

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR  
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
المدرسة الوطنية العليا للفلاحة - الحراش - الجزائر  
ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE  
EL HARRACH - ALGER

# Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en  
Sciences Agronomiques (Zoologie)

## Thème

**Impacts histopathologiques de souches algériennes de *Bacillus thuringiensis* sur la sphère digestive de quelques Acridoidea (Insecta, Orthoptera). Intérêt en lutte biologique**

**Présenté par :**

Mme SAIDI-TOUATI Mahdia

**Soutenu le 18 /03./2015.**

**Devant le jury :**

**Président :** M. DOUMANDJI S.

Professeur (E.N.S.A EL Harrach)

**Directeur de thèse :** M<sup>me</sup> DOUMANDJI-MITICHE B.

Professeur (E.N.S.A EL Harrach)

**Examineurs :** M<sup>me</sup> DAOUDI-HACINI S.

Professeur (E.N.S.A. El Harrach)

M.ARAB A.

Professeur (USTHB)

M. MOULAI R.

Professeur (Univ. Bejaia)

M<sup>me</sup> KHERBOUCHE O.

Maitre de conférences A (USTHB)

# DEDICACES

- ✚ *A la mémoire de mon père MABROUK qui a tellement souhaité assister à ce jour, rahmatou Allah aleik, le vide que tu as laissé ne sera jamais comblé, tu me manques tellement mais tu habites mon cœur comme si que tu étais toujours là. Tes précieux conseils sont vivants dans mon cœur et ta voix résonne dans ma vie, à ta mémoire je dédie les efforts pour ce travail*
- ✚ *A la meilleure des mamans FARIDA je t'offre ce travail toi qui réponds toujours présente au moindre petit souci, comme ci qu'on était encore tes petits enfants. je souhaiterais te dire merci pour tout, pour ton courage, tes inquiétudes interminables, maman il est temps que tu prennes soin de toi, nous t'aimons tous Rabi yahafdek . Amine*
- ✚ *A la mémoire de ma chère cousine Hayet qui restera à jamais vivante dans notre cœur, à son mari KHALED et sa fille LILIA*
- ✚ *A la mémoire de ma belle-mère MALHA qui a été d'une gentillesse inégalable et à mon beau père Omar*
- ✚ *À mon mari MADJID que je remercie pour son soutien, ses encouragements et son aide, merci mon cher mari rabi ikhelik liya*
- ✚ *A Sarah et Amina mes enfants je vous aime*
- ✚ *A mes frères Mahdi et Yazid et mes sœurs Nacima et Rymoucha et leurs enfants*
- ✚ *A mon oncle Saoud et A mes très chères cousines et mon cousin Sofiane, je vous aime tous.*
- ✚ *A mes belles sœurs et beaux frères*
- ✚ *Ames chers oncles Amar et Nacer et ma chère tante NORA*
- ✚ *Et enfin à la prunelle de mes yeux ZICO qui illumine ma vie*

# REMERCIEMENTS

Arrivée au terme de ce travail, je souhaiterais remercier tous ceux qui ont participé de près ou de loin à sa réalisation.

Je remercie vivement Pr. **Doumandji Mitiche B.** ma Directrice de thèse, pour tous ses précieux conseils ses encouragements et sa grande gentillesse.

Je remercie vivement Professeur **Doumandji S.** notre formateur au sens propre du mot et un deuxième père, merci pour avoir accepté de présider le jury

Mes remerciements vont également aux membres de jury : **Professeur Arab, Professeur Daoudi, Pr. Moulay, et Dr Kherbouch,** pour avoir accepté d'examiner le travail. Je les remercie également pour leurs encouragements et leurs conseils.

Je remercie tout particulièrement **Pr Boufersaoui**, merci pour votre grande gentillesse, votre grande patience et pour vos précieux conseils.

Mes sincères remerciements vont également à mon amie, **Pr Nateche** qui a été là continuellement à me conseiller. Son humour particulier et sa joie de vivre m'ont été d'une grande aide, merci ma sœur pour tout ce que tu as fait.

Merci à **Pr Abderrahmani et Pr Bakour** pour leurs encouragements et leurs aides. **Hamadi kamel,** merci pour ta coopération et ta grande gentillesse, merci mon frère. **Mehdi BOUROUBA** Merci mon ami et frère pour toute l'aide que tu m'as apportée, merci pour ta grande gentillesse ton intégrité j'apprends toujours avec toi. **ILHAM SAHKI** je te présente ici mes remerciements les plus sincères, chère amie, merci pour ta gentillesse et ton aide. Merci à **Soukaina** ingénieur du laboratoire d'Entomologie de la FSB qui a participé au travail, merci beaucoup pour ton aide et ta gentillesse.

Mes amis : **Taguett Farida, Haddadi Fatima, Mouna Hafiane Fergani Hamida, Beloui Ouahiba mebarki Feriel Abdi Zaki, Hmed** ainsi que d'autres amis, je les remercie tous pour leurs présences positives et leurs encouragements. Je remercie également tous mes collègues et étudiants de Master et ingéniorats. Je remercie également **YACINE.** Je remercie tous les responsables de la FSB et les collègues enseignants et ATS de la FSB

# Liste des Figures

➤ Fig.1 Morphologie générale d'un Acridien .....	5
➤ Fig.2 Exemples de deux orthoptères .....	5
➤ Fig.3 Phases successives de la métamorphose Hémimétabole des Orthoptères .....	10
➤ Fig.4 Anatomie de tube digestif de <i>Locusta migratoria</i> .....	12
➤ Fig.5 Culture sporulée de <i>B. thuringiensis</i> avec le corps d'inclusion parasporal .....	21
➤ Fig.6 <i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> contenant une spore et des cristaux protéiques ...	21
➤ Fig.7 Cycle biologique du <i>B. thuringiensis</i> .....	22
➤ Fig.8 Structure tridimensionnel du delta endotoxine .....	24.
➤ Fig.9_Mode d'action de delta endotoxine chez les lépidoptères .....	27
➤ Fig.10 Suspensions bactériennes des souches utilisées .....	30
➤ Fig.11 <i>Aiolopus Strepens</i> .....	31
➤ Fig.12 <i>Acrida turrita</i> .....	31
➤ Fig.13 <i>Anacridium aegyptium</i> .....	32
➤ Fig.14 <i>Pamphagus Elephas</i> .....	32
➤ Fig.15 <i>Shistocerca gregaria</i> .....	33
➤ Fig.16 <i>Locusta migratoria</i> .....	33
➤ Fig.17 Filet fauchoir .....	34
➤ Fig.18 Cage de conservation des criquets .....	34
➤ Fig.19 Cage d'isolement des adultes.....	36
➤ Fig.20 Infestation des criquets par les souches de <i>B.thuringiensis</i> .....	37
➤ Fig.21 Dissection .....	38
➤ Fig.22 dissection et fixation des parties à étudier.....	38
➤ Fig.23 Etapes d'inclusion à la paraffine .....	40
➤ Fig.24 Dernières étapes de la coupe histologique .....	41
➤ Fig.25 Coloration des coupes .....	42
➤ Fig.26 Montage des coupes .....	43
➤ Fig.27 Schéma récapitulatif des étapes suivies .....	43
➤ Fig.28 Coupe transversale du stomodeum de <i>Schistocerca gregaria</i> témoin .....	45
➤ Fig.29 coupe transversale du stomodeum du <i>Schistocerca gregaria</i> traité .....	46
➤ Fig.30 Portion du stomodeum de <i>Shistocerca gregaria</i> traité avec BEG22 .....	46
➤ Fig.31 Coupe transversale du mésenteron de <i>Schistocerca gregaria</i> témoin .....	47

➤ Fig.32 coupe histologique transversale au niveau du mésentéron de <i>Schistocerca gregaria</i> traité par Bt souche FR4 .....	48
➤ Fig.33 Détail d'une portion de mésentéron traité avec BEC22 .....	48
➤ Fig.34 Coupe transversale du proctodeum de <i>Schistocerca gregaria</i> témoin .....	49
➤ Fig.35 coupe transversale du proctodeum de <i>Schistocerca gregaria</i> traité avec BC22... ..	49
➤ Fig.36 Détail d'une portion du rectum traité avec BEC22 .....	50
➤ Fig.37 Portion du jabot de <i>Locusta migratoria</i> témoin .....	51
➤ Fig.38 Portion du jabot de <i>Locusta migratoria</i> Traité avec BL9 /24h .....	51
➤ Fig.39 Portion du jabot de <i>Locusta migratoria</i> Traité avec BL9 /48h .....	52
➤ Fig.40 Coupe transversale de Caecum gastrique témoin de <i>Locusta migratoria</i> .....	53
➤ Fig.41 Coupe transversale de Caecum gastrique de <i>Locusta migratoria</i> traité avec BL9/24h.....	53
➤ Fig.42 Coupe transversale de Caecum gastrique de <i>Locusta migratoria</i> traité avec BL9/48h .....	54
➤ Fig.43 Coupe transversale du mesentéron témoin .....	54
➤ Fig.44 Coupe transversale de mésentéron de <i>Locusta migratoria</i> traité avec BL9/24h .....	55
➤ Fig.45 Coupe transversale de mesentéron de <i>Locusta migratoria</i> traité avec BL9/48h .....	55
➤ Fig.46 Coupe transversale du proctodeum (rectum) témoin .....	56
➤ Fig.47 Coupe transversale du proctodeum de <i>Locusta migratoria</i> traité avec BL9/24h.....	56
➤ Fig.48 Coupe transversale du proctodeum de <i>Locusta migratoria</i> traité avec BL9/48h.....	57
➤ Fig.49 coupe transversale du stomodeum d' <i>Aiolopus strepens</i> témoin .....	58
➤ Fig.50 Coupe transversale du stomodeum d' <i>Aiolopus strepens</i> traité avec FR4 .....	58
➤ Fig.51 coupe transversale du mésentéron d' <i>Aiolopus strepens</i> témoin .....	59
➤ Fig.52 coupe transversale du mésentéron d' <i>Aiolopus strepens</i> traité souche FR4 .....	60
➤ Fig.53 Coupe transversale du stomodeum de <i>Aiolopus strepens</i> traité avec BL9 .....	60
➤ Fig.54 Coupe transversale du caecum gastrique de <i>A.strepens</i> traité avec BL9 .....	61
➤ Fig.55 Portion du stomodeum de <i>Pamphagus elephas</i> témoin .....	62
➤ Fig.56 Portion du stomodeum de <i>Pamphagus elephas</i> traité avec TIM14 .....	63
➤ Fig.57 Portion du mésentéron de <i>Pamphagus elephas</i> témoin .....	64
➤ Fig.58 Portion du mésentéron de <i>Pamphagus elephas</i> traité traité avec TIM14 .....	64
➤ Fig.59 Portion du proctodeum de <i>Pamphagus elephas</i> témoin .....	65
➤ Fig.60 Portion du proctodeum de <i>Pamphagus elephas</i> traité avec TIM14.....	66

➤ Fig.61 Perforation de l'abdomen de <i>Anacridium aegyptium</i> après traitement avec la souche TIM14 de <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	67
➤ Fig.62 Vue d'une portion de stomodeum d' <i>Anacridium aegyptium</i> en coupe transversale .....	68
➤ Fig.63 Portion du stomodeum d' <i>Anacridium aegyptium</i> témoin .....	69
➤ Fig.64 Stomodeum d' <i>Anacridium aegyptium</i> traité avec la souche TIM 14 de <i>Bacillus thuringiensis</i> (Observation1) .....	70
➤ Fig.65 Portion du stomodeum d' <i>Anacridium aegyptium</i> traité avec TIM14 (Observation 2) .....	70
➤ Fig.66 Coupe transversale du stomodeum de <i>Anacridium aegyptium</i> traité avec TIM14 (Observation 3) .....	71
➤ Fig.67 portion du mesenteron d' <i>Anacridium aegyptium</i> témoin .....	72
➤ Fig.68 Portion du mesenteron d' <i>Anacridium aegyptium</i> traité avec TIM14.....	73
➤ Fig.69 Portion du proctodeum d' <i>Anacridium aegyptium</i> témoin .....	74
➤ Fig.70 Portion du proctodeum d' <i>Anacridium aegyptium</i> traité.....	75
➤ Fig.71 Coupe transversale du stomodeum d' <i>Anacridium aegyptium</i> traité avec GB11 .....	75
➤ Fig.72 Stomodeum d' <i>Acrida turrita</i> témoin .....	77
➤ Fig.73 Stomodeum d' <i>Acrida turrita</i> traité par la souche TIM 14 de <i>B. thuringiensis</i> .....	78
➤ Fig.74 Stomodeum d' <i>Acrida turrita</i> traité par la souche FR 4 de <i>B. thuringiensis</i> .....	79
➤ Fig.75 Coupe transversale du mésentéron d' <i>Acrida turrita</i> témoin .....	80
➤ Fig.76 Mésentéron d' <i>Acrida turrita</i> traité par la souche TIM14 de <i>B. thuringiensis</i> .....	80
➤ Fig.77 Mésentéron d' <i>Acrida turrita</i> traité par la souche FR4 de <i>B. thuringiensis</i> .....	81
➤ Fig.78 Coupe transversale du proctodeum d' <i>Acrida turrita</i> témoin .....	82
➤ Fig.79 Proctodeum d' <i>Acrida turrita</i> traité par la souche TIM 14 de <i>B. thuringiensis</i> .....	82
➤ Fig.80 Proctodeum d' <i>Acrida turrita</i> traité par la souche FR4 de <i>B. thuringiensis</i> .....	83
➤ Fig.81 Coupe transversale du stomodeum d' <i>Acrida turrita</i> témoin .....	84
➤ Fig.82 Stomodeum d' <i>Acrida turrita</i> traité par la souche TIM 14 à $10^8$ spores /ml .....	85
➤ Fig.83 Coupe transversale du mésentéron d' <i>Acrida turrita</i> témoin .....	86
➤ Fig.84 Mesenteron d' <i>Acrida turrita</i> traité par la souche TIM 14 .....	86
➤ Fig.85 Proctodeum d' <i>Acrida turrita</i> témoin .....	87
➤ Fig.86 Proctodeum de <i>Acrida turrita</i> traité avec <i>Bacillus thuringiensis</i> souche TIM 14 $10^8$ spores/ml...88	

# **SOMMAIRE**



# Sommaire

INTRODUCTION.....	1
CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES.....	5
I.1 GENERALITES SUR LES ORTHOPTERES .....	5
I.1.1 Position systématique.....	6
I.1.2 Les Ensifères .....	6
I.1.3 Les Caelifères .....	7
I.1.3.1 Les Acridoïdea .....	7
I.2 BIOÉCOLOGIE DES ORTHOPTÈRES .....	8
I.2.1 Répartition géographique.....	8
I.2.1.1 Dans le monde.....	8
I.2.1.2 En Algérie .....	8
I.2.2 Reproduction des Orthoptères.....	9
I.2.2.1 Cycle biologique.....	9
I.2.2.1.1 Embryogénèse.....	9
I.2.2.2 Nombre de générations .....	10
I.2.3 Comportement alimentaire chez les Orthoptères.....	11
I.2.3.1 Structure de tube digestif.....	11
I.2.3.2 Variation du régime alimentaire chez les Orthoptères .....	12
I.2.3.3 Influence de la quantité et de la qualité de nourriture .....	13
I.3 DÉGÂTS INFLIGÉS PAR LES ACRIDIENS .....	15
I.4. LUTTE CONTRE LES ORTHOPTÈRES .....	16
I.5 GÉNÉRALITÉS SUR <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> .....	18
I.5.1. Historique .....	18
I.5.2 Position systématique de <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	19
I.5.3 Caractères biologiques .....	20
I.5.4 Ecologie et distribution.....	21
I.5.5 Cycle de vie de <i>Bacillus thuringiensis</i> .....	22
I.6 LES TOXINES DE <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> .....	22
I.6.1 La $\delta$ -endotoxine.....	23
I.6.1.1 Les toxines Cry .....	23
I.6.1.2 Les toxines Cyt.....	25
I.6.1.3 Classification des gènes des $\delta$ -endotoxines.....	25
I.6.2 Les $\beta$ -exotoxines.....	28
I.6.3 Les $\alpha$ -exotoxines.....	28
I.6.4 Les toxines Vip ( <i>Vegetative Insecticidal Proteins</i> ).....	28
I.7 UTILISATION DE <i>BACILLUS THURINGIENSIS</i> DANS LA LUTTE BIOLOGIQUE .....	29
I.7.1 En préparation .....	29
I.7.2 Dans les plantes transgéniques.....	29
CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES .....	30
II.1. MATÉRIEL .....	30
II.1.1. Matériel biologique.....	30
II.1.1.1. Les souches bactériennes .....	30
II.1.1.2. Les orthoptères traités .....	31
II.1.1.2.1 <i>Aiolopus strepens</i> (Latreille, 1804).....	31
II.1.1.2.2 <i>Acrida turrata</i> (LINNE, 1758) : .....	31
II.1.1.2.3 <i>Anacridium aegyptium</i> (LINNE, 1764).....	32
II.1.1.2.4 <i>Pamphagus elephas</i> (LINNE, 1758).....	32
II.1.1.2.5 <i>Schistocerca gregaria</i> (FORSKAL, 1775) .....	33
II.1.1.2.6 <i>Locusta migratoria</i> (LINNE, 1767).....	33
II.1.2. Matériel non biologique .....	34

II.1.2.1 Matériel sur terrain.....	34
II.1.2.2 Matériel au laboratoire.....	35
<b>II.2. MÉTHODES.....</b>	<b>35</b>
<b>II.2.1. Préparation des échantillons d'étude.....</b>	<b>35</b>
II.2.1.1. Capture des orthoptères.....	35
II.2.1.2. Séparation des criquets adultes.....	36
II.2.1.3. Traitement des criquets par les souches bactériennes : TIM 14 FR4 GB11 .....	36
BL9 GB11 et BEC 22 .....	36
<b>II.2.2. Etude histologique du tube digestif des acridiens.....</b>	<b>37</b>
II.2.2.1. Dissection.....	37
II.2.2.2 La fixation .....	38
II.2.2.3 Inclusion à la paraffine.....	39
II.2.2.4 Réalisation des coupes histologiques .....	40
<b>CHAPITRE III : RESULTATS ET INTERPRETATIONS .....</b>	<b>44</b>
<b>III.1 SHISTOCERCA GREGARIA TRAITÉ AVEC LA SOUCHE FR4 ET BEC22.....</b>	<b>44</b>
<b>III.1.1 Observations macroscopiques.....</b>	<b>44</b>
<b>III.1.2 Etude histologique du tube digestif de Schistocerca gregaria .....</b>	<b>45</b>
III.1.2.1 Stomodeum .....	45
III.1.2.1.1 Stomodeum témoin (Fig.28).....	45
III.1.2.2 Mésentéron.....	47
III.1.2.3 Proctodeum .....	49
<b>III.2 LOCUSTA MIGRATORIA TRAITÉ AVEC BL9.....</b>	<b>50</b>
<b>III.2.1 Observations macroscopiques.....</b>	<b>50</b>
<b>III.2.2 Etude histologique du tube digestif de Locusta migratoria .....</b>	<b>51</b>
III.2.2.1 Stomodeum (Jabot) (Fig.37).....	51
III.2.2.1.1 Stomodeum témoin.....	51
III.2.2.1.2 Stomodeum traité et observé après 24h (Fig.38) .....	51
III.2.2.1.3 Stomodeum traité et observé après 48h (Fig.39) .....	52
III.2.2.2 Caecum gastrique .....	52
III.2.2.2.1 Caecum témoin (Fig.40).....	52
III.2.2.2.2 Caecum gastrique traité avec BL9/ 24h (Fig.41).....	53
III.2.2.2.3 Caecum gastrique traité avec BL9/ 48h (Fig.42).....	53
III.2.2.3 Mésentéron .....	54
III.2.2.3.1 Mésentéron témoin (Fig.43) .....	54
III.2.2.3.2 Mésentéron traité avec BL9/24H (Fig.44).....	55
III.2.2.3.3 Mésentéron traité avec BL9/48H (Fig.45).....	55
III.2.2.4 Proctodeum .....	56
III.2.2.4.1 Proctodeum témoin (Fig.46) .....	56
III.2.2.4.2 Proctodeum traité avec BL9/24h (Fig.47) .....	56
III.2.2.4.1 Proctodeum traité avec BL9/48h (Fig.48).....	57
<b>III.3 AILOPUS STREPENS TRAITÉ AVEC FR4 ET BL9 .....</b>	<b>57</b>
<b>III.3.1 Observations macroscopiques.....</b>	<b>57</b>
<b>III.3.2 Observations microscopiques : Etude histologique du tube digestif de Aiolopus strepens.....</b>	<b>57</b>
III.3.2.1 Stomodeum.....	57
III.3.2.1.1 Stomodeum témoin (Fig.49) .....	57
III.3.2.1.2 Stomodeum traité avec FR4 (Fig.50) .....	58
III.3.2.2 Mésentéron .....	59
III.3.2.2.1 Mesenteron témoin (Fig.51) .....	59
<b>III.4 PAMPHAGUS ELEPHAS TRAITÉ AVEC LA SOUCHE TIM14 .....</b>	<b>62</b>
<b>III.4.1 Observations macroscopiques.....</b>	<b>62</b>
<b>III.4.2 Observations microscopiques : Histologie du tube digestif de Pamphagus elephas.....</b>	<b>62</b>
III.4.2.1 Stomodeum.....	62
III.4.2.1.1 Stomodeum témoin (Fig.55) .....	62
III.4.2.1.2 Stomodeum traité avec TIM14 (Fig.56).....	63

III.4.2.2	Mésentéron .....	63
III.4.2.2.1	Mesenteron témoin (Fig.57) .....	63
III.4.2.2.2	Mésentéron traité (Fig.58) .....	64
III.4.2.3	Proctodeum .....	65
III.4.2.3.1	Proctodeum témoin (Fig.5) .....	65
III.4.2.3.2	Proctodeum traité (Fig.60) .....	66
<b>III.5</b>	<b>ANACRIDIDIUM AEGYPTIUM TRAITÉ AVEC LA SOUCHE TIM14 ET GB11 .....</b>	<b>66</b>
<b>III.5.1</b>	<b>Observations macroscopiques .....</b>	<b>66</b>
<b>III.5.2</b>	<b>Etude microscopique : étude histologique .....</b>	<b>68</b>
III.5.2.1	Stomodeum .....	68
III.5.2.1.1	Stomodeum témoin (Fig 62 et 63) .....	68
III.5.2.1.2	Stomodeum traité avec TIM14 (Fig.64) .....	69
III.5.2.2	Mésentéron .....	72
III.5.2.2.1	Mésentéron témoin (Fig.67) .....	72
III.5.2.2.2	Mesenteron traité avec TIM14 (Fig.68) .....	72
III.5.2.3	Proctodeum .....	73
III.5.2.3.1	Proctodeum témoin (Fig.69) .....	73
III.5.2.3.2	Proctodeum traité avec TIM14 (Fig.70) .....	74
III.5.2.3.3	<i>Anacridium aegyptium</i> traité avec GB11 (Fig. 71) .....	75
<b>III.6</b>	<b>ACRIDA TURRITA TRAITÉ AVEC LA SOUCHE TIM14 ET FR4 .....</b>	<b>76</b>
<b>III.6.1</b>	<b>Observations macroscopiques .....</b>	<b>76</b>
<b>III.6.2</b>	<b>Etude histologique du tube digestif d'<i>Acrida turrata</i> témoin et traité avec TIM14 et FR4 .....</b>	<b>77</b>
III.6.2.1	Stomodeum .....	77
III.6.2.1.1	Stomodeum Témoin (Fig.72) .....	77
III.6.2.1.2	Stomodeum traité avec TIM14 (Fig.73) .....	78
III.6.2.2	Mésentéron .....	79
III.6.2.2.2	Mésentéron traité avec TIM14 (Fig.76) .....	80
III.6.2.2.3	Mésentéron traité avec FR4 (Fig.77) .....	81
III.6.2.3	Proctodeum .....	81
III.6.2.3.1	Proctodeum témoin (Fig.78) .....	81
III.6.2.3.2	Proctodeum traité avec TIM14 (Fig.79) .....	82
III.6.2.3.3	Proctodeum traité avec FR4 (Fig. 80) .....	83
III.6.2.4	Utilisation de TIM14 à forte dose .....	83
III.6.2.4.1	Stomodeum .....	83
III.6.2.4.2	Mésentéron .....	85
III.6.2.4.3	Proctodeum .....	87
<b>CHAPITRE IV: DISCUSSION DES RESULTATS .....</b>	<b>89</b>	
<b>IV.1</b>	<b>CAS DE <i>SHISTOCERCA GREGARIA</i> TRAITÉ AVEC FR4 ET BEC22 .....</b>	<b>90</b>
<b>IV.1.1</b>	<b>Cas du traitement avec FR4 .....</b>	<b>90</b>
<b>IV.1.2</b>	<b>Cas de BEC22 .....</b>	<b>91</b>
<b>IV.2</b>	<b>CAS DE <i>LOCUSTA MIGRATORIA</i> TRAITÉ AVEC LA SOUCHE BL9 .....</b>	<b>91</b>
<b>IV.3</b>	<b>CAS DE <i>AILOPUS STREPENS</i> TRAITÉ AVEC FR4 ET BL9 .....</b>	<b>92</b>
<b>IV.3.1</b>	<b>Cas de FR4 .....</b>	<b>92</b>
<b>IV.3.2</b>	<b>Cas de BL9 .....</b>	<b>92</b>
<b>IV.4</b>	<b>CAS DE <i>PAMPHAGUS ELEPHAS</i> TRAITÉ AVEC TIM14 .....</b>	<b>93</b>
<b>IV.5</b>	<b>CAS DE <i>ANACRIDIDIUM AEGYPTIUM</i> TRAITÉ AVEC TIM14 ET GB11 .....</b>	<b>94</b>
<b>IV.5.1</b>	<b>Cas de TIM14 .....</b>	<b>94</b>
<b>IV.5.2</b>	<b>Cas de GB11 .....</b>	<b>94</b>
<b>IV.6</b>	<b>CAS DE <i>ACRIDA TURRITA</i> TRAITÉ AVEC FR4 ET TIM14 .....</b>	<b>94</b>
<b>IV.6.1</b>	<b>Cas de FR4 .....</b>	<b>94</b>
<b>IV.6.2</b>	<b>Cas de TIM14 .....</b>	<b>95</b>

<b>CONCLUSION GENERALE .....</b>	<b>99</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES .....</b>	<b>98</b>
<b>ANNEXES .....</b>	<b>112</b>

# **INTRODUCTION**

## **INTRODUCTION**

Par leur diversité, la variété de leurs habitats et de leurs niches, les insectes constituent un matériel privilégié pour examiner les relations entre les niveaux trophiques. Ayant fait l'objet de nombreux travaux, tant en physiologie, en éthologie qu'en génétique, les insectes permettent des études écologiques dépassant le niveau descriptif pour atteindre le stade expérimental. Dans ces conditions la compréhension des relations à l'intérieur des biocénoses terrestres à assurer la coïncidence spatiale entre les insectes et leurs hôtes intervient dans l'orientation des insectes à l'intérieur des écosystèmes, (Labeyrie, 1977).

Les criquets constituent souvent en régions chaudes la biomasse la plus importante de l'entomofaune des cultures, des friches, des jachères ainsi que des pâturages. On trouve couramment 10 à 15 espèces dans chaque type de biotope. Certaines années, l'explosion démographique de quelques-unes d'entre elles révèle leur caractère ravageur. Les pertes sont pour l'essentiel dues au prélèvement direct sur tous les organes aériens des plantes cultivées, ce qui réduit la photosynthèse, diminue l'espérance de récolte, quand ce ne sont pas les plants qui sont entièrement détruits. Les dégâts réels sont difficiles à évaluer quantitativement mais il est sûr qu'un agriculteur qui a connu une invasion acridienne s'en souvient toute sa vie. La voracité de ces insectes est spectaculaire : un criquet consomme par jour au moins la moitié de son propre poids en matière végétale fraîche (Launois Luong *et al.*, 1988)

Les interactions entre l'homme et les acridiens sont nombreuses et complexes. Bien que ces insectes provoquent des dégâts aux cultures et aux pâturages, ils constituent aussi une source de nourriture conjoncturelle pour les populations humaines dans de nombreux pays comme le Cameroun, le Tchad, le Niger ou le Nigeria. De fait, bien que victime, l'homme est parfois aussi consommateur des acridiens. Dans les maigres pâturages du Sahel ou du Sahara, le bétail peut entrer en compétition avec les criquets au point de limiter leur multiplication. Par ailleurs, des cas de cannibalismes sont connus chez les acridiens. Les larves âgées de criquet pèlerin attaquent les éclosions et les jeunes larves de leur propre espèce, notamment lorsque la végétation se raréfie (Greathead *et al.*, 1994).

En outre, environ 20 % des espèces acridiennes sont considérées comme nuisibles aux cultures ou susceptibles de le devenir. Quelques chiffres montrent l'ampleur des prélèvements alimentaires : chaque acridien consomme de 30 à 70 % de son poids d'aliments frais chaque jour. En phase grégaire, cette proportion peut atteindre 100 % et un kilomètre carré d'essaim dense renferme plus de 50 millions d'individus et chaque ailé pèse 2 grammes en moyenne. Une telle population consomme 100 tonnes de matière végétale fraîche par jour (Cirad, 2007).

En Algérie, il existe beaucoup d'acridiens locustes et sautériaux dont les dégâts sont parfois très importants sur les cultures (Doumandji et Doumandji-Mitiche, 1994).

L'Homme dans sa lutte contre ces insectes nuisibles a utilisé des méthodes drastiques reposant notamment sur l'utilisation d'insecticides chimiques. Cependant, cette lutte chimique semble être mal maîtrisée car les produits appliqués de façon systématique et non rationalisée causent de sérieux dangers aussi bien pour l'environnement que pour l'utilisateur et le consommateur (Launois –luong *et al.*, 1988).

Ces dernières décennies, la protection de l'environnement s'impose de plus en plus comme une préoccupation mondiale majeure. Dans le domaine de l'agriculture, il est indéniable que l'expansion et la productivité agricole doit dorénavant passer par une gestion optimale des insectes nuisibles et des mauvaises herbes en minimisant les effets sur l'environnement.

La méthode classique de lutte chimique contre les insectes ravageurs des récoltes et des mauvaises herbes, jadis considérée comme panacée, fait de plus en plus place à la lutte intégrée et à la lutte biologique par utilisation de micro-organismes notamment *Bacillus thuringiensis* (Boivin, 1992). Cette dernière fût proposée contre les ravageurs et son utilisation apparaissait particulièrement prometteuse (Joung et Cote, 2000).

*Bacillus thuringiensis* demeure donc l'un des microorganismes entomopathogènes les plus connus. C'est en effet, la première bactérie reconnue et la plus utilisée comme agent de lutte biologique contre plusieurs insectes ravageurs de culture et vecteurs des maladies (Bravo *et a.l.*, 2011). *B. thuringiensis* a la capacité durant sa phase de sporulation de produire une gamme de toxines insecticides vis-à-vis de plusieurs insectes (Kitnamorti *et al.*, 2011).

Afin d'étudier l'effet des biopesticides sur les insectes et notamment sur les acridiens, beaucoup d'études ont été effectuées par, nous citons Greathead *et al.* (1994); Lazare

*et al.* (1996); Mcneill et Hurst (2008). En Algérie, on note celles réalisées Saidi-Touati (1996) Halouane *et al.* (2001), Allal-Benfekih (2006), Benfekih *et al.* (2007), Saidi – Touati *et al.* (2008a) ; Saidi –Touati *et al.* (2008b), Mohand Kaci *et al.* (2010). Par ailleurs Boufersaoui *et al.* (2008) Boufersaoui *et al.* (2009) ; Hamadi *et al.* (2014) ; Saidi-Touati *et al.* (2014), ont participé à mettre en avant l'action de *Bacillus thuringiensis* sur les orthoptères. Cette bactérie entomopathogène a été objet de nombreux projets de recherches tant sur le plan microbiologique que sur le plan entomopathogénique, et ce, par le laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, équipe Microbiologie et Ecologie Environnement avec l'équipe d'Entomologie de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene. De nombreux projets de fin d'étude ont fait objet de ce thème, nous citons : Ouzzani (1987) ; Belguendouz et Lagab (1995) ; Soualili et Lagab (2001) Bernou et Djillali (2002) ; Makour et Mimouni (2002) ; Bouchoucha et Merida (2005) ; Amari et Kenane (2007) ; Bouchelkia et Haddad (2007) ; Kheder et Ouagagui (2008) ; Bouchelkia et Haddad (2007) et Bekouche et Ghellab (2010).

C'est dans ce cadre que nous nous sommes intéressés à l'effet histopathologique de cette bactérie sur la sphère digestive de plusieurs acridiens, et ce, afin d'étudier la solution éventuelle de l'utilisation de *Bacillus thuringiensis* contre ce groupe d'insectes, réputés résistants à cette bactérie. Toutefois la bibliographie cite la sensibilité de nombreux ordres d'insectes pour *B. thuringiensis* ainsi que les perspectives pour la lutte biologique. Les espèces étudiées dans notre travail sont: *Schistocerca gregaria*, *Locusta migratoria*, *Aiolopus strepens*, *Pamphagus elephas*, *Anacridium aegyptium* et *Acrida turrita*. Les souches bactériennes utilisées nous ont été fournies aimablement par le Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, équipe de Microbiologie de la Faculté des Sciences Biologiques de l'Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene. Ces souches sont codées et ont été échantillonnées dans différents biotopes de toute l'Algérie. Il s'agit bien de souches autochtones. Chacune pouvant abriter une particularité lui conférant ou pas des pouvoirs entomopathogènes, voire pour notre cas acridicides. Nos résultats nous permettraient de définir l'impact de *Bacillus thuringiensis* sur ce groupe d'insectes, et ce, dans le but de pouvoir envisager une lutte biologique. Notre étude porte principalement sur l'étude histopathologique de la sphère digestive des acridiens cités, traités avec différentes souches locales de *B. thuringiensis* : TIM14, FR4, BL9, GB11 et BEC22, ainsi que de voir et de comparer leurs impacts histologiques sur ces acridiens.



Pour ce faire, il est nécessaire de regrouper tout ce qui est en rapport avec la biologie, l'anatomie de ces orthoptères et de cette bactérie, en se basant sur les données bibliographiques constituant l'objet de premier chapitre.

L'aboutissement à des résultats plausibles est inhérent au matériel utilisé et à la méthodologie adoptée. Pour cela, dans le deuxième chapitre, nous avons exposé le matériel qui nous a servi pour notre expérimentation et les méthodes que nous avons suivies dans nos investigations. Les résultats recueilles sont traitées et annoncés dans le troisième chapitre, suivi dans le quatrième chapitre, d'une discussion des résultats obtenus.

Enfin, dans la conclusion générale nous annonçons les points les plus pertinents de notre étude et faisons des propositions qui pourraient être utiles dans le proche avenir.

**CHAPITRE I**  
**DONNÉES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

## CHAPITRE I : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

### I.1 Généralités sur les orthoptères

Les orthoptères sont des insectes paurométaboles, larves et adultes se ressemblent, aux ailes près, et qui sont principalement caractérisés par des pattes postérieures adaptées pour le saut. Ils se caractérisent par :

- Une métamorphose incomplète, hémimétabole.
  - Pièces buccales puissantes et broyeuses.
  - Ailes antérieures fréquemment durcies et protectrices inapte au vol (élytres).
- (Masiac, 2003).

La morphologie des orthoptères est représentée dans la figure1

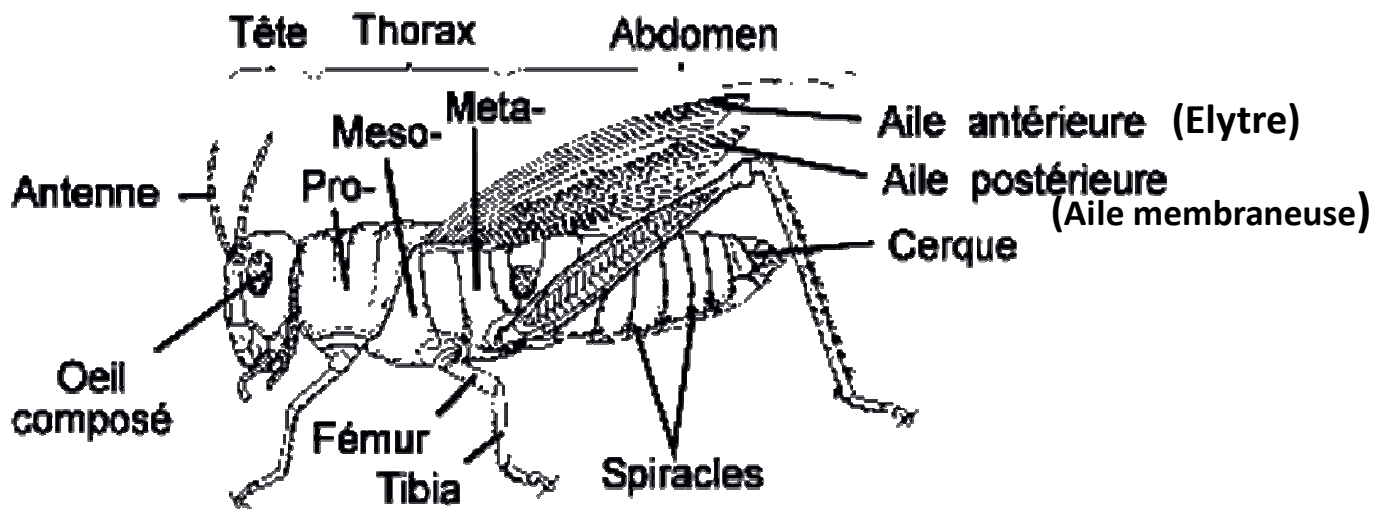


Fig.1 Morphologie générale d'un Acridien (Houseman, 2002)

La classification des Orthoptères selon Uvarov(1966), les subdivise en 2 sous-ordres, les Ensifères (grillons et courtilières) et les Caelifères (criquets). (Figure 2).

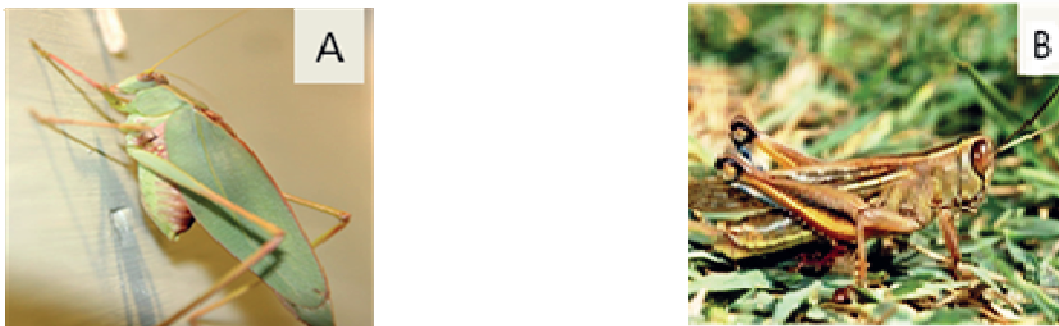


Fig.2 Exemples de deux orthoptères. A : Ensifère (<http://www.newworldencyclopedia.org/entry/Ensifera>) B : Caelifère (Boitier, 2008)

### I.1.1 Position systématique

Le tableau 1 illustre la position systématique des orthoptères selon Chopard (1943)

**Tableau 1** : Position systématique Orthoptères

<u>Classification</u>	
Règne	<i>Animalia</i>
Embranchement	<i>Arthropoda</i>
Sous-embranchement	<i>Hexapoda</i>
Classe	<i>Insecta</i>
Sous-classe	<i>Dicondylia</i>
Infra-classe	<i>Pterygota</i>
Division	<i>Neoptera</i>
Super-ordre	<i>Orthopteroidea</i>
Ordre	
Orthoptera (Latreille, 1793)	
Sous-ordre <i>Ensifera</i>	Sous-ordre <i>Caelifera</i>

### I.1.2 Les Ensifères

Les Ensifères possèdent les caractères morphologiques suivants :

- Les antennes sont longues et fines en dehors des Gryllotalpidae, qui constituent une exception.
- Les femelles possèdent un oviscapte ou appareil de ponte bien développé composé de valves dont deux internes, deux supérieures et deux inférieures (Chopard, 1943).
- Les organes tympaniques sont situés sur la face interne des tibias des pattes antérieures, (Masiac, 2003)
- L'organe stridulatoire du mâle est placé sur la face dorsale des élytres.
- Les œufs sont pondus isolément dans le sol ou dans les tissus végétaux.

La subdivision des Ensifères en trois principales familles est proposée par CHOPARD(1943) :

- Tettigoniidae,
- Stenopelmatidae
- Gryllidae

### **I.1.3 Les Caelifères**

Les caelifères se caractérisent par

- de courtes antennes qui vont peu au-delà de la tête et du pronotum réunis.
- Les valves génitales des femelles sont robustes et courtes au nombre de quatre.
- L'organe stridulatoire du mâle est constitué par une crête du fémur postérieur frottant sur une nervure intercalaire des élytres.
- Les tympans auditifs sont placés de part et d'autre du premier segment abdominal (Chopard, 1943).
- La femelle pond les œufs dans le sol, enfermés dans une sorte d'oothèque appelée parfois coque ovigère en une masse surmontée par une matière spumuse (Doumandji-Mitiche, 1995). Duranton *et al.* (1982) cite trois super-familles pour ce sous-ordre :
  - Tridactyloïdea
  - Tettrigoïdea
  - Acridoïdea.

Selon Doumandji et Doumandji-Mitiche (1994), les super-familles des Tridactyloïdea et des Tettrigoïdea sont caractérisées par un faible nombre d'espèces. Elles n'offrent aucun intérêt agronomique. Par ailleurs, la super-famille des Acridoïdea est considérée comme la plus riche de l'ordre des Orthoptères.

#### **I.1.3.1 Les Acridoïdea**

Leur pronotum est relativement court. En général la majorité des espèces appartenant à cette super-famille présentent des élytres et des ailes bien développées recouvrant l'abdomen. Leurs tailles, leurs formes et leurs couleurs sont variables. Parmi les 14

familles composant les Acridoïdea cités par Duranton et *al.* (1982), seules 4 d'entre elles intéressent l'Afrique du Nord et développées par Louveaux et Benhalima (1987) :

- Charilaidae
- Pamphogidae
- Pyrgomorphidae
- Acrididae

## **I.2 Bioécologie des Orthoptères**

### **I.2.1 Répartition géographique**

#### **I.2.1.1 Dans le monde**

L'aire de répartition des Orthoptères est souvent extrêmement vaste bien qu'il y a certaines espèces uniquement dans les endroits humides. La très grande majorité d'entre eux ont des formes xérophiles et thermophiles.

La répartition géographique des Orthoptères se trouve conditionnée par la température et une insolation prolongée. Ils peuplent aussi bien les zones humides que les régions les plus désertiques. Ils se rencontrent sur tous les continents sauf en Antarctique. Ils sont principalement localisés dans les régions tropicales du globe, (Encarta, 2009) (Chopard, 1943)

#### **I.2.1.2 En Algérie**

La faune orthoptérologique occupe toute l'Algérie, allant des bords de la mer, passant par les montagnes jusqu'au sable vif, mais seulement avec une distribution inégale, selon la physiologie des espèces et les conditions environnementales.

La répartition en famille des Caelifères montre l'importance de celle des Acrididae suivie de celle des Pamphagidae et en dernier celle des Pyrgomorphidae. La faune des Ensifères relativement faible est représentée par 2 familles : les Tettigonidae et les Gryllotalpidae.

Au centre, la richesse des Acrididae semble plus importante qu'à l'Est. La famille de *Pamphagidae* diminue de l'Ouest vers l'Est, les Tettigonidae sont plus nombreux au centre qu'à l'Ouest et à l'Est, tandis que la famille des Gyllotalipidae récompense la lacune des Ensifères à l'Est et l'Ouest (Damerdji, 2002).

Selon Doumandji et Doumandji-Mitiche(1994), les orthoptères inventoriés au Sud sont représentés par plusieurs espèces qui fréquentent les oasis à Tamanrasset, Biskra, Ghardaïa et même au Hoggar.

## **I.2.2 Reproduction des Orthoptères**

### **I.2.2.1 Cycle biologique**

Les Orthoptères passent toujours par trois états biologiques au cours de leur vie : l'état embryonnaire, l'état larvaire et l'état imaginal. Le terme adulte est réservé aux individus physiologiquement capables de se reproduire (Appert et Deuse, 1982),( Fig.3).

#### **I.2.2.1.1 Embryogénèse**

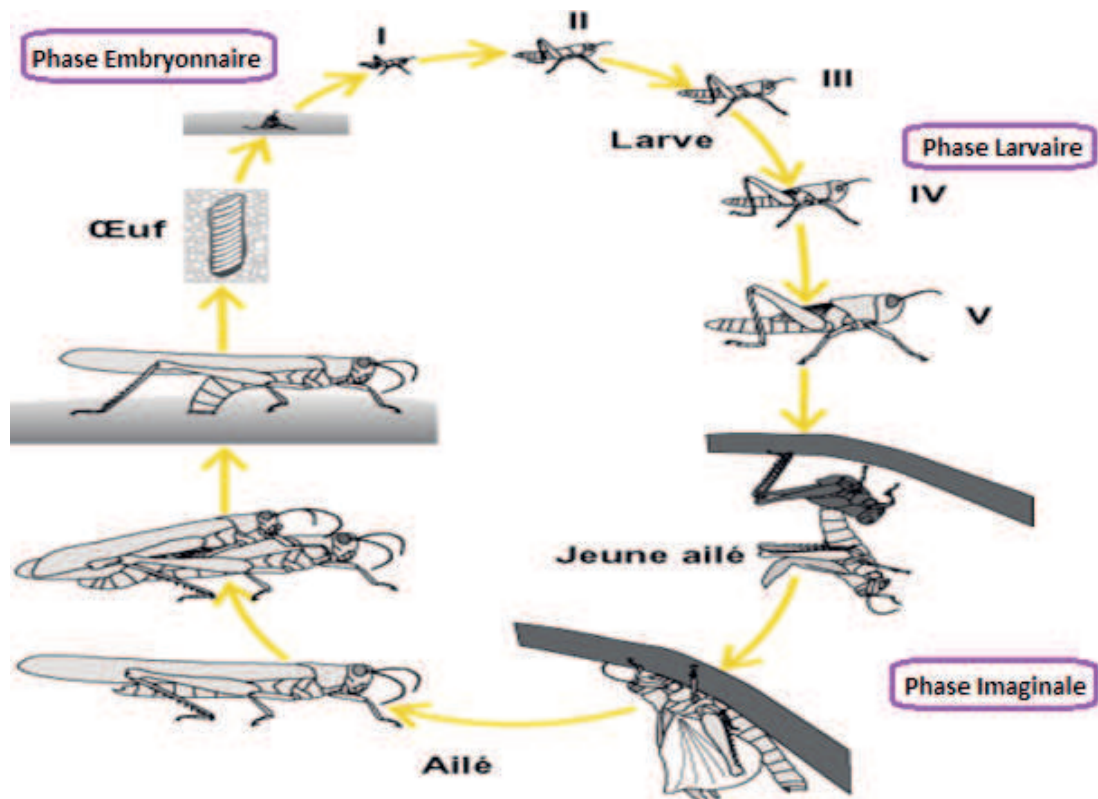
Quelques jours après l'accouplement, la femelle commence à déposer ses œufs dans une sécrétion spumeuse ou oothèque, qui durcit affleurant presque à la surface du sol. La disposition des œufs dans l'oothèque est particulière pour chaque espèce. la vie embryonnaire s'achève par l'éclosion et donne naissance à une jeune larve (Simbara, 1989).

#### **I.2.2.1.2 Développement larvaire**

Les larves vivent à la surface du sol dans les herbes, les arbustes et rarement dans les arbres (Appert et Deuse, 1982). Quatre à cinq stades larvaires se succèdent chez les Caelifères, cinq à sept chez les Ensifères et même plus de dix chez certains Grillons (Bellmann et Luquet, 2009). D'après Launois-Luong (1976), la durée totale du développement larvaire varie entre 18 jours et plus de 8 mois selon les espèces et les conditions de l'environnement.

### I.2.2.1.3 Imago

La dernière mue donne naissance à un imago. Les jeunes atteignent leur maturité en juillet ou en août. La première partie de la vie imaginale est surtout consacrée à la recherche d'un biotope favorable pour s'alimenter. Mâles et femelles augmentent de poids dans des proportions notables et accumulant du corps gras. Puis le poids des mâles se stabilise, alors que celui des femelles continue à s'élever. Ce deuxième accroissement du poids est en rapport avec la maturation ovocytaire préparant la future première ponte. Lorsque les ailés sont en période de reproduction, on parle d'adulte (Duranton *et al*, 1982).



**Fig.3** - Phases successives de la métamorphose Hémimétabole des Orthoptères, (Ici chez un criquet) (Insecta. Org., 2011).

### I.2.2.2 Nombre de générations

Une génération acridienne correspond à la succession des états qui relient un œuf de la génération parentale à un œuf de la génération fille. Le nombre de générations annuelles qu'une espèce peut présenter correspond au voltinisme. On distingue des espèces univoltines, n'effectuant qu'une génération dans l'année et des espèces plurivoltines à plusieurs générations annuelles. Le nombre maximal de générations



qu'une espèce peut effectuer en une année semble être de 5 chez les acridiens. A l'opposé, on connaît des espèces qui ont besoin de deux années au moins pour effectuer un cycle complet, particulièrement dans les régions froides et très arides. En zone tropicale sèche, les acridiens présentent en majorité de 1 à 3 générations par an (Lecoq, 1978). Pour une même espèce, le nombre de générations peut être variable selon la région dans laquelle la population se développe et selon les caractéristiques météorologiques annuelles (Duranton *et al*, 1982). Notons que certains acridiens régulent leur fécondité en fonction de leur densité. S'ils sont très nombreux par mètre carré, la multiplication des contacts entre eux finit par réduire leur descendance (notamment en réduisant la taille des ovaires) (Masiac, 2003).

### **I.2.3 Comportement alimentaire chez les Orthoptères**

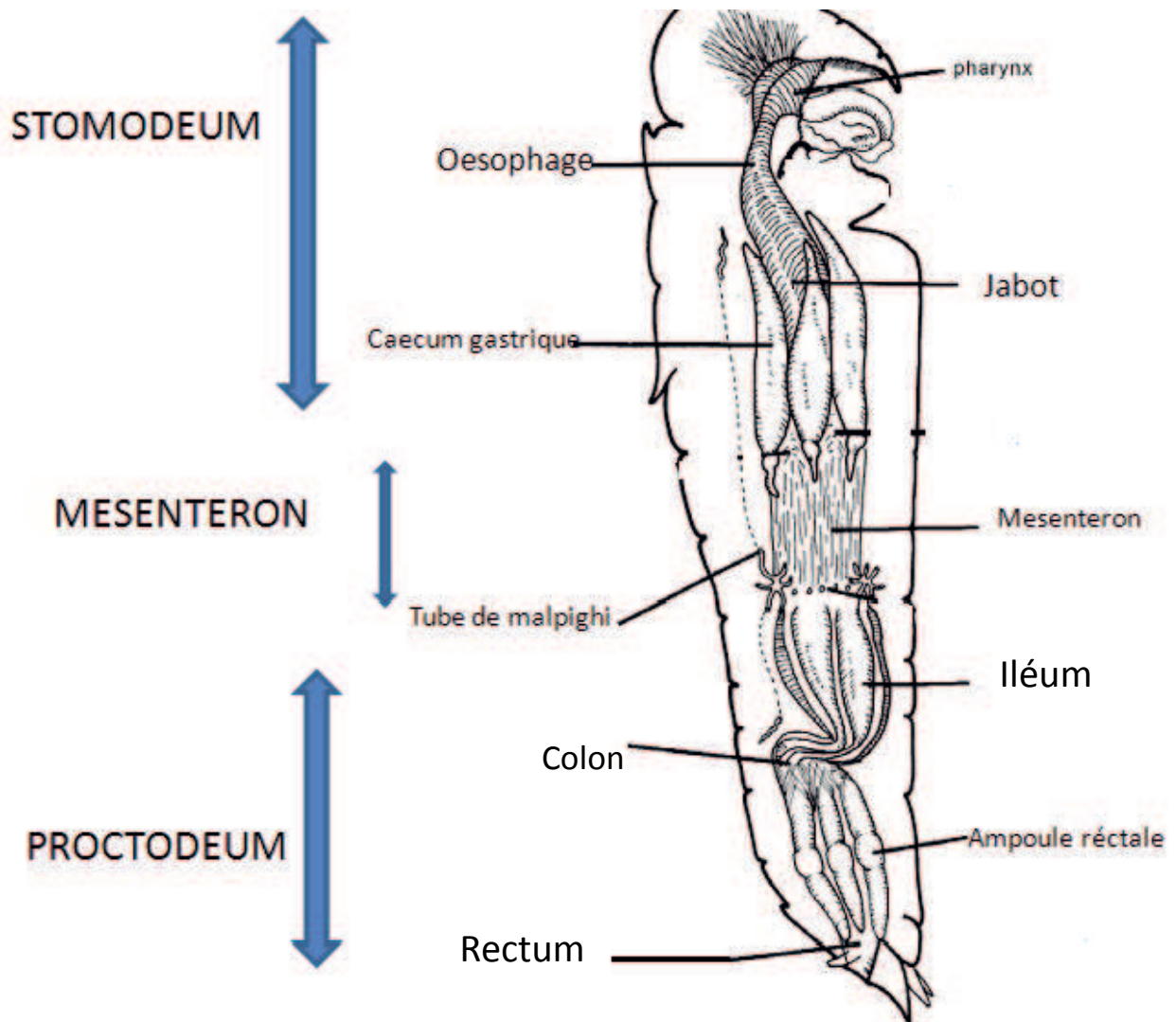
#### **I.2.3.1 Structure de tube digestif**

Le tube digestif des Insectes est d'origine ectodermique dans ses deux extrémités stomodeum : œsophage, jabot et proctodeum, rectum. Seuls l'intestin moyen et ses diverticules, les caecums gastriques sont d'origine endodermique. (Boufersaoui et Matz, 1968)

Au plan anatomique, le stomodeum est subdivisé en quatre parties ; pharynx, œsophage, jabot et gésier. Le mésentéron quant à lui est composé de l'intestin moyen et des caecums gastriques. Le proctodeum est subdivisé en trois parties (l'intestin postérieur proprement dit, le rectum et l'ampoule rectale) (Fig.4). (Grasse, 1949 ; Wiglessworth, 1972 ; Richards and Davis, 1977 ; Gillot, 1995 et Romoser, 1998 )

Au plan physiologique, lorsque le criquet découpe sa nourriture grâce à des pièces buccales de type broyeur, celle-ci passe dans le pharynx et l'œsophage qui transite des aliments vers le jabot. Ce dernier joue plusieurs rôles dans la trituration, stockage et broyage des aliments grâce à des épines ayant un rôle de dents. Le gésier accumule les aliments qui passent vers l'intestin moyen pour l'absorption et sécrétion des enzymes digestives. Les caeca gastriques quant à eux assurent l'augmentation de la surface d'absorption. La réabsorption d'eau et d'ions se fait au niveau de l'intestin postérieur proprement dit. Par ailleurs le rectum assure les évacuations des produits

d'excrétions ainsi que les tubes de Malpighi. Enfin l'ampoule rectale assure la régulation de la pression osmotique. (Gillot, 1995)



**Fig.4** Anatomie de tube digestif de *Locusta migratoria* (modifié) (Gillot, 1995)

### **I.2.3.2 Variation du régime alimentaire chez les Orthoptères**

Le régime alimentaire d'une espèce est rarement constant durant toute l'année et en tous lieux. On note tout d'abord des variations saisonnières en rapport avec la nourriture disponible et l'activité des insectes. Le régime alimentaire varie aussi selon le stade de développement, le sexe ainsi qu'en fonction des caractéristiques du milieu (Dajoz, 1971), Ce même auteur en 1985, mentionne que la diversification des régimes alimentaires est à l'origine de nombreuses adaptations morphologiques, physiologiques

et écologiques qui sont les témoins d'une longue coévolution entre les phytophages et les végétaux et entre les prédateurs et leur proies.

D'après Legall (1989), on remarque que le régime alimentaire chez les acridiens se compose de plusieurs espèces végétales issues de plusieurs familles botaniques. Ils sont qualifiés de polyphages. Et d'autres ne s'attaquant qu'à un petit nombre d'espèces voire une seule espèce constitue le groupe des oligophages.

On considère comme sténophages, les criquets dont la population est globalement monophage, mais qui sont capables de consommer en très petites quantités d'autres plantes qui constituent le régime alimentaire principal de la population.

Si la nourriture des acridiens est dans l'ensemble assez variée, il y a tout de même une séparation entre les consommateurs de graminées et de cypéracées appelés encore graminivores et les consommateurs des autres familles végétales ou non- graminivores (Legall et Gillon, 1989). Ces mêmes auteurs mettent en évidence une catégorie de « phytophages préférentiels » qui sont des acridiens susceptibles d'ingérer un grand nombre d'espèces végétales, bien qu'une seule domine le régime alimentaire.

### **I.2.3.3 Influence de la quantité et de la qualité de nourriture**

La quantité et la qualité de la nourriture influe considérablement sur les caractéristiques de la croissance des populations d'acridiens. La mortalité, la natalité et la limite de dispersion des individus en sont affectées (Duranton *et al.* 1982).

#### **I.2.3.3.1 Influence de la quantité**

Source unique d'énergie dont dispose les animaux, la nourriture est un facteur limitant lorsqu'elle est en quantité insuffisante (Dajoz, 2009).

D'après les études faites par Louveaux(1977), sur *Locusta migratoria*, les quantités de nourriture consommées sur de longues périodes, ne sont pas aléatoires ou régulières au cours de stade. Elle suit une progression bien déterminée suggérant une régulation de l'alimentation.

### **I.2.3.3.2 Influence de la qualité**

La qualité première d'une source alimentaire est d'être convertible en nutriments utilisables dans le développement, pour le maintien de l'organisme et pour la reproduction. Et comme la majorité des plantes contiennent les éléments nutritifs indispensables aux acridiens, c'est plus l'accessibilité à ces éléments nutritifs qui jouera un rôle limitant dans le choix des plantes consommées par les criquets (Le Gall, 1989).

Selon Launois(1976), l'aspect biologique de la graminée, son degré de dureté, sa teneur en eau ou composition biochimique, conditionnent la prise de nourriture de l'insecte pour un stade phénologique bien précis. Il faudrait donc prendre en compte l'âge des organes végétaux consommés dans la nature par les acridiens. Les estimations habituelles portent en effet sur les biomasses végétales globales sans tenir compte des différences de valeurs alimentaires liées à cet âge (Louveaux *et al.*, 1983).

### **I.2.3.3.3 Effet de l'alimentation sur la reproduction**

Le Berre *et al.* (1977), affirment que l'alimentation et l'activité reproductrice sont intimement liées.

Selon Dreux(1980), il est d'observation courante que la qualité et la quantité de nourriture influencent très fortement les facteurs démographiques des populations, tout comme le font les facteurs abiotiques. Des individus bien nourris auront en général une longévité et une fécondité plus importante que les individus mal nourris.

Beaucoup d'espèces ont un régime alimentaire assez strict et on conçoit facilement que l'influence de la quantité disponible soit beaucoup plus évidente que celle de la qualité.

Au cours de l'évolution phénologique du tapis végétal, les quantités attractives des plantes changent. Le régime alimentaire se diversifie au fur et à mesure que l'insecte principalement la femelle se rapproche de la phase reproductrice (Launois-luong, 1976).

### **I.3 Dégâts infligés par les acridiens**

Selon Cirad (2007) les dégâts infligés par les acridiens aux cultures et aux pâturages sont de diverses natures :

- prélèvement alimentaire sur les feuilles, les fleurs, les fruits, les semences, les jeunes écorces, les repousses, les plantules,
- blessures des plantes consécutives aux morsures. Elles ont deux conséquences :
  - ouvrir une voie d'infection aux parasites et aux maladies végétales ,
  - créer une lésion (section des vaisseaux appauvrissant la plante en sève) entraînant une destruction des tissus 5 à 10 fois plus importante que la prise de nourriture elle-même.
- rupture des branches sous le poids des ailés posés en grand nombre,
- souillure des surfaces foliaires par les déjections déposées. La photosynthèse en est perturbée.

Les dégâts réels sont difficiles à quantifier ; ils dépendent aussi du pouvoir de récupération de l'espèce végétale. Ce dernier est en relation avec l'état physiologique et phénologique de la plante au moment de l'attaque.

- En Inde et en Chine, des dégâts considérables dues aux acridiens ont été élevés dans le passé. Il est difficile d'évaluer les pertes réelles en produits vivriers, en potentiel de travail ou en vies humaines.
- Les pertes sont estimées au niveau mondial à 15 millions de livres sterling en 1935, 30 millions en 1950, 45 millions en 1980, malgré les opérations de lutte ;
- en 1974, 368 000 tonnes de céréales ont été perdues du fait des sauteriaux au Sahel.

En période de rémission acridienne, les dégâts sur les cultures ne sont jamais nuls mais ils sont très difficiles à évaluer car diffus, d'importances inégales et souvent discrètes. Le prélèvement alimentaire moyen serait de 1 à 2 % des récoltes. Les pertes augmentent à mesure que l'agriculture se développe. Les dégâts supportés par les cultures traditionnelles, acceptés comme un fait inévitable dans le passé, sont maintenant mal tolérés à cause des besoins accrus de ces populations, de la généralisation de la notion de moindre risque et des possibilités de lutte dont les cultivateurs ont entendu parler.

De très nombreuses plantes, ligneuses ou herbacées, sont susceptibles d'être attaquées. Les céréales occupent cependant la première place : le mil, le maïs, le sorgho, le riz, sont particulièrement vulnérables. Le coton et l'arachide sont peu endommagés mais des exceptions existent lorsque les acridiens sont affamés ou pour quelques espèces à très large spectre alimentaire (*Zonocerus*, *Pyrgomorpha*). On a même vu *Schistocerca gregaria* consommer la laine sur le dos des moutons et *Oedaleus senegalensis* ingérer du plastique que l'on utilise comme grillage moustiquaire aux fenêtres pour se protéger des mouches et des moustiques en zone tropicale.

Selon le même auteur, les dégâts sur les pâturages sont moins spectaculaires mais suffisants pour déclencher une compétition alimentaire entre les acridiens et le bétail. Lorsque l'équilibre écologique est précaire, les prélèvements effectués par les troupeaux trop nombreux sont à peine compensés par le renouvellement spontané de la strate herbacée. La moindre charge supplémentaire peut alors révéler un surpâturage latent et conduire à la dégradation de la végétation et des sols.

Les dégâts infligés sur la végétation spontanée ou domestique sont très variables selon les années, les milieux. L'homme considère de moins en moins les fléaux acridiens comme des calamités naturelles qu'il faut subir. Il a la volonté de plus en plus affirmée de protéger ses récoltes, ses pâturages, ses plantations, pour les mettre à l'abri des prélèvements trop importants de ces ravageurs intermittents. Encore faut-il opérer avec prudence car les acridiens entrent dans des chaînes alimentaires complexes que l'on peut perturber profondément.

### **I.4. Lutte contre les orthoptères**

L'un des problèmes majeurs de l'agriculture a toujours été l'existence de parasites et de ravageurs des cultures, tels que le criquet pèlerin, la mineuse de tomate, ou le phylloxéra. La lutte s'effectue par l'intervention humaine visant à réduire les effets néfastes de divers agents pathogènes sur les végétaux cultivés, de manière à améliorer le rendement et la qualité des cultures, par des méthodes de lutte physiques, chimiques ou biologiques (Encarta, 2009).

- **Lutte préventive**

Prévenir, c'est contrarier l'évolution de ce qui est bénin vers ce qui pourrait devenir grave. La lutte préventive peut concerner :

- la réduction des effectifs acridiens avant qu'ils ne soient réellement menaçants, soit sur les aires d'origine des reproducteurs, soit en intervenant à un moment où la nature met déjà en difficulté la survie de l'espèce,
- la suppression des causes de pullulation lorsque la connaissance du déterminisme des explosions démographiques le permet et que les facteurs déterminants sont contrôlables par les hommes.

L'essentiel est d'altérer la tendance évolutive d'une situation avant d'en subir les effets néfastes, (Launois–Luong *et al.*, 1988)

- **Ennemis naturels**

Les acridiens sont aussi la proie d'un grand nombre d'ennemis naturels vertébrés et invertébrés : prédateurs, parasitoïdes, parasites, agents pathogènes (champignons, bactéries, protozoaires, virus). Beaucoup d'entre eux entraînent la mort de l'hôte. Il est donc intéressant de mieux les observer et de mieux les connaître afin d'évaluer leur impact réel sur la dynamique des populations acridiennes et d'améliorer la stratégie de lutte anti-acridienne. Des études quantitatives effectuées un peu partout dans le monde ont démontré, dans certaines circonstances, l'utilité des ennemis naturels et leur rôle dans l'effondrement de pullulations acridiennes, bien qu'ils ne constituent pas, très généralement, un facteur susceptible d'empêcher ces mêmes pullulations. Il est cependant possible qu'ils puissent gêner localement la grégarisation des locustes. Sur les côtes de la mer Rouge où l'on trouve le Criquet pèlerin quasiment en permanence, la mortalité par l'action des ennemis naturels serait telle qu'un départ d'invasion ne pourrait se réaliser qu'avec l'apport massif de populations allochtones, apport qui finirait par diluer l'impact des ennemis naturels comme cela a été observé en 1967 (FAO, 1985). Les sauteriaux semblent plus vulnérables que les locustes en raison de leur relative sédentarité qui permet aux ennemis naturels de se multiplier sur place sans interruption, (Greathead *et al.*, 1994).

- **Lutte chimique**

Tous les types d'agents chimiques utilisés dans la lutte contre les organismes néfastes aux cultures sont des pesticides. Ils comprennent les fongicides, pour lutter contre les

champignons, les herbicides, qui éradiquent les mauvaises herbes, les insecticides contre les insectes et les nématicides contre les nématodes.

Aujourd'hui, l'utilisation de ces produits est soit interdite, soit strictement réglementée. Cependant, leur toxicité sur l'environnement et l'apparition de plantes naturellement résistantes ainsi que les effets toxiques qu'ils peuvent causer sur des espèces non ciblées, (exemple : abeilles, les poissons ou les oiseaux), ont forcé les ingénieurs agronomes à concevoir de nouvelles approches.

En près de deux siècles, le visage de la recherche agronomique a changé du tout au tout : après avoir voulu tirer le maximum du sol et de la végétation, il s'agit maintenant, en outre, de protéger un patrimoine : proposer des solutions préventives, d'une part, curatives, d'autre part (dépollution, rétablissement de la diversité végétale, etc.), tout en développant une production de qualité (Encarta, 2009).

### I.5 Généralités sur *Bacillus thuringiensis*

#### I.5.1. Historique

*B. thuringiensis* a été isolée pour la première fois en 1901 par le bactériologiste Japonais S. Ischiwata à partir de vers à soie *Bombyx mori* (L) infecté (Joung, et Cote 2000), il la nomma *Bacillus sotto*

En 1911, le biologiste allemand E. Berliner isola une bactérie similaire et l'identifia comme un agent pathogène de la teigne de la farine [*Ephestia kuenniella* (Zeller)], il proposa alors son utilisation dans la lutte biologique contre ce ravageur (Abderrahmani, 2011).

Les premiers essais de lutte biologique avec *B.thuringiensis* ont été réalisés en Hongrie dans les années 1920 et en Yougoslavie dans les années 1930 pour contrôler principalement les Lépidoptères.

Le premier produit formulé à base de *B. thuringiensis* fut commercialisé en France en 1938 sous le nom générique sporéine. Par la suite, un nouveau produit le thuricide apparut au début des années 1960 (Helassa, 2008).

En 1977 et en 1983, deux nouvelles souches (*isralensis* et *tenebrionis*) furent isolées et caractérisées ; elles étaient respectivement actives contre les larves des Diptères et



des Coléoptères (Chaufaux *et al.*, 1996). Ces souches ont donné un nouvel élan aux bio- pesticides formulés à base de *B-thuringiensis* en ouvrant de nouveaux marchés

### **I.5.2 Position systématique de *Bacillus thuringiensis***

*Bacillus thuringiensis* a souvent été considéré comme une variété de *B.cereus* auquel il est étroitement lié par ses propriétés morphologiques ou biochimiques (Priest *et al*, 1988).

Bergey l'a classé dans le groupe I du genre *Bacillus* , Caractérisé par une spore ovoïde non déformante en position subterminale (Bergey, 1986) *in* (Boukhechba et Khelidj, 2001). La première classification réalisée par Heimpel et Angus en 1958 permettait de regrouper sous le nom de *B. thuringiensis* toutes les souches synthétisant un cristal toxique pour les larves des Lépidoptères (Abderrahmani, 2011), les espèces synthétisant un corps parasporal contenant des toxines létales pour les insectes sont : *B. thuringiensis*, *B. sphaericus* (Euzéby, 2007)

La classification de *B. thuringiensis* a été faite en fonction de ses antigènes H flagellaires. Les nombreuses souches de *B. thuringiensis* sont classées en neuf sérotypes différents (Gry ,1971 ; Castella, 2008). Une classification secondaire permet de diviser certaines sérotypes en serovars.

En 1994, on dénombre 45 sérotypes H comprenant 53 variétés dans la collection internationale conservée à l'Institut Pasteur (Chaufaux, 1994). A ce jour, 71 sérotypes H et 95 serovars ont été définies (Abderrahmani, 2011). Les souches qui appartiennent à un même sérotype possèdent en commun un certain nombre de caractères biochimiques déterminés et, en particulier, l'aptitude à produire certaines ou la totalité des différentes toxines spécifiques de *B. thuringiensis* (Gry, 1971). Toutes ces classifications montrent la grande diversité génétique des isolats. L'augmentation constante du nombre de souches isolées ayant des spectres d'action différents a nécessité l'établissement d'une autre classification (Abderrahmani, 2011).

Selon Prevot (1961) la position systématique de *B. thuringiensis* est la suivante :

Règne : Bactéries  
Phylum : Firmicutes  
Domaine : Eubactéries  
Classe : Sporulales  
Ordre : Bacillales

Famille : Bacillacées

Genre : *Bacillus*

Espèce : *Bacillus thuringiensis*

### **I.5.3 Caractères biologiques**

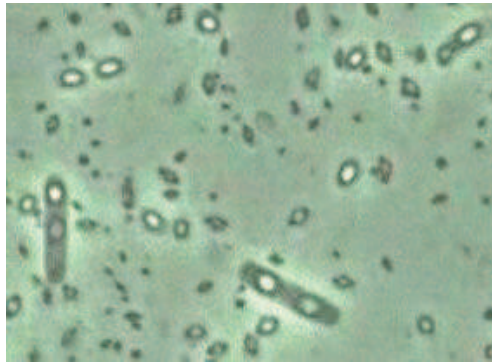
*Bacillus.thuringiensis* est sous forme de bacille rectiligne à extrémités carrées ou arrondies (Sansinenea,2012) . Elles peuvent être de taille variable (de 0,5×1,2µm jusqu'à 2,5×10µm) à Gram positif, aérobie-anaérobie facultative. Cette bactérie peut être mobile grâce à une ciliature péritriche (Abderrahmani, 2011). *Bacillus thuringiensis* peut sporuler et de ce fait posséder des propriétés de résistance à la chaleur et à la déshydratation (Castella, 2008). Sa température de développement est comprise entre 28°C et 35°C (Gry, 1971). Cette bactérie fait partie d'un groupe de six bacilles, rassemblés sous le terme « groupe *Bacillus cereus* » :*B. anthracis*, *B. cereus*, *B. mycoides*, *B. pseudomycoides*, *B. wehenstephanensis* et *Bacillus thuringiensis* (Helassa, 2008).

*B. thuringiensis*, constitue à l'intérieur du groupe *B. cereus*, un ensemble bien particulier de bactéries dites « cristallophores » (Gry, 1971). La particularité de *B. thuringiensis* par rapport aux autres membres du groupe est qu'elle est capable de synthétiser, lors de la phase sporulante, une inclusion cristalline présentant des propriétés entomopathogènes (Castella, 2008). Spécifiques, elles permettent de cibler une espèce d'insectes précise sans nuire à d'autres qui sont bénéfiques. De plus, elles ne sont pas toxiques pour les mammifères (Girard, 2008).

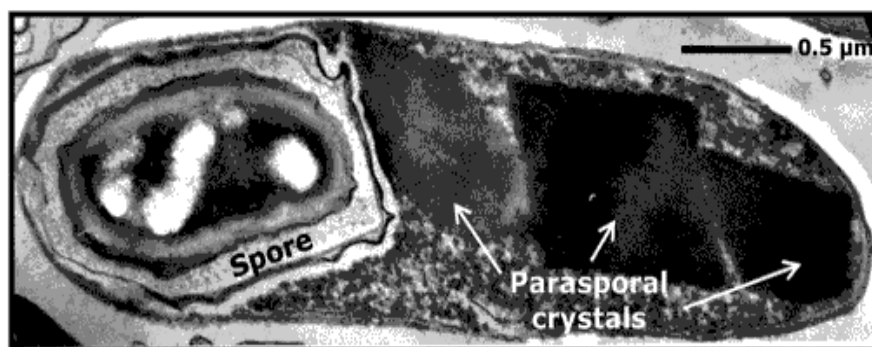
*Bacillus thuringiensis* se présente souvent en paire ou en chaîne, et chaque cellule contient une seule spore ovale (Adjalle, 2009), (Fig.5 et Fig.6)

Selon Bergey *et al* (1974) *B. thuringiensis* se caractérise biochimiquement par :

- Une catalase positive.
- Des nitrates réduits en nitrites.
- L'utilisation de glucose se fait sans dégagement de gaz.
- L'arabinose, le dulcitol, le mannitol et le xylose pas fermentés.
- La réaction au rouge de méthyle (RM) est positive sur milieu Clark et Lubs.
- Lecitrate de Simmons n'est pas utilisé
- Corps parasporal (Bergey *et al.*, 1974)



**Fig.5** Culture sporulée de *B. thuringiensis* avec le corps d'inclusion parasporal  
(Aboussaid *et al.*, 2009)



**Fig.6** *B. thuringiensis* subsp *kurstaki* contenant une spore et des cristaux protéiques.  
(Ibrahim *et al.*, 2010)

#### 1.5.4 Ecologie et distribution

*B. thuringiensis*, est une bactérie sporulante, ceci lui confère un caractère ubiquiste et une répartition cosmopolite (Castella, 2008), que l'on trouve dans de nombreux environnements (Paris, 2010).

*B. thuringiensis* se développe naturellement comme saprophyte, se nourrit sur la matière organique morte. Il est considéré comme une bactérie du sol, et de nombreux isolats ont été obtenus à partir d'échantillons de sol provenant de tous les continents. *B. thuringiensis* est également isolé à partir de cadavres d'insectes, et dans des milieux contenant de fortes populations d'insectes comme les stocks de grains ou d'autres produits agricoles, des élevages de vers à soie ou des gîtes larvaires ainsi que dans la poussière de grains, des feuilles d'arbres et de divers habitats aquatiques (Lacourcière et Boisvert, 2004).

### I.5.5 Cycle de vie de *Bacillus thuringiensis*

Le cycle de vie du *B. thuringiensis* comporte deux phases (Young et *al.*, 1998) (Fig. 7)

- une phase végétative observée lorsque les conditions du milieu sont favorables. Dans ce cas, la bactérie se multiplie de façon exponentielle par scissiparité. Elle synthétise pendant cette phase une exotoxine thermosensible appelée Vegetative Insecticidal Protein ou V.I.P.
- une phase stationnaire qui se présente lorsque les nutriments essentiels du milieu se raréfient. Elle se caractérise par une différenciation des cellules bactériennes, aboutissant à la formation des spores. C'est aussi au cours de cette phase qu'intervient la synthèse des delta-endotoxines, substances protéiques conférant à la bactérie un pouvoir pathogène vis-à-vis de certains insectes. Ces protéines s'accumulent dans la cellule bactérienne pour former un cristal qui est ensuite libéré dans le milieu.

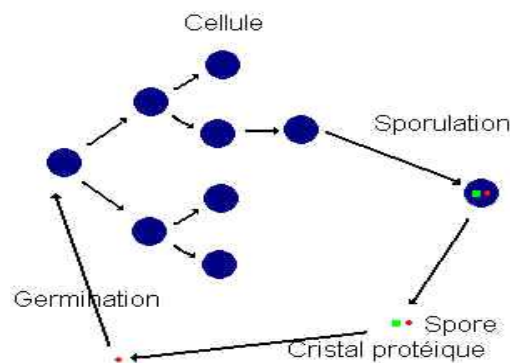


Fig.7 Cycle biologique du *B. thuringiensis* (Drabo, 2005)

### I.6 Les toxines de *Bacillus thuringiensis*

*Bacillus thuringiensis* est une bactérie du sol qui se rencontre dans plusieurs environnements riches en insectes. Elle produit toute une gamme de protéines dont l'activité insecticide est spécifique d'un groupe d'espèces (ordre) : les protéines Cry1 et Cry2 sont actives sur les Lépidoptères et/ou de Diptères, alors que les toxines Cry3 sont actives sur les Coléoptères et les toxines Cry4 sur les espèces de Diptères. Sécrétées par les bactéries sous forme de précurseurs inactifs ou protoxines, elles doivent subir un processus d'activation dans l'intestin de l'insecte cible. Grâce à leur

spécificité d'action chez les insectes et à leur inactivité chez les vertébrés (EPA 2000 et 2001, Hilbeck et Schmidt 2006) in Ceballos (2008), les formulations combinant spores bactériennes et protéines *B.thuringiensis* sont autorisées en agriculture biologique depuis 1970. Elles offrent donc une alternative aux insecticides chimiques à large spectre et sont devenues les insecticides biologiques les plus utilisées dans le monde.

### I.6.1 La $\delta$ -endotoxine

Lors de la sporulation, *B. thuringiensis* synthétise des inclusions de cristaux (Ohba, 2011). Ces inclusions sont composées d'une ou de plusieurs toxines de nature protéique appelées  $\delta$ -endotoxines par opposition à d'autres toxines sécrétées durant la phase végétative (Castella, 2008), qui sont les  $\alpha$ -exotoxines et  $\beta$ -exotoxines (Gry, 1971). Les  $\delta$ -endotoxines peuvent être divisées en deux familles, celle des protéines Cry à activité insecticide spécifique, et la famille des protéines Cyt à activité cytolytique non spécifique (Abderrahmani, 2011). Ce complexe de toxines contient souvent plusieurs types de  $\delta$ -endotoxines de nature protéique possédant une activité entomotoxiques majoritairement contre les Lépidoptères, Diptères et Coléoptères (Kim, 2000 ; Wasano *et al*, 2000 ; Helassa ,2008) Contrairement aux pesticides chimiques, ces  $\delta$ -endotoxines sont très spécifiques à l'insecte cible (Santana *et al*, 2008). Ils interagissent avec des récepteurs spécifiques sur les cellules épithéliales du système digestif de l'insecte, causant la disparition de la régulation osmotique de la cellule épithéliale et la mort éventuelle des cellules. Ces changements provoquent la paralysie de ce système digestif, la perte des fonctions de digestion et enfin la mort de l'insecte suite de la cessation de l'alimentation (Eswarapiya *et al*, 2010)

#### I.6.1.1 Les toxines Cry

Les cristaux de *B. thuringiensis* donnent après solubilisation des protoxines (Castella, 2008), de 40 à 150 KDa (Abderrahmani, 2011), dont la forme toxique est de 66 à 67KDa, appartiennent à la classe des PFT (pore forming toxin) (Helassa, 2008). Ces protoxines composées de 5 blocs conservés d'acides aminés correspondraient aux éléments structuraux de la conformation fonctionnelle de la protéine, et de 3 autres

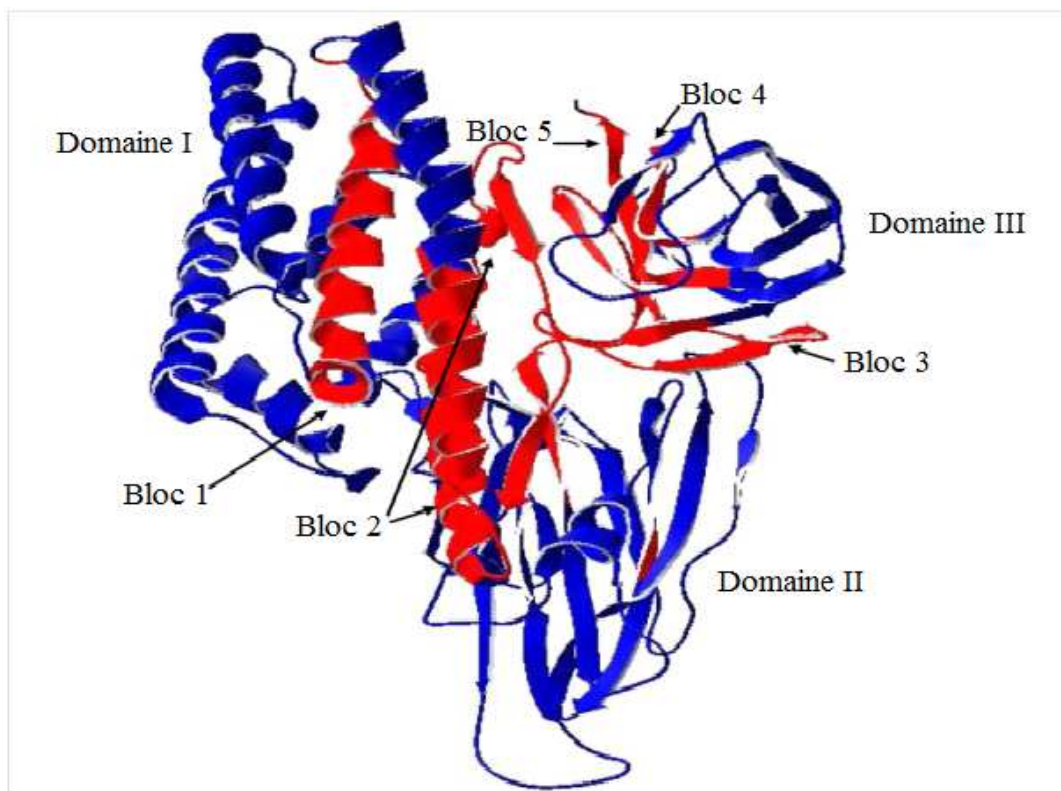
blocs conservés dans la région C- terminale qui sont éliminés pendant l'activation (Abderrahmani, 2011).

Les toxines Cry constituent 3 domaines et 5 blocs

**Domaine I** : c'est le domaine N-terminale constitué de 7 hélices  $\alpha$ , il est responsable de la formation des pores

**Domaine II** : constitué de 3 feuillets  $\beta$  antiparallèles arrangés en prisme il permet la reconnaissance des récepteurs membranaires intestinaux

**Domaine III** : c'est la partie C-terminale constitué de 3 feuillets  $\beta$  antiparallèles organisés en sandwich  $\beta$ , il joue un rôle dans la stabilité du cristal (Castella,2008 ; Drabo ,2005 ; Groshulski *et al.*, 1995 et Helassa, 2008) . (Fig. 8)



**Fig.8** Structure tridimensionnelle du delta endotoxine (Brunet, 2010).

### I.6.1.2 Les toxines Cyt

Des protoxines, ne se présentent qu' exclusivement dans les inclusions cristallines de certaines souches de *B. thuringiensis* . Il n y a aucune similitude avec les protéines Cry, s'activant contre les Diptères et qui sont constitués d'un seul domaine présent seulement chez un nombre restreint de sous espèces de *Bacillus thuringiensis* dont *Bacillus thuringiensis* serovar *israelensis* (Paris, 2010). Il a également été supposé que ces toxines pourraient causer des pores transmembranaires selon un modèle de tonneau (Li et *al.*, 1996)

### I.6.1.3 Classification des gènes des $\delta$ -endotoxines

Höfte et Weitelly (1989) proposent une nomenclature des gènes Cry établie en fonction du degré de similitudes des séquences en acides aminés et du spectre d'action des protéines correspondantes (tableau 2) . En 1992, Tailor et *al* ont identifié et caractérisé une nouvelle classe de gène (CryV), (Tailor et *al.*, 1992) *in* (Boukhechba et Khelidj, 2001), Aussi les gènes CryVI active sur les Nématodes. Les gènes codant les  $\delta$ -endotoxines sont portés par des plasmides conjugatifs (Tableau 2).

**Tableau 2** Classification des  $\delta$ -endotoxines les mieux caractérisées (Höfte et Whiteley, 1989).

Classes	Taille KDa	Insectes sensibles	Souches de <i>Bt</i> variétés	Structure des cristaux
I A	130-140	Lépidoptère	<i>Kurstaki</i>	Bipyramidale
B			<i>Berliner</i>	
C			<i>Entomocidus</i>	
D			<i>Aizawai</i>	
E			<i>Kenyae</i>	
F				
II A	71	Diptère et	<i>Kurstaki</i>	Cubique
B	71	Lépidoptère	<i>Kurstaki</i>	
III A	68-73	Coléoptère	<i>Tenebrionis</i>	Rhomboédrique
B				
IV A	125-145	Diptère	<i>Israelensis</i>	Sphérique
B				
V A	81	Lépidoptère et Coléoptère	<i>Kurstaki</i>	Bipyramidale
Cyt	26-28	Diptère	<i>Israelensis</i>	Sphérique

#### **I.6.1.4 Mode d'action des $\delta$ -endotoxines chez les Lépidoptères**

##### **I.6.1.4.1 Mode d'action des toxines Cry**

###### **a-Solubilisation des cristaux et activation des protoxines**

Après avoir été ingéré, le cristal protéique est tout d'abord solubilisé dans le tube digestif alcalin des larves (Paris, 2010). Le pH alcalin provoque la rupture des ponts disulfures reliant les différentes molécules de protoxines entre elles, et par conséquent la libération des protoxines dans la lumière intestinale. Ces dernières sont ensuite activées par des protéases de tube digestif (Paris, 2010), qui est la trypsine (Castella, 2008), par un clivage (Paris, 2010). Ce clivage intervient au niveau des 28-29 premiers acides aminés de l'extrémité N-terminale, et aussi au long de la moitié C-terminale de la protoxine. Ainsi il y a libération de la fraction toxique résistante aux protéases qui correspond à la moitié N terminale avec une taille comprise entre 62 et 65 KDa (Abderrahmani, 2011).

###### **b-Fixation sur un récepteur**

Une fois activées, les toxines se fixent ensuite à des récepteurs spécifiques des microvillosités intestinales des insectes (Helassa, 2008). Il y a des récepteurs transmembranaires : les cadhérines (CADR), les glucoconjugués (GCR), et des récepteurs ancrés dans les membranes : glycosylphosphatidyl-inositol (GPI), les aminopeptidases N (APN) et les alcalines phosphatases (ALP) ainsi que d'autres récepteurs : les ATPase synthases et les actines sont à signaler (Paris, 2010).

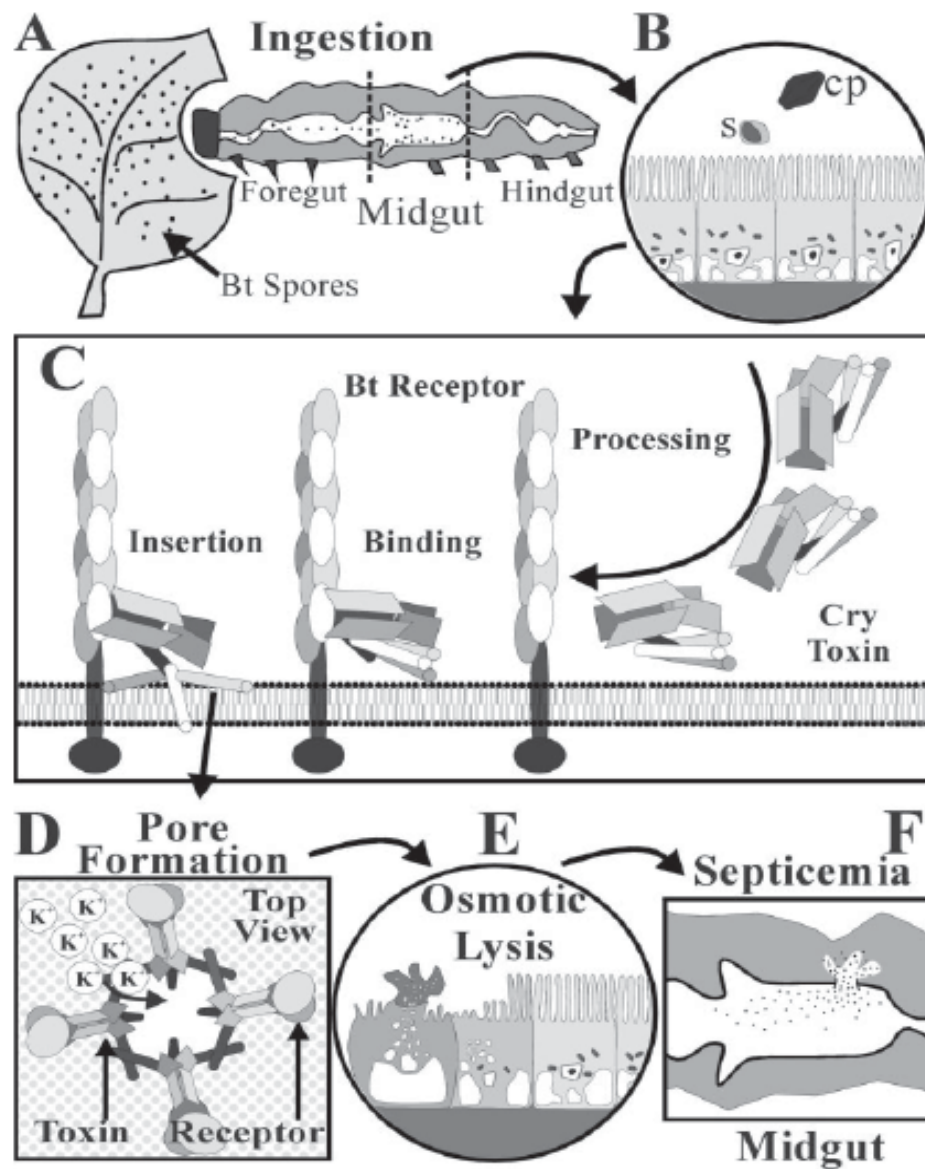
###### **c- Insertion dans la membrane et formation des pores**

Une première fixation du monomère avec une cadhérine transmembranaire induit un clivage de l'hélice  $\alpha 1$  du domaine I de la toxine et la formation d'un oligomère (Paris, 2010). La structure oligomérique augmente de 100 à 200 fois leur affinité pour le récepteur APN (Helassa, 2008). La fixation de la toxine sur ces récepteurs induit des changements conformationnels de la protéine conduisant à l'insertion de la toxine dans la membrane au niveau des microvillosités de ces cellules (Castella, 2008). La formation des pores transmembranaires, se fait par les hélices  $\alpha 5$  et  $\alpha 6$  qui s'ouvrent comme un canif et insèrent dans la membrane (modèle canif), ou par les hélices  $\alpha 4$  et  $\alpha 5$  s'insérant dans la membrane (modèle parapluie).

Les domaines I et III participent à la formation du canal ionique. Suite à cela il y a dans un premier temps rupture du gradient de  $K^+$  dans les cellules épithéliales provoquant



une augmentation de la concentration en  $K^+$  et du pH dans l'hémolymphe ainsi qu'une diminution du pH dans l'intestin moyen. Les cellules affectées sont détruites par choc osmotique du fait du haut pH dans l'intestin. Les spores trouvent alors à la fois un pH proche de la neutralité et du matériel cellulaire pour pouvoir germer. Enfin, l'insecte intoxiqué se trouve dans l'incapacité de se nourrir et meurt de faim ou de septicémie (Helassa, 2008). (Figure 9)



**Fig.9 Mode d'action de delta endotoxine chez les lépidoptères (Helassa, 2008).** CP : Corps parasporal, S : Spore A: ingestion des cristaux par la larve, B: solubilisation dans l'intestin, C: activation protéolytique par les enzymes intestinales de l'insecte, D: Liaison des toxines activées aux récepteurs membranaires après polymérisation et insertion dans la membrane, E: formation du pore membranaire induisant une lyse osmotique, F: la mort de l'insecte

#### **I.5.1.4.2 Mode d'action des toxines Cyt**

L'activité toxique des protéines Cyt implique les mêmes étapes de solubilisation, d'activation protéolytique et d'insertion dans la membrane que les toxines Cry (Abderrahmani, 2011). Cependant, elles ne nécessitent pas de récepteurs membranaires spécifiques, elles sont hémolytiques (Brunet, 2010). Ces toxines sont hautement hydrophobes, présentent une affinité particulière avec la partie lipidique des membranes, notamment les acides gras. Ces toxines pourraient interagir directement avec les phospholipides, afin de s'insérer dans les membranes en formant des pores (Paris, 2010).

#### **I.6.2 Les $\beta$ -exotoxines**

Cette toxine est appelée aussi thuringiensine, découverte en 1959 dans un bouillon de culture de *B. thuringiensis* (Gry, 1971), produit pendant la phase de croissance exponentielle, thermostable, soluble dans l'eau, extracellulaire de nature nucléotidique (Sansinenea, 2012). C'est un nucléoside atypique d'adénosine, elle inhibe l'ARN polymérase (Sansinenea, 2012), toxique pour les diptères (Aboussaid *et al.*, 2009).

#### **I.6.3 Les $\alpha$ -exotoxines**

C'est une coenzyme, la phospholipase C, thermostable, émise par les formes végétatives (Gry, 1971).

#### **I.6.4 Les toxines Vip (Vegetative Insecticidal Proteins)**

Découvertes en 1996, produit dans la phase logarithmique de la croissance jusqu'à la sporulation deux groupes ont été identifiés :

- les Vip 2 fonctionnent en tandem et sont actives contre les coléoptères
- les Vip 3 actives contre les lépidoptères (Brunet, 2010).

## I.7 Utilisation de *Bacillus thuringiensis* dans la lutte biologique

### I.7.1 En préparation

La lutte se fait en épandage direct par utilisation de préparations entières et/ou de cristaux. Cette technique présente quelques inconvénients :

- sa spécificité peut poser des problèmes dans des cas d'attaques multiples de ravageurs nécessitant l'utilisation d'insecticides chimiques en complément.
- sa biodégradabilité et la possibilité de ne lutter que contre certain stade du développement de l'insecte.
- les marges de manœuvres d'utilisation de *B.thuringiensis* en épandage sont très grandes (Castella, 2008).

### I.7.2 Dans les plantes transgéniques

La lutte se fait par l'expression *in planta* d'une ou de plusieurs toxines bactériennes par transgénèse, donc l'obtention des organismes génétiquement modifiées. Ces plantes en exprimant de façon continue les toxines de *B.thuringiensis*, se trouvent ainsi protégées contre d'éventuelles agressions d'insectes (Castella, 2008).

## **CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES**

Notre travail a pour objectif de mettre en évidence un éventuel impact de *Bacillus thuringiensis* sur les orthoptères sachant que ce groupe ayant un pH acide lui conférant la résistance aux toxines de cette bactérie emprisonnées dans un cristal et ne pouvant être libre et effective qu'après la dissolution du cristal dans un pH alcalin. De par la diversité des caractéristiques spécifiques des souches, nous essayons à travers nos tests voir si certaines de ces souches peuvent être acridicides. Nos expériences ont eu lieu au niveau de Laboratoire d'Entomologie de la Faculté des Sciences Biologiques de l'USTHB où nous avons conservé les criquets échantillonnés dans l'Algérois et aux environs, ces insectes ont par la suite subi un traitement avec les différentes souches locales de *B. thuringiensis*, suivi d'une étude histopathologique de la sphère digestive afin de déceler des éventuels impacts de cette bactérie locale testée.

### **II.1. Matériel**

#### **II.1.1. Matériel biologique**

##### **II.1.1.1. Les souches bactériennes**

- Les 5 souches de *B. thuringiensis* **TIM 14**, **FR4**, **GB11**, **BL9** et **BEC22** nous ont été fournies par l'équipe de Microbiologie du Laboratoire de Biologie Moléculaire et Cellulaire de la FSB de l'USTHB. Les concentrations variaient de  $10^6$  à  $10^7$  Spores/mm<sup>3</sup>, excepté pour *Acrida turrita* ou nous avons également utilisé la dose  $10^8$  Cell/mm<sup>3</sup>. La figure 10 illustre les suspensions de cette bactérie.



**Fig.10** Suspensions bactériennes des souches utilisées

### II.1.1.2. Les orthoptères traités

#### II.1.1.2.1 *Aiolopus strepens* (Latreille, 1804)

Nous avons pris en considérations **30 individus traités et 5 témoins**. De taille moyenne, cet Oedipodinae présente un sommet du vertex triangulaire, les ailes sont hyalines avec taches enfumées assez nettes au sommet des ailes (Chopard, 1943) (Fig.11). Notre acridien a été récolté à travers l'algérois, particulièrement au niveau de Bab Ezzouar.



Fig.11 *Aiolopus Strepens* ( LATREILLE,1804)

#### II.1.1.2.2 *Acrida turrata* (LINNE, 1758) :

Pour cette expérimentation nous avons utilisé **27 individus traités et 5 témoins**. Cet Acrididae(Fig.12) a été récolté dans l'Algérois et dans la région de Boumerdes. Il est vert, quelque fois testacés ou brun, parfois aussi avec des lignes de couleur noire, rose ou brune. Les antennes plus longues que la tête, ensiformes. Le pronotum est faiblement caréné au milieu ; le sillon typique placé après le milieu. L'abdomen est étroit, un peu comprimé avec un oviscapte court. Les pattes sont grêles ; les antérieures et les intermédiaires courtes, les postérieures sont très longues, à fémurs très renflés à la base. Les élytres étroits, acuminés; les ailes membraneuses hyalines teintées de jaune verdâtre à la base. La taille du mâle est comprise entre 36- 46mm ; et la femelle entre 52-75mm. (Chopard, 1943).



Fig.12 *Acrida turrata* (LINNE, 1758)

**II.1.1.2.3 *Anacridium aegyptium* (LINNE, 1764).**

**Nous avons testé 30 individus comparés à 5 témoins.** Cet insecte (Fig.13) est de la famille des Acrididae, il est arboricole (Chopard,1943). Les individus ont été récoltés au niveau du centre cynégétique de Zeralda, de la région de Lakhdaria, et à Bab ezouar.



**Fig.13 *Anacridium aegyptium* (LINNE, 1764)**

**II.1.1.2.4 *Pamphagus elephas* (LINNE, 1758)**

**20 individus traités et 5 témoins** ont été étudiés. Cette espèce aptère (Fig.14), de la famille des Pamphagidae a été récoltée au niveau de l'Algérois et de la région de Lakhdaria. C'est un acridien de grande taille et de couleur vert ou gris ; parsemé de points noirs, la ligne médiane du pronotum et de l'abdomen souvent blanchâtre. Vertex concave, à bords bien carénés. Les antennes composées de 16 articles, (Chopard, 1943) (Chapman, 1958)



**Fig.14 *Pamphagus elephas* (LINNE,1758)**

**II.1.1.2.5 *Schistocerca gregaria* (FORSKAL, 1775)**

**5 individus traités et 1 témoin** ont été étudiés. Cette espèce (Fig.15), est de grande taille, avec un pronotum rétréci dans la prozone des individus. Cet Acrididae provient d'un élevage à l'Institut National de la Protection des Végétaux d'El Harrach (INPV)



**Fig.15 *Schistocerca gregaria* (FORSKAL, 1775)**

**II.1.1.2.6 *Locusta migratoria* (LINNE, 1767)**

Nous avons pris en considération **7 individus traités et 1 témoin**. Cet Oedipodinae vit dans les cultures et les endroits arides, de couleur variable, le brun dominant le mâle et le vert chez la femelle. Le pronotum est rétréci antérieurement (Chopard, 1943). Notre Oedipodinae nous a été donné par l'Institut National de la Protection des Végétaux d'El Harrach (INPV) (Fig16).



**Fig.16 *Locusta migratoria* (LINNE, 1767)**

## II.1.2. Matériel non biologique

### II.1.2.1 Matériel sur terrain

- **Un filet fauchoir** : c'est un filet formé par une poche de 60cm de profondeur et un manche d'1m de longueur. Il est nécessaire particulièrement quand il fait chaud, car les espèces acridiennes ont tendance à s'envoler à des distances considérables. En revanche, en temps froid leurs captures à la main demeurent possibles (Fig.17).



**Fig.17** Filet fauchoir.

- **Une cage** : Elle est utilisée pour le transport et la conservation des insectes capturés (Fig.18).



**Fig.18** Cage de conservation des criquets



### **II.1.2.2 Matériel au laboratoire**

Le tableau 3 récapitule l'ensemble du matériel utilisé.

**Tableau 3** : Matériel et réactifs utilisés au laboratoire.

<b>Appareillages et petits matériels</b>	<b>Réactifs</b>
Cage d'élevage, Entonnoirs, Boites de Pétri, Scotch, Seringues, Pinceaux, Polystyrène, aiguilles, Ciseaux, Bistouris, Pincés, Fioles, Piluliers, Tubes à essais, Bouteilles, Verres, Eprouvettes, Béchers, Lames et Lamelles, Baromagnétique , Barres de Leukart , Plaque chauffante, Etuve, Loupe binoculaire, microtome, Balance électrique de précision, Microscope photonique, Appareil photographique	Eau de Javel, Eau distillée, Alcools : 70°,95°,100°, Bouin aqueux, Butanol, Toluène, Paraffine, Eau gélatinée, colorants de Mallory, colorants de l'Azan de Heindenhein (Voir annexe. Tableau1)

**Remarque** : L'alcool 75° et 90° sont obtenus par la dilution de l'alcool absolu 100°. Le Bouin aqueux, l'eau gélatinée, les colorants de Mallory et de l'Azan de Heindenhein sont préparés au laboratoire (Voir Annexe : Tableau 1 et 2)

## **II.2. Méthodes**

### **II.2.1. Préparation des échantillons d'étude**

#### **II.2.1.1. Capture des orthoptères**

Les espèces étudiées ont été capturées dans l'Algérois et environs ainsi qu'à Lakhdaria, située à l'EST d'Alger. Les individus sont capturés à l'aide d'un filet fauchoir, Les zones de captures sont caractérisées par une culture floristique très diversifiée et des sources d'eau favorisant la survie et la reproduction de ces acridiens.

Les sorties sur le terrain ont été réalisées durant les moments chauds de la journée se situant entre 11h et 14h, car les orthoptères se trouvent en abondance à ce moment de la journée. Le nombre d'individus capturés varie selon l'espèce traitée.

### **II.2.1.2. Séparation des criquets adultes**

Après l'identification des individus adultes, les criquets sont isolés dans des cages de 30cm/20 (Fig. 19).



**Fig.19** Cage d'isolement des adultes

- **Insectes témoins** : Les insectes adultes témoins sont placés dans des conditions identiques à celles des expérimentés et reçoivent 0,2 ml d'eau distillée à la place de la solution bactérienne.

### **II.2.1.3. Traitement des criquets par les souches bactériennes : TIM 14 FR4 GB11**

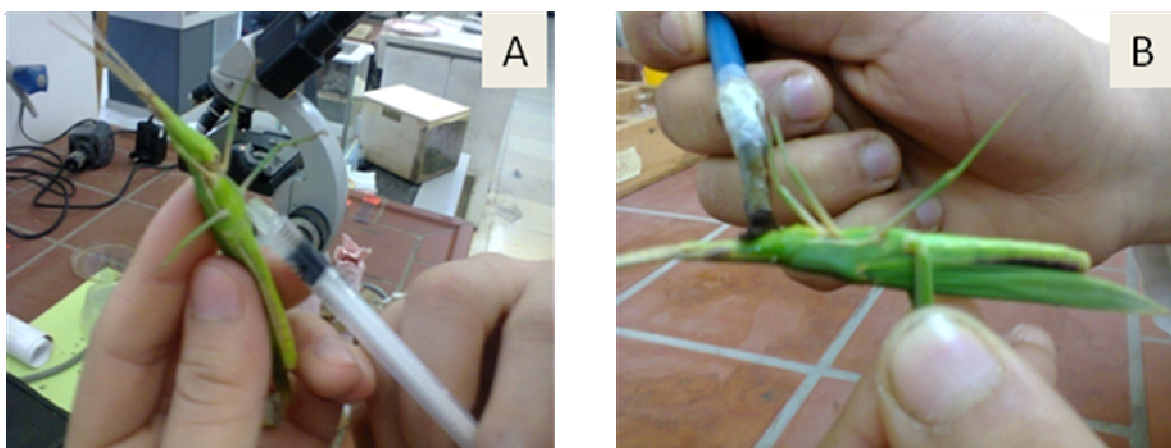
#### **BL9 GB11 et BEC 22**

L'application des souches bactériennes sur les criquets se fait par deux voies

- **Un gavage (forçage buccale)** : à l'aide d'une seringue à insuline nous injectons la suspension bactérienne contenant des spores avec une concentration de  $10^6$  à  $10^8$  spores / ml dans la bouche de criquet de manière à ce que la suspension bactérienne soit avalée par l'insecte. 1 à deux gouttes de suspensions sont injectées (Fig.20)
- **Un badigeonnage** : le corps de l'insecte est badigeonné par la solution bactérienne à l'aide d'un pinceau.

Notons que La quantité de la suspension bactérienne introduite et badigeonnée est de 0,2ml pour chaque souche (Fig.20).

Suite aux traitements bactériens, des observations du comportement sont notées dans les heures qui suivent, afin de définir l'impact macroscopique potentiel de la bactérie sur les acridiens traités.



**Fig.20** Infestation des criquets par les souches de *B.thuringiensis*. **A** : gavage **B** : badigeonnage

## **II.2.2. Etude histologique du tube digestif des acridiens**

Le but de l'étude histologique est de mettre en évidence l'éventuel impact des souches de *B. thuringiensis* sur la sphère digestive de ces criquets. Cette étude se fait à travers des coupes histologiques du tube digestif des criquets témoins et traités afin de les comparer et ce pour les 6 espèces étudiées. Les techniques utilisées sont celles citées dans (Gabe, 1968 ; Martoja et Martoja-Pierson, 1967)

### **II.2.2.1. Dissection**

Le criquet est posé sur une plaque de polystyrène puis fixé à l'aide des aiguilles sur sa face dorsale au niveau de la tête et l'extrémité postérieure. Il est mis sous une loupe binoculaire (American Optical). L'incision commence de la partie postérieure vers la partie antérieure à l'aide de ciseaux, de bistouris et pinces. Le tube digestif est enlevé puis disposé dans une boîte de Pétri contenant de l'eau distillée, afin de faciliter l'élimination de l'aliment ingéré. Les attaches telles que les tubes de Malpighi, et le corps gras sont éliminés puis les parties à étudier sont immédiatement mises dans un fixateur (Fig. 21).

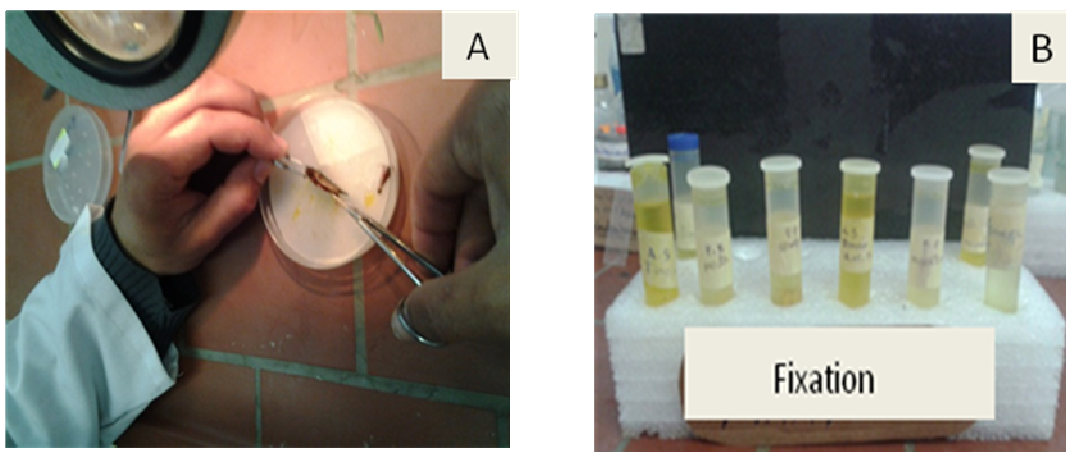


**Fig.21** Dissection

### **II.2.2.2 La fixation**

Cette étape est essentielle et primordiale de l'examen histologique. Elle immobilise et conserve la structure cellulaire et tissulaire dans un état aussi proche que possible du vivant. Ceci en respectant leur morphologie par protection contre l'autolyse des protéines en aminoacides sous l'action des enzymes cellulaires (Fig.22).

L'agent fixateur utilisé pour notre étude est le Bouin aqueux dont la préparation se fait au laboratoire même. La durée de la fixation varie de 3jours à une semaine



**Fig.22** Dissection et fixation des parties à étudier étudiés

### **II.2.2.3 Inclusion à la paraffine**

L'inclusion n'est pas un simple enrobage, mais une véritable imprégnation du tissu, à l'échelle cellulaire. Son principe consiste à traiter les pièces dans un ordre déterminé, par différents solvants de manière à faire pénétrer dans les tissus à l'origine hydratés, une substance hydrophobe qui maintiendra les éléments de la cellule lors des coupes. La paraffine est le milieu d'inclusion le plus répandu. Son intérêt est d'être chimiquement neutre, soluble dans de nombreux solvants et facile à couper au rasoir (Fig13). Le processus de l'inclusion comporte les étapes suivantes (Fig.23) :

#### **a-Déshydratation**

La déshydratation (Fig.23 A) est l'étape préliminaire avant l'imprégnation à la paraffine. Et puisque la paraffine n'est pas miscible à l'eau donc il faut tout d'abord procéder par extraire l'eau des tissus en effectuant des passages successifs des tubes digestifs dans des bains d'alcool d'ordre croissant comme suit :

- Deux bains d'alcool 70° pendant 30 minutes chacun afin d'inhiber l'action de liquide fixateur
- Deux bains d'alcool 95° pendant 30 minutes chacun.
- Deux bains d'alcool 100° pendant 30 minutes chacun.

La déshydratation est achevée par deux bains de toluène ou bien de butanol pendant 15 minutes chacun. Le toluène joue un rôle intermédiaire entre l'alcool et la paraffine car c'est un solvant organique soluble dans les deux composés.

#### **b-Imprégnations à la paraffine**

Cette étape a pour but l'obtention d'une bonne filtration de la paraffine et exclusion totale du toluène ou du butanol. Cette étape est effectuée dans une étuve réglée à 60°C (Fig.23B) (point de fusion de paraffine). Les pièces anatomiques sont disposées dans un pilulier rempli d'un mélange de paraffine et de butanol pendant une heure puis dans deux bains de paraffine pure d'une heure chacun. Lorsque l'imprégnation à chaud est terminée, les pièces sont mises en bloc.

#### **c-Préparation des blocs**

Les blocs sont confectionnés grâce à un moule formé de deux barres de LEUCKART que l'on agence correctement sur plaque de verre. On verse la paraffine fondue, filtrée

au préalable dans le moule. La pièce anatomique à inclure sortie du dernier bain de paraffine est mise dans le moule à l'aide d'une pince chauffée, elle sera orientée selon le plan de la coupe que l'on doit réaliser. Ce moule comportera une étiquette mentionnant les références de la pièce anatomique (Fig.23 C).

L'opération doit être rapide dans le but d'éviter la formation de bulles d'air. Pour le détachement spontané des blocs, ils sont plongés dans de l'eau froide pendant quelques minutes.



**Fig.23** Etapes d'inclusion à la paraffine

## **II.2.2.4 Réalisation des coupes histologiques**

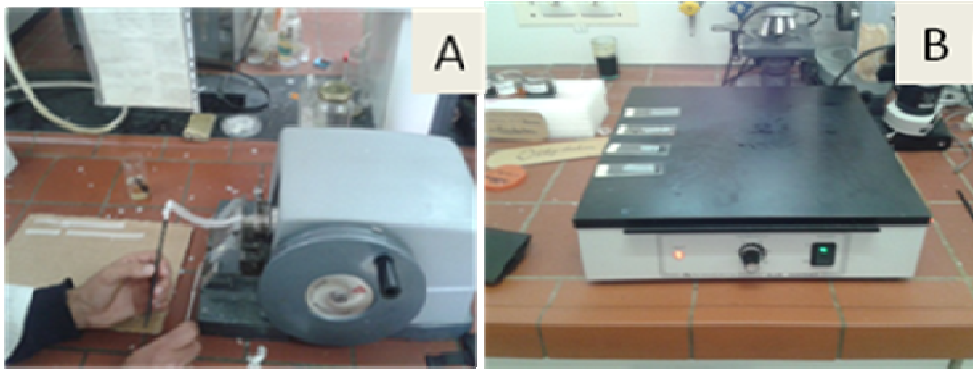
### **II.2.2.4.1 Microtomisation et étalement des coupes**

Le bloc de paraffine obtenu est taillé à l'aide d'un scalpel, afin d'éliminer le surplus de paraffine qui entoure l'organe, le but est l'obtention d'un trapèze dont les bases sont rigoureusement parallèles.

Le bloc taillé est fixé sur le porte objet du microtome (Fig 23.A). La face collée est ramollie au moyen d'une lame métallique estomper la flamme, puis posée sur le porte objet, sur lequel elle adhère très bien avec une légère pression. Pour l'orientation du bloc, les faces parallèles du trapèze doivent être disposées parallèlement au tranchant du rasoir.

Les coupes sériées de 7 $\mu$ m sont réalisées à l'aide d'un microtome de type Minot, de la marque « American Opical ». Les rubans des coupes sont étalés sur les lames propres avec l'eau gélatinée à 0.5%. L'ensemble lame plus coupes est disposé sur une platine

chauffante pour déplier les rubans (Fig.24B). Le tout est laissé à l'air libre pendant 24h pour le séchage.



**Fig.24** Dernières étapes de la coupe histologique  
**A** : microtomisation **B** : déshydratation

#### **I.2.2.4.2 Déparaffinage et réhydratation**

Avant la coloration, les coupes doivent être débarrassées de la paraffine qui les couvre et réhydratées. Les lames sont donc mises sur une plaque chauffante puis elles sont plongées dans un premier temps deux bains de toluène puis dans cinq bains d'alcool éthylique décroissant comme suit :

- Deux bains d'alcool 100° pendant 30 minutes chacun.
- Deux bains d'alcool 95° pendant 30 minutes chacun.
- Un bain d'alcool 70° pendant 30 minutes.

Enfin un rinçage dans l'eau distillée, (Fig.25A)

#### **II.2.2.4.3 coloration des coupes :**

La coloration permet de mettre en évidence les différents tissus formant l'organe en augmentant le contraste de différentes structures cellulaires. Dans notre étude nous avons utilisé deux colorations (Fig25 B).

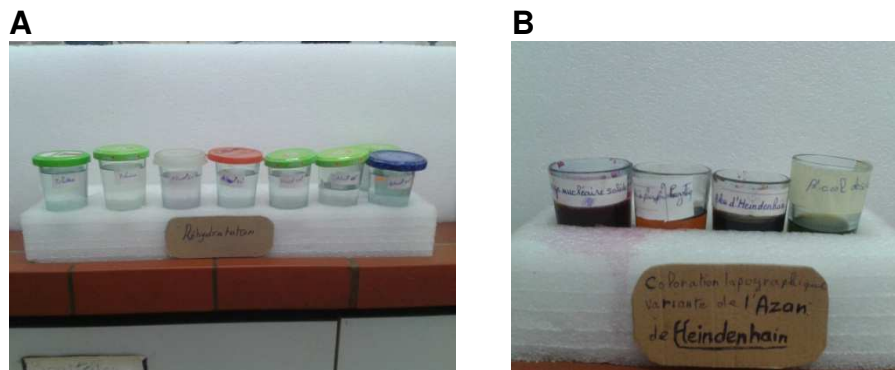
##### **II.2.2.4.3.1 Coloration de MALLORY**

Cette coloration est très utilisée pour les organes d'origines ectodermiques, elle permet la mise en évidence de la cuticule et ses différentes parties qui sont colorées en bleu,

elle permet aussi d'identifier le noyau grâce à la fuchsine acide, le collagène grâce au bleu d'aniline et le cytoplasme par l'orange G.

#### **II.2.2.4.3.2 Coloration de l'AZAN de HEINDENHEIN**

Très utilisée pour la diversité des structures histologiques contrastées, elle a les avantages du bleu d'aniline en tant que colorant des fibres de collagène avec une coloration nucléaire solide. Les noyaux se colorent en rouge, le cytoplasme en jaune et les fibres musculaires se colorent en orange marron.

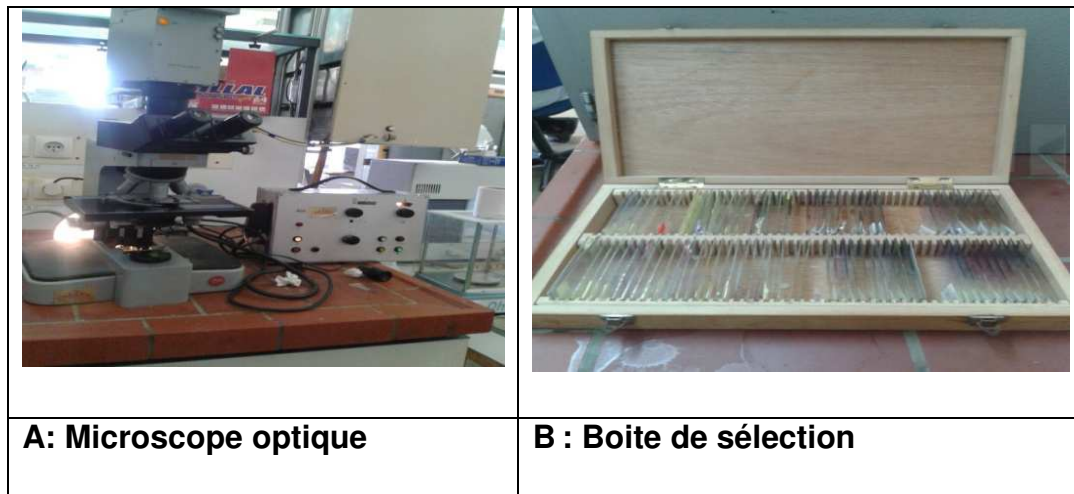


**Fig.25** Coloration des coupes **A:** Déparaffinage et réhydratation **B:** Coloration des coupes

#### **II.2.2.4.4 Déshydratation et montage des coupes**

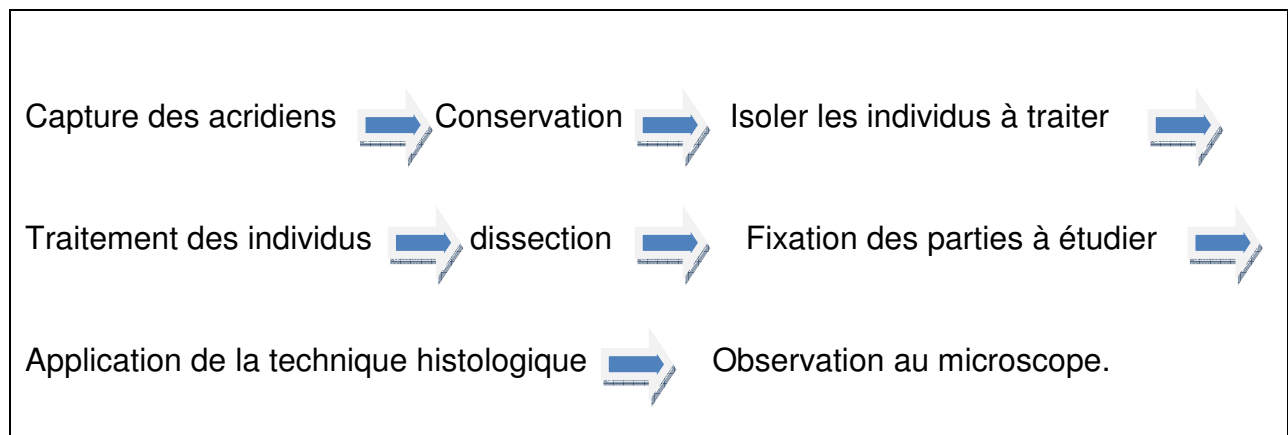
Les lames colorées passent successivement dans les bains d'alcool croissants suivis de deux bains de toluène ; les coupes sont montées entre lames et lamelles au baume de Canada ; une pression est exercée sur la lamelle au cours de montage pour chasser les bulles d'air et éliminer l'excès du baume. Les coupes sont conservées après séchage à l'air libre ensuite l'observation se fera sous microscope photonique, photographies seront prises à l'aide d'un appareil photographique (Fig.26).





**Fig.26 Montage des coupes**

La figure 27 illustre les différentes étapes de notre travail



**Figure 27** Schéma récapitulatif des étapes suivies

## **CHAPITRE III : RESULTATS ET INTERPRETATIONS**

Dans ce chapitre nous présentons les résultats concernant l'utilisation des différentes souches de *Bacillus thuringiensis* contre 6 espèces acridiennes. Le but est de mettre en évidence l'impact histopathologique potentiel provoqué par ces souches sur la sphère digestive des acridiens étudiés. Seul l'aspect histopathologique est traité. Cependant lorsque les altérations étaient accentuées et bien apparentes nous avons tenu à les présenter afin de mettre en avant l'effet que pouvait avoir certaines de ces souches. Nous présentons pour chaque espèce traitée le témoin et le traité de chaque partie étudiée du tube digestif.

### **III.1 *Shistocerca gregaria* Traité avec la souche FR4 et BEC22 : dose $10^7$ spores/ml**

#### **III.1.1 Observations macroscopiques**

- **Témoin**

L'observation à l'œil nu de tube digestif et à la loupe binoculaire des individus témoins *Schistocerca gregaria*, révèle la présence d'un tube rectiligne occupant la quasi-totalité du corps s'étendant de la cavité buccale jusqu'à l'anus et recouvert d'une couche grasseuse. Le tube digestif de cette espèce montre une succession linéaire de trois parties usuellement retrouvées chez la plupart des insectes.

- Stomodeum ou intestin antérieur
- Mésentéron ou intestin moyen
- Proctodeum ou intestin postérieur

Le stomodeum comporte un œsophage très étroit et très court à angle droit avec le reste de l'appareil digestif. Il se continue par un jabot beaucoup plus volumineux puis se poursuit par un gésier de même taille que le jabot. La limite antérieure du gésier est constituée par un léger étranglement plus ou moins marqué qui le sépare du jabot. Œsophage, jabot et gésier sont d'une teinte noir brunâtre uniforme.

Le mésentéron présente une teinte plus claire que l'intestin antérieur, il se compose présente six caeca gastriques de forme cylindro-conique qui sont divisés en une partie antérieure généralement longue, et une partie postérieure plus courte.

L'insertion de nombreux tubes de Malpighi très grêles, marquant le passage entre l'intestin moyen et l'intestin postérieur. Ce dernier se termine pour former un rectum qui s'élargit de nouveau pour donner naissance à l'ampoule rectale.

▪ **Traité**

Il n'y a pas de lésions macroscopiques au niveau du tube digestif de *Schistocerca gregaria* traité, l'effet de la solution de la souche bactérienne FR4 et BEC22 de *Bacillus thuringiensis* ne s'exprime donc pas à l'œil nu.

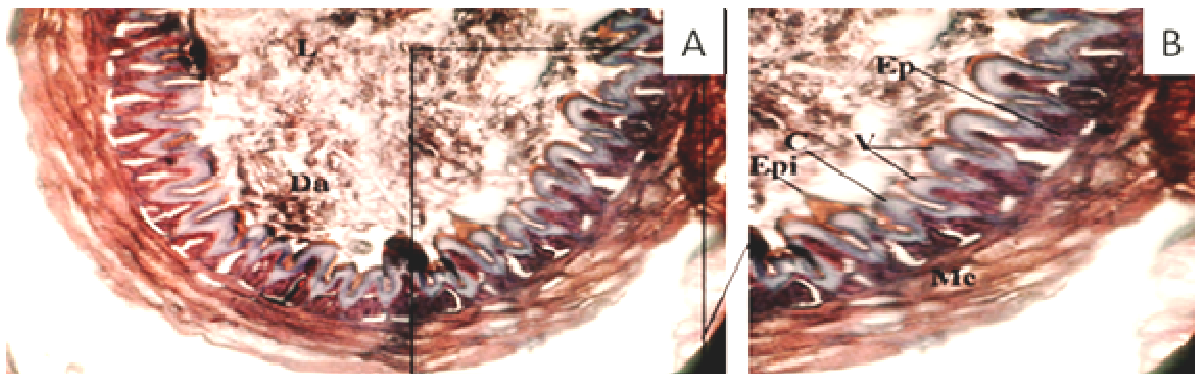
**III.1.2 Etude histologique du tube digestif de *Schistocerca gregaria***

Le protocole histologique suivi durant notre étude nous a permis d'obtenir des coupes montrant les différentes couches cellulaires de la sphère digestive de *Schistocerca gregaria* témoins et traités.

**III.1.2.1 Stomodeum**

**III.1.2.1.1 Stomodeum témoin (Fig.28)**

La portion du stomodeum témoin présente une lumière large pleine d'aliments. Les villosités sont nombreuses et régulières. La cuticule entoure l'épithélium et est formée par trois couches : epicuticule, exocuticule et endocuticule, la cuticule émet des épines. La gaine musculaire est très développée, constituée successivement d'une couche longitudinale interne qui soutient les villosités et d'une couche circulaire moyenne développée ainsi que de rares faisceaux de muscles longitudinaux externes.

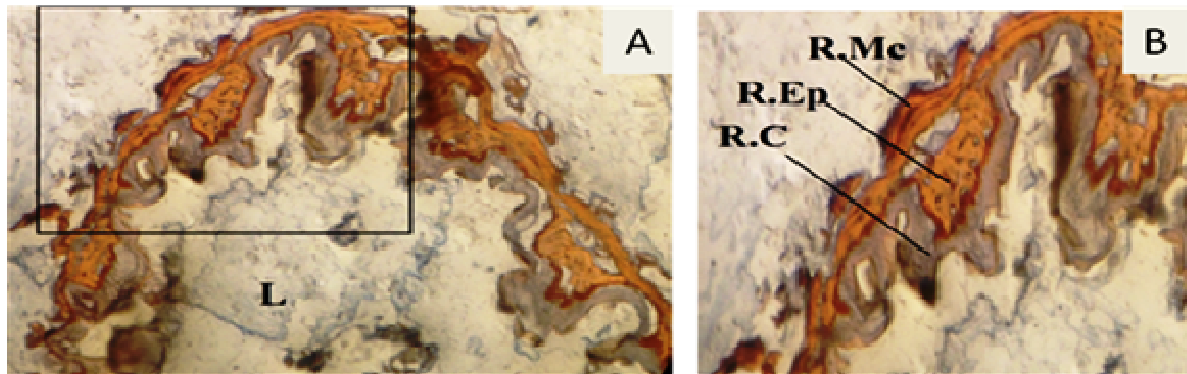


**Fig.28 Coupe transversale du stomodeum de *Schistocerca gregaria* témoin**

**A :** vue d'une portion du stomodeum témoin, **B :** détails d'une portion du tomodeum. Lumière (L), cuticule (C), Villosité (V), muscles circulaires (Mc), Épithélium (Epi), Débris alimentaire (Da), Epines (Epi). **Fixateur :** Bouin aqueux. **Grossissement :** Gr x160 **Coloration :** variante de l'Azan de Heidenhain. (A, B) dose  $10^7$  Spores/ml.

### III.1.2.1.2 Stomodeum traité avec FR4 (Fig.29)

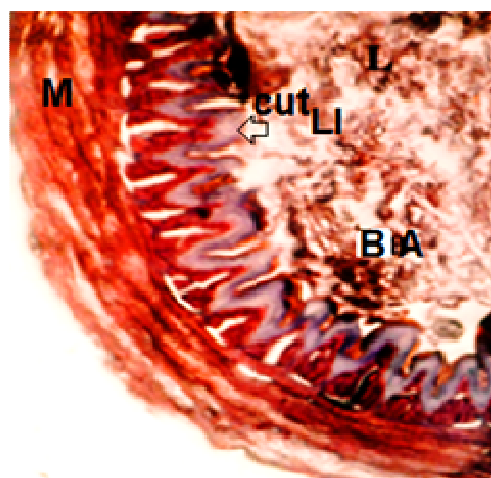
L'observation sous microscope au Gr x 160 des coupes histologiques du stomodeum de *Shistocerca gregaria* traité par la souche FR4 montre des modifications spectaculaires représentées par la réduction de la musculature, le regroupement des cellules épithéliales, le réarrangement de la cuticule et l'irrégularité des villosités.



**Fig.29 Coupe transversale du stomodeum du *Shistocerca gregaria* traité A : vue d'une portion du stomodeum traité. B : détails d'une portion du stomodeum. Lumière(L), Réduction de la musculature(R.Mc), Regroupement de l'épithélium (R.Ep), Réarrangement de la cuticule (R.C).Fixateur : Bouin aqueux. Coloration : variante de l'Azan de Heidenhain. (A, B)Grossissement : Gr x160, Dose :  $10^7$  spores/ml**

- **Stomodeum traité avec BEC22 (Fig.30)**

La figure suivant n° 30 montre que cette partie du tube digestif n'a pas été délétère et qu'aucune modification n'a été constatée

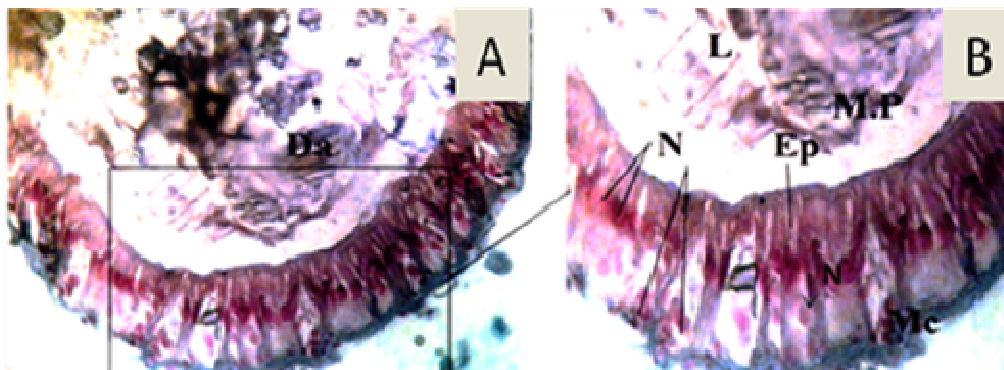


**Fig.30** Portion du stomodeum de *Shistocerca gregaria* traité avec BEC22  
LI : lumière intestinale BA : Bol alimentaire, M : musculature, Cu, cuticule. **Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration** : variante de l'Azan de Heidenhain. (A, B)**Grossissement** : Gr x160, **Dose** :  $10^7$  spores/ml

### III.1.2.2 Mésentéron

#### III.1.2.2.1 Mésentéron témoin (Fig.31)

L'intestin moyen présente un aspect histologique très différent du stomodeum. En effet la lumière est large et pleine d'aliments plus au moins digérés entourés par la membrane péritrophique, un épithélium pseudostratifié soutenu par une musculature réduite. Les noyaux sont en position médiane ou parabasal. L'intestin moyen se distingue du stomodeum par l'absence de la cuticule et par l'absence des villosités typiques

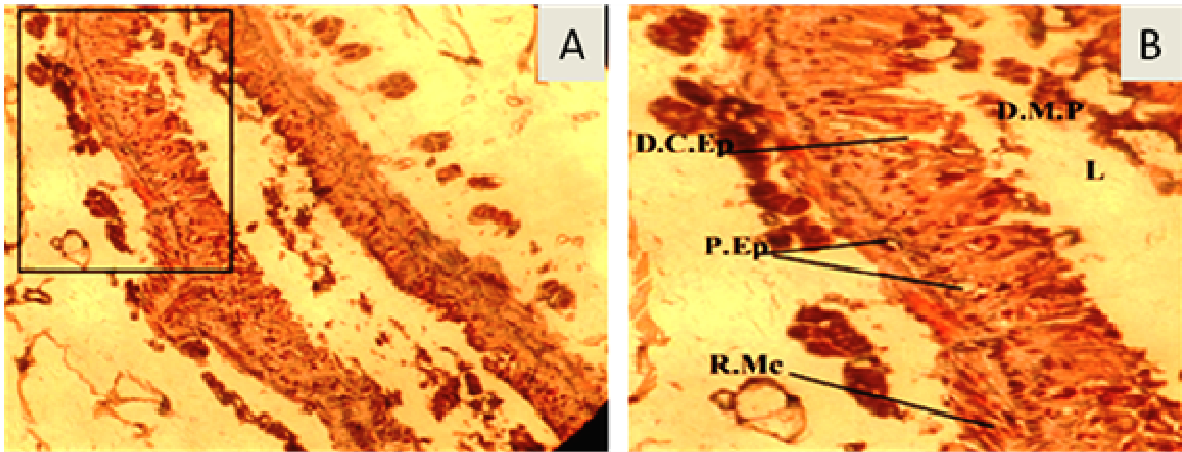


**Fig.31** Coupe transversale du mésentéron de *Schistocerca gregaria* témoin

**A** : vue d'ensemble de mésentéron témoin **B** : Détail d'une portion de mésentéron. Lumière(L), Noyau (N) Epithélium pseudostratifié (Ep.), Muscles circulaires(Mc), noyaux(N) médian ou parabasal, débris alimentaire(Da), membrane péritrophique (M.P)  
**Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration** : variante de l'Azan de Heidenhain. **Grossissement** : Grx250.

#### III.1.2.2.2 Mésentéron traité avec FR4 (Fig.32)

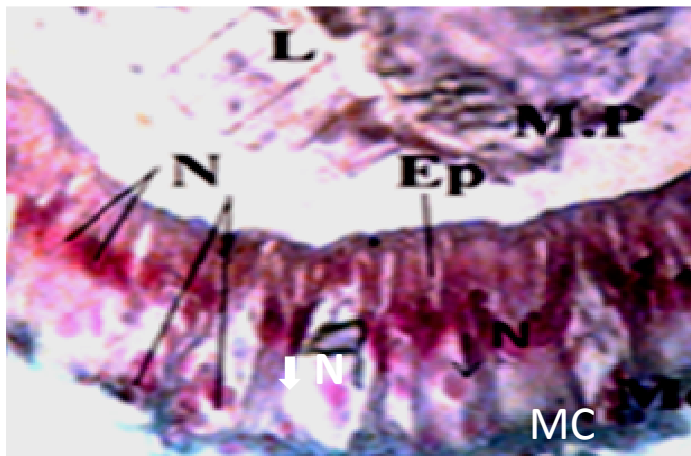
Les coupes histologiques de l'intestin moyen traitées avec FR4 révèlent plusieurs modifications. Nous avons observé la réduction de la musculature, porosités du revêtement épithélial avec disjonction de ses cellules, ainsi que la disparition de la membrane péritrophique.



**Fig.32 Coupe histologique transversale au niveau du mésentéron de *Schistocerca gregaria* traité par Bt souche FR4. A : vue d'une portion de mésentéron traité. B : Détail d'une portion de mésentéron. Lumière (L), porosité de l'épithélium (P.Ep), disjonction de la cellule épithéliale (D.C.Ep), réduction de la musculature (R.Mc), disparition de la membrane péritrophique (D.M.P) Fixateur : Bouin aqueux. Coloration : variante de l'Azan de Heidenhain. Grossissement : Grx160. Dose :  $10^7$  Spores/ml**

### III.1.2.2.3 Mésentéron traité avec BEC22 (Fig.33)

Aucune modification n'a été constatée, le mésentéron ne semble pas être affecté par la bactérie souche BEC22

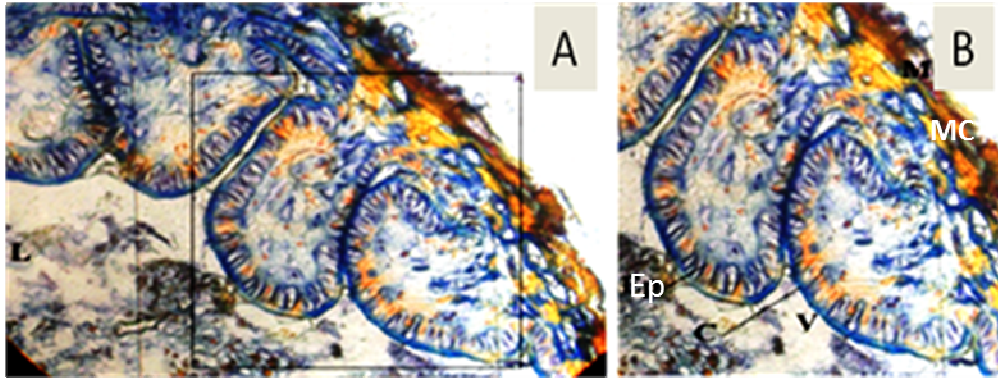


**Fig.33 Détail d'une portion de mésentéron traité avec BEC22. Lumière(L), Noyau (N) Epithélium pseudostratifié (Ep.), Muscles circulaires(Mc), noyaux(N) médian ou parabaasal, membrane péritrophique (M.P) Fixateur : Bouin aqueux. Coloration : variante de l'Azan de Heidenhain. Grossissement : Grx250, Dose :  $10^7$  spores/ml**

### III.1.2.3 Proctodeum

#### III.1.2.3.1 Proctodeum témoin (Fig.34)

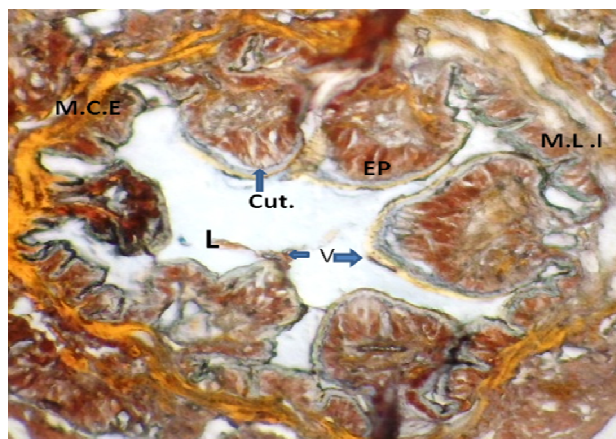
Il forme la partie médian de proctodeum, possède une lumière réduite et vide, les villosités sont très développées et de tailles variables, la cuticule est épaisse, l'épithélium est unistratifié cubique, la musculature de rectum est très développée.



**Fig.34 Coupe transversale du proctodeum de *Schistocerca gregaria* témoin A :** vue d'une portion du rectum témoin. **B :** Détail d'une portion du rectum. Lumière(L), Epithélium (Ep), Muscles circulaires(Mc), villosités(V), cuticule (C) **Fixateur :** Bouin aqueux. **Coloration :** variante de l'Azan de Heidenhain, Grossissement : Grx250

#### III.1.2.3.2 Proctodeum traité avec FR4 (Fig.35)

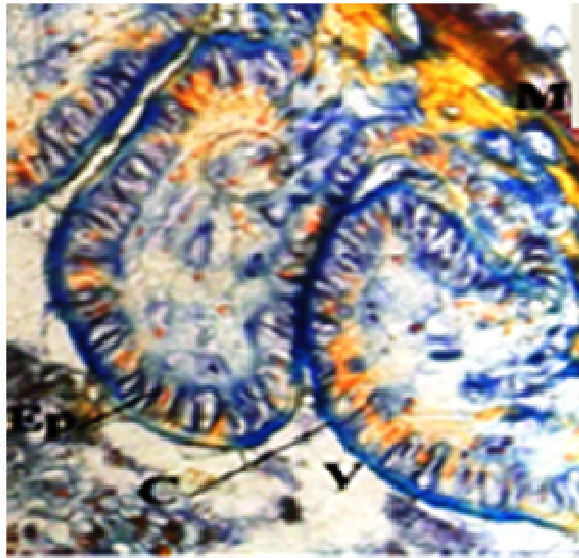
Les coupes histologiques observées au niveau de rectum ne révèlent aucune modification au niveau des différentes parties de cette partie du tube digestif.



**Fig.35 Coupe transversale du proctodeum de *Schistocerca gregaria* traité avec BEC22** M.L.I : muscles longitudinaux internes, Cut : cuticule, V : villosité M.C.E: Muscles circulaires externes, L : Lumière **Fixateur :** Bouin aqueux. **Coloration :** variante Mallory Grossissement : Grx250, **Dose :**  $10^7$  spores/ml.

**III.1.2.3.3 Proctodeum traité avec BEC22 (Fig.36)**

Pareillement que pour les deux parties antérieures et moyennes de l'intestin de *Shistocerca gregaria*, aucune action délétère n'a été constatée.



**Fig.36** Détail d'une portion du rectum traité avec BEC22. Lumière(L), Epithélium unistratifié (Ep), villosités(V), cuticule (C) Fixateur : Bouin aqueux. Coloration : variante de l'Azan de Heidenhain Grossissement : Grx250 Dose :  $10^7$  spores/ml

**III.2 *Locusta migratoria* traité avec BL9 : $10^7$  spores/ml**

**III.2.1 Observations macroscopiques**

- **Témoin**

L'intestin de *Locusta migratoria* est quasiment similaire à celui décrit de *Shistocerca gregaria* avec une longueur de 25 à 30 mm. Le diamètre variable est recouvert d'une couche de graisse. Les différentes parties sont identiques à celles déjà décrite pour *S. gregaria*.

- **Traité**

L'observation du tractus digestif des individus expérimentés de *L. migratoria* ne permet pas de décrire des lésions macroscopiques. L'effet de la solution bactérienne ne semble pas être nocif extérieurement et ne s'exprime pas à l'œil nu.

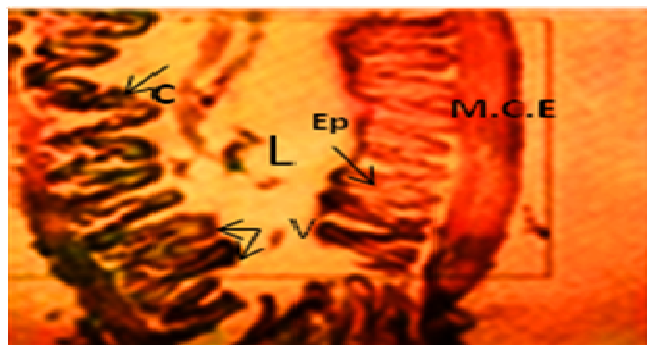


### III.2.2 Etude histologique du tube digestif de *Locusta migratoria*

#### III.2.2.1 Stomodeum (Jabot) (Fig.37)

##### III.2.2.1.1 Stomodeum témoin

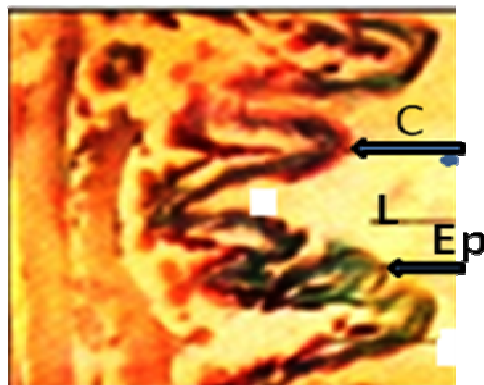
La lumière intestinale est large et vide avec un épithélium surmonté par une cuticule épaisse composée de trois couches. La musculature est très développée et constituée par des muscles longitudinaux internes, des couches circulaires moyennes développées.



**Fig.37** Portion du jabot de *Locusta migratoria* témoin. Epithélium (Epi), Villosités (V) Cuticule (C) Muscle circulaires moyens (Mcm), Lumière intestinale (L) **Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration** : Mallory. Grossissement : Grx100

##### III.2.2.1.2 Stomodeum traité avec BL9 et observé après 24h (Fig.38)

L'observation de la coupe histologique du jabot de *Locusta migratoria* traité avec BL9 et observé 24h après le traitement ne semble pas présenter des altérations sur cette partie du tube digestif. En effet les villosités, la cuticule, l'épithélium et la musculature n'ont pas été affectés.



**Fig.38** Portion du jabot de *Locusta migratoria* Traité avec BL9 /24h : EP : Epithélium L : Lumière intestinale, C : Cuticule **Fixateur** Bouin aqueux. **Coloration** : Mallory. Grossissement : Gx160. **Dose** :  $10^7$  spores/ml

### III.2.2.1.3 Stomodeum traité et observé après 48h (Fig.39)

*Locusta migratoria* traité avec BL9 n'a présenté aucune altération après observation 48 h après le traitement cette partie du tube digestif reste intacte, en effet les villosités, la cuticule, l'épithélium, la musculature n'ont pas été affectés

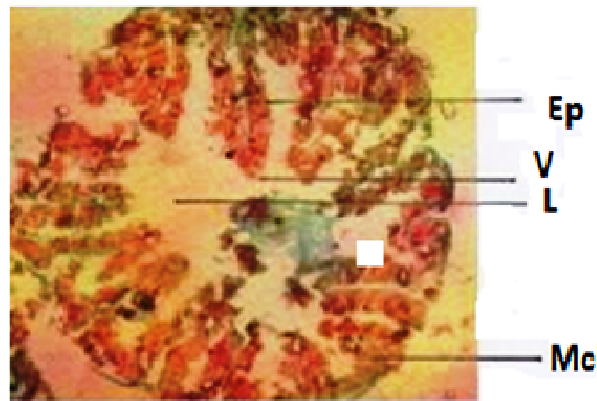


**Fig.39** Portion du jabot de *Locusta migratoria* Traité avec BL9 /48h : Epithelium (Ep) Lumière intestinale (L), Cuticule (C) Musculature (M) Fixateur Bouin aqueux ; Coloration Azan de heindenhein Grossissement : Grx400 **Dose** :  $10^7$  spores/ml

### III.2.2.2 Caecum gastrique

#### III.2.2.2.1 Caecum témoin (Fig.40)

Les caeca gastriques au nombre de 6 sont dépourvues de cuticule. Ils présentent des villosités qui sont de hauteurs variables soutenues par du tissu conjonctif. La lumière réduite et irrégulière ne renferme pas de bol alimentaire. L'épithélium de la paroi est unistratifié et constitué de cellules prismatiques avec un noyau médian ou para basal. Deux types de cellules forment l'épithélium : des cellules prismatiques à plateau strié et des cellules basales de régénération. La ceinture musculaire entourant le caecum est très réduite, composée de couche très fine de muscles circulaires internes et quelques faisceaux de muscles longitudinaux disposées autour de l'organe.



**Fig.40 Coupe transversale de Caecum gastrique témoin de *Locusta migratoria*** Epithelium (Ep) Villosité(V) Lumière (L) Muscle circulaire (Mci) Fixateur : Bouin aqueux ; Coloration Mallory, Grossissement : Gr x100.

#### III.2.2.2.2 Caecum gastrique traité avec BL9/ 24h (Fig.41)

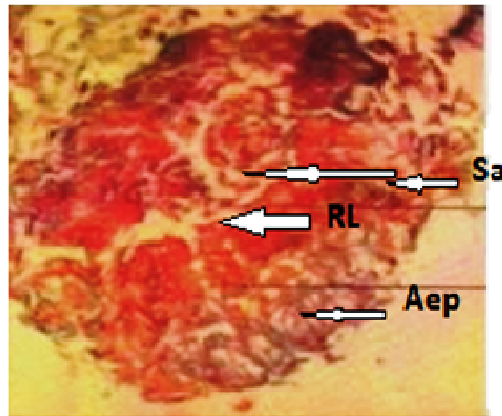
L'observation du caecum gastrique traité revele des ouvertures au niveau de la paroi du caecum anisi que la destruction de l'épithelium



**Fig.41 Coupe transversale de Caecum gastrique de *Locusta migratoria* traité avec BL9/24h** Ouverture de la paroi (OP) Destruction épithéliale fixateur : Bouin aqueux ; coloration Mallory Grossissement : Gr x100, Dose :  $10^7$ spores/ml

#### III.2.2.2.3 Caecum gastrique traité avec BL9/ 48h (Fig.42)

La figure 42 montre 48h après le traitement un désordre conséquent sur l'épithélium. En effet la lumière intestinale est totalement réduite et des sécrétions apocrines sont bien notées au niveau de la lumière intestinale.

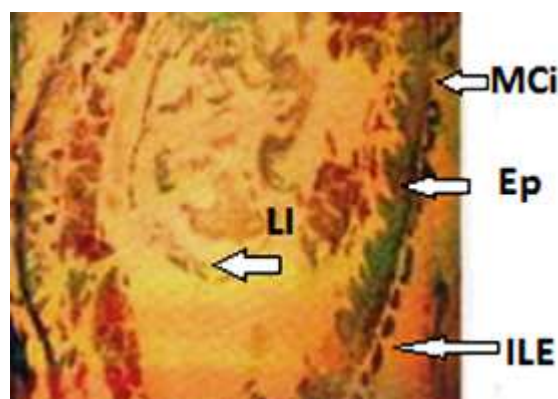


**Fig.42 Coupe transversale de Caecum gastrique de *Locusta migratoria* traité avec BL9/48h** Sécrétion apocrine (Sa) Réduction de la lumière (RL) Altération de l'épithélium (Aep) fixateur : Bouin aqueux ; coloration Mallory, Grossissement : Gr x100. Dose :  $10^7$  spores/ml

### III.2.2.3 Mésentéron

#### III.2.2.3.1 Mésentéron témoin (Fig.43)

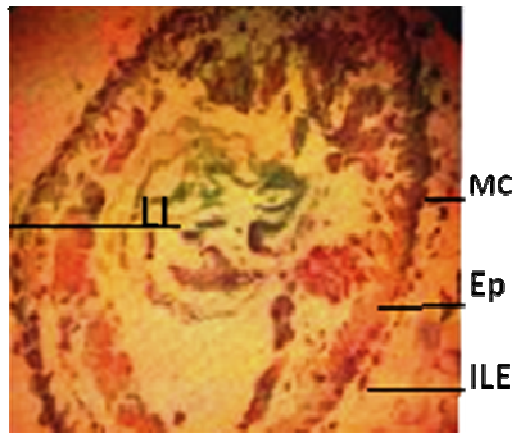
La coupe transversale au niveau du mésentéron illustre une forme ovale avec une lumière importante et régulière remplie d'aliments plus ou moins digérés. La cuticule est absente et la paroi est dépourvue de villosités typiques, elle est constituée d'un épithélium soutenu par un tissu conjonctif et une fine musculature. Le Bol alimentaire est entouré par une membrane péritrophique ouverte à certains endroits



**Fig.43 Coupe transversale du mésentéron témoin.** Epithélium (Ep) Lumière intestinale (Li) Muscle circulaire internes (Mci) Ilots longitudinaux externes(ILE) Fixateur : Bouin aqueux ; coloration : Mallory, Grossissement : Gr x100.

### III.2.2.3.2 Mésentéron traité avec BL9/24H (Fig.44)

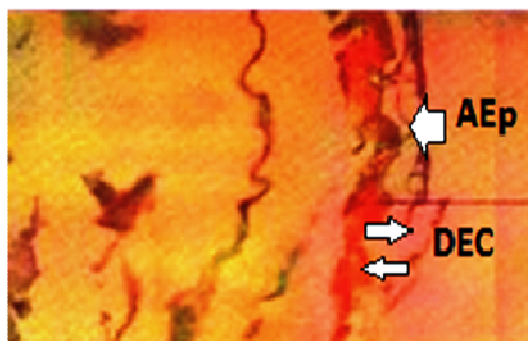
Il n'a pas été constaté grands changements après 24h de traitement avec BL9. La lumière est restée aussi large et l'épithélium maintenu sur presque tout le contour.



**Fig.44 Coupe transversale de mésentéron de *Locusta migratoria* traité avec BL9/24h** LI : Lumière intestinale, MC : Muscles circulaires, Ep : Epithélium, ILE : Ilots longitudinaux externes. **Fixateur** : Bouin aqueux ; **Coloration** : Mallory, **Grossissement** : Gr x400. **Dose** :  $10^7$  spores/ml

### III.2.2.3.3 Mésentéron traité avec BL9/48H (Fig.45)

48 heures après le traitement de *Locusta migratoria* avec la souche bactérienne BL9 une altération au niveau de cette partie de l'intestin a bien été constatée. En effet l'épithélium ayant été altéré et des disjonctions épithélio- conjonctives ont bien été constatées.

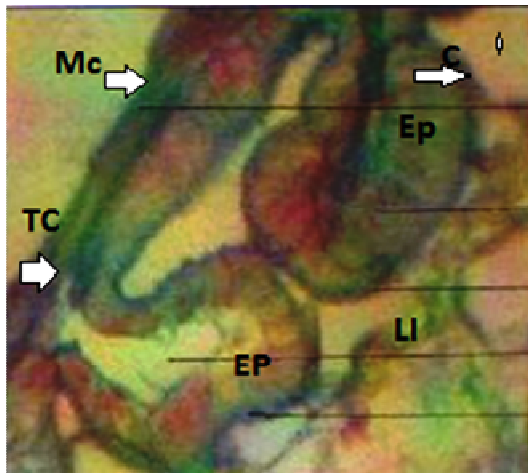


**Fig.45 Coupe transversale de mesentéron de *Locusta migratoria* traité avec BL9/48h** AEP : Altération épithéliale, DEC : Disjonction epithélio-conjonctive ; **Fixateur** Bouin aqueux ; **Coloration** Mallory, **Grossissement** : Grx400 **Dose** :  $10^7$  spores/ml

### III.2.2.4 Proctodeum

#### III.2.2.4.1 Proctodeum témoin (Fig.46)

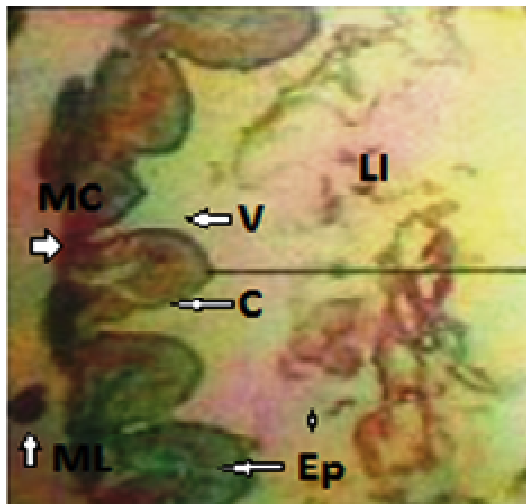
L'observation du proctodeum en coupe transversale révèle la présence d'un épithélium prismatique parfois cubique, la cuticule surmonte cette épithélium. La musculature est plus ou moins développée formée de muscles circulaires et muscles longitudinaux, les muscles sont soutenus par le tissu conjonctif.



**Fig.46 Coupe transversale du proctodeum (rectum) témoin.** Epithélium (Ep) Lumière intestinale (LI) Muscle circulaire (Mc) Tissu conjonctif (TC) fixateur : Bouin aqueux ; **Coloration** Mallory. Grossissement : Grx400

#### III.2.2.4.2 Proctodeum traité avec BL9/24h (Fig.47)

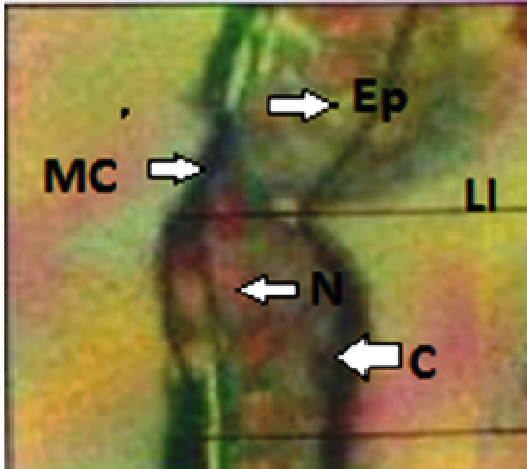
Aucun changement n'a été constaté après le traitement avec BL9 et observation 24h après, les différentes parties ont bien été retrouvées telles qu'elles



**Fig.47 Coupe transversale du proctodeum de *Locusta migratoria* traité avec BL9/24h.** Lumière intestinale (LI) Muscle circulaire (MC) Epithélium (Ep) Muscles longitudinaux Villosité (V) Muscle longitudinal (ML) fixateur : Bouin aqueux ; coloration Mallory ; Grossissement : Grx100. **Dose** :  $10^7$  spores/ml

#### III.2.2.4.1 Proctodeum traité avec BL9/48h (Fig.48)

Le proctodeum n'a subi aucune altération, il reste donc résistant à la souche BL9



**Fig.48 Coupe transversale du proctodeum de *Locusta migratoria* traité avec BL9/48h**  
Lumière intestinale (LI) Muscle circulaire (Mc) Epithélium (Ep) Noyau (N) **Fixateur** : Bouin aqueux ; **Coloration** : Mallory, Grossissement : Gr x400 **Dose** :  $10^7$  spores/ml

### III.3 *Aiolopus strepens* traité avec FR4 et BL9 : $10^7$ spores/ml

#### III.3.1 Observations macroscopiques

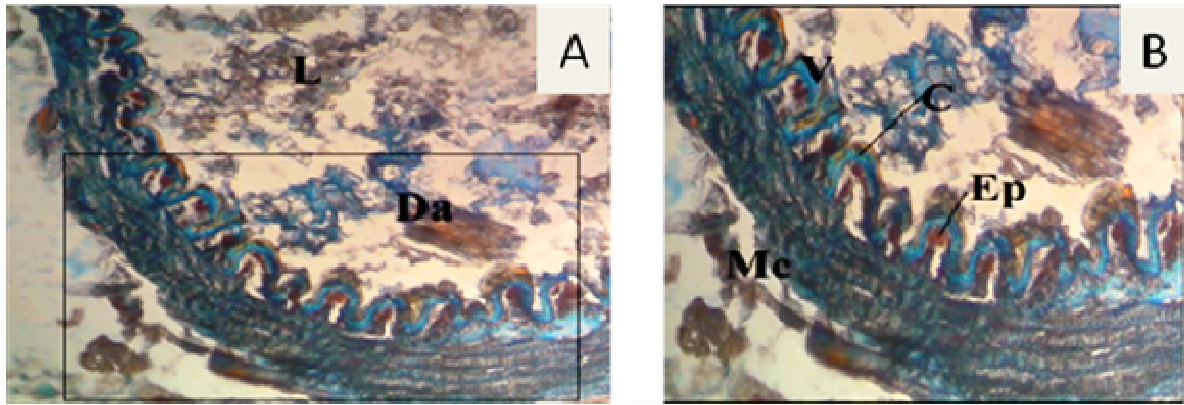
Aucune manifestation externe n'a été remarquée. Le tube digestif n'a pas été affecté extérieurement. A l'œil nu nous ne remarquons aucune lésion.

#### III.3.2 Observations microscopiques : Etude histologique du tube digestif de *Aiolopus strepens*

##### III.3.2.1 Stomodeum

##### III.3.2.1.1 Stomodeum témoin (Fig.49)

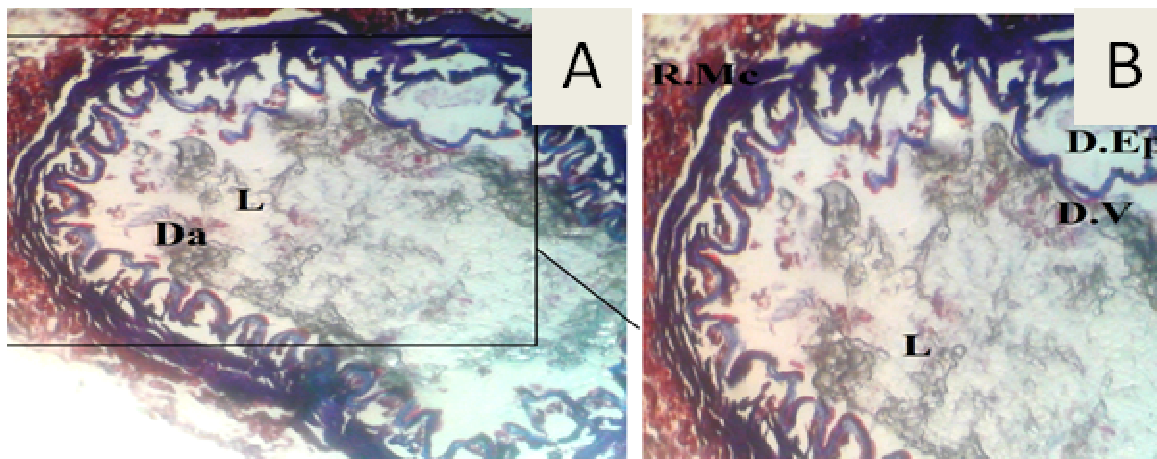
La portion de stomodeum présente une lumière large pleine d'aliments. Les villosités sont nombreuses et régulières. La cuticule entoure l'épithélium et est formé par trois couches : épicuticule, exocuticule et endocuticule. La gaine musculaire est très développée, constituée successivement d'une couche longitudinale interne qui soutient les villosités et d'une couche circulaire externe développée (Fig.49).



**Fig.49 Coupe transversale du stomodeum d'*Aiolopus strepens* témoin A** : vue d'une portion du stomodeum Lumière(L), Débris alimentaires (Da). **B** : Détail d'une portion de stomodeum Cuticule(C), Epithélium (Ep.), Muscles circulaires(Mc). **Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration** : Mallory **Grossissement** : Grossissement : Gr x160.

### III.3.2.1.2 Stomodeum traité avec FR4 (Fig.50)

Suite à l'utilisation de la souche FR4, des changements ont bien été constatés sur le stomodeum, notamment un relâchement des muscles circulaires, une altération de l'épithélium et le détachement des villosités. FR4 semble affecter cette partie du tube digestif chez *Aiolopus strepens*



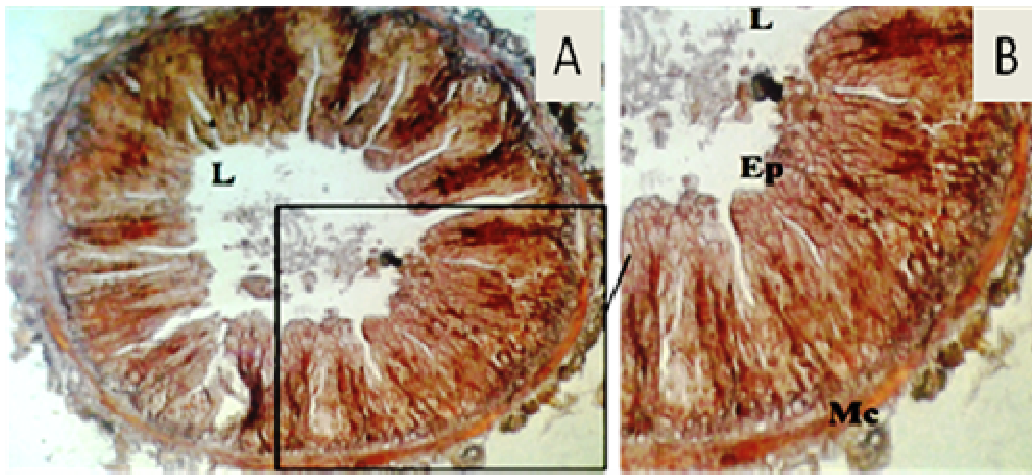
**Fig.50 Coupe transversale du stomodeum d'*Aiolopus strepens* traité avec FR4. A** : Vue d'une portion de stomodeum traité. Lumière(L), débris alimentaire(Da) **B** : **Détail d'une portion du stomodeum traité.** Relâchement des muscles circulaires, (R.Mc), Disparition des cellules épithéliales (D.Ep), détachement des villosités (D.V). **Fixateur** : Bouin aqueux **Coloration** : Mallory . **Grossissement** : Gr x100. **Dose** :  $10^7$  spores/ml



### III.3.2.2 Mésentéron

#### III.3.2.2.1 Mesenteron témoin (Fig.51)

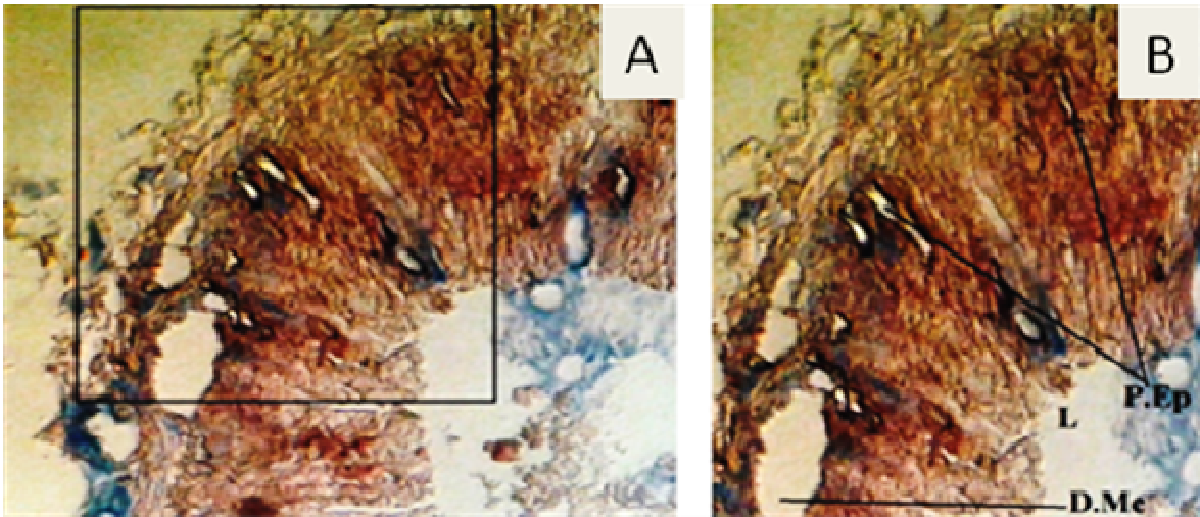
L'intestin moyen présente un aspect histologique très éloigné du stomodeum. La lumière est arrondie et étroite, remplie d'aliments plus au moins digérés. L'épithélium pseudostratifié à cellules palissadiques est soutenu par une musculature réduite. L'intestin moyen se distingue du stomodeum par l'absence de la cuticule et par ses villosités typiques ( Cellules en brosse)



**Fig.51 Coupe transversale du mésentéron d'*Aiolopus strepens* témoin. A :** vue d'ensemble de mésentéron témoin **B :** Détail d'une portion de mésentéron. Lumière(L), Epithélium (Ep.), Muscles circulaires(Mc). **Fixateur :** Bouin aqueux. **Coloration :** variante de l'Azan de Heidenhain. Grossissement : Gr x160.

#### III.3.2.2.2 Mesenteron traité avec FR4 (Fig.52)

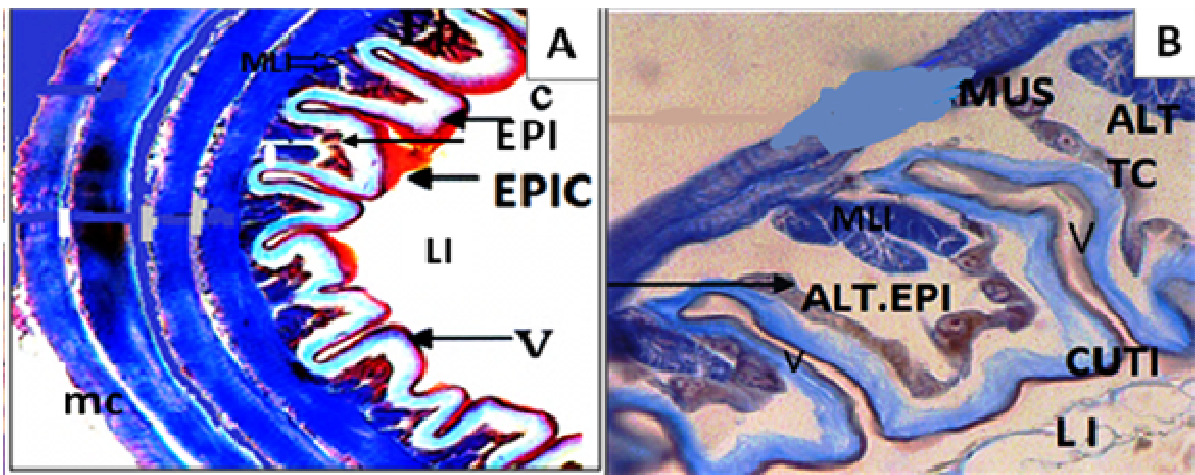
Au niveau de l'intestin moyen, nous avons observé suite au traitement, une porosité de l'épithélium, et un détachement de la musculature.



**Fig.52 Coupe transversale du mésentéron d'*Aiolopus strepens* traité avec la souche FR4. A : vue d'une portion du mésentéron traité. B : Détail d'une portion du mésentéron. Lumière (L), porosité de d'épithélium (P.Ep), détachement des muscles circulaires (D.Mc). Fixateur : Bouin aqueux. Coloration : variante de l'Azan de Heidenhain. Grossissement : Gx160. Dose :  $10^7$ spores/ml**

### III.3.2.2 Stomodeum traité avec BL9 (Fig.53)

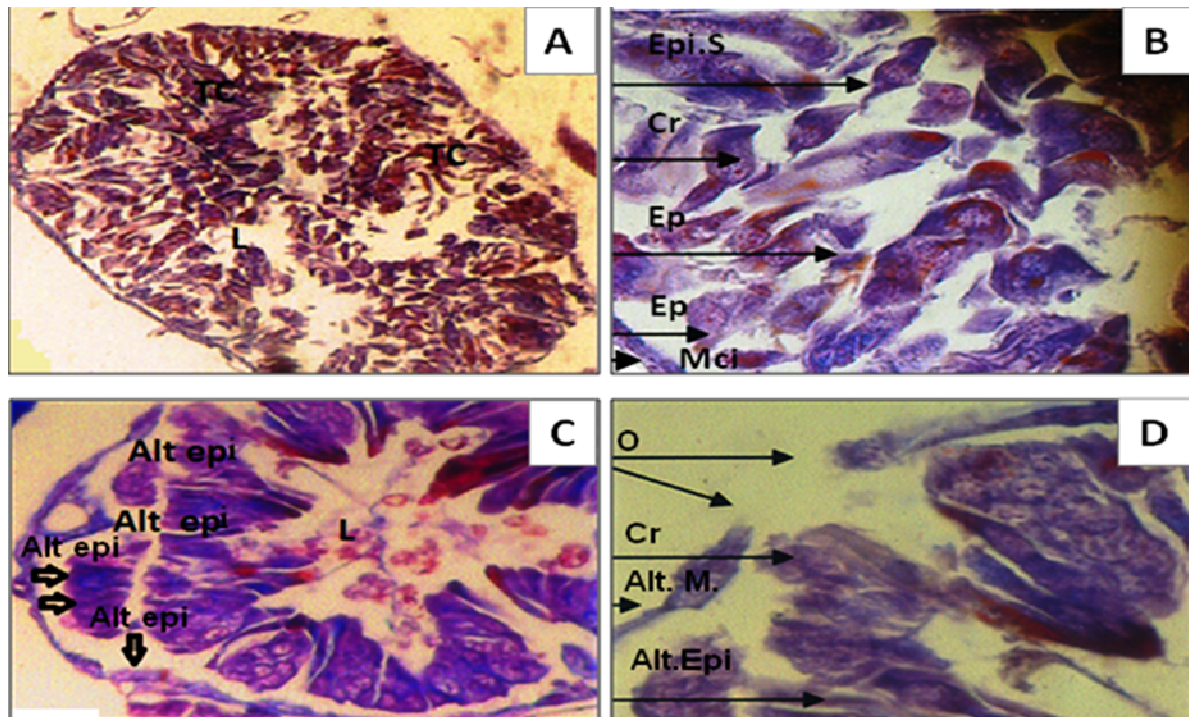
La figure 53 suivante montre une portion du stomodeum de *Aiolopus strepens* témoin et traité avec la souche BL9 de *Bacillus thuringiensis*. La figure du stomodeum traité montre que la cuticule et la musculature n'ont pas été affectés, seul l'épithélium a été altéré.



**Fig.53 : Coupe transversale du stomodeum de *Aiolopus strepens* témoin et traité avec BL9 A : Témoin (Grx100). MC : muscle circulaire, EPI : épithélium intestinal, V : villosités LI : Lumière intestinale, C : Cuticule, EPIC : Epicuticule. B : Détail d'une portion du stomodeum traité avec BL9(Grx400) .LI Lumière intestinale MUS : Musculature ; MLI : Muscle longitudinale externe ; mc : Muscle circulaire, CUTI : Cuticule. ALT.EPIC : Altération de l'épithélium ; V : Villosités. ALT.TC : Altération du tissu conjonctif. Fixateur Bouin aqueux ; Coloration : Azan de Heidenhain Dose :  $10^7$ spores/ml**

III.3.2.3 Caecum gastrique témoin et traité avec BL9 (Fig.54)

La figure 54 suivante montre les caeca gastriques de *Aiolopus strepens* traités avec la souche BL9 de *Bacillus thuringiensis* et témoins de *Aiolopus strepens*. La figure montre une altération représentée notamment par des ouvertures de la paroi du caecum gastrique, des disjonctions épithélio- conjonctives et musculaires, ainsi qu'une lumière intestinale élargie.



**Fig.54 : Coupe transversale du caecum gastrique de *A.strepens* traité avec BL9**  
**A : Témoin** (Grx40). TC : tissu conjonctif ; L : Lumiere intestinale. **B : Coupe d'un caeca gastrique témoin** (Grx100). Epi.S : Epithélium prismatique, Cr : Crypte de régénération, Ep : Epithelium ; Mci : Muscle circulaire interne. **C : Caeca gastrique traité avec BL9** (Gr x40). L : Lumiere ; Alt.Epi : Altération épithéliale. **D : Caeca garstrique traité avec BL9** (Grx100). O : Ouverture ; Cr Crypte de régénération ; Alt.M : Altération musculaire ; Alt.Epi : Altération épithéliale. **Fixateur** Bouin aqueux. **Coloration** Mallory

### III.4 *Pamphagus elephas* Traité avec la souche TIM14 : $10^7$ spores/ml

#### III.4.1 Observations macroscopiques

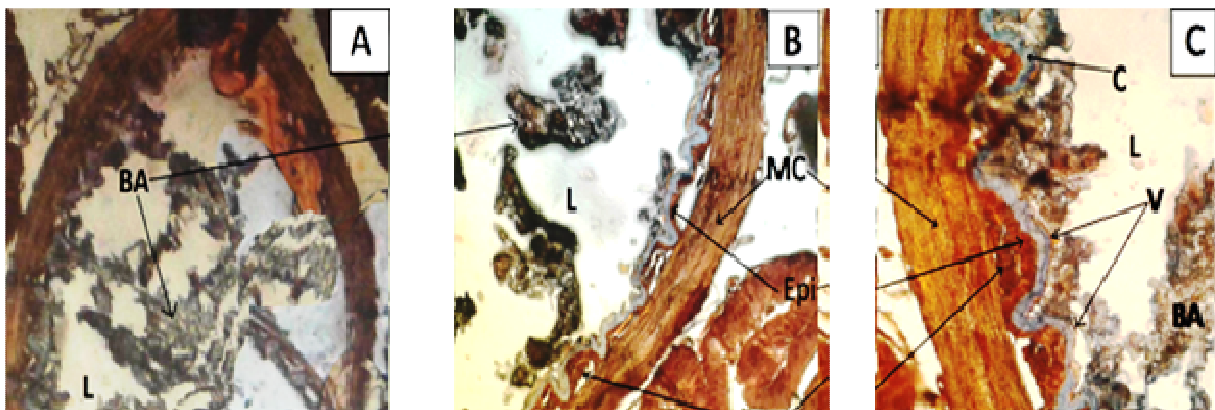
Les mâles et les femelles de *Pamphagus elephas* résistent jusqu'à 72 h avant de mourir suite au traitement. Concernant l'aspect morphologique de tube digestif des individus traités observés à l'œil nu ou à la loupe binoculaire, l'intestin a perdu de sa viscosité et de son aspect vital sur les différentes parties. Nous avons également constaté un changement de couleur. De plus, l'intestin devient très fragile, ce qui a compliqué les manipulations. Suite au traitement avec TIM 14 il y a eu mort des individus traités dans 48h tandis que le témoin restait vivant.

#### III.4.2 Observations microscopiques : Histologie du tube digestif de *Pamphagus elephas*

##### III.4.2.1 Stomodeum

##### III.4.2.1.1 Stomodeum témoin (Fig.55)

La Figure 55 montre une portion d'une section de stomodeum de *Pamphagus elephas* témoin. La section circulaire de stomodeum du *Pamphagus elephas* présente une lumière large. Les villosités régulières sont nombreuses et petites. La cuticule entoure l'épithélium et est formée par trois couches. La gaine musculaire est développée ; constituée d'une couche circulaire très développée, et d'amas de muscles longitudinaux internes toute autour de tube.



**Fig.55** Portion du stomodeum de *Pamphagus elephas* témoin **A** : portion d'une coupe transversale de stomodeum (Grossissement Grx 100) : lumière(L), bol alimentaire (BA). **B et C** : détail d'une portion de stomodeum (Gr 160) : lumière(L), cuticule (C), bol alimentaire (BA). Epithélium (Epi), Muscles circulaires (MC), muscles longitudinaux (ML), Fixateur : Bouin aqueux. Coloration : Azan de Heidenhein

### III.4.2.1.2 Stomodeum traité avec TIM14 (Fig.56)

La Figure 56 montre la section d'un stomodeum de *Pamphagus elephas* traité par *B. thuringiensis*, souche TIM 14. Les observations microscopiques des coupes histologiques au Gr10×10 du stomodeum traité avec la souche TIM 14, montrent des modifications spectaculaires représentées par une altération totale de la forme des villosités, une altération de l'épithélium et la cuticule ainsi qu'une réduction spectaculaire de la musculature ce qui a déformé la forme générale de cette partie du tube digestif. Le stomodeum a donc bien été affecté par la souche TIM 14.

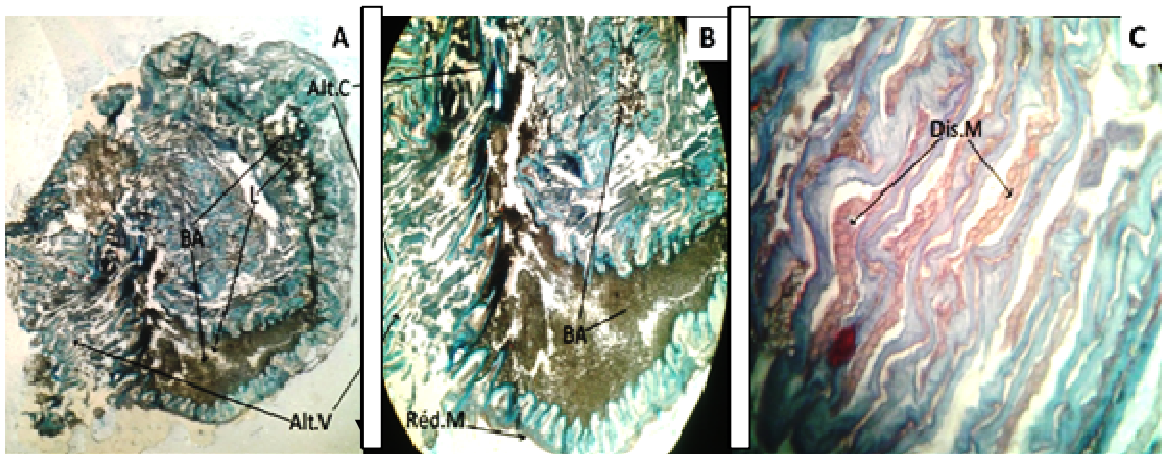
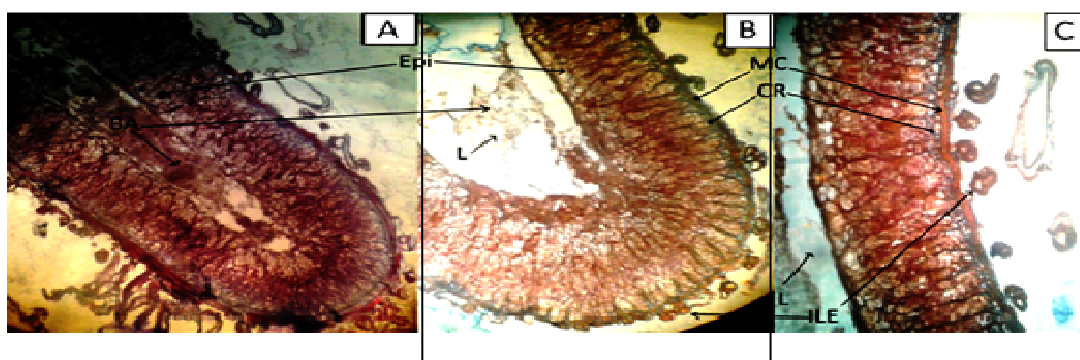


Fig.56 Portion du stomodeum de *Pamphagus elephas* traité avec TIM14 A : coupe transversale de stomodeum : Grossissement Grx 100) Lumière (L), bol alimentaire (BA), altération de villosités (Alt.V), B et C : Détail d'une portion de stomodeum (Gr 160), plus zoom. altération de la cuticule (Alt.C), Disparition de la musculature (Dis.M), bol alimentaire (BA). **Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration** : Mallory (A, B et C) **Dose** :  $10^7$  spores/ml

### III.4.2.2 Mésentéron

#### III.4.2.2.1 Mesenteron témoin (Fig.57)

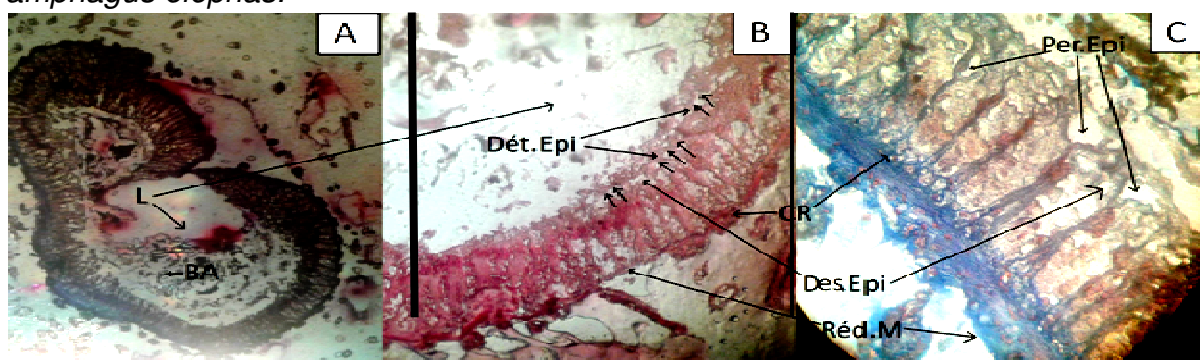
La figure 57 montre une portion du mésentéron témoin de *Pamphagus elephas*. L'intestin moyen présente un aspect histologique très différent du stomodeum. Sa section ovale avec une lumière large contient des aliments plus ou moins digérés. Les villosités sont formées par des cellules palissadiques, à plateau strié au pôle apical. Les cellules basales présentent des cryptes de régénérations. L'épithélium est soutenu par une musculature réduite, une couche circulaire interne et des ilots longitudinaux externes. L'intestin moyen se distingue du stomodeum par l'absence de la cuticule.



**Fig.57** Portion du mésentéron de *Pamphagus elephas* témoin **A** : coupe transversale du mesenteron (Gr10×10). lumière(L), Epithélium (**Epi**). **B** et **C** : détail d'une portion de (Gr 10×16). Epithélium (**Epi**), lumière(L), cellules de régénérations (**CR**), Muscles circulaires (**MC**), ilots longitudinaux externes (**ILE**). **Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration** : l'Azan de Heidenhein (**A, B** et **C**)

#### III.4.2.2.2 Mésentéron traité (Fig.58)

La Figure suivante montre une section de Mesentéron de *Pamphagus elephas* traité par *B. thuringiensis*, souche TIM 14. Au niveau de l'intestin moyen, nous avons observé une destruction totale des cellules épithéliales présentant des perforations spectaculaires causant un déséquilibre et un dysfonctionnement de cette partie du tube digestif. Une réduction de la musculature et de la disjonction épithéliaux-conjonctive sont à noter. La souche TIM 14 a bien eu un impact sur l'intestin moyen de *Pamphagus elephas*.

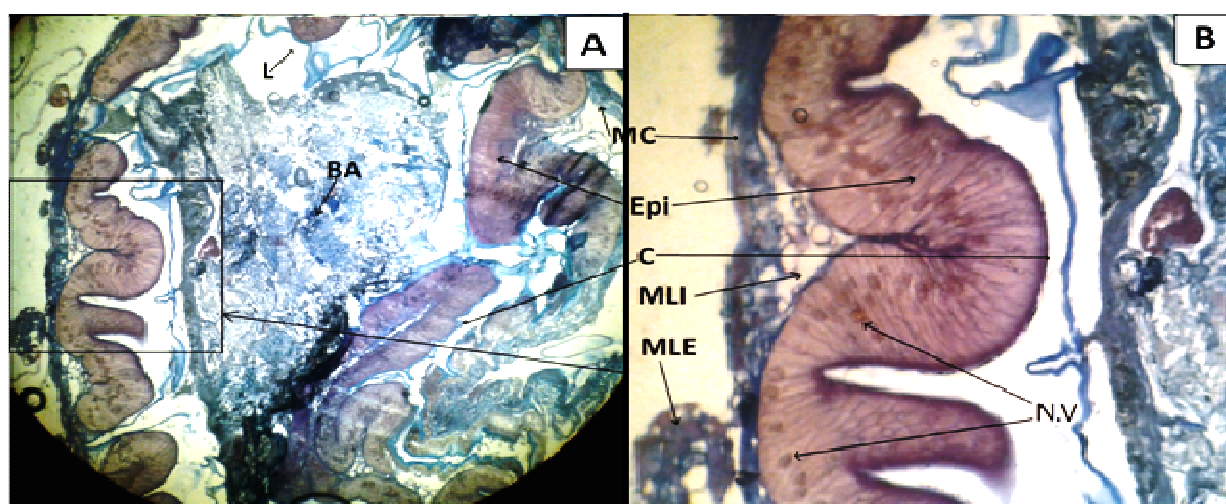


**Fig.58** Portion du mésentéron de *Pamphagus elephas* traité traité avec TIM14 **A** : vue d'une coupe transversale de mesentéron ((Grossissement Grx 100). lumière(L), bol alimentaire (**BA**)). **B** : détail d'une portion de mesenteron ((Grossissement Grx 100). lumière(L), cellules de régénérations (**CR**), détachement épithéliaux-conjonctive (**Dét.Epi**), réduction de la musculature (**Réd.M**), destruction de l'Epithélium (**Des.Epi**)). **C** : portion d'une coupe transversale de mesenteron ((Grossissement Grx 400), cellules de régénérations (**CR**), réduction de la musculature (**Réd.M**) perforation de l'Epithélium (**Per.Epi**), destruction de l'Epithélium (**Des.Epi**). **Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration** : MALLORY (**A** et **C**) Azan de Heidenhein (**B**) **Dose** :  $10^7$  spores/ml

### III.4.2.3 Proctodeum

#### III.4.2.3.1 Proctodeum témoin (Fig.5)

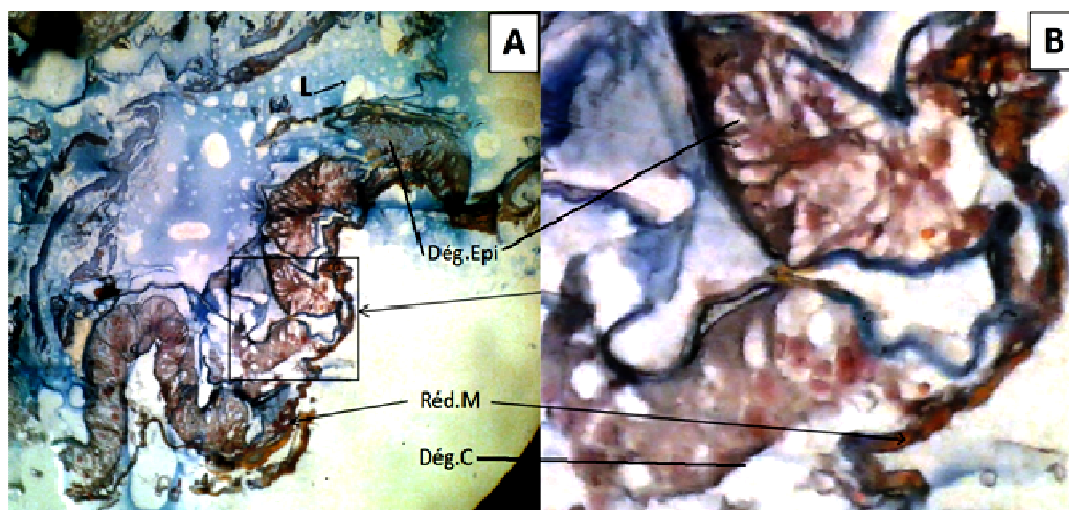
La Figure 59 montre une portion du proctodeum de *Pamphagus elephas* témoin. La section du proctodeum témoin montre une forme arrondie avec une lumière est plus réduite. L'épithélium est uni-stratifié à cellules palissadiques. Les cellules possèdent des noyaux volumineux et ovoïdes. Le proctodeum présente des villosités aplaties disposées de façon irrégulière. Nous observons également des amas de 4 à 6 cellules basales au niveau des creux des villosités ; ces cellules sont dites de régénérations. L'épithélium du proctodeum est surmonté d'une cuticule similaire à celle du stomodeum. Nous avons également observé une musculature formant une couche circulaire interne et des ilots longitudinaux externes.



**Fig.59** Portion du proctodeum de *Pamphagus elephas* témoin **A** : coupe transversale de l'intestin postérieur ((Grossissement Grx 100) : lumière(L), Bol alimentaire(BA) cuticule(C), muscles circulaires (MC), Epithélium (Epi) **B**, détail d'une portion de l'intestin postérieur (Gr10×10) plus zoom : cuticule(C), Epithélium (Epi), Muscles circulaires (MC), noyaux volumineux (N.V) muscles longitudinaux externes (MLE). muscles longitudinaux internes (MLI).Fixateur : Bouin aqueux. **Coloration** : l'Azan de Heidenhein (**A, B et C**)

### III.4.2.3.2 Proctodeum traité (Fig.60)

La figure 60 montre une portion de proctodeum de *Pamphagus elephas* traité par *B.thuringiensis*, souche TIM 14. Au niveau de l'intestin postérieur, nous remarquons des dégradations de la cuticule et de l'épithélium, une lyse du tissu conjonctif et une réduction de la musculature. La souche TIM 14 est délétère pour cette partie du tube digestif.



**Fig.60** Portion du proctodeum de *Pamphagus elephas* traité avec TIM14 . **A** : coupe transversale de l'intestin postérieur (Grossissement Grx 100) : lumière (L), réduction de la musculature (**Réd.M**), dégradation de l'épithélium (**Dég.Epi**). **B** : zoom d'une portion de l'intestin postérieur : dégradation de la cuticule(**Dég.C**), dégradation de l'épithélium (**Dég.Epi**), réduction de la musculature (**Réd.M**). **Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration** : l'Azan de Heidenhein (**A, B**) **Dose** :  $10^7$ spores/ml

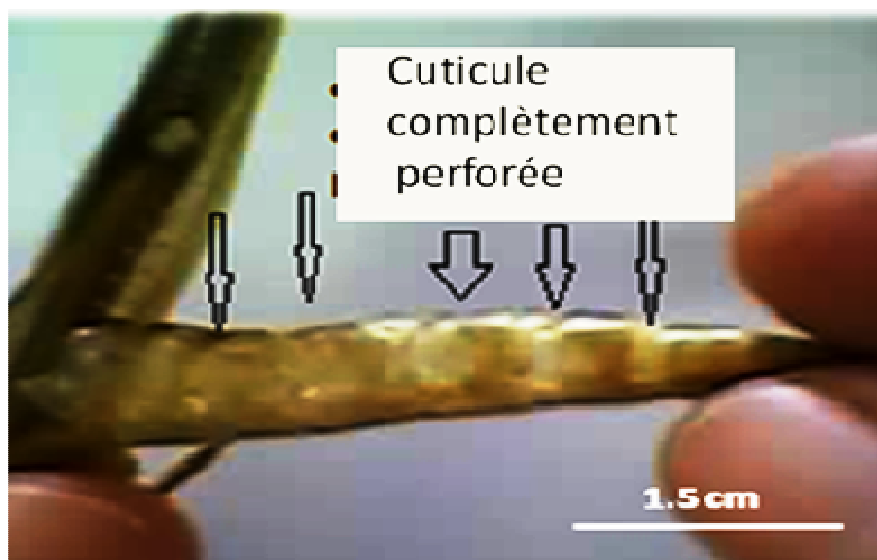
### III.5 *Anacridium aegyptium* traité avec la souche TIM14 et GB11 : $10^7$ spores/ml

*Anacridium aegyptium* a été particulièrement ciblé dans nos expérimentations du fait de sa taille proche à celle des sauterelles causant les ravages. Les résultats que nous présentons illustrent le spectre d'action de *Bacillus thuringiensis* sur *Anacridium aegyptium*.

#### III.5.1 Observations macroscopiques

- TIM14 : Nous avons noté une action sur *anacridium aegyptium* (Fig.61)
- GB11: Aucune modification n'a été observée. L'insecte est resté intact, cette souche ne semble pas affecter extérieurement *Anacridium aegyptium*





**Fig.61** Perforation de l'abdomen de *Anacridium aegyptium* après traitement avec la souche TIM14 de *Bacillus thuringiensis*. Dose :  $10^7$  spores/ml

La taille de *Anacridium Aegyptium* est grande ce qui nous a facilité les observations macroscopiques, tant sur la morphologie générale que sur le comportement et cet acridien durant les 72 heures qui ont suivi le traitement bactérien.

Suite au traitement avec **TIM 14** nous avons remarqué que l'acridien évitait de se nourrir juste après puis réduisait son activité et demeurait ainsi jusqu'à la paralysie totale. La mort de l'individu traité a été notée comme suit :

- Les Mâles dans les **24h** qui ont suivi le traitement.
- Les femelles dans les **48h** qui ont suivi le traitement.
- Certains individus ont résisté jusqu'à 72h suivant le traitement
- Le tube digestif de *Anacridium aegyptium* a totalement perdu sa viscosité et son intégrité, et est totalement abimé.

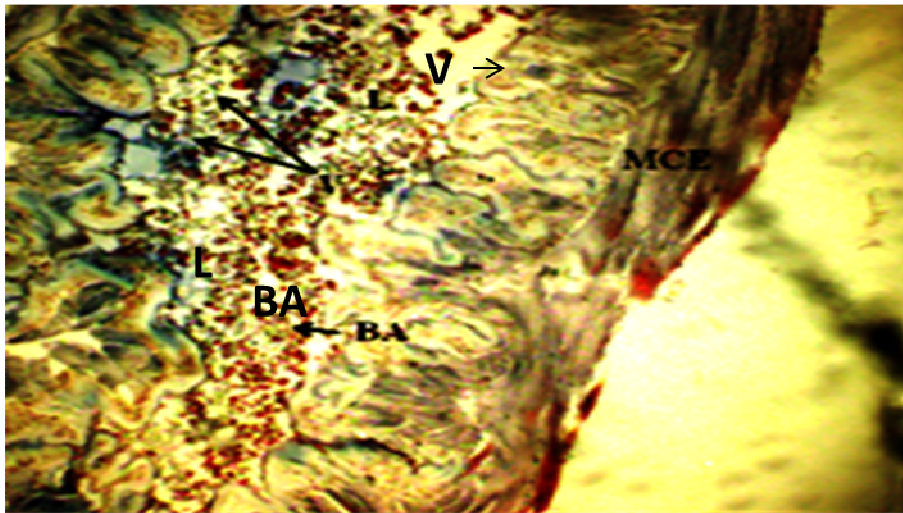
### III.5.2 Etude microscopique : étude histologique

#### III.5.2.1 Stomodeum

##### III.5.2.1.1 Stomodeum témoin (Fig 62 et 63)

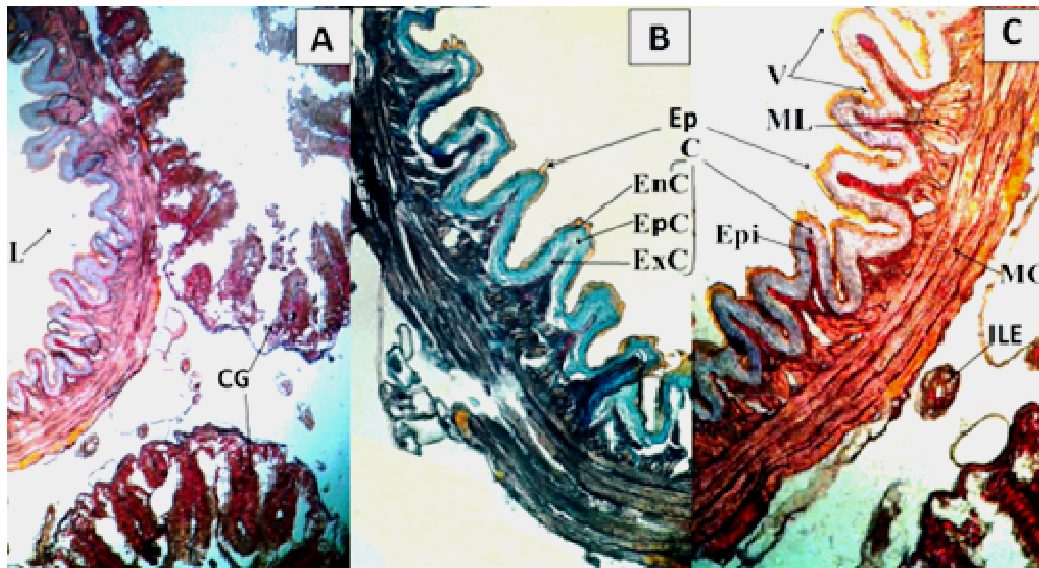
La figure 62 présente une coupe transversale du stodeum d'*Anacridium*

*egyptium* témoin. La section du stomodeum d'*Anacridium aegyptium* montre un aspect plus ou moins allongé, la lumière est réduite et régulière, contenant beaucoup d'aliments. Les villosités sont nombreuses et de taimolles plus ou moins égales. La musculature est très développée constituée par des muscles longitudinaux internes et des couches circulaires externes très développées. L'épithélium est sous-jacent à la cuticule qui est continue et régulière tapissant toute la partie interne du stomodeum.



**Fig.62** Vue d'une portion de stomodeum d'*Anacridium aegyptium* en coupe transversale (Grossissement Grx 100). (L) lumière, (V) villosités, (MCE) muscles circulaires externes, (BA) bol alimentaire. Fixateur : Bouin aqueux. Coloration : l'Azan de Heidenhein.

La Figure 63 suivante montre une portion d'une section de stomodeum d'*Anacridium aegyptium* témoin



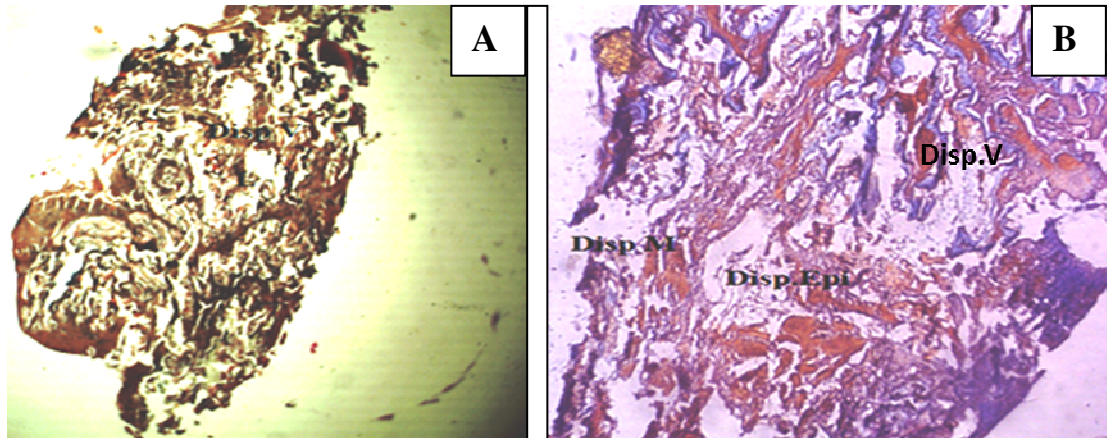
**Fig.63** Portion du stomodeum d'*Anacridium aegyptium* témoin **A** : portion d'une coupe transversale du stomodeum (Grossissement Grx 100) : lumière(L), Caeca gastrique (CG). **B et C** : détail d'une portion de stomodeum ((Grossissement Grx 160) : Epine (Ep), Cuticule (C), Endocuticule (EnC), Epicuticule (EpC), Exocuticule (ExC), Epithélium (Epi), muscles longitudinaux internes (MLI), Muscles circulaires (MC), ilots longitudinaux externes (ILE). **Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration** : l'Azan de Heidenhein (**A, C**), Mallory (**B**) **Dose** :  $10^7$  spores/ml

Les villosités irrégulières sont nombreuses et grandes, présentant deux types ; simples et composées, portant des épines. La cuticule entoure l'épithélium et est formée par trois couches l'épicuticule l'exocuticule et l'endocuticule. La gaine musculaire est très développée, elle est constituée d'une couche circulaire très développée, et d'amas de muscles longitudinaux internes tout autour du tube ainsi que des ilots longitudinaux externes.

#### III.5.2.1.2 Stomodeum traité avec TIM14 (Fig.64)

Suite à l'application de la souche TIM14 sur le tube digestif d'*Anacridium aegyptium*, nous avons noté l'impact de cette bactérie se manifestant par l'altération de l'intestin. L'observation des différentes parties n'était pas claire car les couches formant le stomodeum n'étaient plus distinctes. En effet, une totale disparition des villosités a été notée, une disparition de la lumière intestinale, une réduction de la musculature, une altération totale de l'épithélium ainsi qu'une destruction de la cuticule.

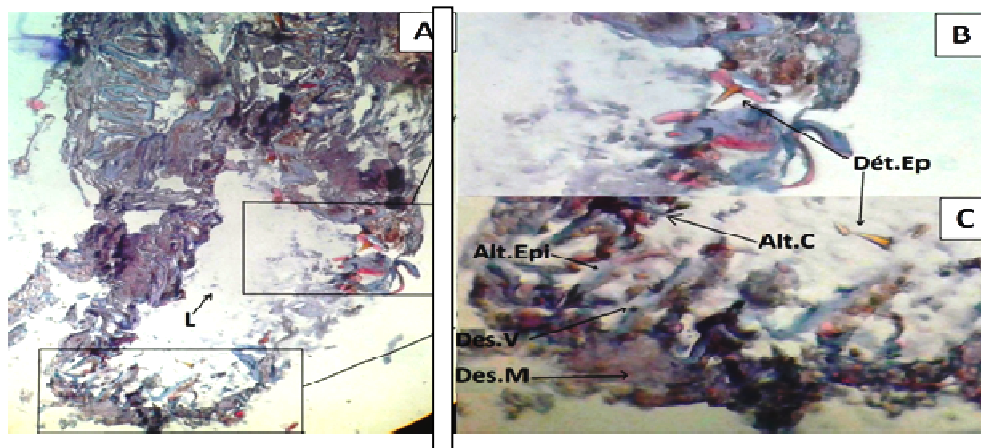
▪ Observation 1



**Fig.64 Stomodeum d'*Anacridium aegyptium* traité avec la souche TIM 14 de *Bacillus thuringiensis*** A : vue d'une Coupe transversale du stomodeum d'*Anacridium aegyptium* traité avec **TIM14** (Grx40). Disparition de villosités (**Disp .v**). B: vue d'un détail de la portion du stomodeum traité ((Grossissement Grx 100). Disparition de l'épithélium (**Disp. Epi**), disparition de muscles (**Disp. M**). Fixateur : Bouin aqueux. Coloration : l'Azan de Heidenhein (A, B) Dose :  $10^7$  spores/ml

▪ Observation 2 (Fig.65)

La Figure 65 montre une portion du stomodeum d'*Anacridium aegyptium* traité par *B. thuringiensis* souche **TIM 14**



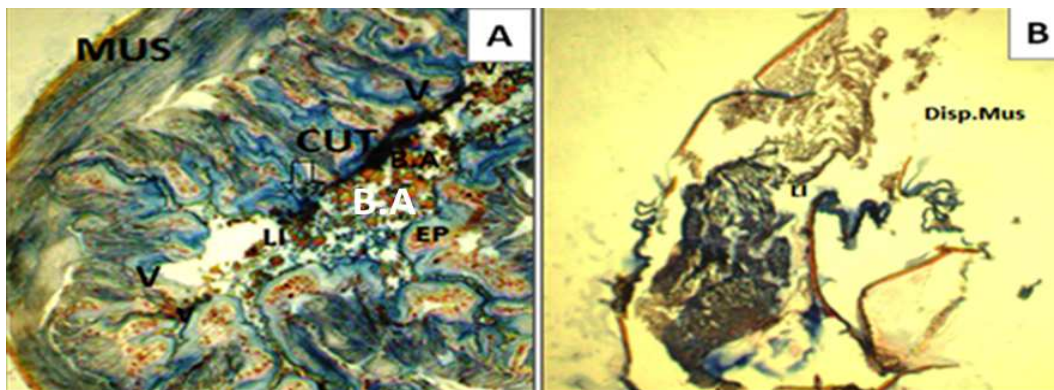
**Fig.65 Portion du stomodeum d'*Anacridium aegyptium* traité avec TIM14** A : coupe transversale du stomodeum ((Grossissement Grx 100). lumière(L). B et C : détail d'une portion de stomodeum ((Grossissement Grx 100) zoomé. destruction des villosités (**Des.V**), Détachement des Epines (**Dét.Ep**), altération de cuticule (**Alt.C**), altération Epithélium (**Alt.Epi**), destruction des muscles (**Des.M**), Fixateur : Bouin aqueux. Coloration : Azan de Heidenhein Dose :  $10^7$  spores/ml

Les observations sous microscope à Grossissement (10×10) des coupes histologiques du stomodeum traité avec la souche TIM 14 montrent des modifications spectaculaires

représentées par la destruction des villosités, un détachement des épines, l'altération de l'épithélium et la cuticule et une nette destruction de la musculature. Le stomodeum a bien été affecté par la souche TIM14 de *Bacillus thuringiensis*.

▪ **Observation 3**

*Anacridium aegyptium* soumis à TIM14 a totalement été détruit comme montré sur la figure suivante n°66 ; une désintégration totale de l'intestin a été notée. Nous avons observé avec intérêt que la coupe transversale du stomodeum d'*A. aegyptium* témoin présentait une musculature très développée et des villosités grandes et complexes disposées d'une façon régulière. La lumière intestinale est étroite contenant le bol alimentaire. L'épithélium est constitué d'une strate cellulaire régulière, surmontée d'une couche épaisse de cuticule (Fig.66A). L'infestation par TIM14 a induit sur acridien un trouble comportemental quelques heures plus tard qui se manifestait par une agitation suivie d'un ralentissement de son activité puis sa mort dans les 12h suivant l'exposition à TIM14. Les individus morts étaient désintégrés et présentaient une perforation du tégument de l'abdomen (Fig.61). L'analyse histologique du tube digestif des insectes traités a révélé un stomodeum complètement désintégré, une musculature totalement détruite, une lumière intestinale irrégulière, un épithélium et une cuticule totalement détruits.(Fig.66B).

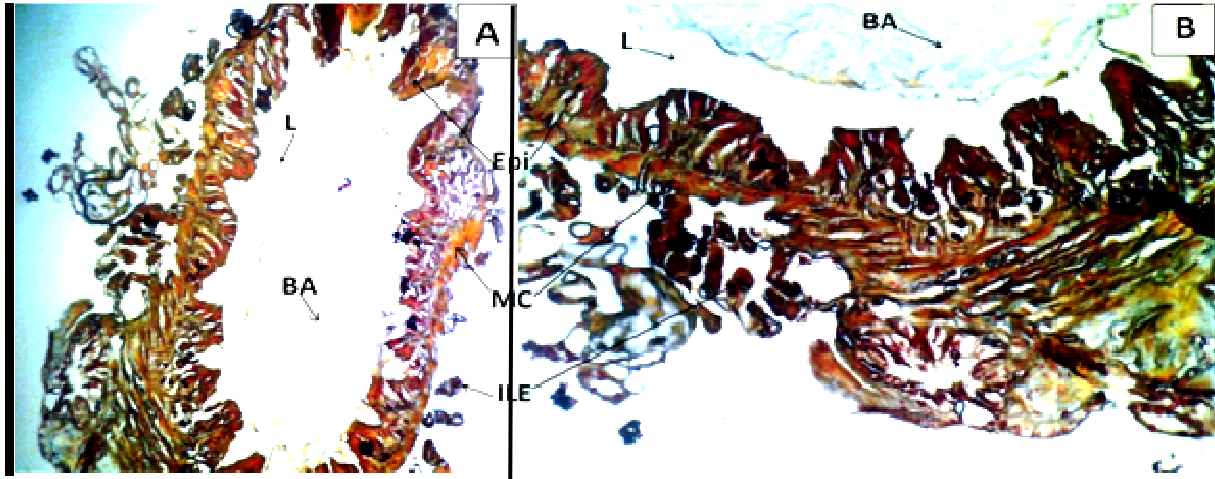


**Fig. 66 Coupe transversale du stomodeum de *Anacridium aegyptium* traité avec TIM14. A) :Témoin (GrX100). Mus : Muscle LI: Lumière intestinale, Ep: Epithélium. CUT: Cuticule V : Villosités B.A: Bol alimentaire B) : Stomodeum traité avec TIM14 (Grx100) Disp. Mus: Disparition musculaire LI : Lumière intestinale. Fixateur : Bouin aqueux Coloration : l'Azan de Heindenhain**

### III.5.2.2 Mésentéron

#### III.5.2.2.1 Mésentéron témoin (Fig.67)

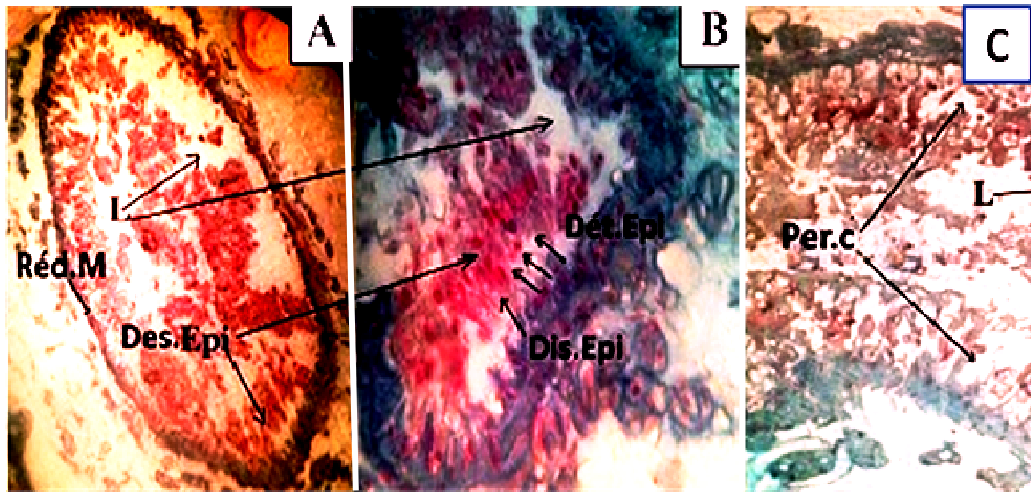
L'intestin moyen présente un aspect histologique très différent du stomodeum. Sa section arrondie avec une lumière large remplie d'aliments plus ou moins digérés. Des villosités sont formées de cellules palissadiques. Il y a présence des îlots longitudinaux externes. L'intestin moyen se distingue du stomodeum par l'absence de la cuticule et par ses villosités typiques. La figure 67 montre une portion d'une section de mesenteron d'*Anacridium aegyptium* témoin



**Fig.67** Portion du mesenteron d'*Anacridium aegyptium* témoin **A** : coupe transversale de mesenteron (Grossissement Grx 100). Lumière (L), Bol alimentaire(BA) Epithélium (Epi), Muscles circulaires (**MC**). **B** : détail d'une portion de mésentéron (Grossissement Grx 160). lumière(L), Bol alimentaire(BA), Epithélium (Epi), Muscles circulaires (**MC**), îlot longitudinale externes (**ILE**). **Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration** : l'Azan de Heidenhein (A, B)

#### III.5.2.2.2 Mesentéron traité avec TIM14 (Fig.68)

Au niveau de l'intestin moyen, nous avons observé une destruction totale des cellules épithéliales, une disjonction ainsi qu'une réduction de la musculature. L'epithelium altéré présente des perforations causant un déséquilibre d'échange ce qui peut nuire au bon fonctionnement de cette partie de l'intestin. La souche TIM 14 affecte bien l'intestin moyen d'*Anacridium aegyptium*. La Figure 68 montre une section d'un mesenteron d'*Anacridium aegyptium* traité par *B.thuringiensis*, souche TIM 14

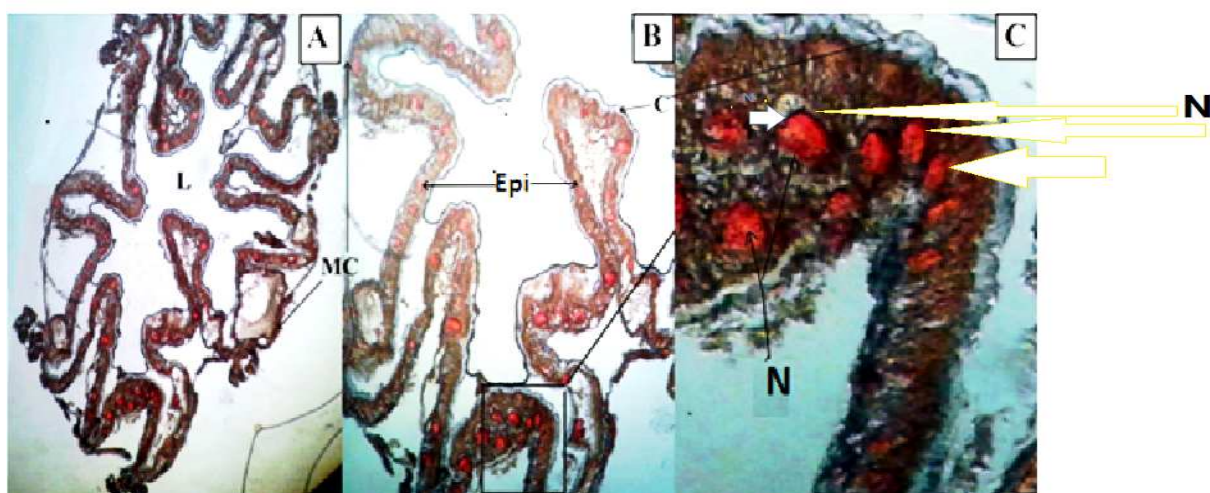


**Fig.68** Portion du mésentéron d'*Anacridium aegyptium* traité avec TIM14. **A** : coupe transversale de stomodeum (Gr10×10). Lumière (L), destruction d'Épithélium (**Des. Epi**), **Red.M** : Réduction musculaire **B** : détail d'une portion de mésentéron ((Grossissement Gr x 160). Lumière (L), détachement d'épithélium (**Det. Epi**) disjonction épithéliaux-conjonctive (**Dis. Epi**). **C**: détail d'une portion de stomodeum (Grossissement Grx 100). Lumière (L), perforations des cellules (**Per.c**) **Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration** : Azan de Heindenhain (**A, B et C**)

### III.5.2.3 Proctodeum

#### III.5.2.3.1 Proctodeum témoin (Fig.69)

La section de proctodeum témoin montre une forme arrondie avec une lumière réduite. L'épithélium est uni-stratifié à cellules palissadiques. Les cellules possèdent des noyaux volumineux, ovoïdes. Le proctodeum présente des villosités aplatis disposées de façon irrégulière. Nous observons également des amas de 4 à 6 cellules basales au niveau des creux des villosités. Ces cellules sont dites de régénérations. L'épithélium du proctodeum est surmonté d'une cuticule similaire à celle du stomodeum. Nous observons également une musculature formée par une couche circulaire. La figure 69 montre une portion d'une section de proctodeum de *A. aegyptium*

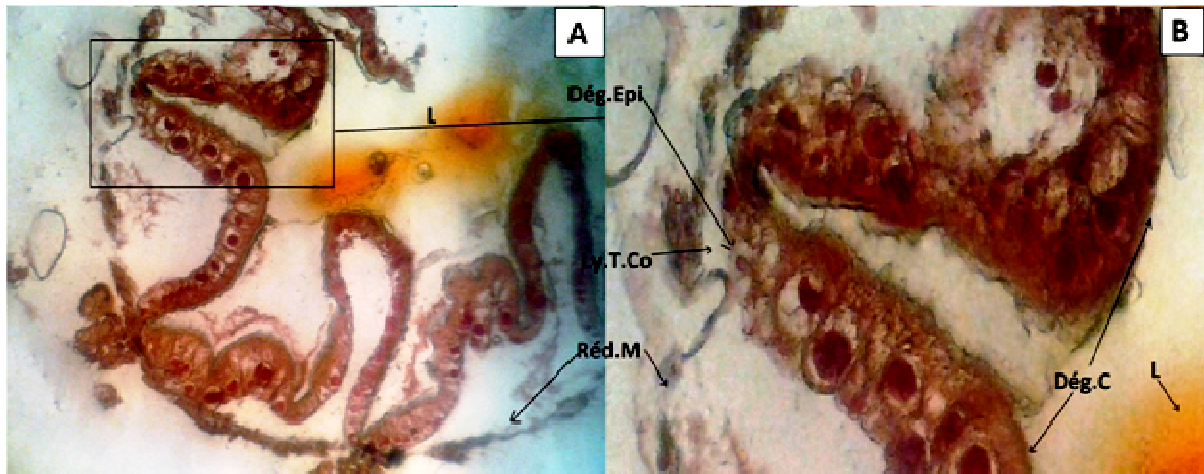


**Fig.69** Portion du proctodeum d'*Anacridium aegyptium* témoin **A** : coupe transversale de l'intestin postérieur (Grossissement Gr x 100) : lumière(L), muscles circulaires (MC). **B, C** : détail d'une portion de l'intestin postérieur (Grossissement Grx 160) plus zoom : cuticule(C), Epithélium (Epi), Muscles circulaires (MC), noyau (N), Fixateur : Bouin aqueux. Coloration : l'Azan de Heidenhein

### III.5.2.3.2 Proctodeum traité avec TIM14 (Fig.70)

Au niveau de l'intestin postérieur traité avec TIM14, nous remarquons une dégradation de l'épithélium, une lyse du tissu conjonctif et une réduction de la musculature. La souche TIM 14 est également nocive pour cette partie du tube digestif. La figure suivante illustre clairement les dommages occasionnés par le traitement d'*A.aegyptium* avec la souche TIM14 de *Bacillus thuringiensis*. La figure 70, montre une portion d'une section de proctodeum d'*Anacridium aegyptium* traité par *B.thuringiensis* souche TIM14

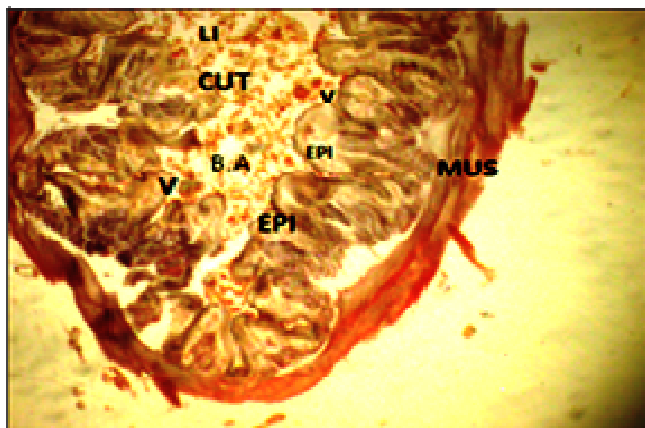




**Fig.70** Portion du proctodeum d'*Anacridium aegyptium* traité avec TIM14. **A** : portion d'une coupe transversale de l'intestin postérieur (Grossissement Grx 100) : lumière (**L**), dégradation de Epithélium (**Dég.Epi**), réduction des muscles (**Réd.M**) **B** : (Grossissement Gr x 100) plus zoomé d'une portion de l'intestin postérieur : lumière (**L**), dégradation de cuticule (**Dég.C**), dégradation de Epithélium (**Dég.Epi**), réduction de muscles (**Réd.M**), **Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration** : l'Azan de Heidenhein

### III.5.2.1.3 *Anacridium aegyptium* traité avec GB11 (Fig. 71)

L'effet de GB11, un autre isolat de *B. thuringiensis* a également été testé sur *A. aegyptium* et comparé à TIM14. Suite à une période d'infestation similaire à TIM14, nous avons observé avec intérêt qu'aucune modification n'était induite sur le stomodeum d'*A. aegyptium* comme observé précédemment. La couche musculaire demeurant intacte et l'épithélium non altéré. De même, les villosités restaient développées et régulières et la lumière intestinale semblable à celle du témoin A partir de ces résultats, nous avons conclu que la souche GB11 n'était pas délétère pour stomodeum de *A. aegyptium*.



**Fig.71** Coupe transversale du stomodeum de *A.aegyptium* traité avec GB11 (GrX100) LI: Lumière intestinale EP: Epithélium CUT : Cuticule V : Villosités BA: Bol alimentaire Mus: Muscles **Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration**: Mallory

### **III.6 *Acrida turrita* Traité avec la souche TIM14 et FR4**

#### **III.6.1 Observations macroscopiques**

- **Témoin**

Après dissection des individus témoins d'*Acrida turrita*, nous avons noté quelques observations : le tube digestif des individus est rectiligne, s'étendant du fond de la cavité buccale jusqu'à l'anus. Il est également associé à une masse de graisse. La taille du tube digestif d'*Acrida turrita* étudiée varie de 3 à 4cm chez le mâle et entre 5 et 6 cm chez la femelle.

- **Stomodeum**

Il présente une pigmentation marron foncé, et débute par : Un pharynx : très court, un œsophage aussi large que court, un jabot se présentant sous forme d'un tube renflé et un gésier volumineux.

- **Mésentéron**

Il présente une pigmentation marron clair. Le mésentéron est plus volumineux que le stomodeum. Sa partie antérieure est pourvue de six caeca gastriques de couleur jaunâtre allongés parallèlement au tube digestif. Chaque caecum comprend un tube antérieur allongé qui se dirige vers le jabot et un tube postérieur court, dirigé vers l'intestin moyen. Au niveau de la partie postérieure, nous avons constaté la présence des tubes de Malpighi qui débouchent dans le tube digestif à la limite du mésentéron et du proctodeum.

- **Proctodeum**

Il est de couleur jaunâtre à marron clair, et est composé de trois parties : l'intestin postérieur proprement dit, suivi par le rectum très rétréci qui s'élargit dans sa région distale formant ainsi l'ampoule rectale.

- ***Acrida turrita* traité par TIM 14 et FR 4**

Après 5h du traitement avec TIM14 nous avons observé un changement dans le comportement des criquets. En effet, ils avaient cessé de sauter et avaient des difficultés à marcher. Les individus traités par TIM 14 sont morts 18h après le traitement. Par ailleurs ceux traités par FR 4 sont morts 24h après le traitement. Des observations sous loupe binoculaire ont révélé la présence d'un tégument intact après le traitement avec TIM14 et FR4. Par ailleurs, au niveau du tube digestif, nous avons constaté l'apparition de lésions macroscopiques chez les individus traités par les deux

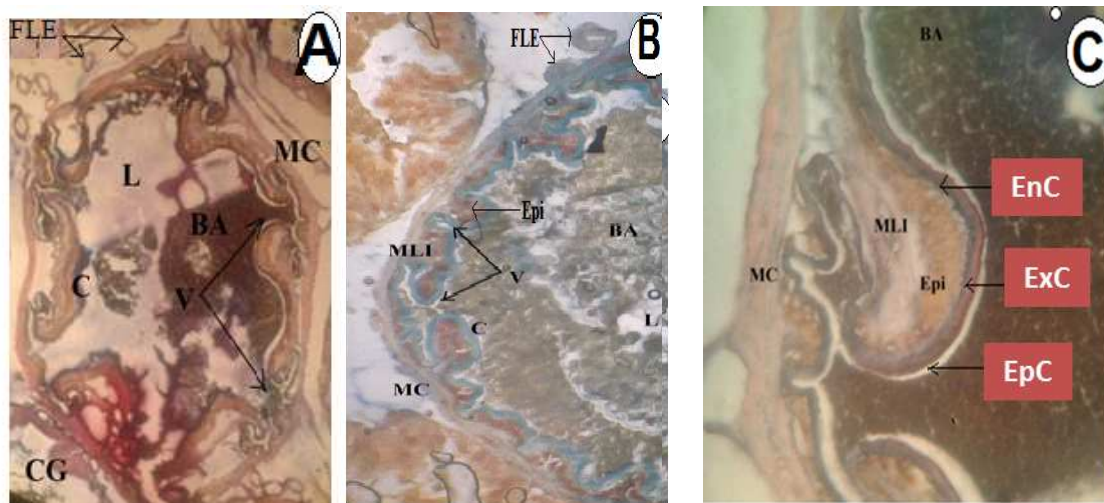
souches TIM 14 et FR 4, se manifestant par une mauvaise odeur, un changement de couleur, des perforations, une désintégration quasi-totale et une disparition de la séparation entre les trois parties du tube digestif.

### III.6.2 Etude histologique du tube digestif d'*Acrida turrita* témoin et traité avec TIM14 et FR4 : $10^7$ spores/ml

#### III.6.2.1 Stomodeum

##### III.6.2.1.1 Stomodeum Témoin (Fig.72)

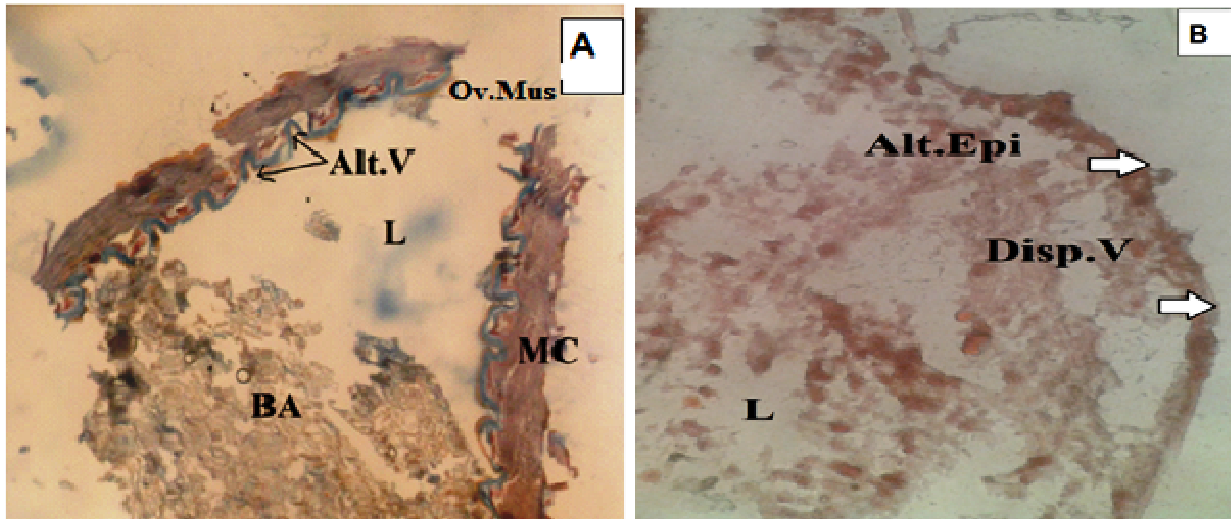
Le stomodeum présente une forme ronde, composé de l'intérieur vers l'extérieur d'une lumière intestinale large remplie d'aliments dégradés, d'une cuticule présentant trois couches : l'épicuticule, l'exocuticule et l'endocuticule. Les villosités sont nombreuses irrégulières, se présentant sous deux formes: filiformes et fungiformes. L'épithélium est uni-stratifié à cellules cubiques avec des noyaux arrondis centraux. La gaine musculaire est très développée, constituée successivement d'une couche longitudinale interne qui soutient les villosités, d'une couche circulaire moyenne développée, ainsi que de rares faisceaux de muscles longitudinaux externes. La figure 72 montre la section du stomodeum d'*Acrida turrita* témoin.



**Fig.72 Stomodeum d'*Acrida turrita* témoin** **A** : Vue d'ensemble de stomodeum en coupe transversale ((Grossissement Grx 100) .Lumière(L), Bol alimentaire (BA), Villosités (V), Cuticule (C), Muscles circulaires (MC), Faisceaux longitudinaux externes (FLE), Coeca gastrique (CG). **B** : vue d'une portion de stomodeum en coupe transversale ((Grossissement Grx 160). Lumière (L), Bol alimentaire (BA), Villosités (V), Cuticule (C), Muscles circulaires (MC), Faisceaux longitudinaux externes (FLE). **C** : détail d'une portion du stomodeum ((Grossissement Grx 400). Epicuticule (EpC), Exocuticule (ExC), Endocuticule (EnC), Epithélium (Epi), Muscles longitudinaux interne (MLI), Muscles circulaires (MC). **Fixation** : Bouin aqueux. **Coloration** : Azan de Heidenhein (A) et (C), Mallory (B).

### III.6.2.1.2 Stomodeum traité avec TIM14 (Fig.73)

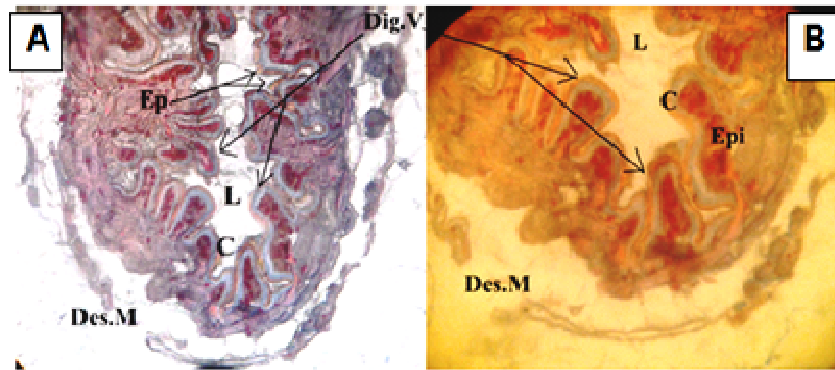
Au niveau de l'intestin antérieur traité par **TIM14**, nous avons observé une disparition des villosités, une altération totale de l'épithélium, une déchirure des muscles, une réduction de la musculature et une destruction quasi-totale de la cuticule. Le stomodeum a bien été affecté par la souche **TIM 14**. La figure 73 montre la section du stomodeum d'*Acrida turrita* traité par *B. thuringiensis*, souche **TIM 14**



**Fig.73 Stomodeum d'*Acrida turrita* traité par la souche TIM 14 de *B. thuringiensis*.** A : vue d'une portion de stomodeum en coupe transversale (Grossissement Grx 160) : Lumière (L), Bol alimentaire (BA), Altération des villosités (Alt.V), Muscles circulaires (MC), Ouverture des muscles (Ov.Mus). B : détail d'une portion de stomodeum ((Grossissement Grx 250) : Lumière (L), Disparition des villosités (Disp.V), Altération de l'épithélium (Alt.Epi), Réduction des muscles. **Fixation** : Bouin aqueux. **Coloration** : Azan de Heidenhein.

- **Stomodeum traité avec FR4 (Fig.74)**

Au niveau de stomodeum, nous avons observé une disparition des muscles provoquant une digitation des villosités et causant une réduction de la lumière intestinale. La cuticule et l'épithélium restant intacts. La souche **FR 4** a bien un impact sur l'intestin antérieur d'*Acrida turrita*. La figure 74 montre la section du stomodeum d'*Acrida turrita* traité par *B. thuringiensis*, souche **FR 4**.

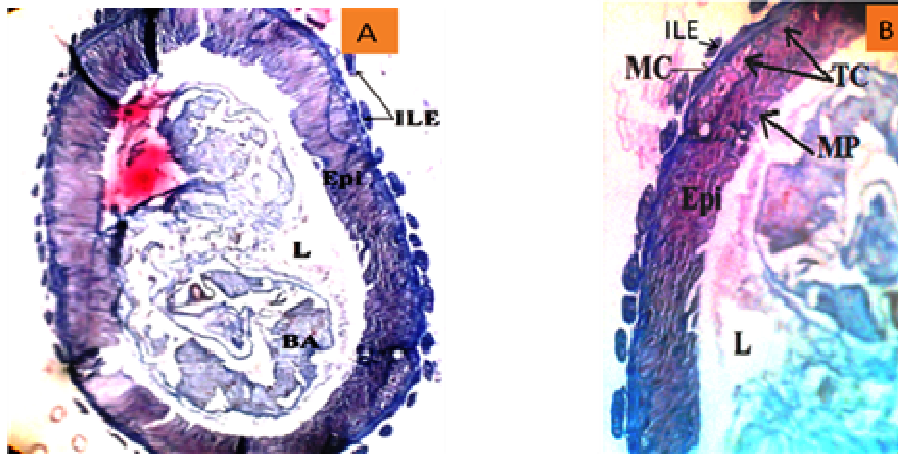


**Fig.74 Stomodeum d'*Acrida turruta* traité par la souche FR 4 de *B. thuringiensis*.**  
**A** : vue d'ensemble de stomodeum en coupe transversale ((Grossissement Grx 100) : Lumière intestinale réduite (L), Disparition des Muscles (Disp.Mus), Digitation des villosités (Dig.V). **B** : détail d'une portion de stomodeum ((Grossissement Grx 250) : Lumière intestinal réduite (L), Destruction quasi-totale et détachement des Muscles (Des.Mus), Digitation des villosités (Dig.V), Cuticule (C), Epithélium (Epi). Fixation : Bouin aqueux. Coloration : Azan de Heidenhein.

### III.6.2.2 Mésentéron

#### III.6.2.2.1 Mésentéron témoin (Fig.75)

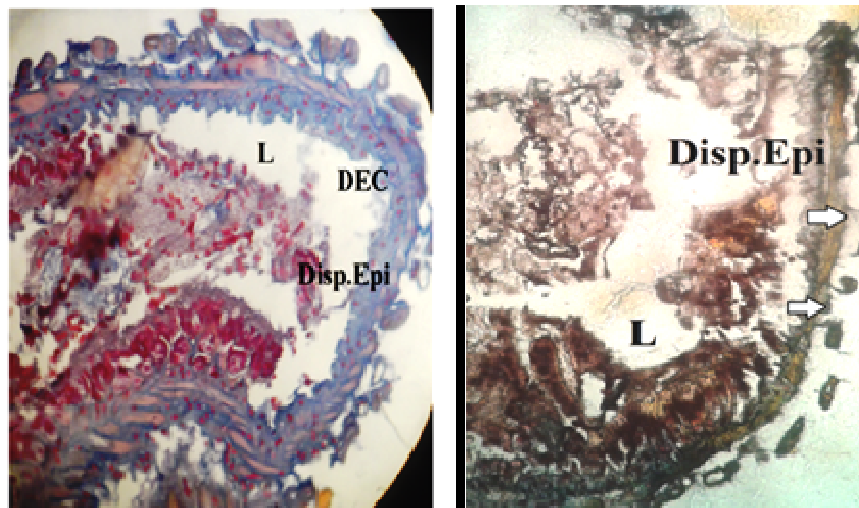
L'intestin moyen présente un aspect histologique très différent du stomodeum .Il a une forme allongée, constituée d'une lumière large. L'épithélium est pseudo-stratifié, les cellules basales représentent des cryptes de régénération. L'épithélium est soutenu par un tissu conjonctif et une musculature réduite. Une couche circulaire interne et des ilots longitudinaux externes sont également observés. L'intestin moyen se distingue du stomodeum par l'absence de la cuticule. Le bol alimentaire est entouré par la membrane péritrophique. La figure 75 montre la section du mésentéron d'*Acrida turruta* témoin.



**Fig.75 Coupe transversale du mésentéron d'*Acrida turruta* témoin.** A : vue d'ensemble de mesenteron en coupe transversale ((Grossissement Grx 100). Lumière (L), Bol alimentaire (BA), Epithélium (Epi), Ilots longitudinaux externe (ILE). B : détail d'une portion de mésentéron ((Grossissement Grx 250). Lumière (L), Membrane péritrophique (MP), Epithélium (Epi), Muscles circulaires (MC), Ilots longitudinaux externe (ILE). Fixation : Bouin aqueux. Coloration : Mallory

#### III.6.2.2.2 Mésentéron traité avec TIM14 (Fig.76)

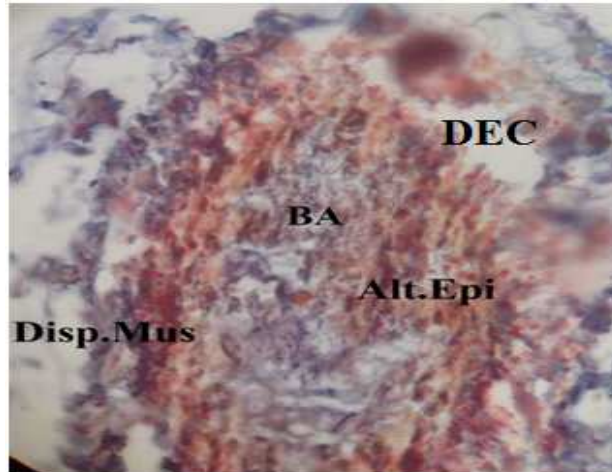
Au niveau de l'intestin moyen, nous avons observé une destruction spectaculaire des cellules épithéliales, une disjonction épithélio-conjonctive et une réduction de la musculature. La souche **TIM 14**, a en effet, eu un impact sur l'intestin moyen d'*Acrida turruta*. La figure 76 montre la section du mésentéron d'*Acrida turruta* traité par *B. thuringiensis*, souche **TIM 14**.



**Fig.76 Mésentéron d'*Acrida turruta* traité par la souche TIM14 de *B. thuringiensis*.** A : vue d'une portion de mésentéron en coupe transversale ((Grossissement Grx 160). Lumière (L), Disparition de l'épithélium (**Disp. Epi**), Disjonction épithéliaux conjonctive (**DEC**). B: détail d'une portion de mésentéron ((Grossissement Grx 250). Lumière (L), Disparition des cellules épithéliales (**Disp. Epi**), Réduction de la musculature. **Fixation** : Bouin aqueux. **Coloration** : Azan de Heidenhein.

**III.6.2.2. 3 Mésentéron traité avec FR4 (Fig.77)**

Au niveau de l'intestin moyen, nous avons observé une disparition totale des muscles, une altération de l'épithélium et une disjonction épithéliaux-conjonctive. La souche **FR 4** a été délétère sur le mésentéron d'*Acrida turrita*. La figure 77 montre la section du mésentéron d'*Acrida turrita* traité par *B. thuringiensis*, souche **FR 4**.

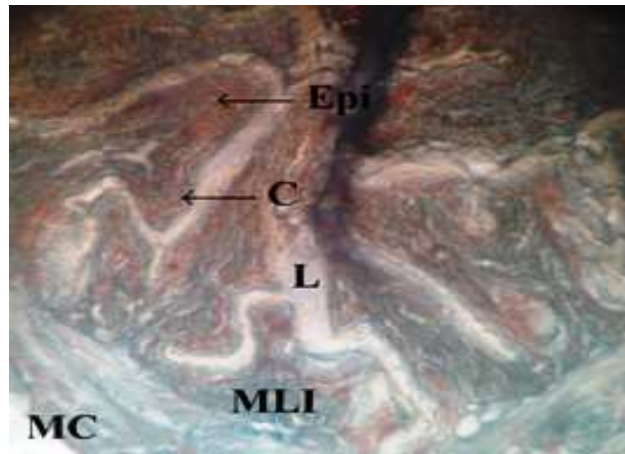


**Fig.77 Mésentéron d'*Acrida turrita* traité par la souche FR4 de *B. thuringiensis*.** Vue d'une portion de mésentéron de en coupe transversale ((Grossissement Grx 100) : Bol alimentaire (**BA**), Altération de l'épithélium (**Alt.Epi**), Disjonction épithéliaux conjonctive (**DEC**), Disparition des muscles (**Disp.Mus**). **Fixation** : Bouin aqueux. **Coloration** : Azan de Heidenhein.

**III.6.2.3 Proctodeum**

**III.6.2.3.1 Proctodeum témoin (Fig.78)**

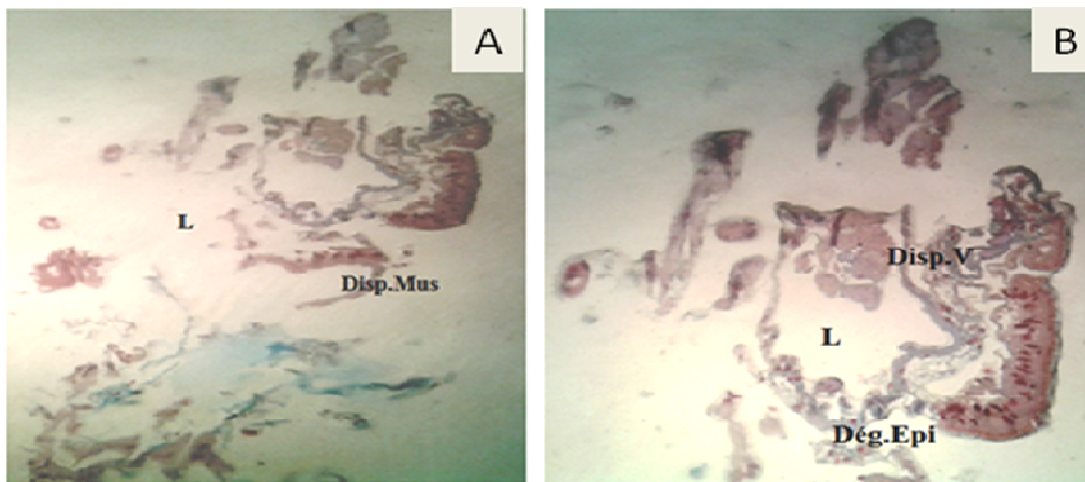
L'intestin postérieur d'*Acrida turrita* a une forme arrondie avec une lumière réduite et irrégulière. Il présente des villosités aplaties disposées de façon irrégulière surmontées d'une cuticule épaisse. Nous observons également des amas de 4 à 6 cellules basales au niveau des creux des villosités. Ces cellules sont dites de régénération. Nous avons également observé des muscles longitudinaux internes et une couche circulaire externe. La figure 78 montre la section du proctodeum d'*Acrida turrita* témoin.



**Fig.78 Coupe transversale du proctodeum d'*Acrida turruta* témoin .** vue d'ensemble de proctodeum en coupe transversale ((Grossissement Grx 100). Lumière (L), Muscles circulaires (MC) Fixation : Bouin aqueux. Coloration : Mallory.

### III.6.2.3.2 Proctodeum traité avec TIM14 (Fig.79)

Au niveau de l'intestin postérieur traité par **TIM14**, nous avons observé une disparition spectaculaire des muscles et des villosités, une dégradation de la cuticule et de l'épithélium et une lyse du tissu conjonctif. La souche **TIM14** est délétère sur cette partie du tube. La figure 79 montre la section du proctodeum d'*Acrida turruta* traité par *B. thuringiensis*, souche **TIM 14**.

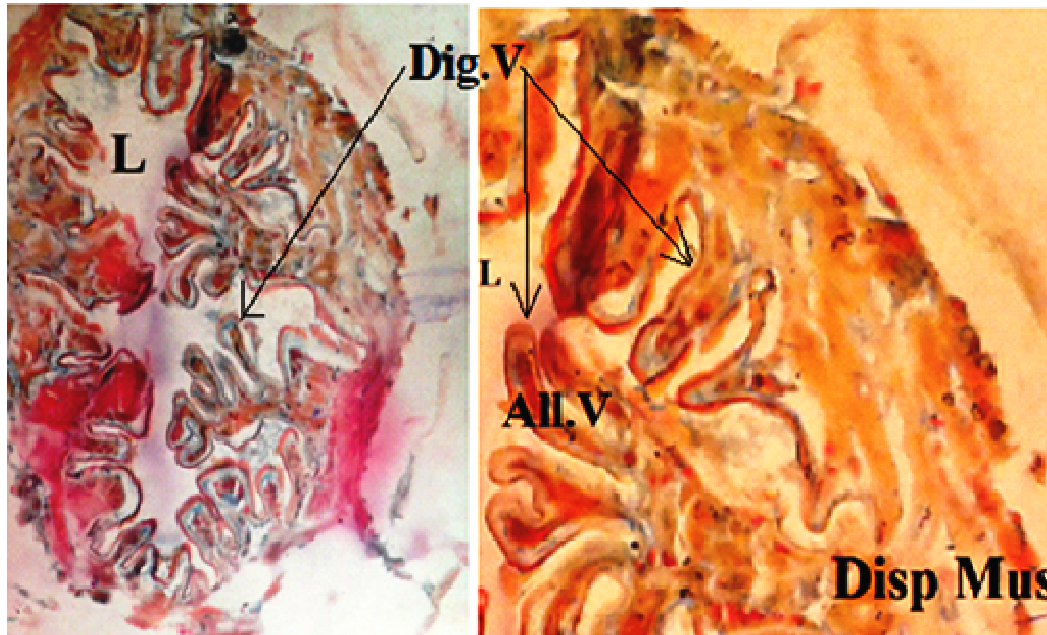


**Fig.79 Proctodeum d'*Acrida turruta* traité par la souche TIM 14 de *B. thuringiensis***  
A : vue d'ensemble de proctodeum en coupe transversale ((Grossissement Gr x 160). Lumière (L), Disparition des muscles (Disp.Mus). B : détail d'une portion de proctodeum ((Grossissement Gr x 250). Lumière (L), Dégradation de l'épithélium (Dég.Epi), Disparition des villosités (Disp.V). Fixation : Bouin aqueux. Coloration : Mallory.Dose  $10^8$  Spores/ml



### III.6.2.3.3 Proctodeum traité avec FR4 (Fig. 80)

Au niveau de l'intestin postérieur, nous avons observé une disparition totale des muscles, un allongement des villosités et élargissement de la lumière intestinale. Nous avons noté particulièrement une déformation spectaculaire de la forme des villosités transformées en villosités digitées et ce à cause de la disparition des muscles qui les soutenaient. La souche **FR 4** a en effet un impact sur le proctodeum d'*Acrida turrita*. La figure montre la section du proctodeum d'*Acrida turrita* traité par *B. thuringiensis* souche **FR 4**.



**Fig.80** Proctodeum d'*Acrida turrita* traité par la souche **FR4** de *B. thuringiensis*.

**A** : vue d'ensemble de proctodeum en coupe transversale (Gr 10x 10). Lumière intestinale large (L), Digitation des villosités (Dig.V), Disparition des muscles (Disp. Mus),  
**B** : détail d'une portion de proctodeum ((Grossissement Grx 400). Lumière intestinal large (L), Allongement des villosités (All.V), Disparition des muscles (Disp. Mus),  
Fixation : Bouin aqueux. Coloration : Azan de Heidenhein.

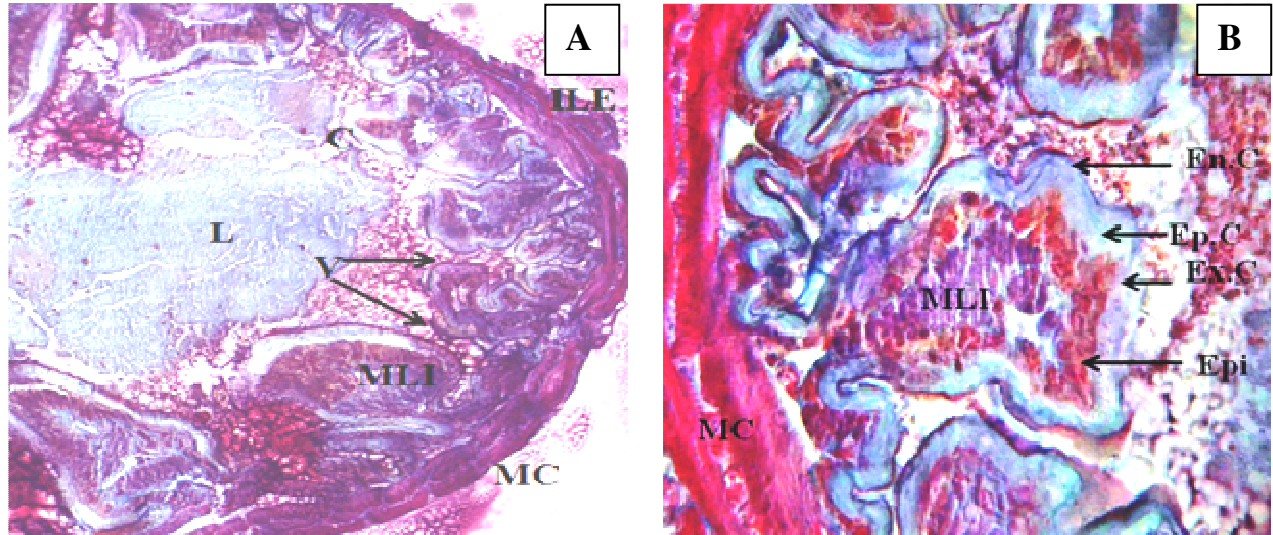
### III.6.2.4 Utilisation de TIM14 à forte dose : $10^8$ spores/ml

#### III.6.2.4.1 Stomodeum

##### III.6.2.4.1.1 Stomodeum témoin :

la figure 81 montre la section du stomodeum d'*Acrida turrita* témoin. *Acrida turrita* présente une lumière large. L'épithélium est uni-stratifié cubique avec des noyaux arrondis centraux. Les villosités irrégulières sont nombreuses et grandes, présentant deux types ; simples et composés. La cuticule entoure l'épithélium et est formée par

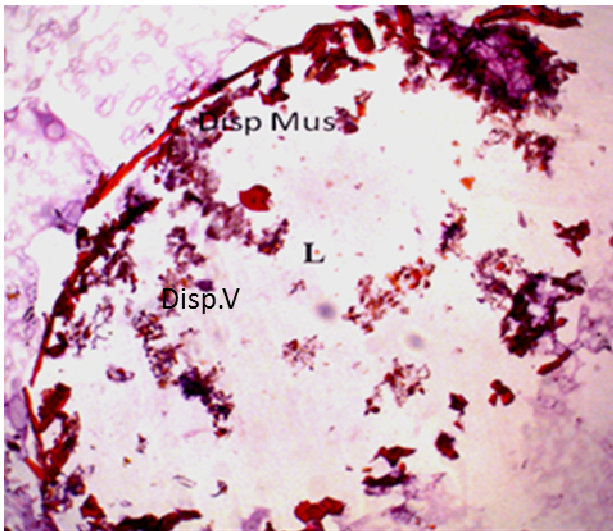
trois couches ; l'épicuticule, l'exocuticule et l'endocuticule . La gaine musculaire est très développée, constituée successivement d'une couche longitudinale interne qui soutient les villosités, d'une couche circulaire externe développée, et de rares faisceaux de muscles longitudinaux externes.



**Fig.81 Coupe transversale du stomodeum d'*Acrida turrita* témoin A:** vue d'une portion de stomodeum en coupe transversale ((Grossissement Grx 100). Villosités (V), lumière (L), cuticule (C), muscles circulaires (MC), muscles longitudinaux internes (MLI), îlots longitudinaux externe (ILE). **B:** détail d'une portion de stomodeum ((Grossissement Grx 400). Epithélium (Epi), Epicuticule (EpC), Endocuticule (EnC), Exocuticule (ExC), Muscles circulaires (MC), Muscle longitudinaux interne (MLI). **Fixateur :** Bouin aqueux. **Coloration :** Azan de Heidenhein

#### III.6.2.4.1.2 Stomodeum traité avec TIM14 ( $10^8$ spores/ml) (Fig.82)

La figure 82 montre la section du stomodeum d'*A.turrita* traité par *Bacillus thuringiensis*, souche TIM 14. L'observation sous microscope au Gr x100 des coupes histologiques du stomodeum traité à la souche TIM14 montre des modifications spectaculaires représentées par la destruction totale des villosités, une altération totale de l'épithélium une réduction de la musculature et une destruction quasi-totale de la cuticule. Le stomodeum a bien été affecté par la souche TIM14 à  $10^8$  spores/ml.



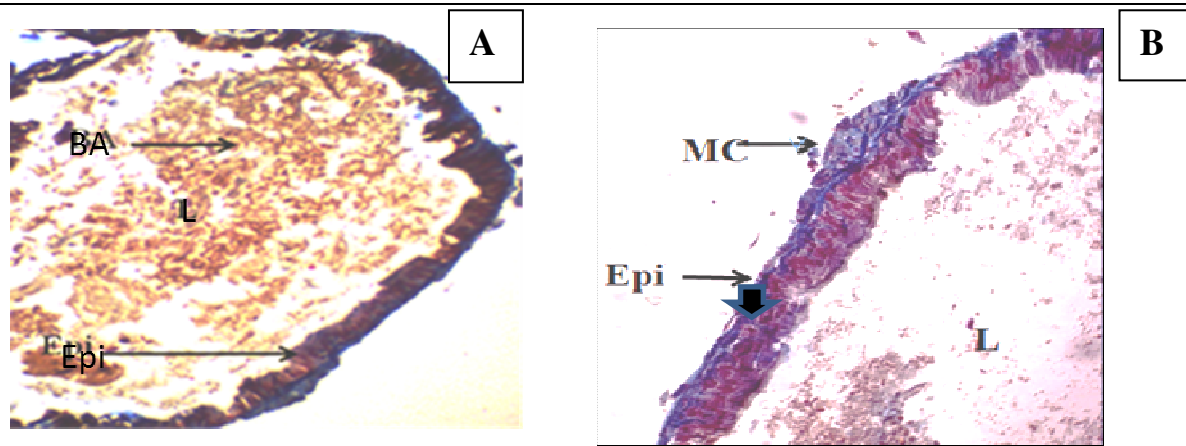
**Fig.82 Stomodeum d'*Acrida turruta* traité par la souche TIM 14 à  $10^8$  spores /ml** ((Grossissement Grx 100) Lumière (L), disparition des villosités (Disp V), muscles circulaire (MC). Fixateur : Bouin aqueux. Coloration : Mallory.

#### III.6.2.4.2 Mésentéron

##### III.6.2.4.2.1 Mésentéron témoin (Fig.83)

L'intestin moyen présente un aspect histologique très éloigné du stomodeum. Sa section arrondie avec une lumière large contenant des aliments plus ou moins digérés et des villosités typiques. L'épithélium est pseudo -stratifié, formé de cellules palissadiques, à plateau strié au pôle apical. Leurs noyaux volumineux sont médians ou apicaux et allongés suivant la longueur de la cellule. Les cellules basales représentent des cryptes de régénération.

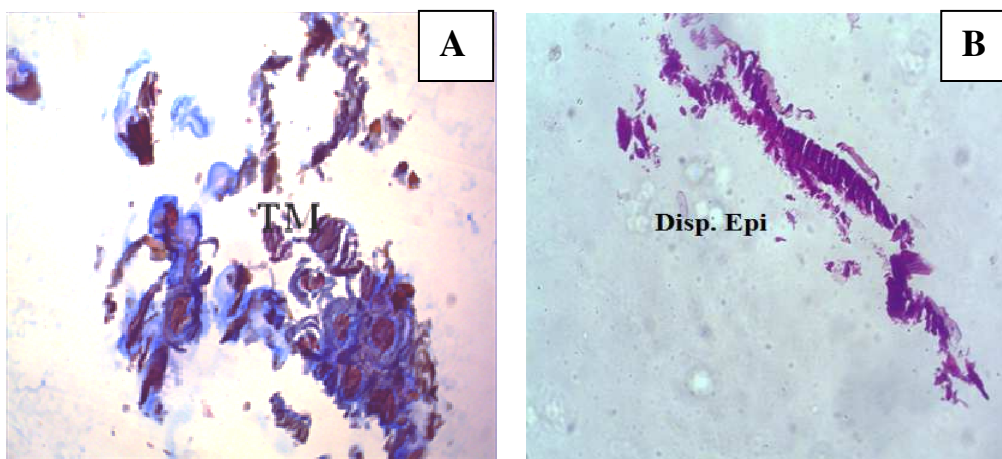
L'épithélium est soutenu par un tissu conjonctif et une musculature réduite ; une couche circulaire interne et des ilots longitudinaux externes. L'intestin moyen se distingue du stomodeum par l'absence de la cuticule et par ses villosités typiques. La figure 83 montre la section du mésentéron de : *A. turruta* témoin.



**Fig.83 Coupe transversale du mésentéron d'*Acrida turrita* témoin. A:** vue d'une portion de l'intestin moyen en coupe transversale. Lumière (L), épithélium (Epi), bol alimentaire (BA) ((Grossissement Grx 400). **B:** Détail d'une portion de l'intestin moyen ((Grossissement Grx 100). Epithélium (Epi), muscles circulaires (MC), lumière (L). **Fixateur :** Bouin aqueux. **Coloration :** Azan de Heidenhein (A, B) **Dose :**

#### III.6.2.4.2.1.2 Mésentéron traité avec TIM14 (Fig.84)

Au niveau de l'intestin moyen, nous avons observé la destruction totale des cellules épithéliales, la réduction de la musculature et de la disjonction épithélio-conjonctive. La souche TIM14 semble avoir un impact sur l'intestin moyen d'*Acrida turrita*. La figure 84 montre la section du mésentéron de *Acrida turrita* traité par *Bacillus thuringiensis* souche TIM 14 à  $10^8$  spores/ml

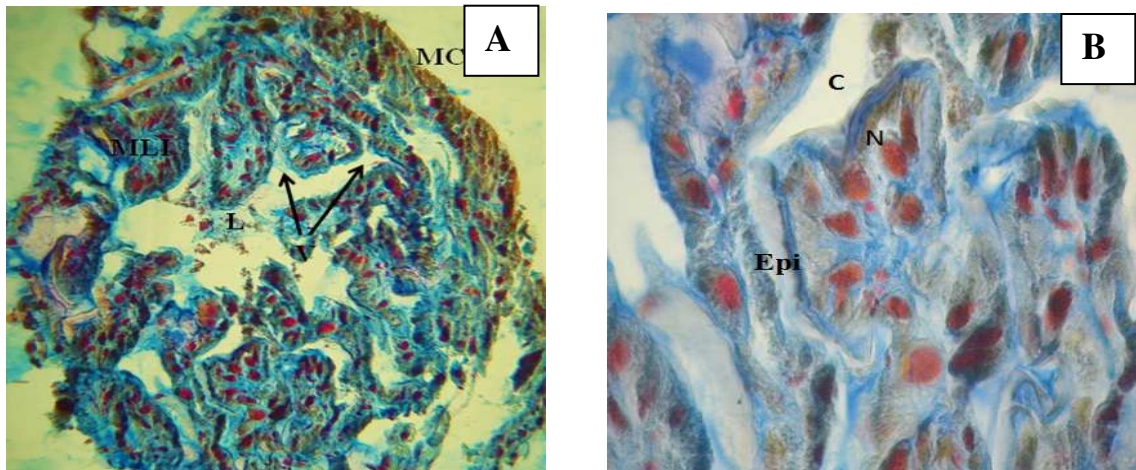


**Fig.84 Mesenteron d'*Acrida turrita* traité par la souche TIM 14 A :** vue d'une Coupe transversale du mesenteron d'*Acrida turrita* traité avec TIM14 ((Grossissement Grx 100). Disparition des cellules épithéliales (Disp. Epi), Tubes de Malpighi (TM) **B:** observation de la destruction des cellules épithéliales (Gr  $\times 100$ ). Disparition des cellules épithéliales (Disp.Epi). **Fixateur :** Bouin aqueux. **Coloration :** l'Azan de Heidenheim (A) ; Mallory (B). **Dose :**  $10^8$  spores/ml

### III.6.2.4.3. Proctodeum

#### III.6.2.4.3.1 Proctodeum témoin (Fig.85)

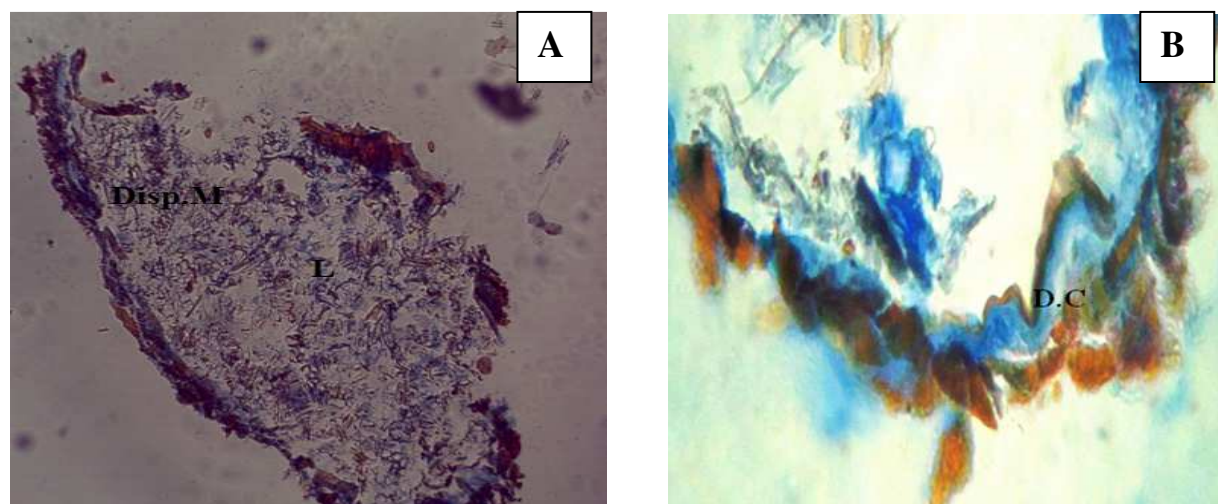
La section du proctodeum de *Acrida turrita* témoin montre une forme arrondie avec une lumière réduite et irrégulière. L'épithélium est unistratifié à cellules palissadiques. Les cellules possèdent des noyaux volumineux, ovoïdes. Le proctodeum présente des villosités aplatis disposés de façon irrégulière. Nous observons également des amas de 4 à 6 cellules basales au niveau des creux des villosités; ces cellules sont dites de régénération. L'épithélium du proctodeum est surmonté d'une cuticule similaire à celle du stomodeum. Nous avons également observé une musculature formée par une couche circulaire externe. La figure 85 montre la section du proctodeum de *A. turrita* témoin.



**Fig.85 Proctodeum de *Acrida turrita* témoin** **A** : vue l'ensemble de l'intestin postérieur en coupe transversale : Lumière (**L**), villosités (**V**), muscles circulaires (**MC**), muscles longitudinaux externes (Grx 100). **B**: détail d'une portion de l'intestin postérieur (Gr x 400). Epithélium (**Epi**), cuticule (**C**), noyaux (**N**). **Fixateur** : Bouin aqueux. **Coloration** : Azan de Heidenhein (**A, B**).

#### III.6.2.4.3.2 Proctodeum traité avec TIM14 $10^8$ spores/ml (Fig.86)

Au niveau de l'intestin postérieur traité avec TIM14, nous remarquons des dégradations de la cuticule et de l'épithélium, une disparition totale des villosités, une lyse du tissu conjonctif et une réduction de la musculature. La souche TIM14 à  $10^8$  spores/ml est délétère pour cette partie du tube digestif. La figure 86 montre la section du proctodeum de *A. turrita* traité par *Bacillus thuringiensis* souche TIM14 à  $10^8$  spores/ml.



**Fig.86 Proctodeum d'*Acrida turrata* traité avec *Bacillus thuringiensis* souche TIM 14 à  $10^8$  spores/ml A:** vue d'une Coupe transversale du stomodeum d'*Acrida turrata* traité par TIM 14 (Grossissement Grx 100). Disparition des muscles (**Disp. M**). **B:** détail d'une portion de proctodeum traité avec **TIM14** (Gr  $\times 400$ ). Débris cellulaire (**D.C**). **Fixateur :** Bouin aqueux (**A, B**). **Coloration :** Asan de Heidenhein

## **Chapitre IV: DISCUSSION DES RESULTATS**

Dans ce chapitre, nous reprenons les résultats trouvés dans notre étude afin de les comparer à des travaux similaires, ayant pour but d'étudier l'impact de *Bacillus thuringiensis* sur les orthoptères. Par ailleurs et compte tenu du fait du manque de littératures concernant les études de *B. thuringiensis* contre orthoptères, nous avons discuté nos résultats en faisant des comparaisons avec des études sur d'autres moyens de lutte (biologiques ou chimiques) contre orthoptères, et celles portant sur l'effet de *Bacillus thuringiensis* contre d'autres groupes d'insectes. Nous justifions également l'action de *Bacillus thuringiensis* par des travaux se basant sur la toxine de cet entomopathogène.

En effet, l'entomopathogénicité de *Bacillus thuringiensis* se démontre par le fait qu'il s'agit d'une espèce répandue dans le sol mais également dans les cadavres d'insectes (Kaelin *et al*, 1974) et dans certaines nymphes (Aldebis *et al* 1994). Cette espèce bactérienne est la plus étudiée et les programmes de sélections de souches en ont identifiées des milliers, chacune étant limitée à un ordre d'insecte précis; Lépidoptères, Coléoptères, Diptères, et Orthoptères (Feitelson, 1993 ; Sanchis *et al.*, 1995) ce qui confirme le pouvoir acridicide de certaines des souches testées. Le mécanisme est expliqué dans plusieurs travaux (Gill *et al.*, 1992 ; Yu *et al.*, 1997 ; Butko, 2003) démontrant que les toxines de *Bacillus thuringiensis* agissent comme poisons intestinaux entraînant dans un premier temps une paralysie de l'intestin causant la mort de l'insecte. Par ailleurs, en Algérie, plusieurs espèces de *Bacillus* ont été isolées à partir de nymphes des différentes espèces en causant des taux de mortalité différents selon l'espèce du genre *Bacillus* (Saiah *et al* 2010). L'action de *Bacillus thuringiensis* s'explique par la présence la delta-endotoxine qui suite à la dissolution du cristal dans un pH alcalin (Butko, 2003) est libérée et activée. Elle reconnaît un récepteur déjà la surface de la membrane des cellules de l'épithélium intestinal (Hoffman 1988). Elle forme un pore qui entraîne un déséquilibre des échanges ioniques entre la cellule et la lumière intestinale (Knowles et Ellar, 1987 ; Hôte et Whitley 1989 ; Gill *et al.*, 1992) causant une lyse cellulaire.

## IV.1 Cas de *Shistocerca gregaria* traité avec FR4 et BEC22

### IV.1.1. Cas du traitement avec FR4

L'affection de *S.gregaria* traité par FR4 se traduit par une altération au niveau des 3 parties du tube digestif. Les changements au niveau du stomodeum se manifestent par une réduction de la musculature, un regroupement des cellules épithéliales, un réarrangement de la cuticule et une irrégularité des villosités. Quant au mésentéron, l'atteinte s'est traduite par des porosités du tissu épithélial, d'une disjonction cellulaire, et de la disparition de la membrane péritrophique. Concernant le proctodeum il a été remarqué un décollement des villosités, une destruction de l'épithélium ainsi qu'une réduction musculaire. Par ailleurs, il a été constaté que la souche FR4 n'a eu aucun impact sur la cuticule, nous n'avons remarqué aucune perforation. La souche n'affecte donc pas la cuticule restée intact tel que mentionné dans la bibliographie avec la présence des 3 parties : épicuticule, exocuticule et endocuticule (Chauvin, 1938 ; Hodge, 1939 ; Grassé, 1949 ; Wiglessworth, 1972 et Raccaud Schoeller, 1980). Cependant le désordre cellulaire provoquant un désordre dans l'architecture des villosités ainsi que l'altération des cellules épithéliales a été bien noté par Hadadj et Doumandji-Mitiche (2013) suite au traitement de *Shistocerca gregaria* avec *Beauveria bassiana*. En revanche, la musculature a bien été atteinte et s'est manifestée par une remarquable réduction. Ce même constat a également été fait par Idrissi et Hermass (2008) suite à l'utilisation de *Perganum harmala* sur *Shistocerca gregaria*. De même *B.thuringiensis* var. *israelensis* a bien eu une action sur les muscles, ceci a été mis en évidence dans une culture de myotubes musculaires de rats soumis à la souche *israelensis* (Cahan *et al*, 1994). L'atteinte des muscles a également été observée chez les moustiques traités par des souches de *B. thuringiensis* (Sigh *et al*, 1986)

Nos résultats concernant le mésentéron corroborent parfaitement ceux trouvés par Quesada-Moraga et Santiago-Alvarez (2001), qui ont observé les mêmes atteintes sur les cellules épithéliales de *Dociostaurus marcanus* traité avec *Bacillus thuringiensis*, Ceci s'est traduit par une altération et une désorganisation des cellules épithéliales du mésentéron, ce qui laisse supposer qu'il y a bien eu l'action de la delta endotoxine qui aurait trouvé les récepteurs adéquats (Hoffman 1988, Van Rie 1989), suivi d'un déséquilibre intestinal (Knowles et Ellar, 1987 ; Knowles, 1994 ; Hôte et Whitley, 1989 ;



Gill *et al.*, 1992). Concernant les cellules épithéliales du stomodeum et du proctodeum, l'altération a également été observée par Boufersaoui *et al.* (2009) et Boufersaoui *et al.* (2008) et suite à l'utilisation de *B.thuringiensis* sur *Aiolopus strepens* et sur *Acrida turrita*. Cette action semble bien similaire à l'action du pesticide Tebufenozid sur *Shistocerca gregaria* (Ghomeim *et al.*, 2008)

La souche FR4 semble rassembler un ensemble d'actions retrouvées chez d'autres souches, et également certains pesticides.

### IV.1.2 Cas de BEC22

La souche BEC22 n'a eu aucun effet sur *S.gregaria*, ce qui est justifié par la littérature. En effet il s'agirait bien que la cause est le pH acide des acridiens (Lorna *et al.*1988) alors que l'action n'a lieu que dans un pH alcalin (Butko, 2003) tel que celui des autres ordres d'insectes (Lorna *et al.*,1988). Cette toxine semblerait donc bien être emprisonnée dans un cristal qui n'est dissout que dans un pH alcalin alors que l'acridien est de pH acide. Le pH acide des orthoptères pourraient donc empêcher la dissolution du cristal qui emprisonne la delta endotoxine. Celle-ci est automatiquement libérée dans un pH alcalin (Prior *et* Greathead, 1989). En outre il a été démontré qu'une souche de *B. thurigiensis* était déjà dissoute dans le liquide intestinal de *Shistocerca gregaria* cependant restait non dissoute dans celui de *Locusta migratoria* bien que les deux espèces ont un pH similaire de 5,3 (Stephan, 1992). Ce qui laisse supposer que d'autres facteurs influencent la dissolution du cristal permettant la libération de la toxine. Par ailleurs, les travaux de Bravo *et al.* (1992) ont mis en évidence la spécificité des toxines aux insectes cibles ce qui peut justifier l'inefficacité de BEC22 sur notre orthoptère. *Shistocerca gregaria* semblerait donc résister à la souche BEC22

### IV.2. Cas de *Locusta migratoria* traité avec la souche BL9

La souche BL9 n'a eu aucun effet sur le stomodeum de *L.migratoria*. En revanche 48h après le traitement avec cette même souche bactérienne le mésentéron semble avoir été affecté puisque nous avons bien noté une altération totale de l'épithélium et une

disjonction épithélio-conjonctive spectaculaire Ceci a été observé par certains auteurs tels que Boufersaoui *et al.* (2008) et Boufersaoui *et al.*(2009) qui ont testé *Bacillus thuringiensis* sur *Aiolopus strepens* et *Acrida turrita*. Les mêmes altérations cellulaires ont été notées sur les caeca gastriques avec des ouvertures de la paroi et des destructions épithéliales. Le mesentéron et les caeca gastriques ayant la même origine endodermique (Gillot, 1995) sont affectés de la même manière. Le proctodeum demeure résistant à la souche bactérienne. La cuticule n'a pas été affectée ce qui peut être expliqué par l'absence de chitinase chez BL9, cet enzyme ayant été mise en évidence chez d'autres souches de *B. Thuringiensis* (Liu *et al.*, 2002 ; Driss *et al.*, 2005 Barbosa *et al.*, 2009 ; Ghasemi *et al.*, 2011 ; Gomaa 2012).

### **IV.3 Cas de *Aiolopus strepens* traité avec FR4 et BL9**

#### **IV.3.1 Cas de FR4**

Pareillement que pour le cas de *S. gregaria*, les changements au niveau du stomodeum se manifestent par une réduction de la musculature, un regroupement des cellules épithéliales, un réarrangement de la cuticule et une irrégularité des villosités. Ces observations ont bien été notées par Haddadj et Doumandji-Mitiche 2013) suite au traitement de *Shistocerca gregaria* avec *Beauveria bassiana* Par ailleurs le mésentéron présente des perforations très visibles, une altération nette et un désordre cellulaire bien noté tel que déjà observé par Quesada-Moraga et Santiago-Alvarez (2001) dans leurs travaux se rapportant sur *Bacillus thuringiensis* contre *Dociostaurus maroccanus*.

#### **IV.3.2 Cas de BL9**

Dans ce cas, seul l'épithélium a été affecté, ce qui semble être similaire à l'action de *Beauveria bassiana* observé par hadadj et Doumandji-Mitiche (2013). La cuticule semble être résistante avec ses 3 parties bien claires (Grasse, 1949 ; Wiglessworth, 1972 et Raccaud Schoeller, 1980). BL9 est probablement dépourvue chitinase qui existerait chez d'autres souches de *B.thuringiensis* (Liu *et al.*, 2002 ; Driss *et al.*, 2005 Barbosa *et al.*, 2009 ; Ghasemi *et al.*, 2011 ; Gomaa 2012).

#### **IV.4 Cas de *Pamphagus elephas* traité avec TIM14**

Les observations du tube digestif de *P. elephas* témoin confirment bien ce qui a été observé par Boufersaoui (1970). Cependant le stomodeum des traités avec TIM14, ont montré des modifications spectaculaires représentées par une altération totale de la forme des villosités, une altération de l'épithélium et de la cuticule ainsi qu'une réduction spectaculaire de la musculature ce qui a déformé la forme générale de cette partie du tube digestif. La lumière intestinale a fini par disparaître, cela prouve qu'il y a bien eu action de *Bacillus thuringiensis* sur le relâchement de la musculature tel que déjà prouvé par des travaux antécédents portant sur l'action de *Bacillus thuringiensis* sur la culture de myotubes de rats (Cahan *et al.*, 1994). De même l'action de la souche *Israelensis* sur les muscles des moustiques (Sigh *et al.*, 1986). Ce qui semble être comparable également à l'action de *Perganum harmala* utilisée par Idrissi et Hermass (2008). En outre le mésentéron présente des altérations nettes des différentes parties le composant, ce qui corrobore parfaitement avec les travaux effectués par Quesada-Moraga et Santiago-Alvarez (2001) sur *Dociostaurus marocanus*, et qui démontrent un impact similaire sur le mésentéron suite à l'utilisation de *Bacillus thuringiensis*. Au niveau de l'intestin postérieur, nous avons remarqué des dégradations de la cuticule et de l'épithélium, une lyse du tissu conjonctif et une réduction de la musculature. Ceci qui laisse supposer que cette bactérie pourrait contenir la chitinase citée dans de nombreux travaux qui ont mis en évidence sa présence chez certaines souche de *B.thuringiensis*, nous citons (Liu *et al.*, 2002 ; Driss *et al.*, 2005 ; Barbosa *et al.*, 2009 ; Ghasemi *et al.*, 2011 ; Gomaa 2012)., notamment Gomaa qui a isolé cet enzyme de la souche de *B.thuringiensis* en 2012

## IV.5 Cas de *Anacridium aegyptium* traité avec TIM14 et GB11

### IV.5.1 Cas de TIM14

Suite au traitement de *Anacridium aegyptium* avec TIM14, les couches formant le tube digestif n'étaient plus distinctes. En effet, une totale disparition des villosités a été notée au niveau du stomodeum avec une disparition de la lumière intestinale. Une réduction voire une disparition totale de la musculature, une altération totale de l'épithélium ainsi que la destruction de la cuticule, destruction des villosités, détachement des épines, altération de l'épithélium et la cuticule. Pour certains cas la mort des individus survenait dans les heures qui suivaient le traitement. Il en est de même pour le mésentéron où nous avons noté une destruction quasi-totale de cette partie du tube digestif, l'impact a été également noté sur la partie postérieure du tube digestif. L'action fulgurante de TIM14 sur *Anacridium aegyptium* est comparable aux résultats trouvés par Quezada-Moraga et Santiago-Alvarez (2001) concernant le mésentéron. Ces derniers n'ont cependant pas traité le stomodeum et le proctodeum. L'action de la souche d'après nos résultats, était très nocive pour le mésentéron de *Locusta migratoria*

### IV.5.2 Cas de GB11

La souche GB11 de *Bacillus thuringiensis* n'a été d'aucun effet sur le stomodeum de *Anacridium aegyptium*, ce qui laisse supposer que cette souche résiste au pH acide des orthoptères, tel que indiqué dans la littérature (Prior et Greathed, 1989)

## IV.6 Cas de *Acrida turrita* traité avec FR4 et TIM14

### IV.6.1 Cas de FR4

L'action de la souche FR4 sur *Acrida turrita* a provoqué des modifications au niveau du stomodeum. Cette partie du tube digestif a subi un prolongement des villosités qui ont pris une forme digitée. Ceci pourrait être expliqué par la conséquence de l'impact sur

la musculature qui se seraient relâchés. Ce relâchement musculaire a été bien été prouvé par des études qui ont mis en évidence l'action de la souche *Israelensis* sur les myotubes de rats (Cahan *et al.*, 1994). Boufersaoui et al (2009) a observé des altérations épithéliales au niveau des cellules de la partie antérieure du tube digestif de *Acrida turrita* après le traitement avec *Bacillus thuringiensis*. La même observation a été notée lors de l'utilisation de FR4 contre *Shistocerca gregaria*. Concernant le mésentéron il a été constaté une altération totale de l'épithélium avec disparation de la lumière intestinale due à la disjonction épithélio- musculaire. Ces observations confirment ceux trouvés par Quezada-Moraga et Santiago-Alvarez (2001). Le proctodeum a présenté les mêmes modifications que celles du stomodeum en l'occurrence l'aspect digité des villosités du au réarrangement des cellules épithéliales, similaire à ceux observés par Hadadj et Doumandji-Mitiche (2013) suite au traitement avec *Beauveria bassiana* contre *Shistocerca gregaria* et relâchement musculaire noté également suite à l'utilisation de *Perganum* par Idriss et Hermass(2008).

### IV.6.2 Cas de TIM14

La souche bactérienne TIM14 a été agressive et a détruit la totalité du tube digestif de *Acrida turrita*. L'impact a été aussi efficace que celui observé chez *Anacridium aegyptium* par cette même souche. En effet, toutes les parties du tube digestif ont été détruites et ont été totalement désintégrées. L'action observée sur la musculature a été mis en évidence par certaines études (Cahan *et al.*, 1984) démontrant un impact sur les cultures myotubes de rats traités avec la souche *israelensis* de *B.thuringiensis*. L'impact a été également similaire que celui du pesticide Tebufenozonide utilisé contre *Shistocerca gregaria* (Ghoneim *et al.* 2008) où les cellules du mésentéron ont été altérées. Nous confirmons les résultats trouvés par Quezada-Moraga et Santiago-Alvarez (2001) qui ont observé les mêmes modifications au niveau du mésentéron suite à l'utilisation de *Bacillus thuringiensis* contre *Dociostaurus marocanus*. La destruction de toutes les parties du tube digestif, y compris la cuticule nous permet d'emettre l'hypothèse de la présence de chitinase chez cette souche acridienne.

## **Conclusion générale**

Ce travail nous a permis de réaliser l'étude histopathologique du tube digestif de six acridiens adultes : *Shistocerca gregaria*, *Locusta migratoria*, *Aiolopus strepens*, *Pamphagus elephas*, *Anacridium aegyptium* et *Acrida turrita*, traités avec 5 souches algériennes de *Bacillus thuringiensis* TIM14, FR4, BL9, BEC22 et GB11. Nous avons noté des modifications préjudiciables nettes décrites dans le cas des traitements avec la souche TM14. Pour d'autres souches les résultats ont montré un impact moins agressif tel que le cas de FR4. Quant à GB11 et BEC22 les résultats ont montré une inefficacité sur les espèces acridiennes traitées. Les résultats se résument comme suit :

**TIM 14** : utilisée contre *Anacridium aegyptium*, *Acrida turrita* et *Pamphagus elephas* demeure la souche affectant le plus les acridiens traités. En effet des altérations spectaculaires sur les différentes parties du tube digestif ; épithélium, muscles cuticule intestinale, villosités, ainsi que sur le tégument.

**FR4** : Utilisée contre *Shistocerca gregaria* et *Acrida turrita* s'est révélée être efficace contre ces acridiens. Cependant l'impact semble atteindre les villosités des parties antérieures et postérieures avec relâchement musculaire et désordre des villosités dû à un réarrangement cuticulaire et relâchement musculaire. Les résultats illustrent clairement les déformations spectaculaires subies par les muscles et les villosités qui deviennent plus allongées et digitées envahissant la lumière intestinale.

**BL9** : Utilisée contre *Aiolopus strepens* et *Locusta migratoria* : L'affection de cette souche semble atteindre l'épithélium intestinal qui présente par partie des altérations plus ou moins remarquées. Cependant des disjonctions épithélio-musculaires sont bien claires, ce qui pourrait entraver le bon fonctionnement du tube digestif. Nous remarquons par ailleurs des ouvertures musculaires au niveau des caeca gastriques.

**GB11** : Utilisée contre *Anacridium aegyptium* semble être sans aucun effet sur la sphère digestive de cet acridien. Les coupes histologiques des témoins et des traités ne présentent pas de différences. En effet les parties ayant été conservées même après traitement avec cette souche de *Bacillus thuringiensis*

**BEC22** : Utilisé contre *Shistocerca migratoria* n'a montré aucun impact sur cet acridien.

Nos résultats remettent en cause l'idée d'inactivité du *B. thuringiensis* chez les Orthoptères. L'intérêt est à plus d'un titre, étant donné qu'ils ouvriraient une perspective importante de la lutte biologique impliquant ce bio-insecticide contre ces criquets ravageurs qui sont l'objet d'une constante préoccupation à travers le monde.

Il serait souhaitable que ce bio insecticide soit utilisé dans la lutte biologique et aussi inciter le secteur en charge de la protection des végétaux à prendre en compte ce microorganisme dans sa stratégie de lutte contre les acridiens, fléau à l'échelle mondiale. De même il serait souhaitable de les impliquer et leur implication dans les programmes de recherches pour développer le secteur des bio-pesticides, voire même son utilisation dans la biotechnologie.

Par ailleurs, il serait intéressant que les microbiologistes étudient les souches qui ont donné des résultats prometteurs, et ce, afin de mettre en évidence les toxines impliquées ainsi que la chitinase qui aurait été la cause des destructions cuticulaires. Il serait également important de vérifier l'action de ces mêmes souches sur les auxiliaires afin de pouvoir utiliser cette bactérie sans aucun risque pour l'environnement.

---

## Références Bibliographiques

1. **ABDERRAHMANI A., 2011** -*Identification de mécanisme de biosynthèse non-ribosomique d'un nouveau lipopeptide, la kurstakine, et étude de son influence sur le phénotype de souche de Bacillus thuringiensis isolées en Algérie.* Thèse de Doctorat d'état USTHB 124p.
2. **ABOUSSAID H., EL MESSOUSSI S. et OUFDOU K., 2009**- Activité insecticide d'une souche marocaine de *Bacillus thuringiensis* sur la mouche méditerranéenne : *Ceratitis capitata* (Wied.) (Diptera : Tephritidae). 160-170p.
3. **ADJALLE K. D., 2009**- *Etapas d'ultrafiltration et procédés de formulation dans la production de biopesticides à base de Bacillus thuringiensis en utilisant des eaux usées et des boues d'épuration comme substrat.* Thèse Doc. , Université du Québec, Institut national de la recherche scientifique, 290 p.
4. **ALDEBIS H.K., VARGAS-OSUNA E., et SANTIAGO-ALVAREZ C., 1994**- Caracterization serologica de cepas de *Bacillus thuringiensis* Berliner aisladas de insectos espanoles. *Bol.San. Veg. Plagas* 20, 765-769
5. **ALLAL-BENFEKIH L., PETIT D. et DOUMANDJI-MITICHE B., 2007**- Vers une nouvelle approche d'utilisation des bactéries en lutte anti-acridienne : Premiers résultats sur l'effet de *Bacillus subtilis* sur *Locusta migratoria*. *17ème Conférence de l'Association Africaine des Entomologistes, 11-15 juin 2007, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar-Fann, Sénégal*
6. **AMARI K. et KENANE S., 2007**- *Mise en pratique de la technique histologique à l'étude des compartiments tégumentaires excréteurs et digestifs d'Aiolopus strepens (insecte acridien) contaminé par application externe de « Bacillus thuringiensis ».* Mémoire D.E.U.A., U.S.T.H.B., Alger. 32p.
7. **APPERT J. et DEUSE J., 1982**- *Les ravageurs des cultures vivrières et maraîchères sous les tropiques.* Ed. Maisonneuve et La rose, Paris. 420p.
8. **BALACHOWSKY A.S., 1951**- *La lutte contre les insectes: principes, méthodes, applications.*ed. Payot, Paris. 380p.
9. **BARBOZA-CORONA J.E., ORTIZ-RODRÍGUEZ T., DE LA FUENTE-SALCIDO N., BIDESHI D.K., IBARRA J.E. et SALCEDO-HERNÁNDEZ R., 2009**-



- Hyperproduction of chitinase influences crystal toxin synthesis and sporulation of *Bacillus thuringiensis*. *Antonie Van Leeuwenhoek* . 96(1) ,31-42.
- 10. BEKOUCHE N. et GHELLAB H., 2010-** *Contribution à l'étude de l'impact de ravageur Aiolopus strepens (Latereille, 1804) sur la biodiversité et la production végétale spontanée et agricole.* Mémoire d'Ingénieur d'état, U.S.T.H.B., Alger, 58p.
- 11. BELGUENDOZ et LAGAB 1995** -*Etude histophysiological de tube digestif comparée de deux insectes Acridiens Eurepocnemis plorans (Charp, 1775) et Acrida turrata (LINNE, 1758) avec un approche histochimique.* Mém. DES .ISN . USTHB.67p.
- 12. BELLMANN H. et LUQUET G.C., 2009-** *Guide des sauterelles, grillons et criquets d'Europe occidentale.* Delachaux et Niestlé, Paris. 383p.
- 13. BENFKIH L., 2006** -*Recherches quantitatives sur le criquet migrateur Locusta migratoria (Orth. Oedipodinae) dans le Sahara algérien. Perspectives de lutte biologique à l'aide de microorganisme pathogènes et de peptides synthétiques.* Thèse de doctorat. université de limoges France.140p.
- 14. BERGEY D.H., 2001** - *Manuel of systematic bacteriology, endospore forming.*Baltimor.p104.
- 15. BERGEY D.H., BUCHANAN R.E. et GIBBONS N. E., 1974** -*Bergey's manual of determinative bacteriology. ; American Society for Microbiology.:* Williams & Wilkins Co. Baltimore, 1974.
- 16. BERNOU et DJILLALI., 2002** - *Effet potentiel de Bacillus thuringiensis sur le tube digestif larvaire (L5) du criquet migrateur Locosta migratoria (LINNE, 1758). insecte acridien Approche histophysiological.* Mém. DES.INS.USTHB.62p.
- 17. BISSAD F.Z, YOUCEF M. et DOUMANDJI-MITICHE B., 2010-** Effet d'un champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* Var.*Acridum* sur la cuticule du criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* , Forskäl, 1775). *European Journal of scientific research*, 45(1) 55-33
- 18. BOITIER E., 2008-** *A la rencontre des orthoptères de corse.* *Stantari*. N° 148. pp.3-8.
- 19. BOIVIN, G. 1992-** *L'intégration des méthodes de lutte biologique: 1'exemple du Charancon de la carotte.* In C. Vincent et D. Coderre : *La lutte biologique.* Itée. pp.151-154.

20. **BOUCHELKIA K. et HADDAD K., 2007-** *Etude histophysiologique des sphères tégumentaire, excrétoire et digestive d'Acrida turrata (Linné, 1758), insecte Acridien, inoculé par Bacillus thuringiensis.* Mémoire D.E.U.S., U.S.T.H.B., Alger. 31p.
21. **BOUCHOUCHA et MERIDA., 2005** -*Etude histo-physiologique du tube digestif du capucin Acrida turrata, insecte Acridien infesté par Bacillus thuringiensis (la souche 35et 60), en vue de lutte microbiologique antiacridiens.* Mém. Des. ISN. USTHB. 30p.
22. **BOUFERSAOUI A., 1970.** *Anatomie et histologie de l'appareil digestif et développement post-embryonnaire de l'intestin moyen.* Thèse de Docteur 3<sup>ème</sup> cycle. Faculté des sciences de Nantes. 79p.
23. **BOUFERSAOUI A. et MATZ G., 1968-** *Etude de Pamphagus elephas (L.).* Bull. Soc. Hist. Nat. de l'Afrique du Nord. T.59. 8 p.
24. **BOUFERSAOUI A. KODJABACHE O., MEHIEDDINE Y., CHIKHI A., MATIAZ-NATECHE F. et ABDERRAHMANI A., 2008 a** - Toxicologie et lutte antiacridienne : effets de *Bacillus thuringiensis* sur *Aiolopus strepens* (Insecte, Acridien) : histopathologie digestive. *SMTCA, SFTA et STC : congrès mixte International de Toxicologie, Essaouira, Maroc.* 166 : pp.77-78.
25. **BOUFERSAOUI A., KODJABACHE O., MEHIEDDINE Y., CHIKHI A., MATIAZ-NATECHE F. et ABDERRAHMANI A., 2008 b** - Effets par contact de *Bacillus thuringiensis* sur *Aiolopus strepens* (Orthoptera, Acrididae) : histopathologie tégumentaire. *Cong. Internat. Diver. biolo. Inverté. Milieu. Agr. For., E.N.S.A., El Harrach, Alger.* p 125.
26. **BOUFERSAOUI A , ALLILECH S., GARICI Y., CHIKHI A., METIAZ-NATECHE F., ET ABDERRAHMANI A , -2009** Microbiologie et lutte : action de *Bacillus thuringiensis* sur des paramètres histologiques d'*Acrida Turrata*. , *Biotechnologie microbienne au service du développement Congrès. International .Maroc*

- 27. BOUKHECHEBA et KHELIDJ.M ,2001-** *Etude de l'espèce Bacillus thuringiensis : étude de la stabilité de 197 souche au cours de la conservation.* Mémoire DEUS. USTHB.37p
- 28. BRAVO A., HENDRICKX K., JANSENS S. et PEFEROEN M., 1992 -** Immunocytochemical analysis of specific binding of *Bacillus thuringiensis* insecticidal crystal proteins to lepidopteran and coleopteran midgut membranes. *Journal of Invertebrate Pathology. Volume 60, Issue 3, November 1992, Pages 247–253*
- 29. BRAVO A., LIKITVIVATANAVONG S., GILL S.S ET SOBERÓN M., 2011.** *Bacillus thuringiensis : A story of a successful bioinsecticide., insect Biochemistry and Molecular Biology* 41: 423-431.
- 30. BRUNET J.F., 2010-** *Rôle des facteurs physico-chimiques du microenvironnement intestinal et des boucles inter-hélicales du domaine I dans l'activité de la toxine insecticide Cry9Ca du Bacille de thuringe.* Thèse pour l'obtention du grade de Philosophiae doctor (Ph.D.), Université de Montréal, Faculté des études supérieures. 1-2p.
- 31. BUTKO P., 2003-** Cytolytic Toxin Cyt1A and Its Mechanism of Membrane Damage: Data and Hypotheses. *Appl. Environ. Microbiol.* 69,(5) ,2415-2422
- 32. CAHAN R., SHAINBERG A., MALIK Z., NITZAN Y., 1994-** Biochemical and morphological changes in rat muscle cultures caused by 28,000 mol. Wt toxin of *Bacillus thuringiensis israelensis* . *Toxicon* 32,(9), 1125-36
- 33. CASTELLA C., 2008-** *Cry1c, toxine de Bacillus thuringiensis : Analyse des récepteurs potentiels et du mode d'action sur lignées cellulaires SJ9.* Mémoire pour l'obtention du Diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes, 40p.
- 34. CEBALLOS L., 2008-** *Impacts environnementaux des plantes Bt – Résumé Partie 1 : Rapport et Résumé exécutif* Lyon.
- 35. CHAPMAN 1958-**The egg pods of some African grasshoppers (Orth.: Acridoidea). Egg pods from some African tropical grass hopper. *Soc.south. Afric.*Vol 21.

**36. CHAUF AUX. J., 1994-** *Utilisation de biopesticides contre les ravageurs des cultures. Le point sur Bacillus thuringiensis. L'environnement en France.* Edition 1994-1995.

**37. CHAUF AUX J., VINCENT S. et LERECLUS D., 1996-** *Les plantes transgéniques en agriculture : Bacillus thuringiensis : un réservoir d'insecticides.* Libbey J., Eurotext, Amazon France (ed). 144p.

**38. CHAUVIN, R., 1938-** *Anatomie et histologie du tube digestif de Schistocerca gregaria.* *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord*, 18: 488-499.

**39. CHOPARD L., 1943-** *Orthopteroïdes de l'Afrique du Nord.* Ed. Librairie La rose. Coll. Faune de l'empire Français. T.1, Paris. 450p.

**40. CIRAD., 2007-** PRIFAS Centre de Recherche CIRAD B.P. 5035 34032 MONTPELLIER CEDEX France.

**41. DAJOZ R., 1971-** *Précis d'écologie.* Dunod, Paris. 434p.

**42. DAJOZ R., 1985-** *Précis d'écologie.* Dunod, Paris. 505p.

**43. DAJOZ R., 2009-** *Précis d'écologie.* Dunod, Paris. 631p.

**44. DAMERDJI A., 2002-** Les orthoptères (Caelifère, Ensifères) en Algérie septentrionale : Répartition. *IV<sup>ème</sup> journée d'Acridologie, Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie., El Harrach, Alger.* 36 : p.21.

**45. DOUMANDJI-MITICHE B., 1995-** *Aperçu sur la systématique des orthoptères, stage de formation en lutte antiacridienne.* I.N.P.V., vol. IX, n°17-27. 10p.

**46. DOUMANDJI S.E. et DOUMANDJI-MITICHE B., 1994-** *Criquets et sauterelles (Acridologie).* Ed.O. P. U., Alger. 99p.

**47. DRABO A., 2005 -** *Évaluation de l'efficacité de deux delta-endotoxines de Bacillus thuringiensis (cry 1 ac et cry 2 ab) synthétisées par le cotonnier transgénique (coton BT) dans la gestion de la résistance de HELICOVERPA AMIGERA HUBNER) a la delthamethrine* Thèse Ing UPBD. Burkina-Faso, 59p.

**48. DREUX P., 1980-** *Précis d'écologie.* Ed, Press. Univ. France, Paris. 231p.

49. **DRISS F., KALLASSY-AWAD M., ZOUARI N., et JAOUA S., 2005-** Molecular characterization of a novel chitinase from *Bacillus thuringiensis* subsp. KURSTAKI. *Journal of Applied Microbiology*. 99 , 945-953
50. **DURANTON J.F., LAUNOIS M., LAUNOIS-LUONG M.H. et LECOQ M., 1982-** *Manuel de prospection acridienne en zone tropicale sèche*. Ed. G.E.R.D.A.T., Paris. T.I. 695p.
51. **EUZÉBY J.P., 2003-** *Dictionnaire de bactériologie vétérinaire, la spore bactérienne*. 1-5p.
52. **FEITELSON J.S., 1993-** *The Bacillus thuringiensis family tree .Advanced engineered pesticides*. Ed. Marcel Dekker , New York, pp 63-72
53. **GABE M., 1968-** *Technique histologique*. Ed. Masson et C<sup>ie</sup>, Paris. 113p.
54. **GHASEMI S., AHMADIAN G., SADEGHI M., ZEIGLER D.R., RAHIMIAN H., GHANDILI S., NAGHIBZADEH N., DEHESTANI A. , 2011-** First report of a bifunctional chitinase lysozyme produced by *Bacillus pumilus* SG2. *Enzyme and microbial technology*. . 48 (3) 225-31.
55. **GHONEIM K.S., BAKRI R.F., TANANI M.A., ALDAL A.G. et BREM A.S., 2008** – An ultrastructure on the desert locust (*Shistocerca gregaria*) as affected by Tebufenozide (RH-5992). *Inter.Journ.of agricul.and biology*. ISSN 1560-8530 10:4/9-80.
56. **GILL S.S., COWLES E.A. et PIETRANTONIO P.V., 1992-** The Mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins. *Ann. Rev. Entomol* . 37, 615-636
57. **GILLOT C., 1995** – *Entomology*. Second edition Plenum, New York 798P.
58. **GIRARD F., 2008-** *Importance de l'hélice  $\alpha 4$  et des boucles inter-helicales du domaine I dans le mécanisme de formation de pores par la toxine Cry 1Aa du Bacille de thuringe*. Thèse de Doctorat, Montréal . 179p.
59. **GOMAA E.Z., 2012-** Chitinase production by *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus licheniformis*: Their potential in antifungal biocontrol .*The journal of Microbiology* . 50 (1) 103-11.
60. **GRASSE P.P., 1949-** *Traité de zoologie, anatomie, systématique biologique* .Ed. Masson et Cie. Tome IX. paris.1117p.

- 61. GREATHEAD D.J., KOOJMAN C., LAUNOIS-LUONG M.H. et POPOV G.B., 1994-** *les ennemis naturels des croquets du sahel*. Coll. Acrid. Opération n °8. Ed. CIRAD/GERDAT/ PRIFAS , 147p.
- 62. GRY J., 1971-** *Action de la toxine soluble thermostable de Bacillus thuringiensis sur la croissance et le développement du criquet migrateur Africain Locusta migratoria migratoricides (R. et F.) (Orthoptera, Acrididea)*. Thèse de Doctorat 3eme cycle en biologie animale. 109p.
- 63. HADDADJ F. et DOUMANDJI-MITICHE B., 2013-** Effet du champignon entomopathogene *Beauveria bassiana* sur la cuticule du criquet pelerin *Shistocerca gregaria* (Orthoptera : Cyrthacantacridinae). *Entomol. Generalis*, 34(3) 207-214
- 64. HALOUANE F., BENZARA A., DOUMANDJI-MITICHE B., et BOUHACEIN M., 2001-** Effet de deux entomopathogènes, *Beauveria bassiana* et *Metarhizium flavoviride* (Hyphomycètes, *Deuteromycotina*) sur l'hémogramme des larves de 5<sup>ème</sup> stade et des adultes de *Locusta migratoria migratorioides* (Orthoptera: Acrididae). *Journal of Orthoptera Research*. 10(2) 331-334.
- 65. HAMADI K., SAIDI M., BACHOUCHE M., DAHMANI S., KADI S., NATECHE F., DJENANE Z., et BOUFERSAOU A., 2014** – Contribution à l'étude histopathologique d'une souche locale de *Bacillus thuringiensis* sur le tube digestif de *Aiolopus strepens* (Latreille, 1804)(Orthoptera, Acrididae). 40<sup>ème</sup> Anniv. USTHB.
- 66. HELASSA N., 2008** - *Devenir de la protéine insecticide Cry1Aa issus de Bacillus thuringiensis (Bt) dans le sol*. Thèse de doctorat en sciences Agronomiques), Montpellier, 178p.
- 67. HODGE C., 1939** -The anatomy and histology of the alimentary. Tract of *locusta migratoria* L. (orthoptère, Acrididae). *Journal of morphology* Vol. 64, N°3, P375-399.
- 68. HOFFMAN H., VANDERBRUGGEN H. , HÖFT H., VAN RIE J. , JANSSENS S., et VAN H., 1988-** Mellaert specificity of *Bacillus thuringiensis* delta endotoxins is correlated with the presence of high affinity binding sites in the

- brush border membrane of target insect midguts. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 85 7844-7848
- 69. HOFTE H. et WHITELEY H. R. 1989-** Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis*. *Microbiol. rev* 53: p242-255.
- 70. IBRAHIM N. G., MATTHEW J. et LEE A. B., 2010-** *Bacillus thuringiensis* a genomics and proteomics perspective. *Bioengineered Bugs* Volume 1, Issue 1, pages 31-50
- 71. IDRISSE HASSANI L. M. et HERMAS J. 2008-** Effects of *Peganum harmala* L. (*Zygophyllaceae*) feeding on the digestive track of the migratory locust *Schistocerca gregaria* Forsk. (Orthoptera, Acrididae). *Zool. baetica*, 19, 71-84
- 72. JOUNG K. et COTE J. C., 2000** - A review of the environmental impacts of the microbial insecticide *Bacillus thuringiensis*. *Technical bulletin*, N°29, Canada
- 73. KAELIN P., MOREL P. et GADANI F., 1974-** Isolation of *Bacillus thuringiensis* stored tobacco and *Lasioderma serriocorne* (F.). *Appl. Environ. Microbiol.* 60, 19-25
- 74. KHEDER F. Z. et OUAGAGUI G., 2008-** *Mise en pratique de la technique histologique à l'étude de stomodeum et tégument d'Aiolopus strepens contaminé par application externe de Bacillus thuringiensis*. Mémoire D.E.U.S., U.S.T.H.B., Alger. 22p.
- 75. KITNAMORTI T., RATHINAM, X., et SUBRAMANIAM S. 2011-** Novel isolation and characterization techniques for *Bacillus thuringiensis* strains from the cabbage growing area in Cameron Highlands Malaysia. *African Journal of Microbiology Research*, 5(20), 3343-3350
- 76. KNOWLES B. H., 1994-** Mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* insecticidal delta endotoxins. *Adv. insect. physiol.* 24, 275-308
- 77. KNOWLES B. H., et ELLAR D. J., 1987** - Colloid osmotic lysis is a general feature of the mechanism of action of *Bacillus thuringiensis* delta endotoxins with different insect specificity. *Biochim. Biophys. Acta* .924, 509-518

- 78. LABEYRIE V., 1977-** *Comportement des insectes et milieu trophique.* N°265 , Ed.CNES, Paris. 493p.
- 79. LACOURSIÈRE J.O. et BOISVERT J., 2004 -** *Le Bacillus thuringiensis israelensis et le contrôle des insectes piqueurs au Québec.* Thèse de Doctorat, Université du Québec à Trois –Rivières, Canada. 14 - 21p.
- 80. LAUNOIS-LUONG M.H., 1976-** Méthode d'étude dans la nature du régime alimentaire du criquet migrateur *Locusta migratoria.capito* (Saussure). *Ann. Zoo. Ecol. Anim.*, Vol. 8, n°1. pp.25-32.
- 81. LAUNOIS –LUONG M.H., LAUNOIS M. et RACHADI T., 1988 -** *Lutte chimique contre les criquets du Sahel.* CIRAD, coll Acrid.Operat 3 , 83p.
- 82. LAZARE, K., HAUBRUGE, E., DESTAIN, J., THONART, P., LIENARD, V. et GASPARD, C. 1996.** Utilisation de *Bacillus subtilis* comme insecticide à l'égard de *Drosophila melanogaster* (MEIGEN). *Med. Fac. Landbouwen, Univ. Gent.* 61/3a, Belgique, pp. 887-893.
- 83. LE BERRE J.R., ROUSSILHON C. et LAUGE G., 1977-** Activité alimentaire d'une souche de *Locusta migratoria* soumis à diverses conditions d'élevage. *Ann. Zoo. Ecol. Anim.*, N° 9, vol.4. pp.615-625.
- 84. LE GALL P. et GILLON Y., 1989-** Partage des ressources et spécialisation trophique chez les acridiens (Insecta, Orthoptera, Acridomorpha) non graminivores dans la savane pré-forestière (Lamto, côte d'Ivoire). *Acta.Oecol., Oecol. Gener.*, Vol.10. pp.51-74.
- 85. LE GALL P., 1989-** Choix des plantes nourricières et la spécialisation trophique chez les Acridoïdea (Orthoptera). *Bull. Ecol. O.R.S.T.O.M.*, Vol.20, n°3. pp.245-261.
- 86. LECOQ M., 1978-** Biologie et dynamique d'un peuplement acridien de zone soudanienne en Afrique de l'Ouest. (Orthoptera, Acrididae). *Ann. soc. ent. Fr.*, 14 (4)
- 87. LECOQ M., 1988 -** *Les criquets du Sahel.* Ed. CIRAD. France 125p
- 88. LERECLUS D. et CHAUFaux J., 1986-** *Etat actuel de la lutte biologique à l'aide de Bacillus thuringiensis : Ce bioinsecticide permet-il demain d'atteindre le Doryphore.* 19p.



89. LIU M, CAI Q.X, LIU H.Z., ZHANG B.H., YAN J.P. et YUAN Z.M., 2002- Chitinolytic activities in *Bacillus thuringiensis* and their synergistic effects on larvicidal activity. *Journal. of applied Microbiology* , 93 , 374-379
90. LORNA J., MEAD G., KHACHATOURIANS G. et JONES A., 1988 – Microbial ecology of the gut in laboratory stocks of migratory grasshopper *Melanoplus sanguinipes* (Fab.)(Orthoptera: Acrididae. *Applied and Environmental Microbiology* P. 1174-1181
91. LOUVEAUX A., 1977. Capacité de régulation de la prise de nourriture et du développement des larves de 5<sup>ème</sup> stade de *Locusta migratoria* M.R. et F. (Orthoptera, Acrididae) dans différentes conditions de jeûne et de température. *Ann. Nut. Alim.*, Vol. 31. pp.85-103.
92. LOUVEAUX A. et BEN HALIMA T., 1987- Catalogue des orthoptères Acridoidea d'Afrique du Nord-Ouest. *Bull. Soc. Ento. France*. Vol.91, n° 3-4. pp. 73-87.
93. LOUVEAUX A., MAINGUET A.M. et GILLON Y., 1983- Recherche de la signification des différences en valeur nutritive observée entre feuilles de blé jeune et âgées chez *Locusta migratoria* (R. F.) (Orthoptera, Acrididae). *Bull. Soc. Zool., France*. vol.108, n° 3. pp. 453-465.
94. MAKOUR Y. et MIMOUNI M., 2002- *Contribution à l'étude anatomique et histologique du tube digestif de l'imago Aiolopus strepens (insecte acridien) infesté par Bacillus thuringiensis (variété Aizawi et Israelensis). Estimation de la toxicité bactérienne.* Mémoire D.E.S., U.S.T.H.B., Alger. 37p.
95. MARTOJA R. et MARTOJA-PIERSON 1967 -*Initiation aux techniques de l'histologie animale.* Ed.MASSON et C<sup>le</sup>, 340p.
96. MASIAC Y., 2003 -*Les insectes.* Ed. De Vecchi S.A., Paris. 111p.
97. MCNEILL M.R. et HURST M.R.H. 2008- *Yersinia* sp. (mh96) – A potential biopesticide of migratory locust *Locusta migratoria* L. *New Zealand Plant Protection*, 61: 236-242.
98. MOHANDKACI, H., AIT KACI, K., DOUMANDJI- MITICHE, B. et FAZOUANE, F. 2010- Etude de l'effet de deux biopesticides sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*. *Journée nationale sur la zoologie agricole et*

forestière, Dép. Zool. Agri. For., Ecole Nationale Supérieure Agronomique ,  
El Harrach

- 99. OHBA M., 2011-** *Endospore-forming Soil Bacteria, Soil biology 27, Chapter 11 : Bacillus thuringiensis. Diversity in Soil and phyloplane. N.A. Logan and P.Ed.De Vos (eds). 215p.*
- 100. OUZZANI S., 1987-** *Etude anatomique, histologique et approche histochimique du tube digestif d'Acrida turrita (Orthoptère, Acridien).* Mémoire ISN., U.S.T.H.B., Alger, 27p.
- 101. PARIS M., 2010-** *Evolution de la résistance au bactério-insecticide chez les moustiques.* Thèse de Doctorat Université Joseph Fourier Grenoble I, Ecole doctorale chimie et science du vivant. 15.16p.
- 102. PREVOT, 1961-** *traités de la systématique bactérienne.* Ed. Dunod, TII, Paris, 771p
- 103. PRIEST F.G., GOODFELLOW M. et TODD C., 1988 -** A numerical classification of the genus *Bacillus thuringiensis*. *Jour. Microbio.* 134 : pp 1847-1882
- 104. PRIOR C. ET GREATHEAD D.J., 1989 –**Biological control of locusts : the potential for the exploitation of pathogens . *FAO plant.protect. Bull.* 37, 37-48
- 105. QUESADA-MORAGA E. et SANTIAGO-ALVAREZ C., 2001 –** Histopathological effects of *Bacillus thuringiensis* on the midgut of the Mediterranean locust *Dociostaurus maroccanus*. *Journ. of. Invertebrate pathology.* 78, 183-186
- 106. RACCAUD-SCHOLLER J., 1980 -** *Les insectes, physiologie et développement.* Ed Masson. Paris. 296p
- 107. RICHARDS O.W. et DAVIS R.G., 1977-** *IMM' General text book of entomology.* 5eme edition, volume 1. Ed. Chapman and Hall. London 418P.
- 108. ROMOSER W.S., 1998 –** *The science of entomology.* 4em ed; Mc Graw Hill companies, USA, 604P.
- 109. SAIAH F., BENDAHMANE B.S., YUCEF BENKADA M., BERKANI A. et GACEMI A. 2010-** Isolement et identification de bactéries

- entomopathogènes à partir de *Phyllocnistis citrella* Stainton 1856 dans l'Ouest algérien *Faunistic Entomology* 2011. 63 (3) 121-123
- 110. SAIDI-TOUATI M., BOUFERSAOUI A., AMARI K., KENANE S., METIAZ- NATECH F., et ABDERAHMANI A., 2008-** Impact de *Bacillus thuringiensis* sur *Aiolopus strepens*. *Toxicologie Méditerranéenne. Diversité et spécificité Perspective de lutte. Congrès Mixte International. Essaouira.*
- 111. SAIDI-TOUATI M., BOUFERSAOUI A., AMARI K., KENANE S., CHIKHI A., MATIAZ-NATECHE F. et ABDERRAHMANI A., 2008-** Effet de *Bacillus thuringiensis* sur *Aiolopus strepens* et perspectives de lutte. *Cong. Internat. Diver. biolo. Inverté. Milieu. Agr. For., E.N.S.A., El Harrach, Alger.* 160 : p.77.
- 112. SAIDI-TOUATI M.,1996-** *Bioécologie des Caelifères dans trois types de milieux à Birkhadem. Utilisation de Melia azedarach contre le genre Aiolopus Fieber,1853)(Orthoptera , Acrididae., Thèse de Magister, INA Alger , 134P.*
- 113. SAIDI-TOUATI M., NATECHE F., ABDERRAHMANI A., HAMADI K., COLAS G., BOUFERSAOUI A., DJENANE Z., HAMMANA S. et DOUMANDJI- MITICHE B., 2014 -** Histopathological effects of an algerian strain of *Bacillus thuringiensis* on the gut of *Anacridium aegyptium* ( orthoptera, Acrididae). Interest for biological control. *Int.Jour. of Bio-Technology. Research.* Vol. 4, Issue 3, pp 23-28 63,532-53
- 114. SANCHIS V., CHAUFAX J. et LERECLUS D.,1995-** Utilisation de *Bacillus thuringiensis* en protection des culture et résistance des insectes . *Cahier de l'Agriculture.* 4 ,405-406
- 115. SANSINENEA E., 2012-** *Bacillus thuringiensis* biotechnology. *Springer ed.* 11p
- 116. SANTANA M.A., MOCCIA-V C.C. et GILLIS A.E., 2008.** *Bacillus thuringiensis* improved isolation methodology from soil samples. *Journal of microbiological Methods* 75, 357-358.

117. **SIMBARA A., 1989.** *Comparaison Orthoptérologique des stations de Lere et de Same (Bamaco-Mali) et de la Mitidja (Algérie).* Mémoire d'Ingénieur Agr., E.N.S.A., El Harrach, Alger. 102p.
118. **SINGH G.J.P., SCHOUEST L.P. et GILL S.S., 1986-** Action of *Bacillus thuringiensis subsp. israelensis*  $\delta$ -endotoxin on the ultrastructure of the house fly larva neuromuscular system in vitro. *Journal of Invertebrate Pathology*,47,(2)155-166
119. **SOUALILI et LAGAB, 2001** -*Effet potentiels de Bacillus thuringiensis sur le tractus digestif larvaire du criquet pèlerin Schistocerca gregaria (FORSKAL, 1775) insecte acridien, approche histophysiologique.* Mém.DES.ISN.USTHB.26p.
120. **STEPHAN D., 1992** –*Intersuchungun zur wirkung vershiedener Bacillus thuringiensis isolates auf die Heuschreckenarten Locusta migratoria und Shistocerca gregaria* Diplomarbeit, Friedich wilhelms Univbersitat. Bonn.
121. **UVAROV B., 1966-** *Grasshoppers and Locusts.* Ed.Cambridge Univ. press. London. T.I. 481p.
122. **VAN RIE J., JANSES S., HÖFTE H., DEGHEEL D., et VAN MELLAERT H., 1990-** Receptors on the brush border membrane of the insect midgut as determinants of the specificity of *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxins. *Appl. Environ. Microbiol.* 56 , 1378-1385
123. **WIGGLESWORTH B., 1972** -*The principals of insect physiology.* Edit. seventh,London,827p
124. **YOUNG J.M., CHILCOTT C.N , BROADWLLA , WIGLEG P.J., et LECADET M., 1998-** Identification of serovars of *Bacillus thuringiensis* Berliner 1915 in New Zeland. *New Zeland journl of Crop and Horticultural science*, 26, 63-68p.
125. **YU C.G., MULLINS M.A., WARREN G.W., KOZIEL M.G. et ESTRUCH J.J., 1997.** The *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A Lyses midgut epithelium cells of susceptible insects. *Appl. Environ. Micro.* 63:532-536

**Autres references**

126. <http://www.newworldencyclopedia.org/entry/Ensifera>
127. WWW. Insecta. Org
128. **ENCARTA, 2009**-Microsoft® Encarta ® 2009 [DVD]. Microsoft Corporation, 2008. Paris.
129. **HOUSEMAN J.G., 2002**- *Les insectes, les Arthropodes dominants*. Cours de Biologie.Ottawa.  
(<http://simulium.bio.uottawa.ca/bio2525/labo/Protocoles/insecta.htm> )

## ANNEXES

Tableau 1 : Etapes suivies dans l'étude histologique

Etapes	Composition	Mode opératoire	Nbre de bains	Temps	Intérêt, résultat
Fixation: Bouin aqueux	-Solution aqueuse d'eau distillée saturée d'acide picrique.....30ml -Formol.....10ml -Acide acétique cristallisable...2ml	Immersion	1	3 à 8 jours	Le choix de «Bouin aqueux» est dû à la propriété de l'acide picrique à précipiter les protéines. Associés au Formol, la capacité de pénétration de l'acide picrique est augmentée
Déshydratations des pièces après fixation	-Alcool 70 -Alcool 95° -Alcool 100	Immersion	2 2 2	30 min 30 min 30 min	Etape préliminaire avant le paraffinage. Les bains à titre croissant afin d'éliminer l'eau des tissus à étudier, la paraffine n'étant pas miscible à l'eau.
Liquide d'attente	Butanol	Immersion	1	Plusieurs jours	Parachèvement de la déshydratation
Imprégnation à la paraffine	-Moitié butanol et moitié paraffine - Paraffine pure - Paraffine pure	Immersion	1 1 1	1h 1h 1h	La paraffine est un mélange d'hydrocarbures saturés. L'intérêt est l'obtention d'une masse homogène par pénétration petit à petit dans les tissus en remplaçant les solvants
Coulage des blocs et microtomisation	Paraffine	Verser la paraffine dans les barres de Leukart, placer l'organe selon le plan de coupe désirée à l'aide de pinces chauffées ; une étiquette de référence est placée à l'opposé de l'organe.	1	L'opération doit être rapide	Faciles à couper au rasoir. Obtention des rubans de paraffine contenant des coupes.

Étalement des coupes: Eau gélatinée	-Gélatine en poudre...0,4 - Eau distillée...100ml -Thymol....1 graine	0,4 gélatine en poudre + 100ml eau distillée chaude Refroidissement+ 1 graine de thymol	Gouttes	Quelques minutes	Pour l'étalement des rubans de coupes sur des lames disposées sur une platine chauffante.
Déshydratation de paraffine	- Toluène -Alcool 100° -Alcool 95° -Alcool 70 -Eau distillée	Immersion	2 2 2 1 1	30 min 30 min 30 min 30 min 5 min	Le toluène achève le déparaffinage. Les coupes sont hydratées
Coloration topographique et histochimique : Mallory	*Solution de fuchsine acide : - Fuchsine acide...1g - Eau distillée...100ml *Mélange de Mallory : - Bleu d'aniline....5g - Orange G....2g - Acide phosphothungstique...1g - Eau distillée..100ml *Rouge nucléaire solide : ( préparation à chaud) - Rouge nucléaire solide.....0,1g - Sulfate d'aluminium.....5g - Eau distillée....100ml ( porter à l'ébullition puis laisser refroidir et filtrer).	-Colorer à la solution de Fuchsine acide. - Egoutter à l'eau distillée. - Colorer par Mallory. - Rincer à l'eau distillée. - Déshydrater par l'alcool absolu et monter au baume de canada.	1 1 1 1 1	3min 3min	Noyau coloré en rouge sombre par Fuchsine acide, cytoplasme en rouge par l'orange G, fibres de collagène en bleu intense grâce au bleu d'aniline et les muscle en bleu.
Coloration topographique variante de l'Azan de Heidenhain	*Acide phosphothungstique : - Acide phosphothungstique 5g -Eau distillée....100ml *Bleu d'Heidenhain : -Bleu d'aniline...0,2g - Orange G.....5g -Eau distillée.....100ml -Acide acétique...1ml	-Colorer au rouge nucléaire solide -Rincer à l'eau distillée - Traiter par l'acide phosphothungstique -Laver à l'eau distillée. -Colorer par le bleu d'Heidenhain. - Rincer à l'eau distillée. -Déshydrater par l'alcool absolu et monter au baume de canada.	1 1 1 1 1 1 1 1	5min 7min 7min	Noyaux ou certains cytoplasmes sont jaunes ou gris. Le collagène et les fibres réticulaires sont bleu foncé. Mucus en bleu. Les fibres musculaires en orange marron. Les grains de sécrétion sont bleus ou rouges selon leur nature. En générale, mucopolysaccharides sont bleus.

Alcool à obtenir	Alcool à diluer								
	100	99	98	97	96	95	94	93	92
95	6,50	5,15	3,83	2,53	1,25				
90	13,25	11,83	10,43	9,07	7,73	6,41	5,10	3,80	2,84
85	20,54	19,05	17,58	16,15	14,73	13,33	11,96	10,59	9,24
80	28,59	27,01	25,47	23,95	22,45	20,95	19,49	18,04	16,61
75	37,58	35,9	34,28	32,67	31,08	29,52	27,97	26,43	24,94
70	47,75	45,98	44,25	42,54	40,85	39,18	37,53	35,89	34,27
65	59,37	57,49	55,63	53,81	52	50,22	48,45	46,70	44,85
60	72,82	70,80	68,8	65,85	64,92	63	61,10	59,21	57,33
55	88,6	86,42	84,28	82,16	80,06	77,99	75,93	73,88	71,85
50	107,44	105,08	102,75	100,44	98,15	95,89	93,64	91,41	89,19
45	130,26	127,67	125,11	122,57	120,06	117,57	115,09	112,64	110,18
40	158,56	155,68	152,84	150,02	147,22	144,46	141,70	138,95	136,23
35	194,63	191,39	188,19	185,01	181,85	178,71	175,60	172,49	169,39
30	242,38	238,67	234,99	231,33	227,70	224,08	220,49	216,90	213,33
25	308,9	304,52	300,18	295,86	291,56	287,28	283,02	278,77	274,53
20	408,5	403,13	397,79	392,47	387,17	381,9	376,64	371,40	366,16
15	574,75	567,43	560,53	553,55	546,59	539,66	532,74	525,83	518,94
10	907,09	896,73	886,4	876,1	865,15	855,55	845,31	835,08	824,86

Tableau 2 : Dilution de l'alcool absolu