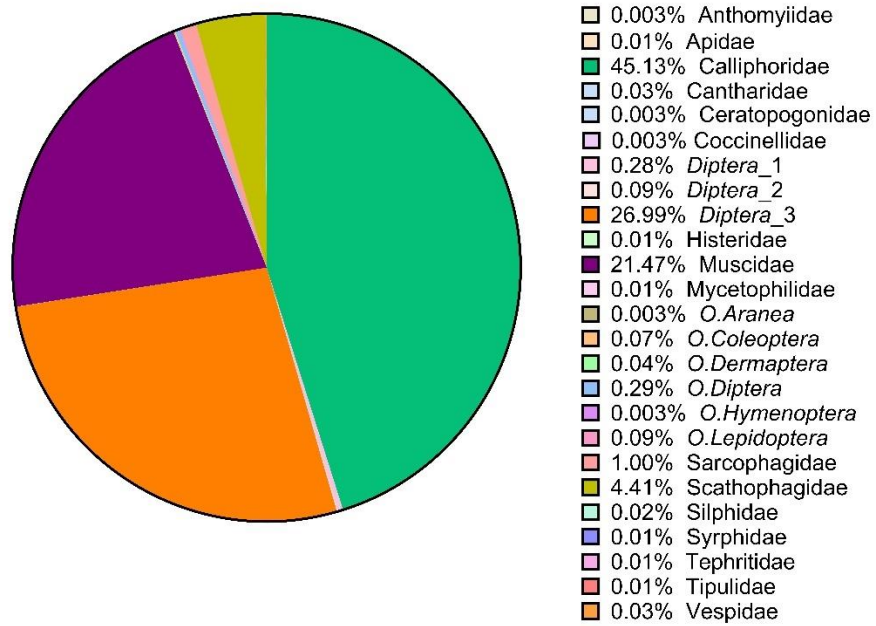


Figure 43 Diagramme circulaire de chaque famille retrouvée dans le village de Moircy.

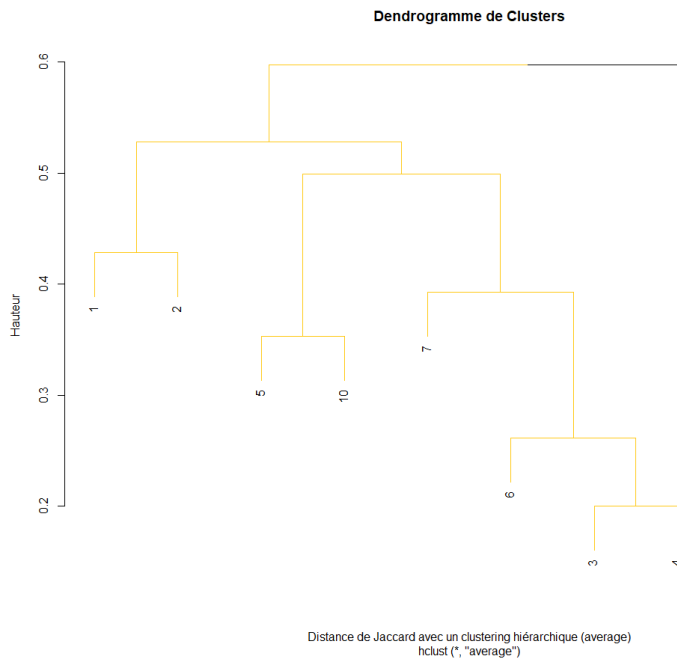


Figure 44 : Dendrogramme de cluster.

5. Discussion et perspectives

5.1. Bio essais sur les champignons entomopathogènes

Dans la littérature, différents TL50 sont observés, notamment après une contamination au champignon *M. brunneum* ($3,32 \times 10^8$ conidies/g de sucrose) par les parties buccales. Le TL50 est atteint en 3-4 jours et 99 % de mortalité sont observés après 7 jours (D. Baker et al. 2020). Après contamination par *B. bassiana* et *M. brunneum*, de concentration 2×10^8 conidies/ml selon Barson, Renn, et Bywater 1994 et 10^6 et 10^9 conidies/ml selon Mishra et al. 2011, un taux de mortalité de 100 % de mortalité est observé à 6 et 5 jours d'observation, respectivement.

Dans cette étude, aucune différence significative n'est relevée entre les trois champignons et le témoin Tween. Cependant, il est à noter que le TL50 de *MbG* n'a pas pu être estimé, et que le TL50 et la probabilité de survie observés de *MbU* sont les plus faibles parmi le témoin négatif et les essais fongiques. Le témoin positif à base d'insecticide montre une mortalité de 100 %, supérieure et différente des autres essais, comme prévu. Cependant, les résultats attendus pour le témoin négatif à base d'eau et de Tween comparés aux essais fongiques sont surprenants. Son TL50 et sa probabilité de survie auraient, en effet, dû être supérieurs et différents significativement des essais à base de champignon. Si des différences significatives sont observées entre le contrôle et les essais fongiques, cela montre que les champignons sont plus virulents, comme constaté dans diverses études (D. Baker et al. 2020; Mishra et al. 2011). Ces résultats peu probants mènent notamment à analyser les protocoles et à essayer d'y trouver quelques failles.

Premièrement, un nombre de 20 individus par essai n'est pas suffisant. Des mortalités sont, en effet, attendues au début de l'expérience, qu'importe l'essai, amenant rapidement à une mortalité élevée lorsqu'il n'y a que cinq mouches par répliques. Entre autres, des mortalités dues au stress, à l'anesthésie au CO₂, au changement d'environnement et de conditions entre l'élevage et l'incubateur ont été rencontrées. Dans la littérature, entre 20 et 40, voire 50 mouches sont généralement retrouvées par répliques, avec trois à dix répliques, soit 4 à 10x plus que lors des bio essais (Anderson et al. 2011; D. Baker et al. 2020; Barson, Renn, et Bywater 1994; Geden, Rutz, et Steinkraus 1995; Mishra, Kumar, et Malik 2013). Un nombre de répliques important permet de réduire l'impact des variations aléatoires et les biais expérimentaux. Une population plus abondante apporte plus de représentativité de la réalité et réduit les effets de l'échantillonnage. Ces deux facteurs permettent d'amener de la robustesse aux analyses statistiques et aux résultats obtenus. La faible quantité d'individus retrouvée lors de ce travail est due au nombre de mouches disponibles dans l'élevage au début de l'expérience. Il aurait fallu en commander davantage, ou attendre d'avoir plusieurs générations pour avoir un nombre d'adultes plus élevé.

De plus, la ration jour : nuit retrouvé à l'élevage était de 12 : 12, contrairement au ratio de l'incubateur réglé à 16 : 8. D'autres expériences étant en cours, ce paramètre n'était pas modifiable. Il aurait fallu habituer les individus au nouvel environnement avant de commencer les essais afin d'éviter du stress supplémentaire, comme l'ont fait Barson, Renn, et Bywater 1994.

Pour pallier le stress de l'anesthésie, il est également possible d'utiliser des pupes prêtes à émerger, et de les placer directement dans des boîtes dans lesquelles se trouve un papier sur lequel le champignon a été vaporisé (Acharya et al. 2015).

Ensuite, le dispositif de nourriture disponible lors de l'expérience, différent de celui de l'élevage, formait une pâte collante et plus ou moins liquide, où des mouches mortes ont été retrouvées. Bien que l'infection soit confirmée pour chaque mouche morte retrouvée dans les essais fongiques, ce dispositif a pu entraîner un taux de mortalité plus rapide, influençant le TL50 et la probabilité de survie. Une grille aurait pu être posée par-dessus les contenants, ou moins d'eau aurait pu être ajoutée. Mais d'autres solutions sont possibles selon la littérature, comme imbiber du coton de solution nutritive humidifiée

(Barson, Renn, et Bywater 1994), ou combiner le système de nutrition et l'infection. Dans certaines études, lors des traitements, soit une poudre de conidies de *Mb* (3.32×10^8 conidies/g de sucrose) est mélangée avec la nourriture, soit les suspensions conidiales de *Mb* et *Bb* (10^6 et 10^9 conidies/ml) sont directement vaporisées sur le substrat nutritif (D. Baker et al. 2020; Mishra et al. 2011). Cette solution permet de nourrir les mouches sans qu'elles meurent collées ou noyées dans la pâte de sucre, comme observé dans l'expérience réalisée. Elle permet également une contamination des champignons par les parties buccales de la mouche et non par la cuticule, première barrière du champignon pour infecter l'hôte (D. Baker et al. 2020; Zimmermann 2007a). Dans ces études, le TL50 est atteint après 3-4 jours et une mortalité complète est observée en une semaine (D. Baker et al. 2020; Mishra et al. 2011)

Par ailleurs, l'âge des mouches n'était pas contrôlé. Ces dernières ne survivent que 15 à 25 jours en conditions naturelles. Dans cette expérience, le temps de livraison des mouches (3 jours) et la mise en place de l'expérience a pu avoir un impact sur le temps de survie (Sanchez-Arroyo 2003). En général, les mouches utilisées ont entre 1 et 5 jours, assurant une durée de vie lors de l'expérience plus longue (Anderson et al. 2011; D. Baker et al. 2020; Barson, Renn, et Bywater 1994; Mishra et al. 2011).

En outre, la manière d'appliquer les différentes solutions (insecticide, solutions sporales et Tween) peut avoir un impact. Une vaporisation trop proche pulvérise plus de produits sur chaque mouche, mais peut mener à une mort directe par noyade, tandis qu'une vaporisation trop éloignée ne permet pas un dépôt suffisant sur chaque mouche. Il conviendrait de standardiser la distance de vaporisation pour s'assurer qu'elle soit similaire entre chaque essai. D'autres systèmes d'applications sont utilisés, comme la vaporisation des formulations sporales à l'aide d'aérographes. Ils permettent une vaporisation continue à même vitesse et distance de vaporisation, et assurent une couverture uniforme. Dans ce cas, les solutions sporales sont vaporisées sur du papier et ensuite mises dans des boîtes de pétri, dans lesquelles les mouches marchent pendant 4 h (Anderson et al. 2011). Les mouches sont ensuite placées dans des contenants similaires à ceux utilisés dans cette étude.

Il est également commun d'utiliser de l'huile à la place du mélange d'eau + Tween. Des concentrations de 2×10^8 conidies/ml sont retrouvées dans des solutions sporales à base d'huile de coton, de soja et de lin, avec une mortalité complète observée après 3 - 4 jours. Pour un mélange classique eau + Tween à la même concentration, la même mortalité est observée en 6 jours (Barson, Renn, et Bywater 1994). Acharya et al. 2015 mentionnent l'utilisation d'huiles avec une concentration de 10^9 conidies/ml pour *Bb* et *Mb*. La vaporisation des solutions sporales est réalisée avec un aérographe sur des papiers positionnés par la suite dans des contenants en plastique, dans lesquelles des pupes prêtes à émerger sont déposées (Acharya et al. 2015). Pour *Bb*, le TL50 est obtenu après 6 jours avec une mortalité de 100 % après 8 jours. Pour *Mb*, le TL50 est observé après 9 jours avec 100 % de mortalité observée après 16 jours. Les mouches dans le traitement de contrôle ont survécu entre 96 et 110 jours (TL50 entre 26 et 34 jours) (Acharya et al. 2015). Les solutions préparées à base d'huiles végétales protègent les conidies des rayons ultra-violets et permettent une meilleure adhésion des conidies à la cuticule de l'insecte (Mishra, Kumar, et Malik 2013). C'est une piste à envisager lors de préparation de solutions sporales, notamment dans le cadre du développement de biopesticides fongiques.

Il est aussi possible d'orienter les essais vers les larves et non les adultes, facilitant la manipulation des individus. Dans deux études, 20 larves ($n=$ cinq répliques) sont trempées dans des suspensions conidiales de *Mb* (10^7 et 10^8 conidies/ml) pendant 1 seconde. Après 14 jours, aucune larve n'a émergé (Barson, Renn, et Bywater 1994). Dans l'autre étude, 10 larves au stade de 2^e instar ($n=$ 4 répliques) sont utilisées et la nourriture est vaporisée par des solutions sporales de *Mb* et *Bb* (10^6 , 10^7 et 10^9 conidies/ml). Les TL50 sont observés après 4 jours et 97 % de mortalité sont observés après 5 jours pour les deux champignons et à une concentration de 10^9 conidies/ml (Mishra et al. 2011).

La question d'éventuelles contaminations croisées peut se poser également, mais aucune mouche morte lors de l'essai du témoin ne s'est montrée infectée après l'incubation de 5 jours.

Il est pertinent de considérer le mode d'infection des champignons étudiés. Une fois les conidies germées, elles produisent des appressorium pour permettre la pénétration de la cuticule de l'insecte (Zimmermann 2007b). Le processus mécanique de pénétration est aidé par plusieurs enzymes (protéases, chitinases et lipases) dégradant les protéines, la chitine et les lipides de la cuticule (Feng, Poprawski, et Khachatourians 1994; Zimmermann 2007b). L'hydrophobicité de la paroi conidienne et de l'épicuticule de l'insecte semblent jouer un rôle dans le processus d'adhésion, processus dit passif et non spécifique (Boucias 1988). Dans le cas de *Bb*, les conidies contiennent une protéine (hydrophobines) de type hydrophobe sur leur surface extérieure (Zimmermann 2007a). Cette protéine confère également une résistance à la dessiccation et facilite la dispersion aérienne (Wösten 2001). L'adhésion des conidies peut être réduite par des composés neutralisant l'hydrophobicité, comme les détergents, les solvants ou les protéines à poids moléculaire élevé. Ces composés sont typiquement ajoutés aux solutions sporales pour faciliter la mise en solution des spores (Boucias 1988). En effet, selon Holder et Keyhani 2005, 80 à 90 % d'inhibition de l'adhésion sont observés lors de l'utilisation de 0,1% de Tween 80 (Holder et Keyhani 2005). C'est pour cette raison que d'autres solutions pour obtenir les suspensions conidiales sont proposées, comme l'utilisation d'huiles végétales, ou la suppression du Tween du témoin pour ne garder que l'eau.

Une explication des résultats obtenus lors de ce travail peut également se trouver dans la souche ou l'isolat utilisé. De nombreux isolats et souches de *Bb* sont retrouvés dans le monde, à titre d'exemple, des TL50 variant de 2 à 10 jours chez *Leptinotarsa decemlineata*. De plus, la virulence de *Bb* est en général plus élevée chez ses hôtes principaux ou chez des espèces proches, malgré cela des exceptions existent et des variations de virulence sont observées, bien que méconnues, une partie ces variations pourrait être expliquée par la diversité des isolats utilisés (Anderson et al. 2011; Feng, Poprawski, et Khachatourians 1994).

Les nombreuses améliorations mentionnées ci-dessus peuvent être effectuées afin d'obtenir des résultats plus fiables et éventuellement plus encourageants. Les champignons entomopathogènes utilisés ont déjà montré des résultats prometteurs et certains sont utilisés dans des biopesticides commercialisés (Samada et Tambunan 2020; Sudakin 2003) Il serait donc pertinent de continuer les recherches les concernant. L'avenir de tels biopesticides est d'autant plus prometteur au vu des résistances développées par différents insectes aux insecticides (Mascarin et Jaronski 2016).

5.2. Campagne de terrain

5.2.1. *Musca domestica*

Après analyse et traitement des données, deux modèles sont sélectionnés en fonction des p-valeur des variables. Il est montré que les variables les plus explicatives sont ; le jour du relevé et le numéro du piège. La mouche domestique étant retrouvée en plus grand nombre durant les mois chauds (Sanchez-Arroyo 2003), il était prévisible de remarquer une augmentation du nombre de mouches au cours de l'expérience. L'augmentation du nombre de mouches récoltées en fonction du facteur aléatoire « numéro du piège » est interprétée comme étant la localisation dudit piège qui impacte ce nombre et non le côté aléatoire du numéro de piège attribué (Figure 39). Ce qui est également constaté par la variable « latitude », plus elle diminue, plus le nombre de mouches augmente (Figure 36). Le croisement de ces deux variables converge dans la zone du sud-ouest de Moiricy. C'est donc dans cette zone que devraient se concentrer les futures recherches pour déterminer plus précisément la zone d'émergence après hibernage et la zone de reproduction.

Après cette première analyse et en remarquant que plus de mouches sont retrouvées près des exploitations de volailles, la variable "distance à la ferme la plus proche" est ajoutée au modèle. Celle-ci amène de nouveaux résultats. Les p-valeurs, bien que non significatives (0,08 au lieu de 0,05), sont jugées assez faibles que pour considérer les variables « distance à la ferme la plus proche » et « modalité environnementale » comme pertinentes. De plus, ces deux variables sont considérées comme corrélées.

Les pièges pour lesquels une forte concentration de mouches sont retrouvées selon les modalités environnementales correspond aux mêmes pièges pour lesquelles de fortes concentrations sont observées lors de l'étude sur la variable « distance à la ferme la plus proche », raisons qui pourraient expliquer la corrélation. Afin d'interpréter correctement la variable « distance à la ferme la plus proche », il est important de mentionner que pour les deux fermes présentes dans la zone étudiée, l'une comptabilise plusieurs mouches, contrairement à l'autre dans laquelle aucune n'a été retrouvée. C'est probablement pour cela que la figure 40 ne montre pas de tendance claire. C'est pour ces raisons que les résultats obtenus pour cette variable sont à interpréter avec attention. La figure 37 représentant la modalité environnementale, quant à elle, indique que les zones proches des fermes ont le nombre de mouches le plus important, suivi des zones humides. En croisant ces données avec l'analyse précédente, les résultats sont plutôt concordants.

Ils amènent à la conclusion que plus l'année avance et plus les pièges se trouvent près des fermes ou en zone humide (sud-ouest de la zone), plus de mouches y sont retrouvées (Figure 47). En effet, la mouche domestique se trouve idéalement près des installations de production agricole et surtout dans les élevages de poules pondeuses, dans les zones proches des sites de reproductions et dans les champs où du fumier a été épandu (Geden et al. 2021; Geden 2005).

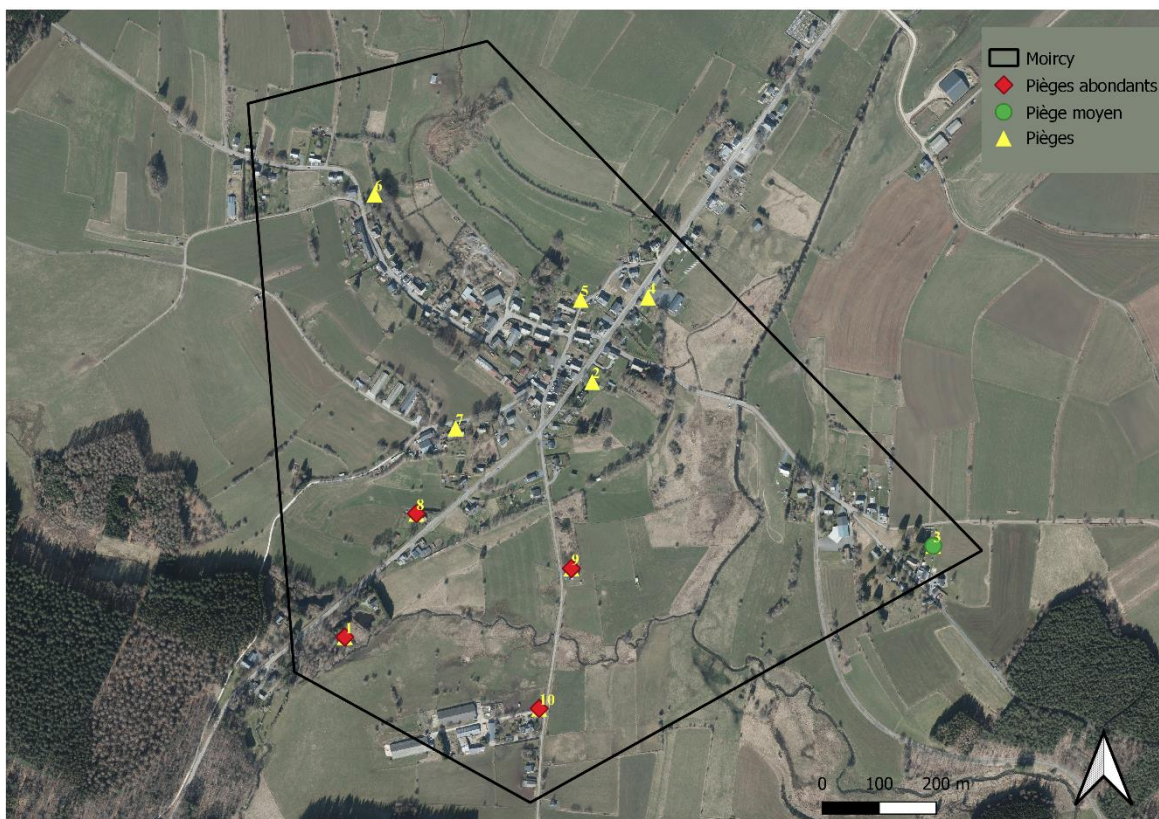


Figure 47 : Carte de Moircy avec la localisation des 10 pièges et un code couleur en fonction de l'abondance de *Musca domestica*.

Les pièges sont couramment utilisés dans la recherche, ou pour effectuer un contrôle local, et là où la résistance aux insecticides pose problème (Pickens, Miller, et Mowry 1973). Dans le cas de cette étude, ils ont été utilisés pour récolter les mouches et estimer les zones d'émergence et de reproduction. Cependant, ces pièges possèdent certains désavantages : la production d'odeurs nauséabondes, une détérioration de l'attractivité, un besoin de vérification régulière des pièges et une utilisation complexe dans des grandes zones ouvertes (Geden 2005; Pickens, Miller, et Mowry 1973). De plus, dans le cadre de leur utilisation pour cette étude, ils devaient être positionnés à des endroits stratégiques en effectuant

une prospection de terrain au préalable, ils ne doivent pas être pas trop proches les uns des autres afin de couvrir le rayon de vol de *Musca domestica*. Leur distance de vol se trouve entre 5 et 7,5 km, bien qu'elles ne restent en général dans un rayon que de 2-3 km (Dahlem 2009; Tein 2005). L'utilisation de pièges dans le cadre de cette étude doit donc être bien étudiée et réfléchi au préalable.

Cette méthode a permis de trouver une première zone d'intérêt. Cependant, positionner plus de pièges et effectuer plus de relevés d'échantillons pourraient amener à affiner la zone de recherche et avoir une lutte plus efficace contre cet insecte. Des méthodes de contrôles peuvent également être instaurées par installation de pièges, ou en intégrant éventuellement une lutte biologique par les parasitoïdes et prédateurs naturels de la mouche (Geden et al. 2021).

Pour être efficace, la lutte contre les mouches nécessite un suivi rigoureux, en commençant par une gestion du fumier. Une première action peut venir des installations dans les poulaillers. Dans les endroits où les animaux sont en contact direct avec leurs propres excréments, la production de mouches est plus faible. Les animaux grattent la litière souillée, dérangent et sèchent les excréments, consomment les mouches immatures et d'autres insectes. Au contraire des installations séparées des excréments, où ils ne sont pas dérangés (Geden et al. 2021). Ensuite, une gestion de l'humidité peut être effectuée pour assécher les fientes et réduire l'humidité jusqu'à 50 à 75 %, conditions idéales de développement des larves (Geden et al. 2021). Une amélioration du drainage et de la circulation de l'air par l'installation éventuelle de ventilateurs à grande vitesse serait intéressante à prendre en compte (Geden et al. 2021; Iqbal et al. 2014). De plus, le fumier et tout endroit propice au développement des larves et des mouches doivent être nettoyés deux fois par semaine pour rompre le cycle de reproduction (Geden et al. 2021; Iqbal et al. 2014; Sanchez-Arroyo 2003).

Des produits chimiques peuvent être utilisés pour assécher le fumier et rendre le pH du fumier moins propice au développement des larves. Cependant, des inquiétudes se créent sur la qualité du fumier en tant que fertilisant après ces ajouts, or celui des exploitations de Moircy est épandu dans les champs alentours (Geden et al. 2021).

Comme réalisé lors de ce travail, les mouches domestiques peuvent également être piégées, en les attirant avec des odeurs ou des surfaces claires (Sanchez-Arroyo 2003). À l'intérieur des bâtiments, des pièges à lumière ultraviolette peuvent également être placés tous les 9 m, mais pas au-dessus ou à moins d'1,5m des zones de préparation des aliments pour éviter la transmission de pathogènes (Sanchez-Arroyo 2003). À l'extérieur, les pièges doivent être préférentiellement placés près des entrées des bâtiments, sous les arbres, autour des aires de repos des animaux et des tas de fumier (Sanchez-Arroyo 2003). La destruction de mouches adultes permet de réduire l'infestation, mais il reste primordial d'éliminer les zones de reproduction et donc de les identifier (Sanchez-Arroyo 2003).

Des recherches autour de l'hibernation de la mouche peuvent dès lors permettre une gestion des populations. Si les mouches adultes ne retrouvent pas de conditions assez froides pour devenir inactives, elles vont soit pondre dans des tas de fumier générant de la chaleur, soit mourir rapidement (Dove 1916; Kisliuk 1917). Les larves et les pupes sont donc retrouvées dans des tas de fumier, tant qu'il est alimenté. Des émergences d'adultes sont alors observées, permettant ensuite de nouvelles pontes (Dove 1916). Limiter l'apport de fumier et donc la production de chaleur pourrait donc être une solution.

Une nouvelle lutte prometteuse est en cours de recherche, en utilisant des huiles essentielles qui posséderaient des propriétés insecticides (Geden et al. 2021; Iqbal et al. 2014).

5.2.2. Analyse de diversité

Les principales familles d'insectes identifiées et retrouvées dans les pièges sont des Muscidae et des Calliphoridae. Ces deux familles sont généralement retrouvées ensemble dans ces pièges attractifs, présentes dans les mêmes milieux et attirées par les mêmes odeurs, notamment celle de la matière

organique d'origine animale en décomposition (Sankara et al. 2022). Il est important de préciser qu'un troisième groupe est présent en grand nombre, « *Diptera_3* », les insectes présent dans son groupe ont été triés selon leur apparence et semble appartenir à même la famille. Ils sont représentés à hauteur de 26,99 %, valeur non négligeable (Figure 43). L'identification de cette famille d'insecte et de plus amples recherches seraient primordiales si des investigations plus poussées sont mises en place dans le cadre de cette étude.

Les graphiques indiquant le nombre idéal de clusters (Figure 45 et 46) ont des résultats bien différents. L'un préconise 10 clusters, l'autre entre 2 et 3. Cependant, réaliser 10 clusters pour 10 pièges signifie qu'ils sont tous différents en termes de présence de familles, et n'est donc pas jugé pertinent. Au contraire, réaliser deux ou trois clusters indique que des similarités entre certains pièges sont observables.

Les résultats des clusters indiquent que les pièges n°8 et n°9 se trouvent dans des groupes différents des autres pièges. Les familles les plus représentées dans ces deux pièges sont les Calliphoridae, les Muscidae et la famille de l'ordre des *Diptera* (*Diptera_3*) non identifiée (Annexe 13, Annexe 14). Cependant plus de Muscidae sont retrouvées dans le piège n°9 et moins de Calliphoridae et de *Diptera* (*Diptera_3*), en comparaison au piège n°8 (Annexe 15). Cela peut être également mis en lien avec le fait que dans les pièges n°8 à n°10, plus de Muscidae sont observées par rapport aux pièges n°1 à n°7 où une concentration plus élevée de Calliphoridae et de *Diptera* en question est constatée (Annexe 15). Il est alors probable qu'une compétition ait lieu entre les espèces, et qu'il y ait une répartition au sein du village. En effet, plusieurs études démontrent qu'une concurrence peut être observée pour les larves de mouches se développant sur des matières organiques animales apportant des effets défavorables sur leur fitness ou leur dynamique de population (Cerigatto et al. 2009). Les différences retrouvées entre les pièges peuvent également être expliquées par des disparités dans les conditions environnementales menant à des niches écologiques différenciées ou à des cycles biologiques décalés (Lambiasi et Camerini 2012; Martinez-Sanchez, Rojo, et Marcos-Garcia 2000; Nateghpour et Akbarzadeh 2017). La dispersion des familles entre les pièges pourraient former des zones de concentration spécifiques dans le village de Moircy, piste qui semble pertinente à analyser.

Au cours du temps, une augmentation du nombre de Calliphoridae et de Muscidae est observable, jusqu'à atteindre un maximum aux 7^e et 8^e jour de relevé respectivement, pour ensuite noter une diminution d'environ la moitié (Annexe 16). Ces changements peuvent être expliqués par les variations des conditions météorologiques² durant l'expérimentation. Des épisodes pluvieux ou venteux et des variations de températures peuvent avoir un impact sur le développement et donc le nombre de mouches (Akbarzadeh et al. 2012; Mahon, Ahmad, et Wardhaugh 2004; Pickens et al. 1967). Le nombre d'individus de la famille non identifiée varient plus entre les jours de relevés. Ne connaissant pas la famille ou l'espèce en question, réaliser des interprétations sur cette constatations est complexe. Cette piste est à mettre en avant dans le cadre de futures études sur la diversité dans le village de Moircy.

² Selon le site internet : <https://www.historique-meteo.net>, consulté le 11/08/2023.

6. Contribution personnelle

Lors de ce travail de fin d'études, des recherches bibliographiques ont été effectuées afin de se préparer au mieux à la mise en place des expériences et de la campagne de terrain, mais également pour se renseigner sur les différentes composantes de l'étude. Par souci de sécurité, la plupart des manipulations de champignons ont été réalisées par une laborantine, toujours accompagnée par l'étudiante pour son apprentissage. Une fois que cette dernière a eu vaporisé les suspensions des champignons et des témoins, elle a dirigé le reste de l'expérience et l'encodage des données. Les communications avec la commune de Libramont-Chevigny, la mise en place des pièges et l'entièreté des relevés ont été également accomplis par l'étudiante. Le traitement des 27.880 insectes, comportant le comptage, l'identification, la mise en collection, l'encodage des données et leur mise en forme, a été effectué par l'étudiante. Après quelques recherches, elle a également codé sur Rstudio® les analyses statistiques, tant concernant les bio essais que la campagne de terrain. Finalement, elle a rassemblé les résultats obtenus et les a interprétés et discutés à l'aide de recherches dans la littérature.

7. Conclusion

L'objectif principal était de déterminer les raisons de l'invasion récurrente de mouches, *Musca domestica*, dans le village de Moiricy. L'étude réalisée met en évidence une zone de concentration élevée en mouches domestiques, à savoir le sud-ouest du village. Dans cette zone se trouve un élevage de poules pondeuses, des champs sur lesquels du fumier est épandu et un élevage de poulets à proximité. Cette zone possède toutes les caractéristiques pour justifier cette invasion de mouches et des recherches ou des méthodes de contrôle plus poussées devraient y être mises en place

Le deuxième objectif de ce travail de fin d'études était d'étudier la virulence de champignons entomopathogènes contre la mouche domestique, dans le but de promouvoir la lutte contre cet insecte à l'aide de biopesticides. Les résultats obtenus ne peuvent être considérés comme concluants, aucun champignons entomopathogène n'ayant pu être mis en avant. Pour remédier à cela, de nombreuses améliorations peuvent être réalisées. Les champignons *Beauveria Bassiana* et *Metarhizium brunneum* sont déjà utilisés dans des biopesticides et continuer à réaliser des recherches plus poussées semble donc pertinent.

Enfin, un sous-objectif de ce travail était l'identification et la détermination de la biodiversité dans le village de Moiricy. Trois principales familles de Diptères ont été retrouvées dans les pièges ; les Muscidae, les Calliphoridae et la famille non identifiée appartenant à l'ordre des Diptères. Des dissimilarités de concentrations de ces familles ont été constatées en fonction des pièges et des jours pouvant mener à la distinction de zones représentées par des familles différentes.

8. Bibliographie

- Acharya, Naworaj, Edwin G. Rajotte, Nina E. Jenkins, et Matthew B. Thomas. 2015. « Potential for Biocontrol of House Flies, *Musca Domestica*, Using Fungal Biopesticides ». *Biocontrol Science and Technology* 25 (5): 513-24. <https://doi.org/10.1080/09583157.2014.992862>.
- Akbarzadeh, Kamran, Javad Rafinejad, Jamasb Nozari, Yavar Rassi, Mohammad Mehdi Sedaghat, et Mostafa Hosseini. 2012. « A Modified Trap for Adult Sampling of Medically Important Flies (Insecta: Diptera) ». *Journal of Arthropod-Borne Diseases* 6 (2): 119-28.
- Anderson, Robert D., Andrew S. Bell, Simon Blanford, Krijn P. Paaijmans, et Matthew B. Thomas. 2011. « Comparative Growth Kinetics and Virulence of Four Different Isolates of Entomopathogenic Fungi in the House Fly (*Musca Domestica* L.) ». *Journal of Invertebrate Pathology* 107 (3): 179-84. <https://doi.org/10.1016/j.jip.2011.04.004>.
- Baker, Dalton K., Steven J Rice, Diana M Leemon, et Peter J James. 2018. « Horizontal Transmission of *Metarhizium Anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitacea) and the Effects of Infection on Oviposition Rate in Laboratory Populations of *Musca Domestica* (Diptera: Muscidae): Horizontal Transmission of *Metarhizium* in House Flies ». *Pest Management Science* 74 (4): 987-91. <https://doi.org/10.1002/ps.4799>.
- Baker, Dalton, Steven Rice, Diana Leemon, Rosamond Godwin, et Peter James. 2020. « Development of a Mycoinsecticide Bait Formulation for the Control of House Flies, *Musca Domestica* L. ». *Insects* 11 (1): 47. <https://doi.org/10.3390/insects11010047>.
- Barson, Graham, Nick Renn, et Andrew F Bywater. 1994. « Laboratory Evaluation of Six Species of Entomopathogenic Fungi for the Control of the House Fly (*Musca Domestica* L.), a Pest of Intensive Animal Units ». *Journal of Invertebrate Pathology* 64 (2): 107-13. <https://doi.org/10.1006/jipa.1994.1078>.
- Blanchot, Philippe. 1991. « Élevage massif de la mouche domestique (*Musca domestica*). » Paris: Ecole Pratique des Hautes Etudes.
- Boucias, D G. 1988. « Deuteromycetes to Host Insect Cuticlet ». *APPL. ENVIRON. MICROBIOL.* 54.
- Burgess, I, et Elisabeth A. Davies. 1991. « Cutaneous Myiasis Caused by the Housefly, *Musca Domestica* ». *J. Anim. Vet. Adv.*
- Cerigatto, Wanderley, Thais Irene Souza Riback, Patricia Jacqueline Thyssen, Carolina Reigada, Thiago De Carvalho Moretti, et Wesley Augusto Conde Godoy. 2009. « Stochastic Dynamics of *Musca Domestica* (Diptera: Muscidae) and *Chrysomya Putoria* (Diptera: Calliphoridae) ». *J. Anim. Vet. Adv.*
- Dahlem, Gregory A. 2009. « House Fly ». In *Encyclopedia of Insects*, 469-70. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-374144-8.00134-X>.
- Dakhel, Wahid H., Alexandre V. Latchininsky, et Stefan T. Jaronski. 2019. « Efficacy of Two Entomopathogenic Fungi, *Metarhizium Brunneum*, Strain F52 Alone and Combined with *Paranosema Locustae* against the Migratory Grasshopper, *Melanoplus Sanguinipes*, under Laboratory and Greenhouse Conditions ». *Insects* 10 (4): 94. <https://doi.org/10.3390/insects10040094>.
- Dove, W. E. 1916. « Some Notes Concerning Over Wintering of the House-Fly, *Musca Domestica*, at Dallas, Texas1 ». *Journal of Economic Entomology* 9 (6): 528-38. <https://doi.org/10.1093/jee/9.6.528>.
- Eckard, Sonja, Minshad A. Ansari, Sven Bacher, Tariq M. Butt, Jürg Enkerli, et Giseller Grabenweger. 2014. « Virulence of in Vivo and in Vitro Produced Conidia of *Metarhizium Brunneum* Strains for Control of Wireworms ». *Crop Protection* 64 (octobre): 137-42. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2014.06.017>.
- Feng, M. G., T. J. Poprawski, et G. G. Khachatourians. 1994. « Production, Formulation and Application of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria Bassiana* for Insect Control: Current Status ». *Biocontrol Science and Technology* 4 (1): 3-34. <https://doi.org/10.1080/09583159409355309>.
- Geden. 2005. « Methods for Monitoring Outdoor Populations of House Flies, *Musca Domestica* L. (Diptera: Muscidae) ». *Journal of Vector Ecology* 30 (2).

- Geden, C.J., D.A. Rutz, et D.C. Steinkraus. 1995. « Virulence of Different Isolates and Formulations of *Beauveria Bassiana* for House Flies and the Parasitoid *Muscidifurax Raptor* ». *Biological Control* 5 (4): 615-21. <https://doi.org/10.1006/bcon.1995.1073>.
- Geden, D Nayduch, J G Scott, E R Burgess, A C Gerry, P E Kaufman, J Thomson, V Pickens, et E T Machtinger. 2021. « House Fly (Diptera: Muscidae): Biology, Pest Status, Current Management Prospects, and Research Needs ». Édité par Danesha Carley. *Journal of Integrated Pest Management* 12 (1): 39. <https://doi.org/10.1093/jipm/pmaa021>.
- Holder, Diane J., et Nemat O. Keyhani. 2005. « Adhesion of the Entomopathogenic Fungus *Beauveria (Cordyceps) Bassiana* to Substrata ». *Applied and Environmental Microbiology* 71 (9): 5260-66. <https://doi.org/10.1128/AEM.71.9.5260-5266.2005>.
- Iqbal, Waheed, Muhammad Faheem Malik, Muhammad Kaleem Sarwar, Nadia Iram, et Aqsad Rashda. 2014. « Role of Housefly (*Musca Domestica*, Diptera; Muscidae) as a Disease Vector; a Review ». *Journal of Entomology and Zoology Studies*.
- Khamesipour, Faham, Kamran Bagheri Lankarani, Behnam Honarvar, et Tebit Emmanuel Kwenti. 2018. « A Systematic Review of Human Pathogens Carried by the Housefly (*Musca Domestica* L.) ». *BMC Public Health* 18 (1): 1049. <https://doi.org/10.1186/s12889-018-5934-3>.
- Kisliuk, Max. 1917. « Some Winter Observations of Muscid Flies ». *The Ohio Journal of Science*, n° 8.
- Lambiase, Simonetta, et Giuseppe Camerini. 2012. « Spread and Habitat Selection of *Chrysomya Albiceps* (Wiedemann) (Diptera Calliphoridae) in Northern Italy: Forensic Implications: SPREAD AND HABITAT SELECTION OF CHRYSOMYA ALBICEPS ». *Journal of Forensic Sciences* 57 (3): 799-801. <https://doi.org/10.1111/j.1556-4029.2011.02027.x>.
- Leyo, Idriss Hamidou, Zakari Moussa Ousman, Frédéric Francis, et Rudy Caparros Megido. 2021. « Techniques de production d’asticots de mouches domestiques (*Musca domestica* L. 1758) pour l’alimentation des volailles, synthèse bibliographique. » *Tropicultura*, n° 2. <https://doi.org/10.25518/2295-8010.1813>.
- Mahon, R.J., H. Ahmad, et K.G. Wardhaugh. 2004. « Factors Affecting Abundance and Oviposition Rates of a Field Population of the Old World Screw-Worm Fly, *Chrysomya Bezziana* (Diptera: Calliphoridae) ». *Bulletin of Entomological Research* 94 (4): 359-68. <https://doi.org/10.1079/BER2004312>.
- Martinez-Sanchez, A., S. Rojo, et M. A. Marcos-Garcia. 2000. « Annual and Spatial Activity of Dung Flies and Carrion in a Mediterranean Holm-Oak Pasture Ecosystem ». *Medical and Veterinary Entomology* 14 (1): 56-63. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2915.2000.00205.x>.
- Mascarin, Gabriel Moura, et Stefan T. Jaronski. 2016. « The Production and Uses of *Beauveria Bassiana* as a Microbial Insecticide ». *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 32 (11): 177. <https://doi.org/10.1007/s11274-016-2131-3>.
- Mishra, Sapna, Peeyush Kumar, et Anushree Malik. 2013. « Preparation, Characterization, and Insecticidal Activity Evaluation of Three Different Formulations of *Beauveria Bassiana* against *Musca Domestica* ». *Parasitology Research* 112 (10): 3485-95. <https://doi.org/10.1007/s00436-013-3529-6>.
- Mishra, Sapna, Peeyush Kumar, Anushree Malik, et Santosh Satya. 2011. « Adulticidal and Larvicidal Activity of *Beauveria Bassiana* and *Metarhizium Anisopliae* against Housefly, *Musca Domestica* (Diptera: Muscidae), in Laboratory and Simulated Field Bioassays ». *Parasitology Research* 108 (6): 1483-92. <https://doi.org/10.1007/s00436-010-2203-5>.
- Nateghpour, Mehdi, et Kamran Akbarzadeh. 2017. « Necrophagous Flies of Synanthropic Habitats in the South-East Iran ». *Oriental Insects* 51 (4): 380-90. <https://doi.org/10.1080/00305316.2017.1314987>.
- Pickens, L. G., R. W. Miller, et George R. Mowry. 1973. « An Improved Bait for Flies (Diptera: Muscidae, Calliphoridae)1 ». *Journal of Medical Entomology* 10 (1): 84-88. <https://doi.org/10.1093/jmedent/10.1.84>.
- Pickens, L G, N O Morgan, J G Hartsock, et J W Smith. 1967. « Dispersal Patterns and Populations of the House Fly1 Affected by Sanitation and Weather in Rural Maryland2 » 60.
- Renn, N., A. F. Bywater, et G. Barson. 1999. « A Bait Formulated with *Metarhizium Anisopliae* for the Control of *Musca Domestica* L. (Dipt., Muscidae) Assessed in Large-Scale Laboratory

- Enclosures ». *Journal of Applied Entomology* 123 (5): 309-14. <https://doi.org/10.1046/j.1439-0418.1999.00374.x>.
- Ritika, Bhattacharjee, et Dey Utpal. 2014. « An Overview of Fungal and Bacterial Biopesticides to Control Plant Pathogens/Diseases ». *African Journal of Microbiology Research* 8 (17): 1749-62. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.6356>.
- Sales, Márcia de Senna Nunes, Gisela Lara da Costa, et Vânia Rita Elias Pinheiro Bittencourt. 2002. « Isolation of Fungi in *Musca Domestica* Linnaeus, 1758 (Diptera: Muscidae) Captured at Two Natural Breeding Grounds in the Municipality of Seropédica, Rio de Janeiro, Brazil ». *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 97 (8): 1107-10. <https://doi.org/10.1590/S0074-02762002000800007>.
- Samada, Lukmanul Hakim, et Usman Sumo Friend Tambunan. 2020. « Biopesticides as Promising Alternatives to Chemical Pesticides: A Review of Their Current and Future Status ». *OnLine Journal of Biological Sciences* 20 (2): 66-76. <https://doi.org/10.3844/ojbsci.2020.66.76>.
- Sanchez-Arroyo, H. 2003. « House Fly, *Musca Domestica* Linnaeus ».
- Sankara, Florence, Fernand Sankara, Salimata Pousga, Wendpègda Jeanne Marie Bamogo, Kalifa Coulibaly, Jacques Philippe Nacoulma, Irénée Somda, et Marc Kenis. 2022. « Influence des attractifs sur la production des larves de la mouche domestique (*Musca domestica* L. (1758)) pour l'alimentation avicole dans la zone ouest du Burkina Faso: Influence of attractants on the production of housefly larvae (*Musca domestica* L. (1758)) for poultry feed in the western zone of Burkina Faso ». *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 16 (3): 1217-31. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v16i3.25>.
- Sehgal, Rakesh, Harrinder Pal Singh Bhatti, Deepak Kumar Bhasin, Atul Kumar Sood, Ritambra Nada, Nancy Malla, et Kartar Singh. 2002. « Intestinal Myiasis Due to *Musca Domestica*: A Report of Two Cases ».
- Sudakin, Daniel L. 2003. « Biopesticides ». *Toxicological Reviews* 22 (2): 83-90. <https://doi.org/10.2165/00139709-2003222020-00003>.
- Tein, SM. 2005. « 53 - 61 Determination of the Flight Range ».
- Wösten, Han A. B. 2001. « Hydrophobins: Multipurpose Proteins ». *Annual Review of Microbiology* 55 (1): 625-46. <https://doi.org/10.1146/annurev.micro.55.1.625>.
- Zimmermann, Gisbert. 2007a. « Review on Safety of the Entomopathogenic Fungi *Beauveria Bassiana* and *Beauveria Brongniartii* ». *Biocontrol Science and Technology* 17 (6): 553-96. <https://doi.org/10.1080/09583150701309006>.
- . 2007b. « Review on Safety of the Entomopathogenic Fungus *Metarhizium Anisopliae* ». *Biocontrol Science and Technology* 17 (9): 879-920. <https://doi.org/10.1080/09583150701593963>.

9. Annexes

Annexe 1 : Tableau des résultats du test de Log-Rank, contrôle positif comparé au contrôle négatif.

Essais :	Test Log-Rank, comparaison au contrôle négatif (Tween + eau)				
	Observé	Attendu	P-valeur	Df	χ^2
Insecticide	20	9,88	2,00E-09	1	35,9
Tween	12	22,12			

Annexe 2 : Tableau des résultats du test de Log-Rank, essai *Beauveria bassiana* comparé au contrôle négatif.

Essais :	Test Log-Rank, comparaison au contrôle négatif (Tween + eau)				
	Observé	Attendu	P-valeur	Df	χ^2
<i>Beauveria Bassiana</i>	12	12,3	0,9	1	0
Tween	12	11,7			

Annexe 3 : Tableau des résultats du test de Log-Rank, essai *Metarhizium brunneum* Gembloux comparé au contrôle négatif.

Essais :	Test Log-Rank, comparaison au contrôle négatif (Tween + eau)				
	Observé	Attendu	P-valeur	Df	χ^2
<i>Metharizium Brunneum</i> Gembloux	9	10,7	0,4	1	0,6
Tween	12	10,3			

Annexe 4 : Tableau des résultats du test de Log-Rank, essai *Metarhizium brunneum* USDA comparé au contrôle négatif.

Essais :	Test Log-Rank, comparaison au contrôle négatif (Tween + eau)				
	Observé	Attendu	P-valeur	Df	χ^2
<i>Metharizium Brunneum</i> USDA	13	11,6	0,5	1	0,4
Tween	12	13,4			

Annexe 5 : Tableau des résultats du test de Log-Rank

Essais :	Test Log-Rank				
	Observé	Attendu	P-valeur	Df	χ^2
<i>Beauveria Bassiana</i>	12	15,51	2,00E-10	4	50,80
Insecticide	20	6,58			
<i>Metharizium Brunneum</i> Gembloux	9	15,65			
<i>Metharizium Brunneum</i> USDA	13	13,25			
Tween	12	15,01			

Annexe 6 : Résultats de la comparaison par paire du test de Log-Rank.

Test de Log-Rank , comparaison par paire				
Essais :	<i>Beauveria Bassiana</i>	Insecticide	<i>Metharizium Brunneum</i> Gembloux	<i>Metharizium Brunneum</i> USDA
Insecticide	9,70E-09			
<i>Metharizium Brunneum</i> Gembloux	0,61	7,40E-09		
<i>Metharizium Brunneum</i> USDA	0,61	6,80E-09	0,34	
Tween	0,90	1,00E-09	0,61	0,61

Annexe 7 : Tableau des résultats du test de normalité.

Test de normalité , Shapiro-Wilk	
w	0,23962
P-valeur	2,20E-16

Annexe 8 : Tableau des résultats du test d'homoscédasticité.

Test d'homogénéité des variances, Bartlett		
Facteur	Df	P-valeur
Trap	9	2,20E-16
N.Echantillon	8	2,20E-16
Longitude	9	2,20E-16
Latitude	9	2,20E-16
Modalite.env	2	2,20E-16
Dist	8	2,20E-16

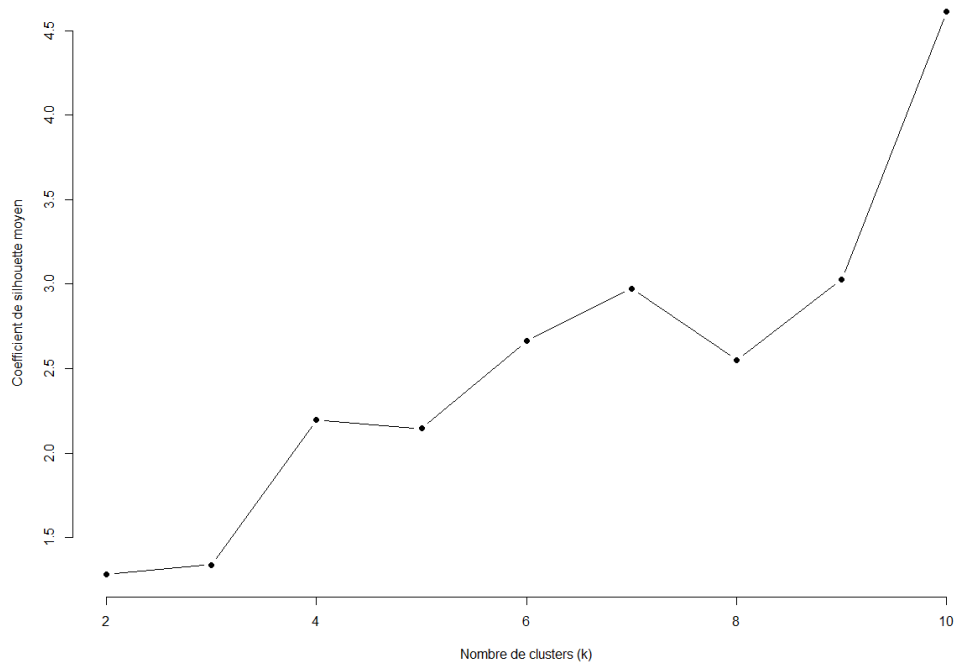
Annexe 9 : Tableau des résultats du GLMM pour le premier modèle choisi.

Modèle 1					
Formule :	log_musca ~ Latitude_std + N.Echantillon + (1 Trap)				
Df des résidus	87				
Scaled Residuals					
Min	1Q	Médiane	3Q	Max	
-1,25	-0,64	-0,34	0,11	3,08	
Effet Aléatoire :					
Groupes	Name	Variance	Std.Dev.		
Trap	(Intercept)	1	1		
Nombres d'obs	91	Groupes:	Trap	10	
Effets fixes :					
Variables	Estimate	Std.Error	z value	P-valeur	Significativité
(Intercept)	-2,89	0,51	-5,64	1,68E-08	***
Latitude_std	-0,59	0,34	-1,71	0,0867	.
N.Echantillon	0,42	0,05	8,07	7,20E-16	***
Corrélation des effets fixes					
	Intercept	Latitude_std			
Latitude_std	0,05				
N.Echantillon	-0,74	-0,001			

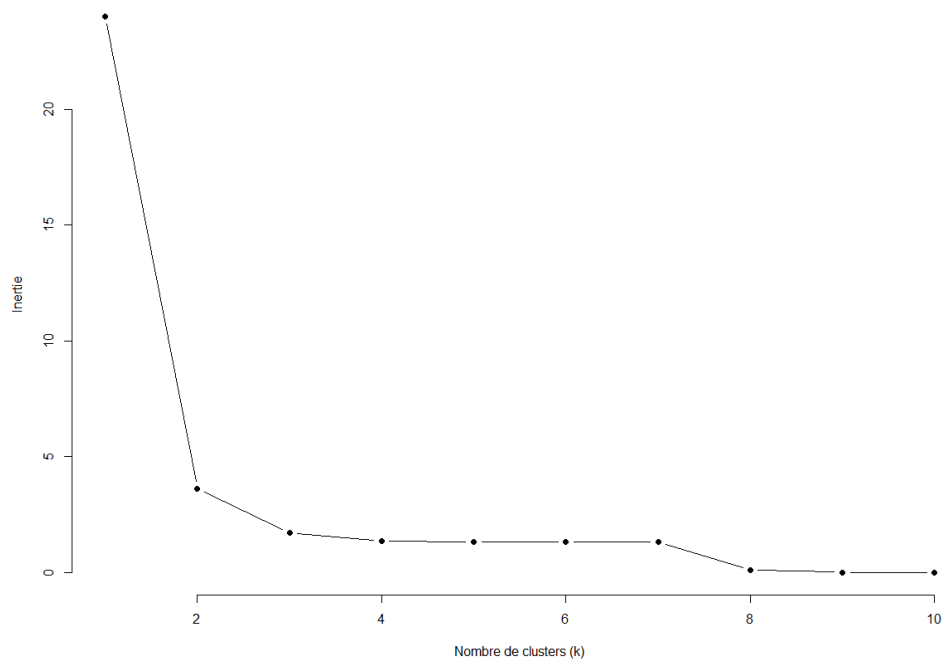
Annexe 10 : Tableau des résultats du GLMM pour le deuxième modèle choisi.

Modèle 2					
Formule :	log_musca ~ N.Echantillon + Modalite.Env + Dist + (1 Trap)				
Df des résidus	86				
Scaled Residuals					
Min	1Q	Médiane	3Q	Max	
-1,25	-0,61	-0,31	0,08	3,27	
Effet Aléatoire :					
Groups	Name	Variance	Std.Dev.		
Trap	(Intercept)	1	1		
Number of obs:	91	Groups:	Trap	10	
Effets fixes :					
Variables	Estimate	Std.Error	z value	P-valeur	Significativité
(Intercept)	-1,93	0,93	-2,07	0,0384	*
N.Echantillon	0,42	0,05	8,07	7,01E-16	***
Modalité Environnementale	-1,15	0,61	-1,89	0,0588	.
Distance	0,00	0,00	1,75	0,0805	.
Corrélation des effets fixes					
	Intercept	N.Echantillon	Modalité Environnementale		
N.Echantillon	-0,40				
Modalité Environnementale	-0,65	-0,003			
Distance	0,16	0,002	-0,77		

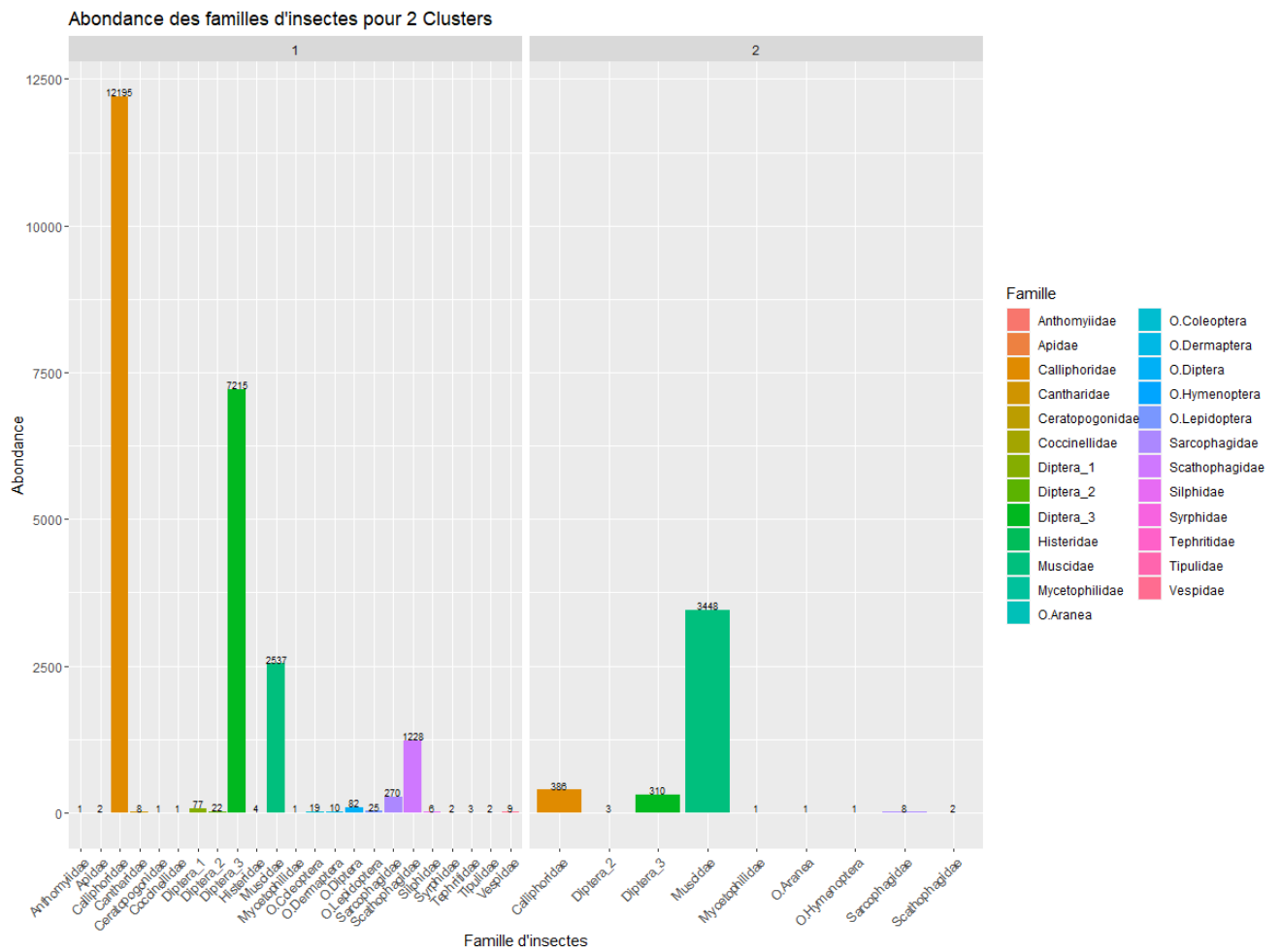
Annexe 11 : Graphique du coefficient de silhouette moyen en fonction du nombre de clusters.



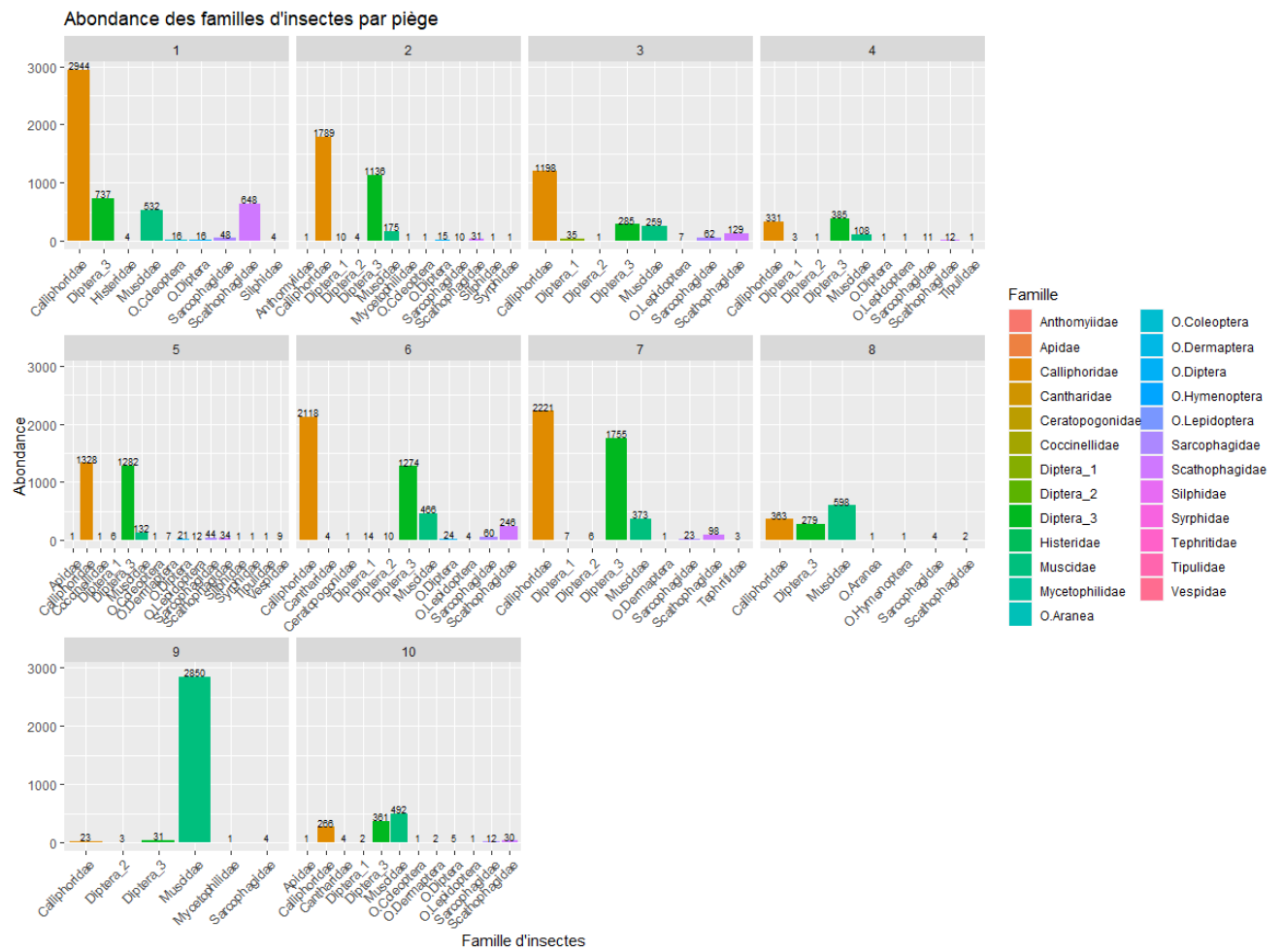
Annexe 12 : Graphique de l'inertie en fonction du nombre de clusters.



Annexe 13 : Graphiques de chaque famille, et de l'abondance en insectes, pour 2 clusters.



Annexe 15 : Graphiques de chaque famille retrouvée dans le village de Moircy pour chaque piège.



Annexe 16 : Graphiques de chaque famille retrouvée dans le village de Moircy pour chaque jour de relevé.

