



**HAL**  
open science

**RUBETELLA CULICIS (Tuzet et Manier 1947),  
TRICHOMYCÈTE RAMEUX PARASITE DE  
L'AMPOULE RECTALE DES LARVES DE  
CULICIDES (MORPHOLOGIE ET SPÉCIFICITÉ)**

O. Tuzet, J.-A Rioux, J.-F Manier

► **To cite this version:**

O. Tuzet, J.-A Rioux, J.-F Manier. RUBETELLA CULICIS (Tuzet et Manier 1947), TRICHOMYCÈTE RAMEUX PARASITE DE L'AMPOULE RECTALE DES LARVES DE CULICIDES (MORPHOLOGIE ET SPÉCIFICITÉ). Vie et Milieu , 1961, pp.167-188. hal-02899534

**HAL Id: hal-02899534**

**<https://hal.sorbonne-universite.fr/hal-02899534>**

Submitted on 15 Jul 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

*RUBETELLA CULICIS* (Tuzet et Manier 1947),  
TRICHOMYCÈTE RAMEUX PARASITE  
DE L'AMPOULE RECTALE DES LARVES  
DE CULICIDES  
(MORPHOLOGIE ET SPÉCIFICITÉ) (1)

par O. TUZET, J.-A. RIOUX et J.-F. MANIER

Le groupe des « Trichomycètes rameux » a fait l'objet d'importants travaux tant morphologiques que systématiques. Toutefois en matière de spécificité, de nombreux problèmes restent actuellement sans réponse en raison des difficultés d'infestation croisée et de l'échec des tentatives de culture. Aussi nous a-t-il paru intéressant de reprendre et de discuter cette question en nous servant d'un matériel à la fois varié et intensément parasité : la larve de Culicide.

Après avoir donné une liste d'hôtes par localités et stations, nous envisageons le développement, la morphologie et la structure interne du parasite. A cette occasion nous donnons une brève diagnose de l'espèce et proposons la création du genre *Rubetella*. Nous abordons enfin le problème de l'infestation et les intéressantes notions de spécificité qui s'en dégagent.

LES HOTES, LOCALITÉS, STATIONS

Au cours de ce travail, nous avons étudié 2 479 larves de Culicides appartenant à 13 espèces différentes. Parmi celles-ci, 9 (précédées d'un astérisque dans la liste ci-après) se sont montrées spontanément infestées :

(1) Remis le 13 avril 1960.



- Anopheles claviger* (Meigen), (45 larves).  
*Anopheles maculipennis subalpinus* Hackett et Lewis, (139 larves).
- \* *Anopheles atroparvus atroparvus* v. Thiel (52 larves).  
*Anopheles plumbeus* Stephens, (29 larves).  
*Anopheles geniculatus* Olivier, (49 larves).
  - \* *Aedes detritus* Haliday, (656 larves).
  - \* *Aedes caspius* Pallas (171 larves).  
*Aedes mariae* (Sergent), (7 larves).  
*Aedes berlandi* Séguy, (66 larves).
  - \* *Theobaldia litorea* Shute, (44 larves).  
*Theobaldia longearcolata* Macquart, (166 larves).
  - \* *Theobaldia annulata* Sckrank s. l., (70 larves).
  - \* *Culex hortensis* Ficalbi, (43 larves).
  - \* *Culex modestus* Ficalbi, (224 larves).
  - \* *Culex pipiens pipiens* L. s. l., (638 larves).
  - \* *Uranotaenia unguiculata* Edwards, (61 larves).  
*Orthopodomyia pulchripalpis* Rondani, (19 larves).

Afin de donner à nos résultats une plus grande homogénéité nous avons limité nos investigations à la seule région méditerranéenne (territoires côtiers des départements des Pyrénées-Orientales, de l'Hérault, du Gard et des Bouches-du-Rhône) :

- 1° *Anopheles claviger*  
Hérault : Pont de Biar (28-XI-59).
- 2° *Anopheles atroparvus atroparvus*  
Hérault : Causse-de-la-Selle (5 et 22-V-59), Moulin-de-Bertrand (21 et 30-VI-59), Courpoyran (19-VI-59), Bel Air (19-VI-59).  
Gard : Sylvéreal (5-VI-59). — Bouches-du-Rhône : Pioch-Badet (15-VII-59).
- 3° *Anopheles maculipennis subalpinus*  
Hérault : Montagne d'Agde (9 et 15-VII, 20-VIII-59). — Gard : Sylvéreal (25-V, 26-VII, 3-VII et 16-X-59). — Bouches-du-Rhône : Astouin (25-V-59), Mas du Roure (25-VI-59).
- 4° *Anopheles plumbeus* (29 larves)  
Hérault : La Paillade (6-V, 19-VI, 17, 28 et 29-VIII, 17-X-59).
- 5° *Aedes geniculatus*  
Hérault : La Paillade (1 et 25-V, 29-VII et 17-X), Montpellier (1 et 25-V-59).
- 6° *Aedes detritus*  
Hérault : Les Aresquiers (1-V, 24-XI-59), Vic (25-XI-59), Salins de Villeneuve (26-VI, 25-XI-59), Fangouse (30-X-59). — Gard : Le Grau-du-Roi (19-XI-59 et 4-XII-59), La Janine (19-XI-59), Mas de Madame (19-XI-59), Sylvéreal (5-VI, 5, 9 et 11-VI, 16-X, 19-IX, 1 et 4-XII-59), Bac du Sauvage (5-V, 19-IX-59). — Bouches-du-Rhône : Grau d'Orgon (25-VI-59), Pioch-Badet (25-VI-59), Saintes-Maries-de-la-Mer (19-IX-59), Salin-de-Giraud (1-XII-59), Fos-sur-Mer (1-XII-59).



- 7° *Aedes caspius*  
Hérault : Fangouse (30-X-59). — Gard : Sylvéreal (5-VI-59), Le Grau-du-Roi (19-XI-59). — Bouches-du-Rhône : Saintes-Maries-de-la-Mer (19-XI-59), Salins-de-Badon (18-V-59).
- 8° *Aedes mariaae*  
Pyrénées-Orientales : Banyuls-sur-Mer.
- 9° *Aedes berlandi*  
Hérault : La Paillade (1-V, 1-XII-59), Montpellier (1 et 25-V-59), Lattes (16-X-59). — Bouches-du-Rhône : Salin-de-Giraud (18-V-59).
- 10° *Theobaldia longearolata*  
Hérault : Montpellier (15-VII-59), Lattes (20-VII-59), Sète (22, 24, 28 et 3-VII-59), Moulin-de-Bertrand (19-VI-59), Carnon (19-IX-59). — Gard : Le Grau-du-Roi (16-XI-59), Ruy-Blas (19-XI-59).
- 11° *Theobaldia annulata s. l.*  
Hérault : Villeneuve-les-Maguelone (IV-59). — Gard : Le Grau-du-Roi (16 et 19-X-59). — Bouches-du-Rhône : Pioch-Badet (26-VI, 7-VII-59), Tour-du-Valat (1-V-59), Saintes-Maries-de-la-Mer (19-XI-59).
- 12° *Theobaldia litorea*  
Hérault : Fangouse (25-I-60). — Gard : Le Grau-du-Roi (19-XI, 4-XII-59), Mas de Madame (19-XI-59).
- 13° *Culex hortensis*  
Hérault : Causse-de-la-Selle (5-V-59), Moulin-de-Bertrand (19-VI, 1-VII-59).
- 14° *Culex modestus*  
Hérault : Montagne d'Agde (20-VIII-59), Roquehaute (9, 15, 17 et 28-VII-59), Fangouse (26-VII-59). — Gard : Sylvéreal (26-VI-59). — Bouches-du-Rhône : Mas du Roure (26-VI-59), Astouin (25-VI-59).
- 15° *Culex pipiens s. l.*  
Hérault : Montpellier (3, 8, 9-VI, 2, 3, 4, 15, 20, 22, 24, 25, 28, 30-VII-59), Sète (22-VII-59), Carnon (19-IX-59), Fangouse (20-VII, 30-X-59). — Gard : Le Grau-du-Roi (16, 19-IX-59), Ruy-Blas (26-VI, 19-X-59). — Sylvéreal (5-VI, 16-X-59), Bac du Sauvage (5-VI-59). — Bouches-du-Rhône : Astouin (26-VI-59), Mas d'Icard (26-VI-59), Pioch-Badet (26-VI-59).
- 16° *Uranotaenia unguiculata*  
Hérault : Montagne d'Agde (19-VII, 15, 17 et 20-VIII-59). — Gard : Sylvéreal (16-X-59). — Bouches-du-Rhône : Pioch-Badet (26-V, 3-VII-59).
- 17° *Orthopodomyia pulchripalpis*  
Hérault : La Paillade (29-VII-59). — Bouches-du-Rhône : Salin-de-Giraud (18-V et 17-VII).



Du point de vue écologique ces localités peuvent être groupées sous les huit rubriques suivantes :

1° *La rizière*, gîte estival, riche en oxygène dissout et pauvre en sels. En phase d'épiaison elle abrite en abondance *Anopheles maculipennis subalpinus* et *Culex modestus*.

2° *La roselière*, gîte faiblement salé et inondé une grande partie de l'année. Elle offre une foule de faciès (à *Scirpus maritimus*, à *Phragmites communis*) où se développent suivant le cas *Aedes caspius*, *Theobaldia annulata* et *Anopheles atroparvus atroparvus*.

3° *La jonçaille*, biotope très original, semi-halophile formé par des dépressions sableuses envahies de joncs (*Juncus acutus*, *Juncus maritimus*, *Schoenus nigricans* etc...) et inondées en saison froide. Elle héberge avec électivité *Theobaldia litorea*, *Theobaldia annulata s. l.* et *Aedes detritus*.

4° *La « sansouire »* à Salicornes et ses nombreux faciès, gîtes hyperhalins à optimum hivernal. Une espèce la colonise en abondance : *Aedes detritus*.

5° *Le rockpool littoral*, très caractéristique par sa faune halophile. Dans ce gîte vit une seule espèce : *Aedes mariaae*.

6° *Les puits d'eau douce et les marmites de géant*, gîtes à *Anopheles claviger*, *Culex hortensis* et *Theobaldia longearcolata*.

7° *Le fossé, l'égout, et le réservoir d'eau croupie*, gîtes riches en matières organiques où abonde l'espèce polymorphe *Culex pipiens*.

8° *Le creux d'arbre*, biotope très original, hébergeant 4 espèces hautement caractéristiques : *Anopheles plumbeus*, *Aedes geniculatus* *Aedes berlandi* et *Orthopodomyia pulchripalpis*.

## LE PARASITE : MORPHOLOGIE, DIAGNOSE

### I. — PRÉLÈVEMENT ET EXAMEN.

Les Trichomycètes, localisés avec électivité dans l'intestin postérieur de la larve (fig. 1) sont prélevés sans difficulté par simple traction sur le segment anal suivi de dissection des tuniques digestives et de dilacération du bol rectal dans une goutte d'eau chlorurée isotonique :

La larve du III<sup>e</sup> ou du IV<sup>e</sup> stade, déposée sur une lame dégraissée, est débarrassée de son eau de capillarité par aspiration au papier buvard. L'intestin est extériorisé par traction sur le segment anal (IX<sup>e</sup>) et déposé dans une goutte de sérum physiologique. En général, la rupture des téguments se produit en avant de la manchette, celle du tube digestif à la hauteur des cæcums pharyngiens. L'intestin postérieur est alors



sectionné au niveau des tubes de Malpighi puis ouvert longitudinalement par traction latérale. Son contenu dilacéré délicatement est, suivant les besoins, étalé pour la fixation ou recouvert d'une lame pour l'examen direct et les colorations vitales.

*Examen direct* : il représente sans conteste l'un des temps primordiaux de l'observation. L'utilisation de l'éclairage en contraste de phase, permet en particulier de localiser nettement les noyaux et d'étudier sans difficulté le filament caudal des conidies.

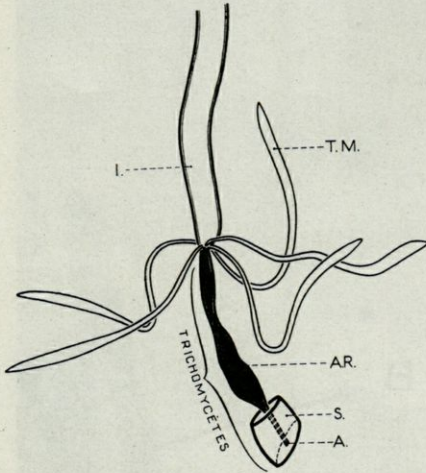


Fig. 1. — Localisation anatomique de *Rubetella culicis*. — I: intestin moyen; AR: ampoule rectale; A: anus; S: selle; T M: tubes de Malpighi).

Les techniques de coloration vitale ou post-vitale apportent également d'utiles renseignements sur la structure et le contenu des vacuoles. Citons plus spécialement le rouge neutre en solution faiblement basique (pH 7,2) qui nous a permis une bonne étude du vacuome et le Lugol double qui colore avec sélectivité les enclaves des conidies.

*Préparations définitives*: nous avons utilisé les techniques au Bouin-Feulgen et aux vapeurs osmiques-

Hématoxyline [GRASSÉ (1)] sur frottis humides. La mise en évidence des grains méta-chromatiques a été obtenue par la méthode de HOLLANDE au bleu brillant crésyl (2).

Les cultures, ou mieux les subcultures, ont été tentées en chambre humide de VAN THIEGEM sur eau de fontaine stérilisée et sérum physiologique.

## II. — MORPHOLOGIE.

A l'instar d'autres Trichomycètes rameux et de nombreux Champignons parasites, *Rubetella culicis* est normalement dépourvu d'éléments sexués. Seuls se rencontrent les stades végétatifs, mycélium et conidies. Nous les étudierons successivement.

(1) *Fixation* : vapeurs osmiques, 25 secondes; *mordantage* : alun de fer, 25 minutes; *coloration* hématoxyline ferrique : 25 minutes.

(2) *Fixation* alcool 90°; *coloration* bleu brillant crésyl à 1 %, 10 minutes; *différenciation* alcool 95°.



1° Mycélium végétatif

Le thalle proprement dit, de taille variable (2 à 5  $\mu$ ), est formé de longues cellules mononucléées, limitées par une membrane épaisse, souvent tapissée extérieurement par un « enduit » bactérien (fig. 2).

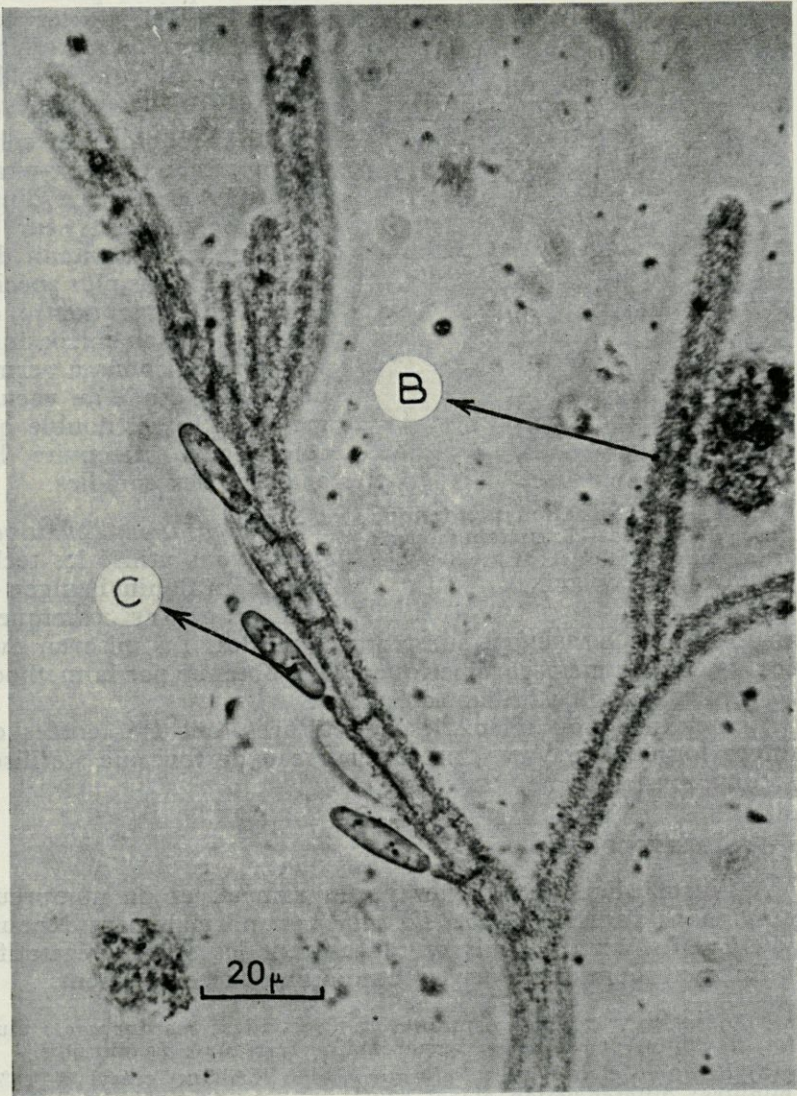


Fig. 2. — *Rubetella culicis*. Mycélium couvert d'un feutrage bactérien (B). — Noter l'absence de bactérie sur les conidies (C).



L'apparition des rameaux latéraux est précédée d'un cloisonnement, au-dessous duquel vient se disposer le noyau de la cellule mère. Des 2 noyaux fils, l'un, plus chromatique, migre dans la ramification alors nettement individualisée (fig. 3).

Le développement du mycélium à partir de la conidie peut être observé sans difficulté chez les larves infestées expérimentalement. Dans un premier temps la conidie perd son filament et adhère par sa partie basale à la muqueuse rectale. Elle s'étire légèrement puis émet un bourgeon à travers l'appendice campanulé (fig. 11, n° 5). L'axe primaire issu de ce bourgeon conserve pendant quelques temps le reliquat de son appendice sous la forme d'un épaissement cuticulaire qui disparaît après l'émission de la deuxième ou de la troisième ramification (fig. 4, n° 1, 2, 3 et 4).

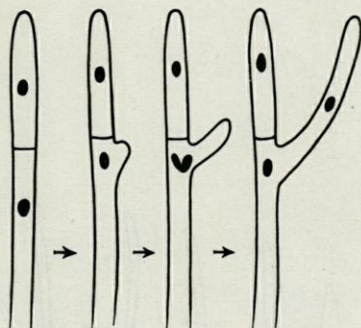


Fig. 3. — *Rubetella culicis*.  
— Ramification du thalle.

Le bourgeon caudal, terminé en pointe effilée, s'allonge en une pseudorhize qui émet assez souvent un, et parfois deux, rameau latéral perpendiculaire à l'axe principal. Ce rameau peut rester indivis; plus souvent, il se bifurque à son tour pour donner un arbuscule parallèle au premier (fig. 4, n° 5). Ainsi dans un même organisme plusieurs rameaux latéraux peuvent se différencier simultanément donnant, par ramification, deux (fig. 4, n° 6), ou trois (fig. 4, n° 7) arbuscules parallèles entre eux, comportant chacun une pseudorhize basale. Le rôle exact de ces pseudorhizes, en particulier dans les processus de nutrition est encore hypothétique. Toutefois, étant donné leur trajet intra-cuticulaire, souvent souligné d'un dépôt chitineux, leur relation avec l'amarrage du parasite ne saurait faire de doute.

De son côté, l'extrémité apicale de la conidie s'étire pour former le pôle végétatif du thalle. Après un allongement variable elle se dichotomise à plusieurs reprises jusqu'à former dans les exemplaires très fructifères un buisson extrêmement dense (fig. 5).

Suivant le mode et le degré de ramification, trois dispositions schématiques peuvent ainsi s'observer :

1° Un aspect hypotrophique, discrètement ramifié voire mono-axe, que l'on observe chez les hôtes faiblement réceptifs (*Anopheles*



et *Theobaldia*). Ici l'axe principal s'allonge et déclenche très tôt sa crise reproductive : les conidies se développent à même l'axe principal.

2° A l'opposé, un aspect eutrophique, buissonnant et très fertile, où rameaux dressés et décombants s'enchevêtrent en un lacs compact.

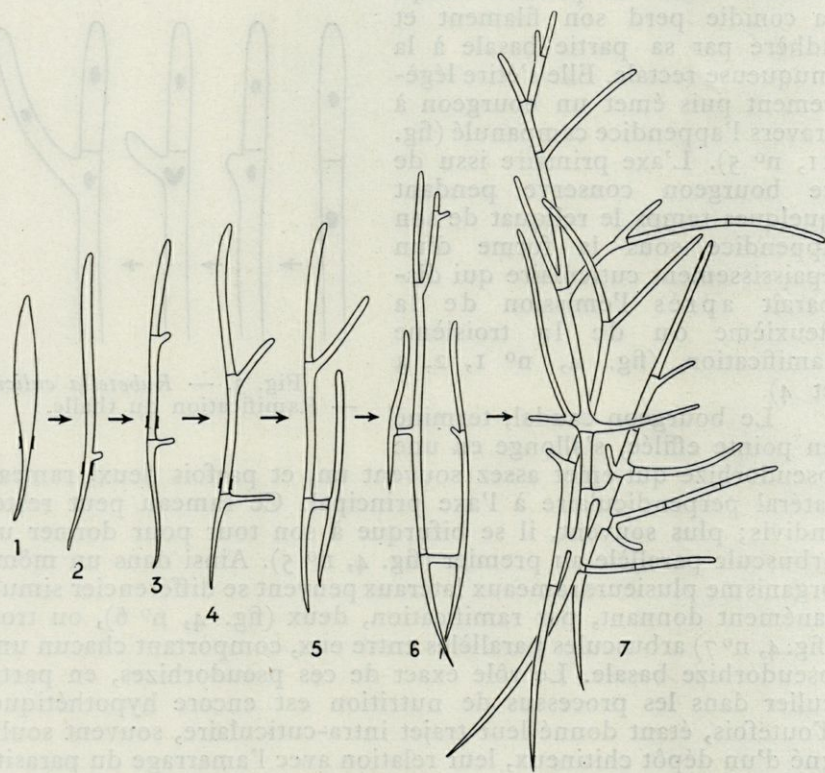


Fig. 4. — *Rubetella culicis*. — Mode de ramification du thalle chez *Uranotaenia unguiculata*.

3° Une place à part doit enfin être faite à l'aspect spécial que nous avons observé chez *Uranotaenia unguiculata*, dans lequel le Trichomycète subit une véritable duplication par ramification de la pseudorhize (cf. ci-dessus et fig. 4). Les ponts transversaux qui réunissent alors chaque arbuscule ne sont pas sans rappeler les figures d'amphimixie observées chez les représentants du genre *Glutzia*. Dans ce cas particulier cependant il s'agit d'un simple processus de ramification sans rapport avec la sexualité



2° Conidies

a) Développement.

La crise reproductive coïncide, chez *Rubetella culicis*, avec l'approche de la mue. Les larves en début de stade n'hébergent en effet que des formes strictement filamenteuses ou très faiblement fructifères; les exuvies au contraire sont très riches en conidies libres ou prêtes à se détacher du rameau conidigène. Ce dernier se distingue des filaments végétatifs proprement dits par deux caractères morphologiques essentiels : il présente tout d'abord une ensellure à grand rayon dont la convexité est occupée par les conidies (fig. 5). Cette disposition « dorsivoentrale » (LANGERON, 1945) est manifestement en rapport avec la localisation unilatérale

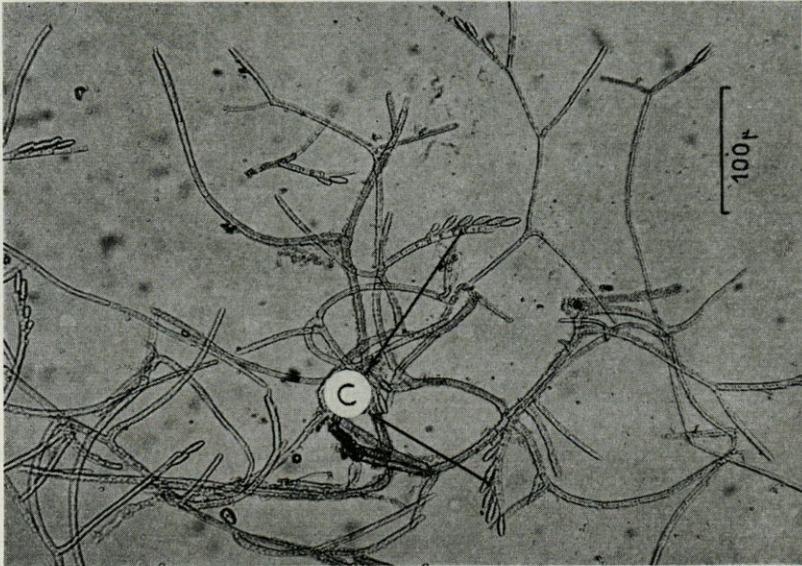


Fig. 5. — *Rubetella culicis*. — Mycélium végétatif et hyphes conidifères (C : conidies).

des fructifications car on ne l'observe que sur les axes très fertiles. Elle paraît ainsi en relation avec une différence d'allongement des parois cellulaires, due à l'augmentation des processus métaboliques au point d'irruption du bourgeon conidien. Cette courbure n'est d'ailleurs pas l'apanage des seuls Trichomycètes puisqu'on la retrouve chez d'autres groupes systématiquement éloignés tel



un Ascomycète agent de fumagines *Teichospora salina* (Zopf). Elle donne à l'axe conidifère l'aspect général d'une cyme scorpioïde.

Le deuxième caractère, lié au cloisonnement itératif de l'hyphe fructifère, est non moins caractéristique. Il ne s'observe en effet en aucun autre secteur du thalle. Ce cloisonnement aboutit à l'indi-

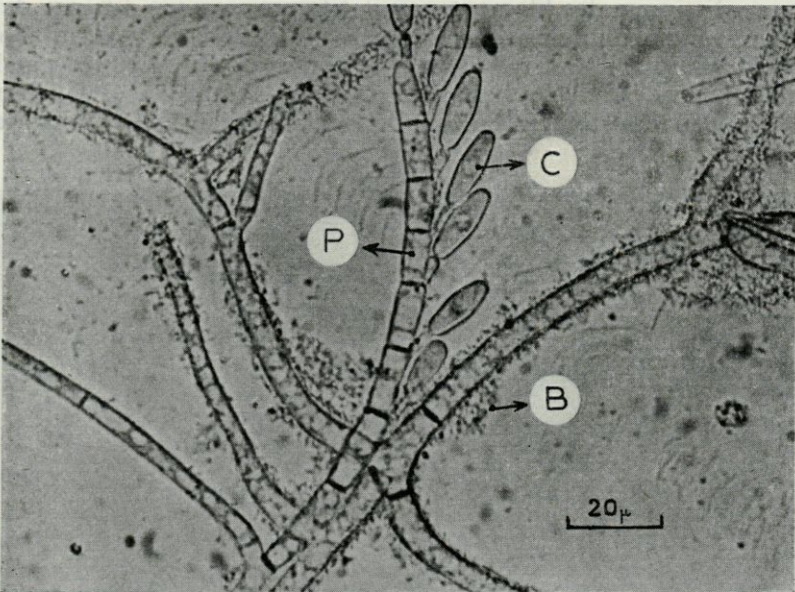


Fig. 6. — *Rubetella culicis*. — Un rameau fertile (P : protoconidies; C : conidies; B : bactéries).

vidualisation d'articles trapus, à cytoplasme dense et noyau volumineux (2,5 à 3  $\mu$ ). En raison de leur aspect très particulier et de leur rôle conidigène, ces articles justifient, pensons-nous, leur appellation de *protoconidies* (fig. 6).

#### b) *Morphologie et structure.*

A l'extrémité supérieure de la protoconidie prend naissance le bourgeon de la conidie proprement dite. D'abord indivis, ce dernier ne tarde pas à s'étrangler à sa partie apicale pour délimiter



deux secteurs, l'un proximal correspondant au futur appendice campanulé, l'autre distal dans lequel viendra se loger le noyau (fig. 7).

Pendant que le bourgeon conidien se développe, la cellule-mère est le siège d'un double processus, cytoplasmique et nucléaire. Elle se vide tout d'abord de son cytoplasme, progressivement remplacé par une énorme vacuole. De son côté, le noyau se divise en deux noyaux-fils de taille inégale; l'un petit et peu chromatique reste sur place, l'autre volumineux et dense, émigre dans la partie renflée de la conidie. La coloration à la Safranine-Vert Lumière permet de distinguer aisément ces deux états successifs de la proto-

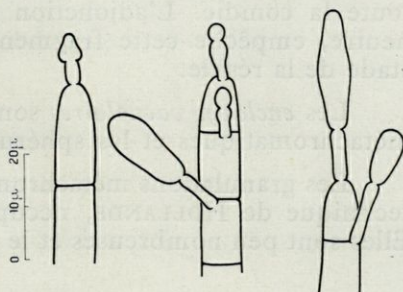


Fig. 7. — *Rubetella culicis*. — Formation des conidies.

conidie : cellule très chromatique, à gros noyau, avant l'émission du bourgeon, claire à noyau de petite taille en fin d'évolution.

Dans les exuvies du IV<sup>e</sup> stade, les conidies sont toujours abondantes et parfaitement développées. Schématiquement, on peut leur décrire un corps contenant le noyau et les inclusions, un appendice campanulé et un filament.

Le corps de la conidie (fig. 6, 8 et 9) présente la forme d'un ovale allongé légèrement comprimé de part et d'autre de la ligne équatoriale. Ses dimensions moyennes, variables selon les hôtes, oscillent autour de  $16,54 \times 4,8 \mu$ . Les parois sont épaisses et lisses, relativement imperméables aux colorants vitaux, et rarement attaquées par les bactéries. Le noyau volumineux occupe le centre de la conidie. Après la déhiscence il est souvent déformé par les inclusions iodophiles et prend alors sur certaines préparations fixées un aspect bi- et parfois trilobé.

Ces inclusions, de taille variable, sont tassées dans une grande vacuole dilatée en bissac de part et d'autre du noyau. Le rouge neu-



Fig. 8. — *Rubetella culicis*. — Vacuome coloré par le rouge neutre. Les sphérules iodophiles se détachent en clair sur le fond de la vacuole.



tre colore dans un premier temps sa partie proximale comme s'il existait une zone de plus grande perméabilité à la jonction de l'appendice campanulé. De là, le colorant diffuse vers l'apex en formant une résille autour des inclusions (fig. 8). Ce réseau extrêmement ténu disparaît rapidement en cédant la place à une série de vacuoles sphériques et densément colorées, disséminées dans toute la conidie. L'adjonction de Lugol, qui précipite le rouge neutre, empêche cette fragmentation en bloquant la vacuole au stade de la résille.

Les *enclaves vacuolaires* sont représentées par les granulations métachromatiques et les sphérules iodophiles.

Les granulations métachromatiques, facilement colorées par la technique de HOLLANDE, occupent les deux pôles de la conidie. Elles sont peu nombreuses et le plus souvent groupées autour d'un élément central achromatique (fig. 9).

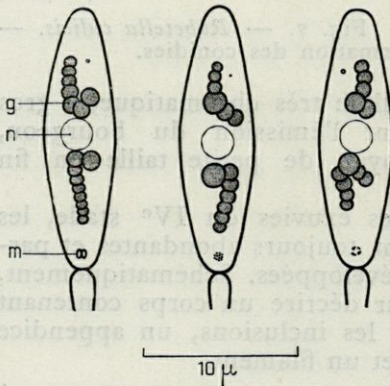


Fig. 9. — *Rubetella culicis*. — Conidies. g : sphérules iodophiles; m : granulations métachromatiques

après fixation. Elles prennent intensément l'Iode qui les colore en brun acajou. Malgré cette coloration, de type osidique, nous ne pouvons nous prononcer actuellement sur la nature chimique exacte de ces éléments. Il est possible qu'ils soient caractéristiques des Trichomycètes rameux.

L'*appendice campanulé*, qui prolonge la conidie proprement dite, mesure en moyenne  $4,7 \mu$  de longueur (fig. 10 et 11). Son extrémité proximale est largement ouverte; son extrémité distale touchant le corps conidien est fermée en cul-de-sac. Dans sa partie renflée se distingue un granule réfringent, ébauche du futur filament.

Les sphérules iodophiles, présentes uniquement dans les conidies détachées, forment deux amas volumineux et compacts (fig. 8, 9 et 10). Réfringentes et homogènes, elles ne prennent aucun des réactifs classiques de la Métachromatine. Elles ne se colorent ni par le Violet de Méthyle, ni par le Bleu de Méthylène, ni par le Bleu de Toluidine. La réaction au Carmin de Best est négative à leur niveau. Elles noircissent après plusieurs heures d'exposition aux vapeurs osmiques, et se colorent par le Vert Lumière



Le filament, unique chez *Rubetella culicis*, se déroule peu de temps après la déhiscence (fig. 11). A l'image de tous les Trichomycètes rameux, il est immobile et remarquablement long (100 à 150  $\mu$ ) et fin. Son extrémité libre adhère fortement aux supports (thalle, autres filaments etc...).



Fig. 10. — *Rubetella culicis*. — Conidies : inclusions iodophiles (coloration au Lugol).

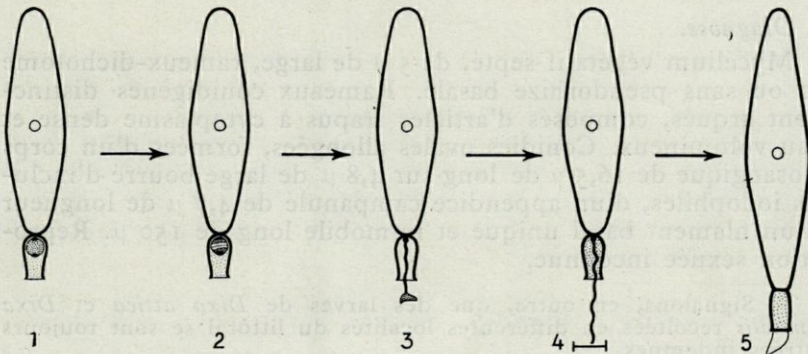


Fig. 11. — *Rubetella culicis*. — Dérroulement du filament (1 à 4) et germination de la conidie (5).



### Cultures.

Les cultures ont été tentées en chambre humide de VAN THIEGEM sur eau distillée, eau chlorurée isotonique et liquide de RAULIN. En aucun cas nous n'avons obtenu la germination des conidies. La seule modification constatée, a consisté en un allongement discret des filaments végétatifs.

### III. — POSITION SYSTÉMATIQUE ET DIAGNOSE.

Si, parmi les Trichomycètes rameux, on élimine les représentants du genre *Stipella* Léger et Gauthier 1932, *Genistella* Léger et Gauthier 1932, *Typhella* Léger et Gauthier 1932, *Glotzia* Gauthier 1936, *Smittium* Poisson 1936 assez semblables par ailleurs à *Rubetella culicis*, mais à reproduction sexuée connue ; si l'on exclut le genre *Spartielliella* Tuzet et Manier 1950 à conidies plurinuclées, il reste à discuter les deux genres *Dixidium* Poisson 1932 et *Orphella* Léger et Gauthier 1931. Le premier, décrit par POISSON chez une larve de *Dixa*, présente une disposition conidienne assez comparable à celle de *Rubetella culicis*. Malheureusement la forme et la taille des conidies ne sont pas précisées et le filament n'a pas été vu. Aussi sans rejeter définitivement la parenté, nous séparons provisoirement ces deux espèces d'autant plus que nos tentatives d'infestation de *Dixa attica* et *Dixa autumnalis* ont constamment échoué (1).

En fait le parasite que nous venons de décrire se rapporte très certainement à *Orphella culici* Tuzet et Manier, 1947, trouvé dans l'ampoule rectale de *Culex hortensis*. Toutefois l'étude approfondie que nous avons pu réaliser ne nous permet plus de maintenir cette espèce dans le genre *Orphella* créé par LÉGER et GAUTHIER pour une forme à conidies arquées. Pour l'espèce parasite des Moustiques, nous proposons le genre *Rubetella* nov. gen. *Orphella culici* devient ainsi *Rubetella culicis* (Tuzet et Manier 1947).

### Diagnose.

Mycélium végétatif septé, de 5  $\mu$  de large, rameux-dichotome avec ou sans pseudorhize basale. Rameaux conidigènes distinctement arqués, composés d'articles trapus à cytoplasme dense et noyau volumineux. Conidies ovales allongées, formées d'un corps sublosangique de 16,5  $\mu$  de long sur 4,8  $\mu$  de large bourré d'inclusions iodophiles, d'un appendice campanulé de 4,7  $\mu$  de longueur et d'un filament basal unique et immobile long de 150  $\mu$ . Reproduction sexuée inconnue.

(1) Signalons, en outre, que des larves de *Dixa attica* et *Dixa autumnalis* récoltées en différentes localités du littoral se sont toujours montrées indemnes.



## SPÉCIFICITÉ

La découverte de Trichomycètes chez des Culicides appartenant à des espèces, voire des genres différents, son absence chez d'autres, amenaient à poser deux questions du plus haut intérêt doctrinal car elles touchent au passionnant problème de la spécificité parasitaire :

1<sup>o</sup> Un seule et même espèce de Trichomycète pouvait-elle infester plusieurs hôtes ou s'agissait-il d'un parasite « systématiquement » différent dans chaque cas ?

2<sup>o</sup> Les Culicides spontanément indemnes étaient-ils vraiment réfractaires, sinon quels étaient, dans la nature, les facteurs extrinsèques interdisant l'infestation ?

### I. — UNICITÉ OU PLURALITÉ

Deux séries d'arguments morphologiques et expérimentaux nous ont permis de répondre à cette première question.

#### *Arguments morphologiques.*

Au début de notre enquête nous avons cru constater certaines différences morphologiques d'un hôte à l'autre. Ainsi, chez *Uranotaenia unguiculata* se rencontrait assez souvent cette duplication du thalle signalée au chapitre précédent. Dans un exemplaire d'*Aedes caspius*, les conidies présentaient un aspect sphéroïde assez différent de la forme ovoïde classique. Chez *Anopheles atroparvus atroparvus* les ramifications étaient peu nombreuses ou même absentes (forme hypotrophique). Dans certains lots de *Culex pipiens*, la taille des conidies était légèrement inférieure à la moyenne (14,5  $\mu$  au lieu de 16,5  $\mu$ ). En réalité l'étude d'un nombre plus élevé d'échantillons et surtout les expériences d'infestations croisées nous ont convaincus de la variabilité de certains caractères, non plus suivant l'hôte, mais pour une même espèce, suivant l'âge de la larve et les conditions de milieu.

#### *Preuves expérimentales.*

L'hypothèse uniciste, formulée au nom de la morphologie, s'est vue nettement confirmée par les expériences d'infestations croisées. En effet, au cours de l'année 1959 nous avons pu contaminer à plusieurs reprises et sans difficulté la plupart des espèces spontanément réceptives, telles que : *Culex pipiens s. l.* à partir d'*Aedes detritus*, *Aedes caspius* et *Culex modestus*; *Aedes detritus* à



partir de *Culex pipiens*, *Culex modestus* et *Theobaldia litorea*; *Uranotaenia unguiculata* à partir d'*Aedes detritus* et *Culex pipiens*; *Anopheles atroparvus atroparvus* à partir de *Culex pipiens*.

Les larves vivantes ainsi que leurs exuvies se sont montrées infestantes; de même l'eau des bacs d'élevage ayant contenu du matériel contaminé. A 25° le taux d'infestation croît rapidement du 2<sup>e</sup> au 4<sup>e</sup> jour. Il est en général maximal, et très proche de 100 %, à partir du 8<sup>e</sup> jour (fig. 12). Dans le cas d'*Aedes detritus* dont le

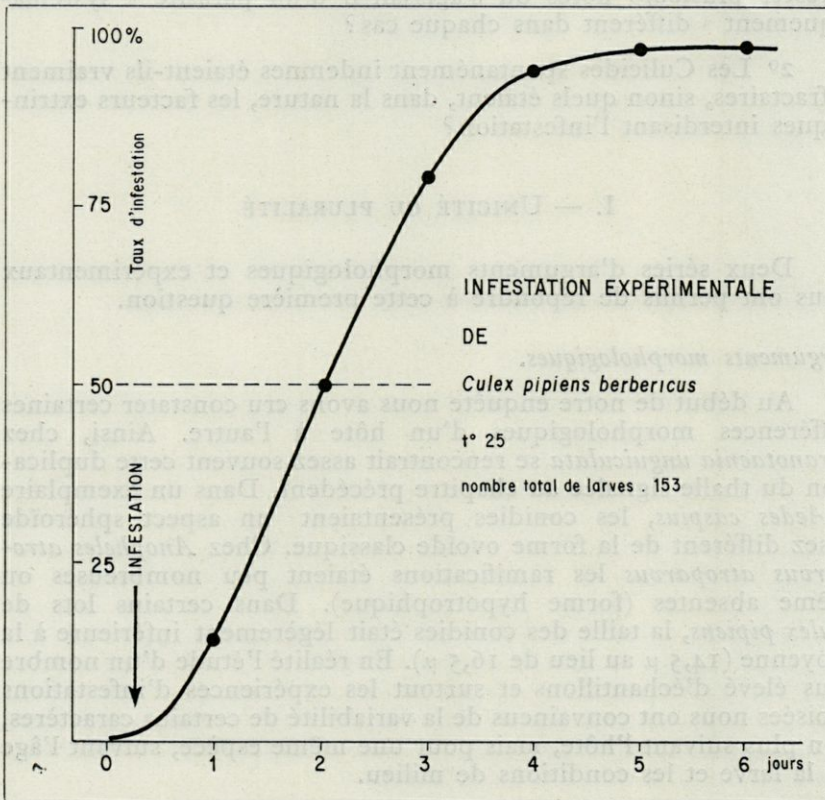


Fig. 12. — Infestation expérimentale de *Culex pipiens berbericus*.

cycle trophique se poursuit en plein hiver (« athermobiose » de ROUBAUD), les basses températures (4° à 8°) n'ont aucune influence sur la courbe d'infestation. Il n'en est pas de même pour *Culex pipiens* dont la nutrition est considérablement ralentie au-dessous de 10°.



En définitive, à la condition d'examiner un nombre suffisamment grand d'échantillons et de répéter les expériences d'infestation, on parvient sans difficulté à grouper un faisceau de preuves concordantes en faveur de l'unicité du parasite : dans les limites du « Midi » méditerranéen tout au moins, la totalité des hôtes normalement réceptifs héberge la même espèce de Trichomycète : *Rubetella culicis*.

## II. — NATURE DE LA SPÉCIFICITÉ

Le recensement des Culicides spontanément infestés nous avait rapidement montré que certaines espèces (4 sur 13) n'étaient jamais parasitées et qu'une même espèce, trouvée particulièrement infestée dans tel gîte, pouvait être indemne dans tel autre. Ces constatations nous ont amenés à tenter deux séries d'expériences, d'une part l'infestation expérimentale des espèces « réfractaires », d'autre part l'étude des facteurs écologiques intervenant dans l'infestation.

### 1° Infestation expérimentale des espèces réfractaires

#### a) *Theobaldia longiareolata*.

L'infestation a été réalisée à partir d'exuvies larvaires de *Culex pipiens berbericus*, *Culex modestus*, *Aedes caspius* et *Uranotaenia unguiculata*, toutes très parasitées. Les 68 larves de *Theobaldia*, mises en contact avec ce matériel n'ont jamais été infestées alors qu'au 4<sup>e</sup> jour un lot témoin de *Culex pipiens*, placé dans le même bac, était contaminé à 74 % (cf. tableau I). Dans les gîtes naturels cette espèce se comporte d'ailleurs de façon identique c'est-à-dire présente un indice d'infestation constamment nul au milieu d'espèces co-biotiques intensément parasitées.

TABLEAU I

	<i>Theobaldia longiareolata</i>			<i>Culex pipiens s. l.</i> (témoin)		
	Nombre de larves infestées	Nombre de larves saines	%	Nombre de larves infestées	Nombre de larves saines	%
du 1 <sup>er</sup> au 4 <sup>e</sup> jour	0	34	0 %	40	14	74 %
du 5 <sup>e</sup> au 8 <sup>e</sup> jour	0	29	0 %	43	12	78 %
du 9 <sup>e</sup> au 12 <sup>e</sup> jour	0	5	(0 %)	4	1	(80 %)



b) *Aedes geniculatus*, *Aedes berlandi*, *Anopheles plumbeus* et *Orthopodomyia pulchripalpis*.

Parmi les 4 espèces qui, rappelons-le, représentent la totalité de la faune culicidienne de nos creux d'arbres, les deux premiers (*Aedes geniculatus* et *Aedes berlandi*), se sont infestés très rapidement à 100 %; la troisième (*Anopheles plumbeus*) n'a pu être que très faiblement parasitée; la quatrième est restée indemne après 21 jours de contact (*Orthopodomyia pulchripalpis*).

c) *Anopheles claviger*.

Une simple différence de comportement trophique explique ici la non contamination. En effet, contrairement aux autres Culicides, les larves d'*Anopheles* ne se nourrissent jamais en profondeur mais en surface, grâce à leur système de soies thensio-actives et leur possibilité de rotation céphalique à 180°. Les conidies rapidement entraînées au fond par leur forte densité ne sont donc qu'exceptionnellement ingérées d'où la rareté sinon l'absence totale d'infestation naturelle. Une expérience a confirmé cette hypothèse :

Deux lots d'*Anopheles claviger* ont été placés dans deux bacs contaminés l'un contenant une hauteur d'eau de 15 cm, l'autre une simple pellicule de façon à maintenir les larves en contact avec le dépôt. Au cinquième jour de contact le second lot était entièrement parasité alors que le premier restait indemne.

## 2° Etude des facteurs écologiques

Afin de confirmer le rôle de certains facteurs écologiques, nous avons choisi deux milieux particulièrement sélectifs : le creux d'arbre et la « sansouire ».

a) *Gîtes de creux d'arbres*.

Dans ce cas existait en effet un contraste très remarquable entre l'absence d'infestation naturelle et la facilité de contamination en laboratoire; le milieu était donc indubitablement responsable... mais comment? Une expérience très simple a répondu à cette question : la contamination d'*Aedes geniculatus* et d'*Aedes berlandi* a pu être obtenue dans le milieu originel en ajoutant le dépôt de bacs contaminés par *Culex pipiens*. L'hypothèse un moment évoquée d'une action fongicide de l'eau du gîte devait être rejetée.

En fait, et selon toute vraisemblance, les Culicides des creux d'arbres étaient normalement indemnes « parce que » le parasite ne parvenait pas à coloniser le gîte, ce biotope singulier, vérita-



blement « suspendu » et par conséquent très fermé aux apports extérieurs. La barrière écologique était ici de nature purement « topographique » et non physico-chimique comme on aurait pu s'y attendre.

b) *Gîtes d'eaux saumâtres.*

Le rôle des facteurs physico-chimiques, éliminé dans le cas précédent, a pu être démontré par l'étude d'une espèce caractéristique des gîtes hyperhalins : *Aedes detritus*.

En confrontant, sur une série de prélèvements la teneur en chlorures et les indices d'infestation on s'apercevait rapidement de l'absence totale de parasite dans les eaux à salinité supérieure à 15 g par litre (Tableau II).

TABLEAU II  
GÎTE A *Aedes detritus*  
(Infestation spontanée et salinité)

Localités	Biotope	Date	Teneur en Cl Na (g %)	Infestation par <i>Rubetella culicis</i>
Villeneuve-les-Maguelonne ..	Salines	25-XI-59	46 g	0
Aresquiers .....	Salicorniaie	24-XI-59	30 g	0
Sylvéreal .....	Salicorniaie	29-XI-59	22 g	0
Mas de Madame	Junçaie halophile	19-XI-59	20 g	0
Fos-sur-Mer ...	Salicorniaie	22-XI-59	20 g	0
Aresquiers .....	Salicorniaie	24-XI-59	19 g	0
Grau-du-Roi ...	Salicorniaie	29-XI-59	18 g	0
Aresquiers .....	Salicorniaie	24-XI-59	15 g	0
Sylvéreal .....	Junçaie halophile	4-XII-59	14 g	+
Sylvéreal .....	Junçaie halophile	4-XII-59	12 g	0
Vic-Mireval ....	Salicorniaie	25-XI-59	10 g	+
Grau-du-Roi ...	Junçaie	29-XI-59	12 g	+
Sylvéreal .....	« Roubine »	22-XI-59	8 g	+
Grau-du-Roi ...	Junçaie	14-XII-59	6 g	+
Grau-du-Roi ...	Junçaie	4-XII-59	3 g	+
Grau-du-Roi ...	Junçaie	4-XII-59	0,1 g	+

L'étude expérimentale allait confirmer le fait : le 21-XII-59, 76 larves du III<sup>e</sup> stade, infestées à 100 % étaient placées dans deux bacs de même capacité, l'un (43 larves) contenant de l'eau de fontaine, l'autre (33 larves) une eau de lagune, titrant 38 g de Na Cl



par litre. Peu de temps avant la nymphose les larves du IV<sup>e</sup> stade étaient prélevées et examinées. En fin d'expériences (26-XII-59), la totalité du bac témoin (eau douce) était toujours contaminée à 100 % alors que les larves élevées dans l'eau saumâtre étaient indemnes. Il avait suffi d'une seule mue en milieu salé pour dépasser totalement les larves.

Ainsi, pour une même espèce de Trichomycète, *Rubetella culicis*, les facteurs qui favorisent ou interdisent l'infestation se révèlent fondamentalement différents suivant la nature du milieu et la biologie de l'hôte.

Dans une première éventualité, les conidies infestantes pénètrent dans la larve, mais ne s'y développent pas. Tel est le cas de *Theobaldia longiareolata* trouvé constamment indemne et dont l'infestation expérimentale a toujours échoué. La spécificité est ici de nature « systématique » ou phylétique.

Dans le cas des larves d'*Anopheles*, l'absence de réceptivité est sous la dépendance non plus d'un état d'« immunité naturelle » mais d'un mode particulier de comportement trophique, qui interdit le contact hôte-parasite. Il s'agit d'une spécificité de comportement ou spécificité éthologique.

Dans une dernière éventualité, ce n'est plus l'hôte qui joue le rôle actif, mais son environnement. Celui-ci peut être suffisamment isolé de l'ambiance générale pour rester inaccessible au parasite, tel par exemple le « milieu de creux d'arbre ». Le plus souvent le parasite est présent dans le gîte, mais y subit une série de modifications pathologiques allant de la simple inhibition à la suppression définitive du pouvoir infestant. L'exemple d'*Aedes detritus* dans les biotopes hyperhalins est typique à cet égard. Dans ces deux derniers cas la spécificité ne dépend plus de l'hôte mais du milieu. Elle est de nature écologique.

*Faculté des sciences de Montpellier*  
*Laboratoire de zoologie et biologie animale*

Professeur O. TUZET

*Faculté de médecine de Montpellier*  
*Laboratoire de parasitologie*

Professeur H. HARANT

#### BIBLIOGRAPHIE

- GAUTHIER (M.), 1936. — Sur un nouvel entophyte du groupe des Harpellacées Lég. et Dub. parasite des larves d'Éphémères. *C. R. Ac. Sc.*, CCI, pp. 1096-1097.
- HOLLANDE (A.-Ch.) et HOLLANDE (G.), 1946. — La structure cytotologique des bactéries et des Cyanophycées. *Arch. Zool. exp. et gén.*, LXXXIV, pp. 375-441.



- LANGERON (M.), 1945. — Précis de mycologie. *Masson et C<sup>ie</sup>, Paris*. 1<sup>re</sup> éd., 674 pages.
- LÉGER (L.) et GAUTHIER (M.), 1931. — *Orphella coronata* n.g., n.sp., entophyte parasite des larves de Némurides. *Trav. Lab. Hydrobiol. et Pisc. Grenoble*, 23<sup>e</sup> année, pp. 67-72.
- 1932. — Endomycètes nouveaux des larves aquatiques d'Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, CXCIV, pp. 2 262-2 263.
- 1935. — La spore des Harpellacées (Léger et Duboscq); Champignons parasites des Insectes. *C. R. Ac. Sc.*, CC, pp. 3-6.
- MANIER (J.-F.), 1950. — Recherches sur les Trichomycètes. *Ann. Sc. Nat. Bot.*, XI, pp. 54-161.
- POISSON (R.), 1932. — *Asellaria caulleryi* n.g., n.sp., type nouveau d'Entophyte parasite intestinal des Aselles (Crustacés Isopodes). Description des stades connus et d'une partie de son cycle évolutif. *Bull. Biol. Fr. et Belg.*, LXVI, pp. 232-254.
- 1932. — Sur deux Entophytes parasites intestinaux des larves de Diptères. *Ann. de parasitol.*, X, pp. 435-443.
- 1936. — Sur un Endomycète nouveau *Smittium arvense*, n.g., n.sp. (Diptères Chironomides) et description d'une nouvelle espèce du genre *Stachylina* Lég. et Gauth. 1932. *Vol. jubilaire du Professeur L. Daniel, Rennes*, 12 pages.
- RIOUX (J.-A.), 1958. — Les Culicides du « Midi » méditerranéen. *Lechevallier édit. Paris*, 303 pages.
- TUZET (O.) et MANIER (J.-F.), 1947. — *Orphella culici* n.sp. entophyte parasite du rectum des larves de *Culex hortensis* Fclb. *C. R. Ac. Sc.*, CCXXV, pp. 264-266.
- 1950. — Les Trichomycètes. Révision de leur diagnose. Raisons qui nous font y joindre les Asellariées de POISSON. *Ann. Sc. Nat., Zool.*, XII, pp. 15-23.