

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

المدرسة الوطنية العليا للفلاحة - الحراش - الجزائر

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE AGRONOMIQUE EL HARRACH ALGER

THESE

En vue de l'obtention du Diplôme de Doctorat en Sciences Agronomiques

Spécialité : Protection des Végétaux- Zoophytatrie

Option : Entomologie appliquée

THEME

Influence de certains paramètres sur la viabilité et le développement de deux champignons entomopathogènes *Beauveria bassiana* (Vuil., 1912) et *Metarhizium anisopliae* var *acridium* (Metch., 1883). Effet sur un aspect physiologique du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae).



Présenté par : M^{me} HADJ RABIA-HADDADJ Fairouz

Soutenue le 01/07/2014

Président : M^r Doumandji S.

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

Promoteur : M^{me} Doumandji- Mitiche B.

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

Examineurs : M^{me} Mouhouche F.

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

M^{me} Sahir-Halouane F.

Professeur (U.M.B. de Boumerdes)

M^{me} Milat-Bissaad F.

Maître de conférences (U.M.B. de Boumerdes)

M^{elle} Milla A.

Maître de conférences (E.N.S.V. d'El Harrach)

DEDICACES

A la mémoire de mon oncle Chahid Mustapha ;

A la mémoire de mes grands parents ;

A la chandelle qui m'a éclairé durant toute ma vie, mes études et mon travail : ma Mère, pour sa tendresse, son inquiétude, ses sacrifices et ses encouragements.

A mon Père auquel je témoigne toute ma reconnaissance pour les sacrifices consentis.

A Mon mari Rédha qui m'a beaucoup aider, encourager et soutenu ;

A mes adorables fils YANIS et RACIM dont le sourire m'accompagne toujours ;

A Mes beaux parents pour leur soutien ;

A mes sœurs : Lynda, Mina, Meriem et Siham.

A mon unique et seul frère Mustapha.

A mes beaux-frères et belles sœurs ainsi que leurs enfants.

REMERCIEMENTS

Au terme de cette étude, il m'est très agréable d'exprimer ma profonde gratitude et d'adresser mes plus vifs remerciements, avant tout à Dieu tout puissant de m'avoir accordé la force et la patience pour accomplir ce modeste travail ainsi que ma reconnaissance envers les personnes qui m'ont aidée pour la réalisation de ce travail.

Ma reconnaissance respectueuse va d'abord à Mme Doumandji – Mitiche B. professeur et Chef de Département de Zoologie Agricole et Forestière à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach, son encadrement, son inquiétude, sa gentillesse et surtout sa modestie demeureront pour moi un très beau souvenir.

Mes remerciements vont également à Mr Doumandji S. professeur au Département de Zoologie Agricole et Forestière à l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach, pour m'avoir honorée en présidant mon jury, ainsi que pour ses conseils très précieux, ses encouragements et surtout son inquiétude.

Que Mme Mouhouche F., professeur à l'Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie d'El-Harrach, Mme Sahir-Halouane F. professeur à l'Université M'Hamed Bougara de Boumerdes, Mme Milat-Bissaad F. maître de conférences à l'Université M'Hamed Bougara de Boumerdes ainsi que Melle Milla A. maître de conférences à l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'El Harrach soient vivement remerciées pour avoir accepté de juger ce travail et d'y apporter leurs critiques.

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à tout le personnel de la station de l'I.N.P.V. d'El-Harrach, Mr Ikni, Mr Derbal, Mr Ziane & Mr Fetnassi, pour m'avoir fourni les spécimens acridiens. Ainsi que Mlle Hafsa, Mlle Amina, Mlle Yamina, Mlle Khalida ainsi que Mme Hamdi S. chef de service du laboratoire de mycologie central pour leur accueil chaleureux.

Je tiens à exprimer toute ma gratitude à mon amie Mme Zenia S. maitre assistante à l'E.N.S.V., enseignante de biostatistique pour sa disponibilité et son aide très précieuse sa disponibilité et ces sacrifices.

Que Mlle Acheuk F. maitre de conférences à l'Université M'Hamed Bougara de Boumerdes trouve ici ma sincère gratitude pour son aide, sa disponibilité et sa gentillesse pour la lecture des lames histologiques.

Je ne saurais remercier Mr Kadour R., technicien au laboratoire d'anatomopathologie, Mr Saadi A., technicien au laboratoire de parasitologie, Mr Fayçal technicien au laboratoire d'anatomie, Mlle Hiba ingénieur au laboratoire de chimie, que Mme Siham ingénieur au laboratoire de microbiologie ainsi que Mlle Faroudja et Mlle Louisa responsables du matériels à l'E.N.S.V. ;qui sans eux ce travail ne serait pas achevé.

Il m'est très agréable de remercier : Mme Sadouki pour sa gentillesse, ainsi que Mme Saada N. & Mme Benzara F. bibliothécaires au département de Zoologie pour leur gentillesse, leur sympathie et leur disponibilité, sans oublier Mme Ould Cherchali S.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance à tous ceux qui au cours de l'élaboration de cette thèse de doctorat, m'ont fournie beaucoup d'aide et m'ont témoigné leur sympathie et encouragements :

Remichi H., Saadi H., Smai A., ainsi que toutes mes amies : Amira, Farida, Meriem, Chahbar N., Mohand Kaci H.

Liste des tableaux

Tableau n°1 : Concentrations des doses utilisées pour le traitement (sp./ml).....	32
Tableau n°2 : Effet de la température et des 3 milieux de culture sur le taux % de germination <i>B. bassiana</i>	42
Tableau n°4 : Effet de la température et des milieux de culture sur le taux % de germination de <i>M. anisopliae</i>	44
Tableau n°6: Analyse de la variance relative à l'effet de la température et différents milieux de culture sur le taux de germination de <i>B. bassiana</i>	45
Tableau n°7 : Analyse de la variance relative à l'effet de la température et différents milieux de culture sur le taux de germination de <i>M. anisopliae</i>	45
Tableau n°14 : Effet de la température et des milieux de culture sur la croissance mycélienne de <i>B. bassiana</i>	46
Tableau n°15 : Effet de la température et des milieux de culture sur la croissance mycélienne de <i>M. anisopliae</i>	48
Tableau n°16 : Analyse de la variance relative à l'effet de la température et différents milieux de culture sur la croissance mycélienne de <i>B. bassiana</i>	50
Tableau n°17 : Analyse de la variance relative à l'effet de la température et différents milieux de culture sur la croissance mycélienne de <i>M. anisopliae</i>	50
Tableau n°24: Variation pondérale en milligrammes de <i>B. bassiana</i> à différentes températures et différents milieux de culture.....	51
Tableau n°26 : Variation pondérale en milligrammes de <i>M. anisopliae</i> à différentes températures et différents milieux de culture.....	52
Tableau n°28 : Analyse de la variance relative à l'évolution pondérale de <i>B. bassiana</i> à différentes températures et différents milieux de culture.....	53
Tableau n°32: Analyse de la variance relative à l'évolution pondérale de <i>M. anisopliae</i> à différentes températures et différents milieux de culture.....	53
Tableau n°36: Comportement de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> vis-à-vis de la température et des milieux de culture.....	54
Tableau n°44 : Analyse de la variance relative à l'effet de <i>M. anisopliae</i> sur la mortalité des L5 et des imagos de <i>S. gregaria</i>	58
Tableau n°51 : Probits des pourcentages de mortalités cumulées et logarithmes décimal des doses pour les L5 et les imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i>	59

Tableau n°52 : Equations des droites de régression et coefficient de corrélation et DL ₅₀ des L5 et imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i>	60
Tableau n°53 : Probits des pourcentages de mortalités cumulées et logarithmes décimaux des doses pour les L5 et les imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>M. anisopliae</i>	61
Tableau n°54 : Equations des droites de régression et coefficient de corrélation et DL ₅₀ des L5 et imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>M. anisopliae</i>	62
Tableau n°55 : Valeurs des DL ₅₀ pour les L5 et imagos de <i>S.gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	62
Tableau n°56 : Probits des pourcentages de mortalités cumulées et logarithmes décimaux des temps pour les L5 de <i>S. gregaria</i> traitées au <i>B. bassiana</i>	63
Tableau n°57 : Probits des pourcentages de mortalités cumulées et logarithmes décimaux des temps pour les imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i>	64
Tableau n°58 : Equations des droites de régression et coefficient de corrélation et TL ₅₀ des L5 de <i>S. gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i>	67
Tableau n°59 : Equations des droites de régression et coefficient de corrélation et TL ₅₀ des imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i>	67
Tableau n°60 : Probits des pourcentages de mortalités cumulées et logarithmes décimaux des temps pour les imagos de <i>S. gregaria</i> traitées au <i>M. anisopliae</i>	68
Tableau n°62 : Equations des droites de régression et coefficient de corrélation et TL ₅₀ des L5 de <i>S. gregaria</i> traités au <i>M. anisopliae</i>	71
Tableau n°63 : Equations des droites de régression et coefficient de corrélation et TL ₅₀ des imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>M. anisopliae</i>	71
Tableau n°64 : Les valeurs des TL ₅₀ pour les L5 et Imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i> aux trois doses.....	71
Tableau n°65 : Evolution du poids sec en mg de la cuticule des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par la DL ₅₀ de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i>	75
Tableau n°67 : Analyse de la variance relative à l'évolution du poids sec de la cuticule des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	76
Tableau n°71 : Quantités de chitine cuticulaire des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par la DL ₅₀ de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i>	77
Tableau n°73 : Analyse de la variance relative à la quantité de chitine cuticulaire des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	78
Tableau n°77 : Quantités de protéines cuticulaires des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par la	

DL50 de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i>	78
Tableau n°79 : Analyse de la variance relative à la quantité de protéines cuticulaire des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	80
Tableau n°83 : Gain de poids des rats témoins et traités au <i>B. bassiana</i> aux deux doses D1=1,19x10 ⁵ sp./ml et D2= 10 ¹⁰ sp./ml.....	90
Tableau n°85 : Gain de poids des rats témoins et traités au <i>M. anisopliae</i> aux deux doses D1=3,95x10 ⁷ sp./ml et D2= 10 ¹⁰ sp./ml.....	91
Tableau n°87 : Analyse de la variance concernant l'évolution pondérale des rats témoins et traités au <i>B. bassiana</i>	93
Tableau n°88 : Analyse de la variance concernant l'évolution pondérale des rats témoins et traités au <i>M. anisopliae</i>	93

Annexe

Tableau n°3 : Effet de la température et des 3 milieux de culture sur le taux % de germination <i>B. bassiana</i>	137
Tableau n°8 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD) concernant le taux de germination de <i>B. bassiana</i>	138
Tableau n°9 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD).....	138
Tableau n°10 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD)	138
Tableau n°5 : Effet de la température et des milieux de culture sur le taux % de germination de <i>M. anisopliae</i>	138
Tableau n°11 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD) concernant le taux de germination de <i>M. anisopliae</i>	139
Tableau n°12 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD).....	139
Tableau n°13 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD).....	139
Tableau n°18 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD) concernant la croissance mycélienne de <i>B. bassiana</i>	139
Tableau n°19 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	140
Tableau n°20 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	140
Tableau n°21 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD) concernant la croissance mycélienne de <i>M. anisopliae</i>	140
Tableau n°22 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	141
Tableau n°23 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	141
Tableau n°25 : Variation pondérale en milligrammes de <i>B. bassiana</i> à différentes températures et différents milieux de culture.....	141
Tableau n°29 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD) concernant la croissance pondérale de <i>B. bassiana</i>	141
Tableau n°30 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	142
Tableau n°31 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	142

Tableau n°27 : Variation pondérale en milligrammes de <i>M. anisopliae</i> à différentes températures et différents milieux de culture.....	142
Tableau n°33 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD) concernant la croissance pondérale de <i>M. anisopliae</i>	143
Tableau n°34 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	143
Tableau n°35 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	143
Tableau n°37 : % de mortalité des L5 et des Imagos de <i>S. gregaria</i> après traitement au <i>B. bassiana</i> à la dose D1: $1,46 \times 10^7$ sp /ml.....	143
Tableau n°38: % de mortalité des L5 et imagos de <i>S. gregaria</i> après traitement au <i>B. bassiana</i> à la D2 : $1,46 \times 10^6$ sp/ml.....	144
Tableau n°39 : % de mortalité des L5 et imagos de <i>S. gregaria</i> après traitement au <i>B. bassiana</i> à la D3 : $1,46 \times 10^5$ sp/ml.....	144
Tableau n°40: Pourcentage de mortalité des L5 et des Imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>M. anisopliae</i> à la D1 : $1,46 \times 10^7$ sp/ml.....	145
Tableau n°41 : Pourcentage de mortalité des L5 et des imagos de <i>S. gregaria</i> témoins et traités au <i>M. anisopliae</i> à la D2 : $1,46 \times 10^6$ sp/ml.....	145
Tableau n°42 : Pourcentage de mortalité des L5 et des imagos de <i>S. gregaria</i> témoins et traités au <i>M. anisopliae</i> à la D3 : $1,46 \times 10^5$ sp/ml.....	146
Tableau n°45 : Effet <i>B. bassiana</i> vis-à-vis des L5 et des imagos de <i>S. gregaria</i> : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	146
Tableau n°46 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	146
Tableau n° 47: Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	147
Tableau n°48 : Effet de <i>M. anisopliae</i> vis-à-vis des L5 stade et des imagos de <i>S. gregaria</i> : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	147
Tableau n°49 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	147
Tableau n°50 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	147
Tableau n°66 : Evolution du poids sec en mg de la cuticule des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i>	148
Tableau n°68 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	148
Tableau n°69 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	148
Tableau n°70 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	149
Tableau n°72 : Quantités de chitine cuticulaire des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i>	149

Tableau n°74 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	150
Tableau n°75 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	150
Tableau n°76 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	150
Tableau n°78 : Effet de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur la quantité de protéines cuticulaires.....	150
Tableau n°80 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	151
Tableau n°81 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	151
Tableau n°82 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents.....	151
Tableau n°84 : Gain de poids des rats témoins et traités au <i>B. bassiana</i>	152
Tableau n°86 : Gain de poids des rats témoins et traités au <i>M. anisopliae</i>	152

Liste des figures

Figure 1 : Cycle biologique de <i>S. gregaria</i>	5
Figure 2 : Fin de mue imaginale du criquet pèlerin <i>S. gregaria</i> (Duranton et Lecoq, 1990).....	7
Figure 3 : Anatomie du tube digestif de <i>S. gregaria</i> (Jankowiak, 2012).....	10
Figure 4 : Les limites des aires d'invasion et de rémission du Criquet pèlerin et subdivision biogéographique de son aire d'habitat. (Duranton et Lecoq, 1990).....	12
Figure 5: Situation des acridiens au nord de l'Afrique au mois de décembre 2012.....	13
Figure 6: Hyphe de <i>B. bassiana</i>	24
Figure 7: Spores de <i>B. bassiana</i>	24
Figure 8: Spores de <i>M. anisopliae</i>	24
Figure 9 : Le rat Wistar <i>Rattus norvegicus</i>	26
Figure 10: Aspect cultural de <i>B. bassiana</i>	27
Figure 11 : Aspect cultural de <i>M. anisopliae</i>	28
Figure 12 : Hotte des manipulations mycologiques.....	28
Figure 13: Elevage des rats.....	30
Figure 14 : Techniques de réalisation des coupes histologiques.....	37
Figure 15 : Gavage gastrique.....	38
Figure 16 : Injection sous cutané.....	39
Figure 17 : Cloche à éther pour sacrifier les rats.....	39
Figure 18 : Dissection des rats.....	40
Figure 19 : Organes de prélèvement.....	40
Figure 20 : Effet de la température et des 3 milieux de culture sur le taux de germination <i>B. bassiana</i>	43
Figure 21: Effet de la température et des milieux de culture sur le taux de germination <i>M. anisopliae</i>	44
Figure 22 : Effet de la température et des milieux de culture sur la croissance mycélienne de <i>B. bassiana</i>	47
Figure 23 : Effet de la température et des milieux de culture sur la croissance mycélienne de <i>M. anisopliae</i>	49
Figure 24 : Effet de la température et des milieux de culture sur l'évolution pondérale de <i>B. bassiana</i>	51

Figure 25 : Effet de la température et des milieux de culture sur l'évolution pondérale de <i>M. anisopliae</i>	52
Figure 26 : % de mortalité des L5 et des Imagos de <i>S.gregaria</i> témoins et traités au <i>B.bassiana</i> à la D1 : $1,46 \times 10^7$ sp/ml.....	55
Figure 27 : % de mortalité des L5 et des imagos de <i>S.gregaria</i> témoins et traités au <i>B.bassiana</i> à la D2 : $1,46 \times 10^6$ sp/ml.	55
Figure 28: % de mortalité des L5 et des imagos de <i>S.gregaria</i> témoins et traités au <i>B.bassiana</i> à la D3 : $1,46 \times 10^5$ sp/ml.	56
Figure 29 : % de mortalité des L5 et des Imagos de <i>S. gregaria</i> témoins et traités au <i>M. anisopliae</i> à la D1 : $1,46 \times 10^7$ sp/ml.	57
Figure 30 : % de mortalité des imagos de <i>S. gregaria</i> témoins et traités au <i>M. anisopliae</i> à la D2 : $1,46 \times 10^6$ sp/ml.....	57
Figure 31 : % de mortalité des imagos de <i>S. gregaria</i> témoins et traités au <i>M. anisopliae</i> à la D 3 : $1,46 \times 10^5$ sp/ml.	58
Figure 32 : Effet de <i>B. bassiana</i> vis-à-vis des L5 de <i>S. gregaria</i>	61
Figure 33 : Effet de <i>B. bassiana</i> vis-à-vis des imagos de <i>S. gregaria</i>	61
Figure 34 : Effet de <i>M. anisopliae</i> vis-à-vis des L5 de <i>S. gregaria</i>	62
Figure 35 : Effet de <i>M. anisopliae</i> vis-à-vis des imagos de <i>S. gregaria</i>	63
Figure 36 : DL ₅₀ pour les L5 et les imagos de <i>S. gregaria</i> traités par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> aux 3doses (D1 : $1,46 \times 10^7$ sp/ml, D2 : $1,46 \times 10^6$ sp/ml, D3 : $1,46 \times 10^5$ sp/ml).....	64
Figure 37: Evaluation des TL ₅₀ des L5 de <i>S. gregaria</i> traitées au <i>B. bassiana</i> aux trois dose.....	66
Figure 38: Evaluation des TL ₅₀ des Imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i> aux trois doses.....	67
Figure 39: Evaluation des TL ₅₀ des L5 de <i>S. gregaria</i> traitées au <i>M. anisopliae</i> aux trois doses.....	70
Figure 40: Evaluation des TL ₅₀ des Imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>M. anisopliae</i> aux trois doses.....	71
Figure 41 : TL ₅₀ pour les L5 et les imagos de <i>S. gregaria</i> traités par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> aux 3doses (D1 : $1,46 \times 10^7$ sp/ml, D2 : $1,46 \times 10^6$ sp/ml, D3 : $1,46 \times 10^5$ sp/ml).....	73
Figure 42 : Individus de <i>S. gregaria</i> infectés par <i>B. bassiana</i>	74
Figure 43 : Individu de <i>S. gregaria</i> infecté par <i>M. anisopliae</i>	75
Figure 44 : Perturbation de la mue.....	75

Figure 45 : Evolution du poids sec en mg de la cuticule des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	76
Figure 46 : Quantité de chitine cuticulaire des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	78
Figure 47 : Quantité de protéines cuticulaire des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	80
Figure 48 : Structure de la cuticule des L5 de <i>S. gregaria</i> , témoin (A) et traitées au <i>B. bassiana</i> (B) ($1,19 \times 10^5$ sp./ml) et au <i>M. anisopliae</i> (C) ($3,95 \times 10^5$ sp./ml) (Gr.x 40).....	82
Figure 49 : Coupes histologiques transversales du jabot chez les L5 de <i>S. gregaria</i> Témoins (A) et traitées au <i>B. bassiana</i> (B) ($1,19 \times 10^5$ sp./ml) et au <i>M. anisopliae</i> (C) ($3,95 \times 10^7$ sp./ml) (Coloration de Mallory) (Gr.x 40).....	84
Figure 50 : Coupes histologiques transversales du gésier chez les L5 de <i>S. gregaria</i> Témoins (A) et traitées au <i>B. bassiana</i> (B) ($1,19 \times 10^5$ sp./ml) et au <i>M. anisopliae</i> (C) ($3,95 \times 10^7$ sp./ml) (Coloration de Mallory) (Gr.x 40).....	85
Figure 51 : Coupes histologiques transversales du mésentéron chez les L5 de <i>S. gregaria</i> Témoins (A) et traitées au <i>B. bassiana</i> (B) ($1,19 \times 10^5$ sp./ml) et au <i>M. anisopliae</i> (C) ($3,95 \times 10^7$ sp./ml) (coloration de Mallory).....	87
Figure 52 : Coupes histologiques transversales du Caecum gastrique chez les L5 de <i>S. gregaria</i> témoin (A) et traitées au <i>B. bassiana</i> (B) ($1,19 \times 10^5$ sp./ml) et au <i>M. anisopliae</i> (C) ($3,95 \times 10^7$ sp./ml) (Coloration de Mallory) (Gr.x 40).....	88
Figure 53 : Coupes histologiques transversales de l'intestin postérieur chez les L5 de <i>S. gregaria</i> Témoin (A) et traitées au <i>B. bassiana</i> (B) ($1,19 \times 10^5$ sp./ml) et au <i>M. anisopliae</i> (C) ($3,95 \times 10^7$ sp./ml) (Coloration de Mallory) (Gr.x 40).....	90
Figure 54 : Gain de poids des rats témoins et traités au <i>B. bassiana</i> et aux deux doses D1= $1,19 \times 10^5$ sp./ml et D2= 10^{10} sp./ml.....	92
Figure 55 : Gain de poids des rats témoins et traités au <i>M. anisopliae</i> aux deux doses D1= $3,95 \times 10^7$ sp./ml et D2= 10^{10} sp./ml.....	93
Figure 56 : Histologie du foie chez les rats témoins (A) et traités au <i>B. bassiana</i> (B) et au <i>M. anisopliae</i> (C).....	95
Figure 57 : Histologie du foie chez les rats témoins (A) et traités au <i>B. bassiana</i> (B) et au <i>M. anisopliae</i> (C).....	96
Figure 58 : Histologie du foie chez les rats témoins (A) et traités au <i>B. bassiana</i> (B) et au <i>M. anisopliae</i> (C).....	97

Liste des abréviations

D : Dose

DL50 : Dose létale pour 50 % des individus

ET : Ecart type

Gr : Grossissement

H : Heure

Ind : Individus

I.N.P.V. : Institut National de la Protection des végétaux

J: Jour

L5 : Larve de cinquième stade

M : Moyenne

m : Mue

MC : Mortalité corrigée

MO : Mortalité observée

P : Probabilité

R : Répétition

T : Témoin

T° : Température

TL50 : Temps létale pour 50 % des individus

SOMMAIRE

Introduction.....	1
<u>CHAPITRE I</u> : DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES.....	4
I.1 Données bibliographiques sur le criquet pèlerin <i>Schistocerca gregaria</i>	4
I.1.1- Systématique et de <i>S. gregaria</i>	4
I.1.2- Caractères morphologiques.....	4
I.1.3- Cycle biologique.....	5
I.1.3.1 - Développement embryonnaire.....	6
I.1.3.2 - Développement larvaire.....	6
I.1.3.3 - Développement Imaginal.....	7
I.1.3.3 - Développement Imaginal.....	7
I.1.3.4 - L'adulte.....	8
I.1.3.5 -Maturation sexuelle.....	8
I.1.3.6 -Accouplement.....	8
I.1.3.7- Le nombre de générations.....	8
I.1.4-Rappel anatomique sur le tube digestif des acridiens.....	9
☞ Stomodeum (Intestin antérieur).....	9
☞ Mésenteron (Intestin Moyen).....	9
☞ Proctodeum (Intestin Postérieur).....	9
I.1.5-Polymorphisme phasaire.....	11
I.1.6- Aire de répartition du criquet pèlerin.....	11
I.1.7.- Importance économique et dégâts.....	13
I.1.7.1-Importance économique.....	13
I.1.7.2-Dégâts.....	14
I.1.7.2.1-Dégâts directs.....	14
I.1.7.2.2-Dégâts indirects.....	14
I.1.8- La lutte antiacridienne.....	14
I.1.8.1- Lutte préventive.....	14
I.1.8.2 - Lutte physique.....	15
I.1.8.3 - Lutte écologique.....	15
I.1.8.4 - Lutte chimique.....	15
I.1.8.5 - Lutte biologique.....	16

① Les agents pathogènes.....	16
✚ Les virus et les rickettsies.....	17
✚ Les bactéries.....	17
✚ Les protozoaires.....	17
✚ Les prédateurs et les parasites des œufs.....	17
✚ Les prédateurs et les parasites des larves et des imagos.....	17
✚ Les extraits végétaux.....	18
✚ Les champignons.....	18
I.1.8.6- Position systématique des champignons acridopathogènes.....	18
I.1.8.6.1-Production de masse.....	18
I.1.8.6.2-Technologie de formulation des champignons entomopathogènes.....	19
α)- les facteurs intrinsèques.....	20
○ la température.....	21
○ l'humidité.....	21
○ la lumière.....	22
I.1.8.6.4-Les principales mycoses.....	21
○ Mycose à <i>Beauveria</i>	22
○ Mycose à <i>Metarhiziu anisopliae</i>	22
○ Mycose à <i>Aspergillus</i>	22
○ Mycose à <i>Fusarium</i>	22
○ Mycose à <i>Mucor</i>	23
I.2- Données bibliographiques sur <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	23
I.2.1- Systématique.....	23
I.2.2- Identification.....	24
I.2.3- Morphologie.....	23
I.2.4- Mode d'infection.....	24
I.3.-Données bibliographiques sur le rat wistar.....	26
I.3.1- Classification.....	26
I.3.2- Caractéristiques et physiologie du rat wistar.....	26
I.3.3- Nutrition.....	26
I.3.3.1- Besoins nutritionnels.....	26

CHAPITRE II : Matériel et méthodes	27
II.1 - Matériel biologique.....	27
II.1.1- Les criquets.....	27
☒ <i>Schistocerca gregaria</i>	27
II.1.2- Les champignons entomopathogènes.....	27
☒ <i>Beauveria bassiana</i>	27
☒ <i>Metarhizium anisopliae var.acridium</i>	28
II.1.2.1- Multiplication et conservation.....	28
II.1.2.2- Choix du milieu de culture.....	29
II.1.3- Les rats.....	29
II.2- Méthodes.....	30
II.2.1- Caractérisation des deux champignons entomopathogènes.....	30
II.2.1.1 - Taux de germination	30
II.2.1.2- Mesure de la croissance mycélienne.....	30
II.2.1.3- Mesure de la croissance pondérale.....	31
II.3- Effet de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> sur la mortalité des larves du cinquième stade et des imagos de <i>S.gregaria</i>	31
II.3.1- Technique de traitement.....	31
II.3.1.1- Préparation de la solution entomopathogène.....	31
II.3.1.2 - Doses utilisées.....	31
II.3.1.3 - Réalisation de l'inoculation	32
II.3.2- Effet des deux champignons sur la biochimie de la cuticule des L5 de <i>S. gregaria</i>	32
II.3.2.1-Prélèvement de la cuticule.....	32
II.3.2.2- Technique de détermination chitine-protéine	33
II. 4- Etude de l'effet de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> sur l'histologie du tégument et du tube digestif des L5 de <i>S. gregaria</i>	33
II.4.1-Modes d'application des différents traitements biologiques.....	33
II.4.1.1- Par contact	33
II.4.1.2- Par ingestion.....	33
II.4.2. -Techniques de travail. :.....	34

☒ Dissection des insectes	34
☒ Fixation des pièces	34
☒ Déshydratation des pièces.....	34
☒ Imprégnation à la paraffine	35
☒ Inclusion des pièces dans la paraffine.....	35
☒ Microtomisation et étalement des coupes.....	35
☒ Déparaffinage et réhydratation	35
☒ Coloration des coupes	36
☒ Montage des coupes.....	36
II.5- Aspect toxicologique et biosécurité de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	38
II.5.1- Evaluation de la toxicité.....	38
II.5.1.1- Réalisation des inoculations	38
II.5.1.1.1- Gavage gastrique	38
II.5.1.1.2- Les injections sous cutané.....	39
II.5.2 - Réalisation des coupes histologiques.....	39
II.5.2.1- La dissection	39
II.6- Traitement des données.....	40
II.6.1- Correction de la mortalité.....	40
II.6.2- Analyse probit.....	41
II.6.3- Analyse de la variance.....	41
Chapitre III : Résultats.....	42
III.1- Caractérisation des deux champignons entomopathogènes.....	42
III.1.1- Effet de la température et des milieux de culture sur le taux de germination de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	42
III.1.2- Effet de la température et des milieux de culture sur la croissance mycélienne de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	46
III.1.3- Effet la température et des milieux de culture sur la croissance pondérale de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	51
III.2- Effet des deux champignons entomopathogènes <i>Beauveria bassiana</i> et <i>Metarhizium anisopliae</i> vis-à-vis des larves du cinquième stade et des imagos de <i>Schistocerca gregaria</i>	54
III.2.1–Mortalité.....	54

III.2.2 - DL 50.....	60
a- <i>B. bassiana</i>	60
b- <i>M. anisopliae</i>	62
III.2.3- TL 50	64
a- <i>B. bassiana</i>	64
b- <i>M. anisopliae</i>	68
III.3. Symptomatologie.....	73
III. 4- Effet des deux champignons sur la biochimie de la cuticule des L5 de <i>S.gregaria</i>	77
III.4.1- Effet sur le poids sec de la cuticule.....	76
III.4.2- Effet sur la quantité de chitine.....	77
III.4.3- Effet sur la quantité de protéines cuticulaires.....	79
III.5- Effet de <i>Beauveria bassiana</i> et de <i>Metarhizium anisopliae</i> sur la cuticule et le tube digestif des L5 de <i>Schistocerca gregaria</i>	81
III.5.1- Effet de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur l’histologie de la cuticule des L5 de <i>S.gregaria</i>	81
III.5.2- Effet de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur la structure du tube digestif des L5 de <i>S.gregaria</i>	83
III.5.2.1 Le jabot.....	83
a- Témoins.....	83
b-Traités au <i>B. bassiana</i> et au <i>M anisopliae</i>	83
III.5.2.2 Le gesier.....	83
a-Témoins.....	83
b-Traités au <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	83
III.5.2.3 Le Mésoenteron.....	86
a-Témoins.....	86
b-Traités au <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	
III.5.2.4 Le caecum gastrique.....	86
a-Témoins.....	86
b-Traités au <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	86
III.5.2.5 L’intestin postérieur.....	89

a-Témoins.....	89
b-Traités au <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	89
III.6- Activité toxique de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> vis-à-vis du rat wistar.....	91
III.6.1- Effet sur la mortalité.....	91
a) <i>B. bassiana</i>	91
b) <i>M. anisopliae</i>	92
III.6.2- Effet de sur la structure de foie des rats.....	94
IV/ DISCUSSION.....	98
IV.1- Caractérisation des deux champignons entomopathogènes.....	98
IV.1.1- Effet de la température et des milieux de culture sur le taux % de germination de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	98
IV.1.2- Effet de la température et des milieux de culture sur la croissance mycélienne de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	99
IV.1.3- Effet de la température et des milieux de culture sur l'évolution pondérale de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	101
IV.2- Effet des deux champignons entomopathogènes <i>Beauveria bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> vis-à-vis des larves du cinquième stade et des imagos de <i>Schistocerca gregaria</i>	102
IV.2.1- Mortalité.....	102
IV.2.2 DL50.....	105
IV.2.3 TL 50.....	106
IV.3- Effet des deux champignons sur la biochimie de la cuticule des L5 de <i>S.gregaria</i>	107
IV.3.1- Effet sur le poids sec de la cuticule.....	107
IV.3.2- Effet sur la quantité de chitine.....	108
IV.3.3- Effet sur la quantité de protéines cuticulaires.....	109
IV.4- Effet de <i>Beauveria bassiana</i> et de <i>Metarhizium anisopliae</i> sur la cuticule et le tube digestif des L5 de <i>Schistocerca gregaria</i>	110
IV.4.1- Effet de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur l'histologie de la cuticule des L5 de <i>S.gregaria</i>	110
IV.4.2- Effet de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur la structure du tube digestif des L5 de <i>S.gregaria</i>	111

IV.5- Activité toxique de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> vis-à-vis du rat wistar.....	113
Conclusion.....	114
Références bibliographiques.....	119
Annexe.....	135

INTRODUCTION

I N T R O D U C T I O N

Depuis la nuit des temps, les relations entre l'homme et les sauterelles n'ont jamais cessé d'être conflictuelles. Chacun sait que les sauterelles sont la huitième plaie d'Egypte, infligée par Moïse au Pharaon, pour ravager les récoltes et conduire à la famine.

Il existe au moins 12 000 espèces d'acridiens, dont les principales susceptibles de revêtir une importance économique par l'ampleur des dégâts qu'elles peuvent occasionner aux cultures sont d'environ 500 espèces (Ould El Hadj, 1992).

Le criquet pèlerin est considéré comme un fléau de l'agriculture et particulièrement en Afrique. En période d'invasion, les essaims de criquet pèlerin peuvent envahir une aire couvrant plus de 29 millions de km² soit 20% des terres émergées (Duranton et Lecoq, 1990). Selon Coper (1982) un essaim de criquet pèlerin de 10 Km² contient environ 2 milliards d'individus consommant chacun l'équivalent de son propre poids par jour à savoir 2g, ce qui induit à une perte de 4000 tonnes de végétation fraîche par jour.

L'Algérie par sa situation géographique est inscrite parmi les pays où les acridiens ont une grande importance économiques, on y trouve notamment les espèces acridiennes les plus nuisibles sur le territoire national : Le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*, le criquet migrateur *Locusta migratoria* et le criquet marroccain *Dociostaurus maroccanus* qui sont la cause des désastres, des famines et d'une peur profonde des agriculteurs qui ont tendance à recourir à l'utilisation de matières actives diverses pour faire face au danger acridien.

De part sa situation géographique et l'existence d'une aire de rémission qui couvre tout son Sahara, l'Algérie a été sujette à de nombreuses invasions l'inscrivant parmi les pays où les acridiens ont une grande importance économique (Doumandji et Doumandji-Mitiche, 1994 ; Guendouz-Benrima, 2005).

La stratégie de lutte antiacridienne n'a d'ailleurs consisté jusqu'à présent qu'à l'épandage de pesticides chimiques, produits qui se sont avérés néfastes pour l'environnement.

Une prise de conscience de ces problèmes a amené les instituts de recherches à s'orienter vers la lutte biologique sous ses diverses formes pour lutter contre les criquets essaimant.

En effet, de nouvelles mesures préventives ainsi que de nouveaux produits sont continuellement recherchés pour assurer d'une part une protection efficace de la production agricole et d'autre part contribuer à une gestion durable de l'environnement (Barbouche *et al*, 2001). Dans cette optique, l'utilisation de micro organismes entomopathogènes dotés d'effets insecticides offre certaines potentialités (Joung et Côté, 2000).

La lutte microbiologique est une alternative très prometteuse pour assurer une protection phytosanitaire performante par l'ubiquité naturelle des agents microbiologiques dans les écosystèmes, leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action et aussi leur persistance dans l'environnement contrairement aux pesticides dont la dose appliquée n'atteint pas la cible, ces derniers se volatilisent (Kouassi, 2001).

La lutte micro biologique est un aspect de la lutte biologique qui est basée sur l'utilisation des micro-organismes tels que les champignons, les bactéries et les virus. D'après Greathed *et al*, (1994) ces derniers semblent offrir les meilleures perspectives surtout ceux qui sont formulés et multipliés pour être épandus comme bio-pesticides.

En Algérie et précisément dans la région d'El-Oued en 2005, suite à une invasion de criquet pèlerin l'Institut National de la protection des végétaux en collaboration avec la FAO ont épandu une grande quantité d'un biopesticide à base du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae var acridium* « Green-Muscle ». De plus plusieurs travaux ont fait l'objet de l'utilisation de ces microorganismes pour lutter contre les sauterelles, citons ceux de Doumandji-Mitiche *et al.*, (1997) Halouane (1997 et 2008), Tail (1998), Bissaad (1998, 2001 et 2011), Benssaad (1999) et Bouhacein (1999), Haddadj (2001), Kaidi (2004), Outtar (2006, 2009), Oulebsir-Mohand Kaci (1998, 2001 et 2012).

C'est dans ce sens que nous avons apporté notre contribution par l'étude de l'efficacité de deux champignons hyphomycètes entomopathogènes *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae var acridium* sur les L5 et les imagos de *Schistocerca gregaria*.

Cependant avant d'entamer cette partie, nous avons été amenés au préalable à présenter dans un premier chapitre l'espèce acridienne et les deux entomopathogènes. Le deuxième chapitre traite la méthodologie de travail suivie par l'étude des différents paramètres traités.

Le troisième chapitre est consacré aux résultats obtenus qui concernent :

- ✧ La caractérisation des deux souches fongiques, et ce en étudiant l'effet de la température et de trois milieux de culture sur le comportement de *B. bassiana* et de *M. anisopliae.*, à savoir le taux de germination, la croissance mycélienne et la croissance pondérale.
- ✧ L'effet des deux champignons sur le taux de mortalité des larves de cinquième stade et des imagos de *S. gregaria* , de ce fait nous avons déterminé les DL₅₀ et les TL₅₀ relatifs à chaque stade.
- ✧ L'effet des deux cryptogames sur la cuticule des L5 de *S. gregaria* à savoir le taux de chitine-protéine ainsi que les perturbations histologiques engendrées. Aussi nous avons observé les perturbations au niveau du tube digestif de cet acridien.
- ✧ L'aspect biosécurité par l'étude de la toxicité et de l'histologie du foie et ce en testant les deux souches sur un mammifère proche de l'homme le rat souche wistar.

Le quatrième chapitre est relatif aux discussions des résultats obtenus.

Nous clôturons par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I :

Données bibliographiques

CHAPITRE I

I.1- Quelques données bibliographiques sur *Schistocerca gregaria* (Forskål 1775)

I.1.1 – Position Systématique de *S. gregaria*

Le criquet pèlerin ou criquet du désert est classé d'après Louveaux et Ben halima, (1987) selon la nomenclature suivante :

Ordre : Orthoptères

S/Ordre : Caelifères

Super / Famille : *Acridoïdeae*

Famille : *Acrididae*

S/ Famille : *Cyrtacanthacridinae*

Genre : *Schistocerca*

Espèce : *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775)

I.1.2 - Caractères morphologiques :

Le criquet pèlerin est un acridien de grande taille. Le pronotum est fortement rétréci dans la prozone et son bord postérieur est anguleux, la plaque sous génitale du mâle rétréci et échancrée en arrière (Chopard, 1943). Ce ravageur présente des antennes filiformes avec une longueur des ailes et les élytres qui dépassent nettement l'extrémité abdominale et les genoux postérieurs, les élytres sont maculés de taches brunes (Mestre 1988, Duranton et Lecoq, 1990). On reconnaît le sexe d'un criquet en observant l'extrémité abdominale. Chez les mâles, on ne voit qu'un repli couvrant toute la partie inférieure de l'extrémité de l'abdomen cela représente la plaque sous-génitale. Chez la femelle, les valves génitales dorsales et ventrales, généralement durcies et sombres sont nettement plus visibles. L'ensemble de ces valves constitue l'organe de ponte (Duranton et Lecoq, 1990). Les femelles mesurent de 70 à 90 mm de long, les mâles de 60 à 75 mm (Pastre *et al*, 1988 ; Launois Luong et Popov, 1992).

I.1.3. Cycle biologique :

Le cycle biologique du criquet pèlerin comprend trois états successifs : l'état embryonnaire, l'état larvaire et l'état imaginal (Duranton et Lecoq, 1990), (Figure 1)

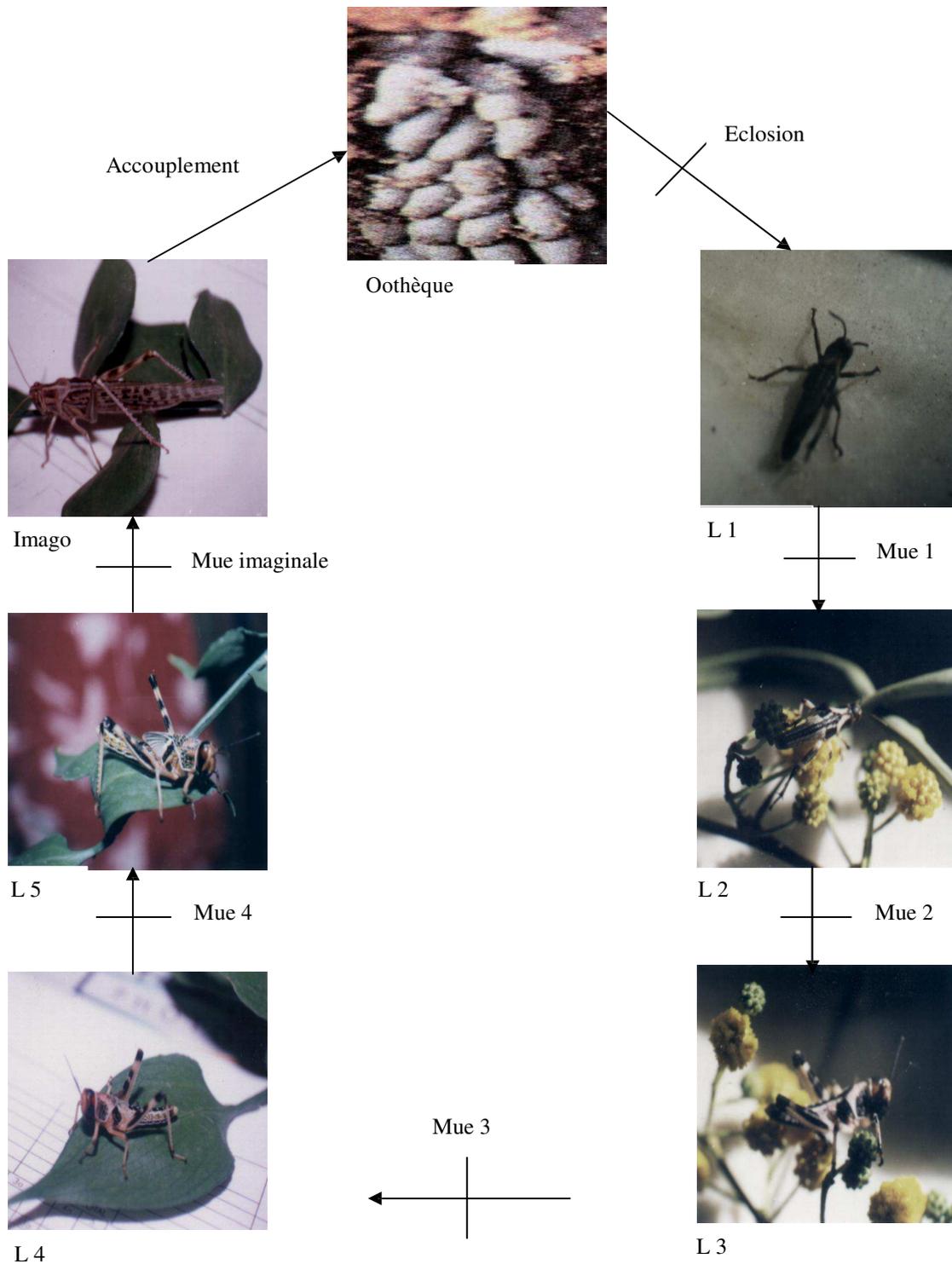


Figure 1 : Cycle biologique de *S. gregaria* - (Original)

I.1.3.1 Développement embryonnaire

Les œufs sont généralement pondus dans des sols sablonneux ayant reçu des pluies (20mm au moins). La teneur en eau dans les 5 premiers centimètres est peu importante mais le sol doit impérativement être humide entre 5 et 15 cm de profondeur (sinon la ponte n'a pas lieu). Cette humidité est indispensable car l'œuf doit absorber son propre poids d'eau pour pouvoir se développer complètement et arriver à terme. Dans la nature les femelles que si le sol est suffisamment humide, ce qui permet aux œufs de s'hydrater et ultérieurement aux larves de se développer (Lecoq, 2012). Avant cela la femelle sonde le sol en y enfonçant l'extrémité de son abdomen rendu distendu pouvant atteindre une profondeur jusqu'à 7cm en moyenne, et quelques fois 15 cm dans le but de déterminer si l'humidité est suffisante (Mallamaire et Roy, 1968). Peu après la ponte l'œuf s'hydrate et augmente de volume. Si les œufs ne peuvent pas absorber leur propre poids d'eau dans les cinq premiers jours, ils n'éclosent pas.

La taille de l'œuf est comprise entre 7 à 8 mm. Dans le sol les œufs sont disposés sous forme de masse ovigère appelée oothèque (Popov *et al.*, 1991).

La durée d'incubation varie selon les conditions écologiques et climatiques, elle est en moyenne de 7 à 10 jours (Ould El Hadj, 1991). D'après Launois-Luong et Lecoq (1989), la période d'incubation dure une dizaine de jours mais elle peut aller à 80 jours en conditions défavorables. Elle est en moyenne entre 10 et 65 jours (Symmons et Cressman, 2001).

Selon Duranton et Lecoq 1990, la durée du développement embryonnaire dépend essentiellement de la température du sol. Elle décroît à mesure que la température augmente elle est de l'ordre de 10 à 13 jours.

I.1.3.2 Développement larvaire

L'éclosion se produit en fin de développement embryonnaire. La première forme de larve dite larve vermiforme ; progresse vers la surface du sol par reptation. Très peu de temps après, elle se débarrasse de sa cuticule et devient alors une larve du premier stade. Les larves du criquet pèlerin passent de l'éclosion à l'état imaginal, par plusieurs stades larvaires : 5 stades chez les grégaires et 6 le plus fréquemment chez les solitaires. Le stade supplémentaire se situe entre le troisième et le quatrième stade (Duranton et Lecoq, 1990).

Selon ces mêmes auteurs, dans les conditions écologiques identiques, les grégaires se développent plus rapidement que les solitaires.

Chez les grégaires, dans de bonnes conditions, cette durée est plus courte atteignant 25 jours, tandis que chez les solitaires, elle peut durer au minimum 30 jours. D'après Symmons et Cressman (2001), cette durée est de 24 à 95 jours.

I.1.3.3 Développement imaginal

L'état larvaire s'achève avec la mue imaginale. Immédiatement après, le jeune imago étale ses ailes et les laisse sécher en position droite, puis les replie selon les nervures longitudinales (Figure 2). Ce jeune imago possède des téguments mous qui durcissent progressivement en une dizaine de jours, ils sont de couleur beige chez les solitaires et rose chez les grégaires. Le durcissement des téguments est achevé au bout de 5 à 10 jours selon la saison.

Après le durcissement cuticulaire, le jeune imago se consacre surtout à la recherche d'un biotope favorable à l'alimentation, il y a une augmentation progressive de poids par accumulation de corps gras (Duranton et Lecoq, 1990).



Figure 2 : Fin de mue imaginale du criquet pèlerin *S.gregaria* (Duranton et Lecoq, 1990)

Selon les mêmes auteurs, l'acridien prend du poids par accumulation de corps gras qui va lui permettre d'entreprendre éventuellement des vols sur de grandes distances.

I.1.3.4. L'adulte

S. gregaria se caractérise par une coloration très variable qui dépend de l'état phasaire et de la maturation sexuelle. En effet, selon Duranton et Lecoq, (1990), les individus solitaires sont de couleur jaune sable à brun gris. Les grégaires immatures sont roses et les matures jaunes uniformes.

I.1.3.5. Maturation sexuelle

Le processus de maturation est généralement synchronisé avec le début de la saison des pluies. Selon Duranton et Lecoq (1990) le criquet pèlerin peut rester sexuellement immature durant plusieurs mois (6 mois au maximum), jusqu'à la rencontre de conditions écologiques propices. En effet, la chute des pluies provoque l'éclatement des bourgeons et l'accroissement de la teneur des buissons en substances aromatiques qui eux provoquent l'accélération du processus de maturation sexuelle du criquet pèlerin (Albrecht, 1967).

Il se produit un jaunissement des téguments particulièrement accentué dans le cas des populations grégaires, principalement chez les mâles. En phase solitaire, le jaunissement concerne essentiellement les ailes postérieures, la coloration générale étant fort modifiée. Les criquets mâles commencent leur maturation les premiers. Ils dégagent des substances chimiques qui déclenchent la maturation des femelles et aussi celle des mâles dont la maturation n'a pas encore commencé (Duranton et Lecoq 1990).

I.1.3.6 Accouplement :

Quand une femelle passe à proximité, le mâle pratique l'embuscade il saute sur elle et s'y agrippe au moyen de ses pattes antérieures et médianes. Ce dernier chevauche la femelle, glisse son abdomen sous celui de sa partenaire et s'accouple avec elle. La copulation dure de 3 à 14 heures (Degregorio, 1996).

I.1.3.7 Le nombre de générations

D'après Gillon (1989) in Zergoun (1994) le criquet pèlerin peut avoir quatre à cinq générations successives dans l'année si les conditions écologiques s'y prêtent.

I.1.4. Rappel anatomique sur le tube digestif des acridiens

D'après Chauvin (1956), le tube digestif est composé de trois parties ; l'intestin antérieur ou Stomodeum, l'intestin moyen ou Mesenteron et l'intestin postérieur ou Proctodeum (Figure3).

Selon Beaumont et Cassier (1970), les portions antérieures et postérieures sont doublées intérieurement d'une intima cuticulaire; Elles n'ont qu'un rôle mécanique dans la digestion.

Cependant l'intestin moyen est caractérisé par des cellules exposées librement, ses parois transparentes ne présentent aucun revêtement cuticulaire. Les aliments y sont enfermés dans une fine membrane péritrophique, il assume les principales fonctions digestives : assimilation et absorption.

☞ Stomodeum (Intestin antérieur)

L'intestin antérieur présente une pigmentation noire, brunâtre et uniforme. Il comprend la cavité buccale, le pharynx, l'oesophage et deux poches qui sont le jabot et le gésier.

L'oesophage est très étroit et court, il se poursuit par un jabot beaucoup plus volumineux et continu et en arrière par un gésier de même taille que le jabot mais à paroi plus épaisse.

Le jabot assure le stockage des aliments, tandis que le gésier assure la trituration des aliments et régularise le transit de la nourriture vers l'intestin moyen. La limite antérieure du gésier est constituée par un léger étranglement, plus ou moins marqué, qui le sépare du jabot (Chauvin, 1956 et Racaud Schoeller, 1980).

☞ Méserteron (Intestin moyen)

L'intestin moyen est blanchâtre, toujours plus clair que l'intestin antérieur. Il comprend six caecums gastriques allongés parallèlement au tube digestif. Chaque caecum comporte un segment antérieur plus développé que la partie postérieure, ces deux segments ont la même forme cylindro-conique. Entre l'intestin moyen et l'intestin postérieur s'insèrent de nombreux tubes de Malpighi (Chauvin, 1956).

☞ Proctodeum (Intestin postérieur)

L'intestin postérieur commence à partir du pylore où s'insèrent les tubes de Malpighi, il comporte un iléon suivi d'un colon très rétréci qui s'élargit dans sa région distale formant l'ampoule rectale (Chauvin, 1956).

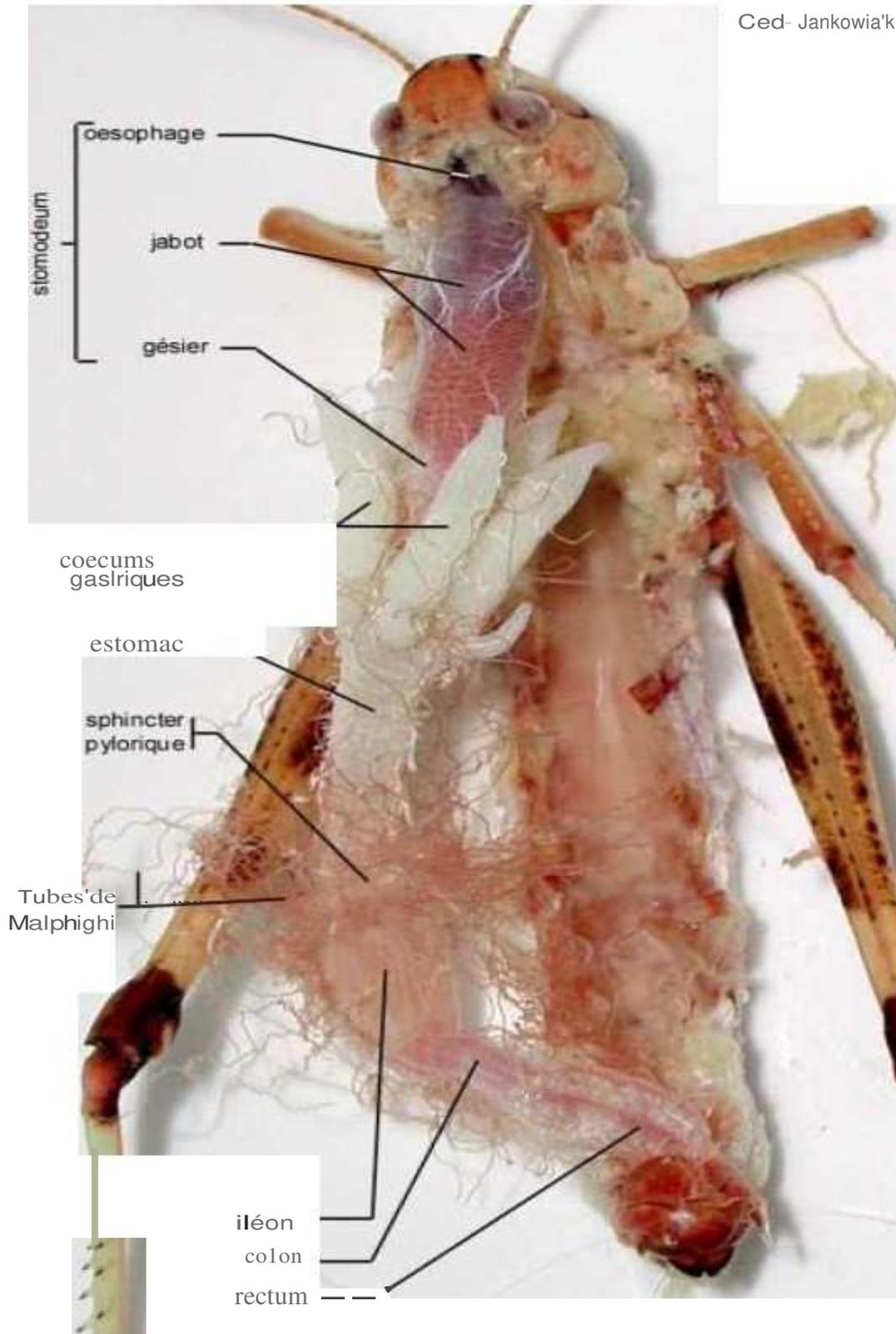


Figure 3 :Anatomie du tube digestif de *S. gregaria* (Jankowiak, 2012)

I.1.5. Polymorphisme phasaire :

Le criquet pèlerin appartient à la catégorie des acridiens de type locustes qui présentent un polymorphisme phasaire, de ce fait ils ont le pouvoir de développer des aspects variés et réversibles en fonction de la densité des populations (Duranton et Lecoq, 1990).

Selon les mêmes auteurs, désignés sous terme de phases on distingue la phase solitaire pour les populations de faible densité et la phase grégaire où la densité est plus importante. La transformation phasaire désigne le passage d'une phase à une autre.

Cette transformation phasaire, dans les deux sens se produit aisément et fréquemment. En effet le passage des individus grégariaptés d'une phase à l'autre constitue une phase transitoire, on parle de transiens congrégans pour désigner le passage des solitaires aux grégaires et transiens dissocians pour le passage inverse des grégaires aux solitaires (Duranton *et al.*, 1982 ; Popov *et al.*, 1991 ; Symmons et Cressman, 2001).

I.1.6. Aires de répartition du criquet pèlerin:

La sauterelle pèlerine présente une aire de répartition de 29 millions de km² environ touchant 57 pays (Popov, 1997).

En période d'invasion, les essaims peuvent atteindre le sud de l'Europe, l'Afrique du Nord, l'équateur et la péninsule arabique et indo-pakistanaise (Launois Luong et Lecoq ,1993), (Figure 4).

Pendant les périodes de rémission, *S. gregaria* se trouve en phase solitaire dans un territoire qui s'étend d'Est en Ouest de l'Himalaya (Inde) aux côtes atlantiques africaines et du nord au sud, des confins sud de l'Atlas saharien (Algérien) et du haut et moyen Atlas marocain à la limite nord des zones sahariennes de l'Afrique de l'Ouest centrale et de l'Est (Chara , 1995). En Algérie, les manifestations acridiennes d'ailés et de larves solitaires se situent au niveau des zones d'épandages d'oueds quand la végétation est verte. Ces zones constituent l'aire d'habitat permanent ou l'aire de distribution normale de l'espèce (Sitouh, 1967). Le même auteur l'a cité dans plusieurs zones de Tamanrasset et du Hoggar. (Figure 5).

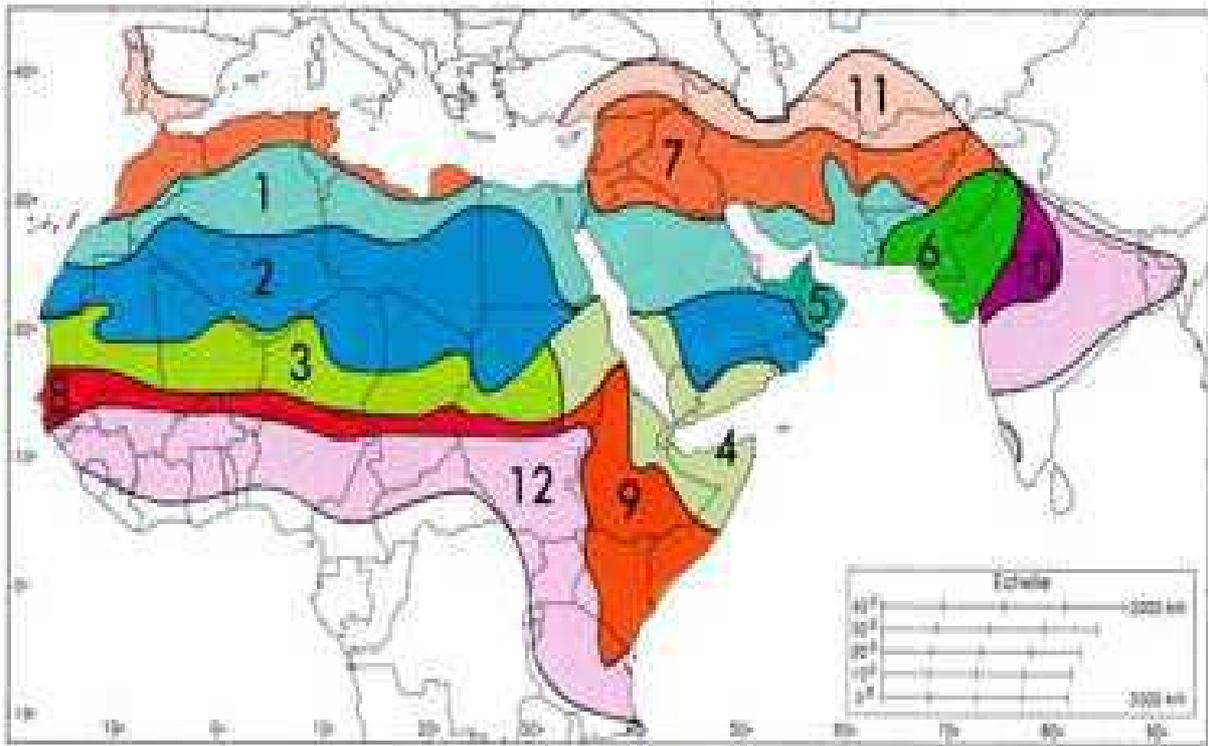


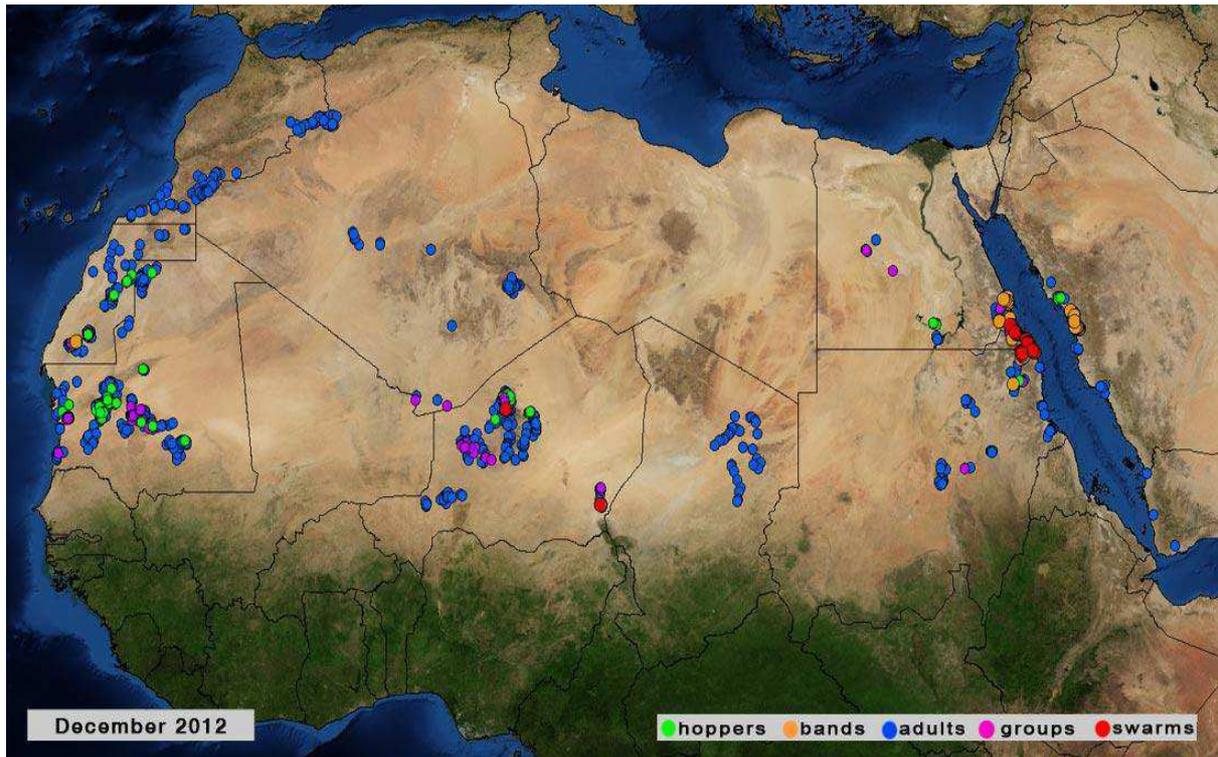
Figure 4 : Les limites des aires d'invasion et de rémission du Criquet pèlerin et subdivision biogéographique de son aire d'habitat. (Duranton et Lecoq, 1990).

Zone de rémission

- 1 Zone saharo-méditerranéenne de dispersion et de reproduction en période de rémission
- 2 Zone saharienne désertique de dispersion et de reproduction en période de rémission
- 3 Zone saharo-sahélienne de dispersion et de reproduction en période de rémission
- 4 Zone semi-aride subissant l'influence du front de convergence de la mer Rouge et permettant dispersion et reproduction en période de rémission
- 5 Zone saharienne tempérée par effet de relief et permettant des reproductions plus fréquentes qu'en zone saharienne désertique
- 6 Zone désertique atténuée sous double influence méditerranéenne et moussonienne permettant dispersion et reproduction en période de rémission

Zone d'invasion

- Les zones de dispersion et de reproduction de période de rémission sont utilisées en période d'invasion mais, de plus, les zones suivantes sont également colonisées.
- 7 Zone méditerranéenne de dispersion et de reproduction des grégaires
 - 8 Zone tropicale (soudano-sahélienne) de dispersion et de reproduction des grégaires
 - 9 Zone de dispersion et de reproduction des grégaires de l'Est africain
 - 10 Zone orientale de dispersion et de reproduction des grégaires
 - 11 Zone septentrionale de dispersion des grégaires
 - 12 Zone méridionale de dispersion des grégaires.



Source : FAO, 2012

Hoppers : sauterelles, bands : bandes, adults : adultes, groups : groupes, swarms : essaims

Figure 5: Situation des acridiens au nord de l'Afrique au mois de décembre 2012

I.1.7. Importance économique et dégâts :

I.1.7.1. Importance économique

D'après Popov *et al* (1991), quatre facteurs donnent au criquet pèlerin une importance Particulière :

- Sa grande mobilité
- La fréquence élevée de ses invasions
- Sa voracité (Consommation de son propre poids de matière végétale fraîche par jour)
- Sa polyphagie en phase grégaire

Dans le Maghreb on relève principalement le blé, l'orge, la vigne, les agrumes et les palmiers dattiers ; au Sahel, le mil, le sorgho et les cultures maraîchères.

Il est constaté que 8 % des dommages sont dus aux larves, 69 % aux imagos et 23 % aux essaims d'insectes adultes (Nurein, 1989). Selon Launois-Luong et Popov (1992), le criquet pèlerin grégaire est extrêmement polyphage.

D'après AbouThiam, (1991) un Km² d'essaim, qui peut renfermer plus de 50 millions d'individus consommerait près de 100 tonnes de matière végétale fraîche par jour, les dégâts sur les pâturages sont importants certes mais moins spectaculaires.

I.1.7.2. Dégâts :

Les insectes au cours du temps ont envahi tous les biotopes utilisant toutes les possibilités alimentaires qui leur sont offertes. Ces insectes ont des régimes alimentaires d'une extrême diversité (Raccaud - Schoeller, 1980).

D'après Apert et Deuse (1982), les dégâts infligés par les acridiens aux cultures, aux pâturages, voire aux zones de reboisement, sont directs ou indirects :

I.1.7.2.1. Dégâts directs :

Par prélèvements alimentaires sur les feuilles, les fleurs, les fruits, les semences, les jeunes écorces, les repousses, parfois les collets et la partie supérieure des racines.

I.1.7.2.2. Dégâts indirects :

- Par rupture mécanique des branches sous le poids des ailés posés en grand nombre.
- Par blessures des plantes consécutives aux morsures avec deux conséquences :
- Création d'une lésion des vaisseaux conduisant la sève brute et la sève élaborée. Ceci entraîne une destruction végétative de 5 à 10 fois supérieures à la seule prise de nourriture.
- Ouverture d'une voie d'infection aux maladies et de pénétration pour les parasites.

D'après Duranton *et al*, (1987), chaque acridien consomme de 30 à 70 % de son poids d'aliments frais chaque jour. En phase grégaire, cette proportion pourrait atteindre 100 %. Chaque ailé pesant 2 grammes en moyenne, on peut s'attendre à ce qu'une telle population consomme 100 tonnes de matière végétale fraîche par jour.

I.1.8 La lutte antiacridienne :

La stratégie de lutte antiacridienne consiste en la coordination des actions des manœuvres dans le but d'enrayer les départs d'invasions, de réduire l'ampleur des pullulations et si possible, d'empêcher leurs apparitions (Duranton *et al*, 1987).

I.1.8.1. Lutte préventive :

L'existence d'aires grégarigènes et la succession de périodes d'invasion et de rémission permet d'envisager une lutte préventive dont le but est de prévenir tout départ d'invasion puisque l'on sait qu'une fois l'invasion déclenchée, celle-ci est très difficile à arrêter (Duranton et Lecoq, 1990). Selon les mêmes auteurs, la stratégie de lutte comporte :

la surveillance des conditions écologiques dans les aires potentielles de reproduction et de grégarisation

l'organisation de prospections aériennes et terrestres, dans les aires devenues potentiellement favorables à la suite de précipitations abondantes. D'après Launois- Luong *et al*, (1993), la lutte préventive vise à empêcher la formation d'un départ d'invasion par une surveillance des aires grégarigènes et des conditions météorologiques.

D'après Rachadi (1990), l'objectif à ne pas perdre de vue est d'empêcher le criquet d'enclencher un processus de grégarisation, elle revêt deux aspects :

- La prospection dans les zones grégarigènes
- Les traitements des foyers de grégarisation

I.1.8.2. Lutte physique :

Elle comporte deux formes de lutte, mécanique et thermique.

La lutte mécanique vise la destruction des œufs par le labour, des larves et des ailés par battage, et le ramassage et l'écrasement à l'aube quand les insectes sont peu actifs. La lutte thermique se fait par l'utilisation du feu (Launois - Luong *et al*, 1988).

I.1.8.3. Lutte écologique :

La lutte écologique consiste à modifier l'environnement au désavantage de l'acridien et si possible au bénéfice de l'homme. Cela suppose une connaissance approfondie du tempérament écologique de chaque espèce acridienne (Duranton *et al*, 1987). Selon les mêmes auteurs les moyens utilisés sont :

- l'inondation temporaire de certains sites de reproduction
- les semis de plantes répulsives
- la suppression des jachères

I.1.8.4. Lutte chimique :

Selon Duranton *et al*. (1982), la lutte chimique consiste à atteindre les acridiens ravageurs directement ou indirectement (par la végétation) au moyen de substance active naturelle ou de synthèse, pour les tuer ou les faire fuir. Les produits chimiques utilisés en lutte antiacridienne

sont généralement destinés à tuer les criquets soit immédiatement soit après un délai plus ou moins long.

L'intoxication des insectes par les insecticides de synthèse provoque de profondes perturbations physiologiques. Celles-ci se traduisent principalement par une perte d'eau intense, un accroissement des échanges respiratoires, une déperdition de divers métabolites (glucides, métabolites intermédiaires du cycle de Krebs et lipides) et surtout par des troubles des systèmes nerveux central et périphérique (Moreteau, 1991).

Mais la lutte chimique a des conséquences néfastes sur l'environnement à savoir la destruction de l'entomofaune auxiliaire et le développement de résistance chez les criquets envers les acridicides.

Il y a aussi la pollution du sol et des eaux souterraines qui est due aux résidus toxiques des produits chimiques.

I.1.8.5. Lutte biologique :

Le projet de lutte biologique contre les locustes et les sauteriaux (LUBILOSA) a débuté en 1989 pour répondre aux préoccupations des régions arides et semi-arides, particulièrement la zone sahélienne dans le domaine de la lutte antiacridienne dont la stratégie de lutte a consisté jusque-là en l'épandage de pesticides chimiques (Halidou Maiga, 1996).

En dehors des composantes du climat, les autres facteurs de mortalité qui tendent à limiter les effectifs des populations d'orthoptères sont soit des agents causant des maladies, soit des prédateurs invertébrés ou vertébrés (Doumandji et Doumandji Mitiche, 1994).

Comme la lutte chimique a des conséquences néfastes sur l'environnement, les chercheurs se sont rendu compte que l'utilisation des agents pathogènes comme les bactéries, les protozoaires, les champignons et les virus sont les moyens les plus efficaces pour lutter contre les criquets (Frederikson, 1988).

⊙ Les agents pathogènes :

Des espèces animales et végétales ont été identifiées dans le monde comme ayant un potentiel d'utilisation en lutte antiacridienne (Thiam *et al.*, 2004). Les agents pathogènes sont des organismes qui provoquent des maladies. Ceux qui infectent les insectes sont appelés entomopathogènes dont les groupes les plus importants sont les virus, les bactéries, les champignons et les protozoaires.

Ces agents agissent en causant une maladie chez l'hôte qu'ils infectent. Dans le cas de ceux qui nous intéressent, la maladie est normalement mortelle (Cloutier et Cloutier, 1992).

Les virus et les rickettsies :

Ils sont représentés surtout par : *Melanopus* et *Rickettsiella* (Keith et Kevan, 1992).

Les bactéries :

Les espèces entomopathogènes appartiennent aux familles des : *Bacillaceae*, *Pseudomonaceae* et *Enterobacteriaceae* (Greathed *et al.*, 1994). Dans la lutte biologique, *Bacillus subtilis* est utilisée comme insecticide, bactéricide et biofongicide dans l'agriculture (Suty, 2010). Son activité insecticide a été décrite sur des larves d'*Anopheles culicifacies*, vecteur de la malaria en Inde et sur *Drosophila melanogaster* (Gupta et Vyas, 1989 ; Lazare *et al.*, 1996).

Les protozoaires :

Ils sont représentés par les familles suivantes : *Amoebidae*, *Nosematidae*, *Neogrageridae* et *Eugregarinidae*. Selon Keith et Kevan, (1992) *Nosema locustae* peut infecter *L. migratoria* et *S. gregaria*.

Les prédateurs et les parasites des œufs :

L'espèce *Stomorphina lunata* (Diptère, Calliphoridae) est connue par ses dégâts sur les oothèques des populations grégaires du criquet pèlerin (Chopard, 1943). Parmi les parasitoïdes d'œufs d'acridiens, les hyménoptères scélionides sont les seuls connus, parasitoïdes vrais d'embryons de locustes et de sauteriaux (Greathead *et al.*, 1994).

Les prédateurs et les parasites des larves et des imagos :

D'après Doumandji et Doumandji-Mitiche (1994), les oiseaux représentent le plus d'exemples d'espèces prédatrices. Parmi ces derniers on peut citer : la Cigogne, le Milan, le Faucon et l'Aigle (Duranton *et al.*, 1982).

Les parasites des larves et des imagos d'acridiens ayant un impact sur la physiologie et la survie de l'hôte sont surtout des nématodes. Certains d'entre eux sont des vecteurs d'agents pathogènes, ce qui suscite un intérêt dans la recherche de leur utilisation en lutte biologique (Greathead *et al.*, 1994).

🌿 Les extraits végétaux

Les extraits provenant de deux méliacées, *Azadirachta indica* (margousier ou Neem) et *Melia volkensii*, connus depuis longtemps pour leurs effets répulsifs et antiappétants contre les insectes, présentant également des propriétés antiacridiennes intéressantes. Des extraits de fruits, de feuillages ou d'écorce protègent efficacement les cultures des attaques d'acridiens. (Diop et Wilps, 1997 ; Rembold, 1997). Ces produits sont biodégradables et ne sont pas nocifs pour l'homme et l'environnement. Par ailleurs, les plantes-sources sont communes, peu exigeantes sur la qualité des sols et offrent un intérêt économique évident pour les pays d'Afrique et d'Asie qui peuvent tirer avantage en exploitant cette ressource naturelle (Luong-Skormand et al., 1999).

🍄 Les champignons :

Contrairement aux virus et aux bactéries, les champignons n'ont pas besoin d'être ingérés pour entrer en action. Un simple contact suffit à déclencher l'infection (Anonyme, 1995). Les champignons se présentent parfois sous forme de cellules individuelles comme les levures mais le plus souvent sous forme de filaments ou hyphes constituant le mycélium et dans lesquels sont rangées les cellules. Leur reproduction se fait par formation de spores sexuées ou asexuées.

I.1.8.6. Position systématique des champignons entomopathogènes :

Les espèces les plus pathogènes pour les insectes appartiennent au groupe des fungi imperfecti ; groupe très étendu et très hétérogène. Dans ce groupe cinq sous divisions sont à distinguer:

Mastigomycotina, *Basidiomycotina*, *Zygomycotina* (*Entomophthorales*); *Ascomycotina*, (*Clavicipitales*) et *Deuteromycotina* (*Hyphomycètes*). Ceux qui infectent les criquets font partie des trois dernières sous divisions. Les deux genres les mieux connus et qui infectent les criquets sont *Metarhizium* et *Beauveria* (Greathead et al., 1994).

I.1.8.6.1. Production de masse :

Dans les pays développés, la fermentation industrielle représente le moyen le plus économique pour produire d'importantes quantités de spores.

Certains champignons peuvent sporuler même en milieu liquide dans des flacons. En général, l'agitation est nécessaire pour dissoudre l'oxygène, le type d'agitation peut avoir une certaine

importance. Il est parfois nécessaire que le rapport air/liquide soit élevé et la surface du contact grande (Auld, 1991).

Les milieux de culture des organismes de lutte biologique doivent être aussi simples que possible, réunissant un ensemble uniformisé de sels minéraux ainsi que des sources de carbone et d'azote. La production de spores dans le fermenteur peut être accrue par modification des constituants du milieu ou simplement par dilution de ce dernier (Auld *et al.*, 1988).

Même si certains champignons entomopathogènes susceptibles d'être utilisés sont difficiles à produire en masse, la plupart pousse abondamment dans des milieux très simples et peu coûteux. Plusieurs méthodes permettent leur production de masse : la culture *in vivo*, la culture en surface et la culture immergée. Le choix de la méthode dépend des besoins de croissance du champignon et du produit que l'on désire obtenir.

I.1.8.6.2. Technologie de formulation des champignons entomopathogènes :

De multiples technologies, ingénieuses et efficaces ont été décrites au laboratoire ; cependant à l'heure actuelle aucune d'entre elles n'atteint des performances technologiques suffisantes pour autoriser un développement industriel (Ferron *et al.*, 1991).

Selon Prior (1990), les champignons entomopathogènes se révèlent beaucoup plus efficaces contre les criquets lorsqu'ils sont mélangés à l'huile, comparés aux mêmes spores si on les mélange à de l'eau.

Une formulation huileuse évite la nécessité traditionnelle de maintenir une humidité élevée pour les champignons lorsqu'on les utilise comme moyen de lutte biologique ou microbienne contre les insectes.

Les essais au laboratoire et au champ ont démontré que les conidies d'une souche de *Metarhizium anisopliae* appliquées avec de l'huile sont efficaces à faibles humidités typiques des habitats des locustes sahariens où le champignon est normalement inefficace (Zimmerman, 1993).

Beauveria bassiana a été adapté avec succès à la lutte antiacridienne en étant présente dans des appâts de son et en préparations huileuses (Goettel et Roberts, 1991).

Toutefois, sur le terrain, les résultats sont inconstants et il faudrait étudier les effets des préparations sur les rapports entre l'hôte et le pathogène.

Les formulations granulées peuvent être obtenues soit par enrobage de spores préalablement récoltées, soit par croissance et sporulation du germe à la surface d'un support nutritif granulé (Ferron *et al.*, 1991).

Dans de nombreux pays de l'Amérique du sud et l'Asie de l'Est, le *Metarhizium anisopliae* est produit dans du riz ou des céréales, dans des sacs en plastiques ou bien en bouteille (Zimmerman, 1993, Moore et Morley Davies ,1994). En Chine *B. bassiana* est produit à grande échelle et commercialisé pour lutter contre le foreur du maïs *Ostrinia nubilalis* Hübner (Tong-Kwee *et al.*, 1989 ; Lacey *et al.*,2001).

I.1.8.6.3. Les facteurs influençant l'efficacité des champignons entomopathogènes :

La pénétration et la multiplication des champignons entomophytes dans l'organisme des insectes vivants sont soumises à l'influence directe ou indirecte de facteurs intrinsèques (Paillot, 1933).

α) les facteurs intrinsèques :

La virulence et la spécificité de l'hôte : il existe des différences importantes parmi les souches d'une espèce de champignons à la fois de virulence et de spécificité pour l'espèce hôte. C'est ainsi que les souches de *M. anisopliae*, montrent une stricte adaptation vers leurs hôtes originels, les larves de Scarabéides (Ferron *et al.*, 1991). Ces deux éléments sont essentiels dans le choix d'un bon candidat à la lutte biologique. Il a été démontré que les insectes d'une même population révèlent une sensibilité qui diffère selon les isolats de *B. bassiana* (Todorova *et al.*, 1994).

Le potentiel épizootique d'un champignon dépend essentiellement de son infectivité de l'intensité de la sporulation sur les cadavres hôtes et de la capacité ultérieure de la souche à envahir les hôtes sains de la population (Hall in Ferron *et al.*, 1991).

La capacité de survie: A une température ou une humidité basse, de nombreux champignons entomopathogènes forment des structures de résistance qui peuvent être importantes pour la survie et la régénération de la population du pathogène (Ferron *et al.*, 1991).

La variabilité de la sensibilité des populations hôtes : cette variabilité est sentie chez plusieurs insectes. Les variétés de ver à soie qui sont un modèle biologique adapté à la recherche de la base de la résistance génétique des insectes aux pathogènes, montrent des différences de sensibilité à *Aspegillus spp* ; *Beauveria bassiana* et *Nosema rileyi* (Ferron *et al.*, 1991).

β) **les facteurs extrinsèques :**

Les facteurs extrinsèques de l'environnement règlent la physiologie du champignon.

○ **La température**

La température est un autre facteur important qui peut affecter le taux de germination, la croissance, la sporulation et la survie des hyphomycètes entomopathogènes (Ziani, 2008). La culture sur milieu artificiel de *B. bassiana* et *B. densa* ont montré un maximum de développement à la température de 27 °C, les limites extrêmes de culture étant comprises entre 6°C et 44° C (Paillot, 1933).

Aspergillus flavescens ne devient pathogène qu'à la température ambiante de 37° C. L'optimum de développement des spores de *Spicaria farinosa* s'opère à 24° C ; à 0° C le champignon peut pousser mais à 35° C la germination est bloquée (Amouriq, 1973).

○ **L'humidité**

L'humidité est un facteur défavorable pour la conservation du pouvoir germinatif des spores. En milieu sec, celles-ci conservent très longtemps leur vitalité. En effet, Lambert in Paillot (1933) a montré que les conidies de *B. bassiana* conservées à l'air sec ne perdaient leur pouvoir germinatif qu'au bout de 3 ans environ.

L'état hygrométrique de l'air joue un rôle prépondérant dans la germination de spores, plus le degré hygrométrique est élevé et mieux le champignon se développe (Paillot, 1933). L'humidité affecte aussi la persistance et la survie des champignons entomopathogènes, la plupart de ces mycètes exigent au moins 95 % de l'humidité relative à la surface de l'insecte afin de germer (Hallsworth et Magan, 1999).

○ **La lumière**

La lumière peut stimuler certaines étapes du cycle évolutif des champignons entomopathogènes ; c'est le cas de *Nomuraea rileyi* dont la croissance est fortement inhibée par l'obscurité (Ferron *et al* ; 1991).

I.1.8.6.4. Les principales mycoses :

Les mycoses sont des moisissures qui se développent sur les insectes. Le premier qui a été attiré par ces mycoses est Bassi en 1835 in Paillot (1933), il était également le premier qui a décrit le *Botrytis bassiana*

○ **Mycose à *Beauveria* :**

Au moment de la mort, l'animal présente en général la dureté caractéristique des mycoses, qu'il s'agisse d'une larve, d'une nymphe ou d'un imago. L'intérieur du corps se transforme en une sorte de sclérose constituée par l'enchevêtrement du mycélium qui prolifère dans presque tous les tissus (Amouriq, 1973).

B. bassiana est connu depuis longtemps comme responsable de la maladie de la « muscardine blanche » chez les vers à soie et d'autres insectes. L'individu est très recouvert d'une importante couche de mycélium blanc évoquant de la neige. Il existe des souches infectant des criquets et qui peuvent être très efficaces, surtout en régions tempérées (Greathed *et al* ; 1994).

○ **Mycose à *Metarhizium***

Ce genre infecte une large gamme d'insectes et provoque la maladie de la « muscardine verte » qui débute sur l'insecte par le durcissement du corps, avec coloration du tégument en jaunâtre (Amouriq, 1973).

D'après Launois–Luong (1992), le champignon *Metarhizium*, présent dans la plupart des sols du globe, est utilisé contre les insectes ravageurs.

Au bout d'un certain temps le champignon fructifie et le cadavre devient vert. Ensuite, l'animal est plus en moins transformé en matière pulvérulente gris vert, qui se dissémine peu à peu dans le sol, (Amouriq, 1973 ; Zimmerman, 1993).

○ **Mycose à *Aspergillus***

L'aspect des insectes atteints varie selon les espèces d'*Aspergillus* (Amouriq, 1973). Le mycélium apparaît sous forme de touffes blanchâtres ou grisâtres, localisées en plusieurs points. D'après Lepesme (1938), *A. flavus* se présente sous forme d'un fin mycélium blanc devenant rapidement vert ou jaunâtre, puis vert olive et enfin vert brunâtre et portant de nombreux conidiophores de même couleur.

○ **Mycose à *Fusarium***

Après le durcissement habituel et la coloration inconstante en ocre ou en rose, une couche mycélienne soyeuse apparaît avec absence de l'enduit farineux si fréquent chez d'autres mycoses, (Amouriq, 1973)

○ **Mycose à *Mucor***

Les filaments mycéliens s'élèvent du corps de l'insecte, portant à leur extrémité des conidies grisâtres (Amouriq, 1973).

I.2. Données bibliographiques sur *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae*

I.2.1. Systématique

D'après Tkacz et Lange (2004) *Beauveria bassiana* est classé comme suit :

Règne : Fungi

Phylum : Ascomycota

Classe : Sordariomyceta

Famille : Cordidipitaceae

Genre : *Beauveria*

Espèce : *B. bassiana* (Bals) (Vuill., 1912)

Metarhizium anisopliae présente la classification suivante :

Règne : Fungi

Phylum : Ascomycota

Classe : Sordariomyceta

Famille : Claviceptaceae

Genre : *Metarhizium*

Espèce : *M. anisopliae* (Metchn) Sorokin, 1883

I.2.2. Identification

La détermination de l'espèce se fait en examinant la forme des spores et des conodiophores. Dans le genre *Beauveria* se forment une à une le long des cellules sporogènes en zigzag. Par contre, les conodiophores de *Metarhizium* sont relativement courts, irrégulièrement ramifiés ou non et arrangés en groupes compacts formant une masse de spores (Greathed *et al.* , 1994).

I.2.3. Morphologie

L'espèce *Beauveria* est connue depuis longtemps comme responsable de « Muscardine blanche » chez les vers à soie et bien d'autres insectes. L'individu infecté est recouvert d'une importante couche de mycélium blanc évoquant de la neige (Greathed *et al.* , 1994). *B.bassiana* produit des colonies cotonneuses blanches à jaunâtres. Les conidies ou spores sont soutenues par de long filaments en zigzag qui sont des hyphes transparents et septaux de 2,5

à 25µm de diamètre (Weiser, 1972) (Figure 6). Les spores sont produites sur épis courts, donnant aux cellules conidiogènes un aspect épineux (Figure 7).

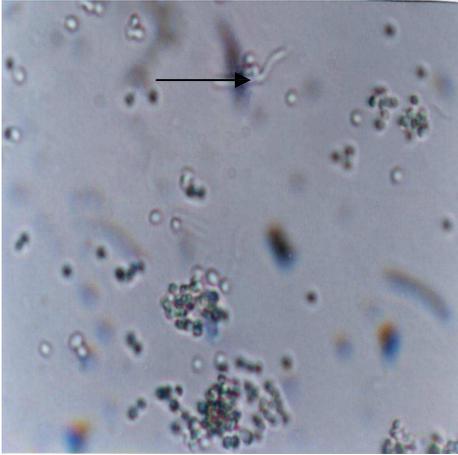


Figure 6: Hyphe de *B. bassiana* (Original)

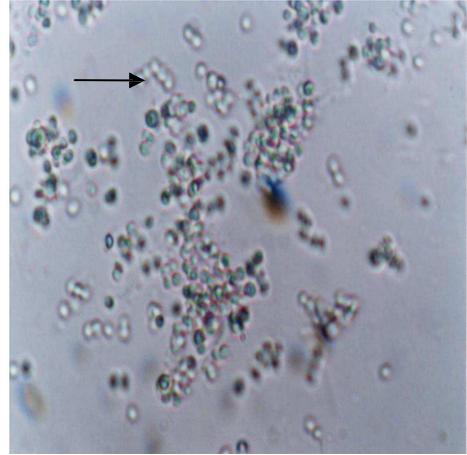


Figure 7: Spores de *B. bassiana* (Original)

Metarhizium infecte une large gamme d'insectes et provoque la maladie de la « Muscardine verte ». L'espèce la plus mentionnée dans la littérature est *Metarhizium anisopliae*.

Au niveau de *M. anisopliae* les spores sont allongées avec des côtés parallèles mesurant 6µm de longueur pour 2 à 3µm de diamètre (Greathed *et al.*, 1994) (Figure 8).



Figure 8: Spores de *M. anisopliae* (Original)

1.2.4. Mode d'infection

Le mode d'infection des champignons entomopathgènes se divise en quatre étapes distinctes qui sont l'adhésion, la germination, la différenciation et la pénétration. L'adhésion est caractérisée par un mécanisme de reconnaissance et de compatibilité des conidies avec les cellules tégumentaires de l'insecte (Vey, Cavalier, Courtiade *et al.*, 1996). Cette phase se scinde en deux étapes distinctes, la première passive où l'attachement à la cuticule est réalisé grâce à des forces hydrophobiques et électrostatiques (Fargues, 1984) et la seconde active

caractérisée par la production d'un mucilage qui va engendrer une modification épicuticulaire aboutissant à la germination. Après la phase d'adhésion, la germination va être dépendante des conditions environnantes et aussi de la physiologie de l'hôte; (composition biochimique de la cuticule) qui peut favoriser ou inhiber la germination (Butt, Ibrahim, Clark *et al*, 1995).

L'avant dernière phase est la différenciation caractérisée par la production d'appressorium, structures terminales qui vont servir de point d'encrage, de ramollissement de la cuticule et favoriser la pénétration. La production des appressoria est très dépendante de la valeur nutritive de la cuticule de l'hôte (Magalhaes bp, Wraight *et al*, 199). Une cuticule nutritive va stimuler la croissance mycélienne plutôt que la pénétration. La dernière phase est la pénétration de l'hôte qui se fait par la combinaison de pression mécanique et enzymatique (St-Leger 1993) telles que les lipases, les protéases et les chitinases, la plus importante dans la pénétration étant les protéases. . Certaines souches produisent des toxines non enzymatiques telles que la beauvericine, les beauverolides, les bassianolides, les isarolides qui accentuent et accélèrent le processus d'infection (Roberts ,1981 Hajek et St-Leger, 1994).

La colonisation de l'hôte se fait lorsque le champignon parvient à surmonter les mécanismes immunitaires de défense de l'insecte et envahit l'hémolymphe (Ferron, Fargues et Riba, 1991).

À la mort de l'insecte, la phase saprophyte va être caractérisée par la momification du cadavre transformé en sclérote. Les hyphes traversent le tégument préférentiellement au niveau intersegmentaire puis le recouvre d'un feutrage mycélien blanc cotonneux qui va amorcer la formation des conidiospores (Keith et Kevan 1992).

I.3. Données bibliographiques sur le rat wistar :

I.3.1- Classification :

Règne :	Animal.
Embranchement :	Vertébrés.
Classe :	Mammifères.
Sous-classe :	Placentaires.
Famille :	Muridés.
Ordre :	Rongeurs.
Genre :	<i>Rattus</i> .
Espèce :	<i>Rattus norvegicus</i> . (Berkenhout, 1769)

I.3.2- Caractéristiques et physiologie du rat wistar :

Le rat blanc (*Rattus norvegicus* ou rat norvégien) est une espèce génétiquement sélectionnée, issue par croisement, de race albinos (Festing, 1979). C'est un rongeur nocturne, omnivore et coprophage. Le pelage du jeune rat blanc est soyeux mais devient progressivement rugueux et décoloré avec l'âge (Figure 9). Il possède une large tête, de petites oreilles des yeux rouges globuleux et une queue. Il se reproduit pendant toute l'année et la gestation dure 21 jours.

A la naissance, le raton qui pèse 5g environ est aveugle mais très actif. Le mâle adulte pèse 300 à 700g alors que la femelle environ 200 à 600g, sa durée de vie est de 2 à 3 ans (Baker *et al.*, 1980).

L'âge moyen à la puberté chez le mâle est de $27 \text{ j} \pm 1,1 \text{ j}$ chez la femelle de $34 \text{ j} \pm 2,4 \text{ j}$. Le poids moyen à la puberté chez le mâle est de $63,3 \text{ g} \pm 6,8 \text{ g}$ et chez la femelle est de $101,0 \text{ g} \pm 12,7 \text{ g}$.

L'âge et le poids à l'accouplement chez le mâle est de 320-340 g (10 à 11 semaines), et chez la femelle de 225-250 g (11 à 14 semaines).



Figure 9 : Le rat Wistar *Rattus norvegicus*

I.3.3- Nutrition :

I.3.3.1- Besoins nutritionnels :

Les quantités d'éléments nutritifs devant entrer dans la composition du régime alimentaire des rats sont :

- Un taux adéquat de protéines et d'acides aminés $\approx 12\%$ chez les jeunes rats et moindre chez les adultes.
- Une quantité minimale de graisse : $\geq 5\%$ quoique les rations contiennent jusqu'à 15% .
- Les micro-éléments : vitamines et minéraux (Roger, 1979).

Chapitre II :

MATERIEL ET METHODES

CHAPITRE II : MATERIEL ET METHODES

II.1 - Matériel biologique

II.1.1- Les criquets

☒ *Schistocerca gregaria* :

L'essai a été réalisé sur les larves du cinquième stade et des imagos du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* provenant de la région d'Adrar. Les insectes sont élevés au laboratoire de zoologie de l'école nationale supérieure vétérinaire d'El Harrach, dans des cages en bois convenant à chaque stade, à une température de 30 ± 1°C une humidité relative de 80 % et une photo période continue. Les jeunes stades larvaires sont nourris de feuilles de laitue avec un complément de son. Par contre, pour les stades les plus avancés, la nourriture varie des graminées tel que le sorgho des crucifères (le chou) et le blé avec un complément de son.

II.1.2- Les champignons entomopathogènes :

☒ *Beauveria bassiana*

La souche de *B. bassiana* est une souche locale, isolée d'un criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* provenant de la station zaouit kounta de la région d'Adrar en décembre 1996. (Figure 10).



Figure 10: Aspect cultural de *B. bassiana*

☒ *Metarhizium anisopliae* var. *acridium*

La souche de *Metarhizium anisopliae* var. *acridium* (code IMI : 330189) a été identifiée pour la première fois par Metschnikoff sur *Anisoplia anstriaca* et nommé *Entomophthora anisopliae* en 1879, Sorokin a donné le nom de la muscardine verte au genre *Metarhizium* (Figure 11) et il est connu sous le nom de *M. anisopliae* (*Metsch*) (Zimmerman ,1993).



Figure 11 : Aspect cultural de *M. anisopliae* (Originale)

II.1.2.1 Multiplication et conservation :

Pour assurer un bon développement des conidies, le cryptogame est repiqué sur un milieu organique gélosé que nous avons fait couler dans des boîtes de Pétri, de façon à obtenir une couche mince de 1 à 2 cm d'épaisseur. Les colonies obtenues sont repiquées dans des tubes à essai en verre et conservées à 4°C au réfrigérateur. Toutes ces manipulations sont effectuées sous hotte en milieu stérilisé avec un matériel stérilisé (Figure 12).

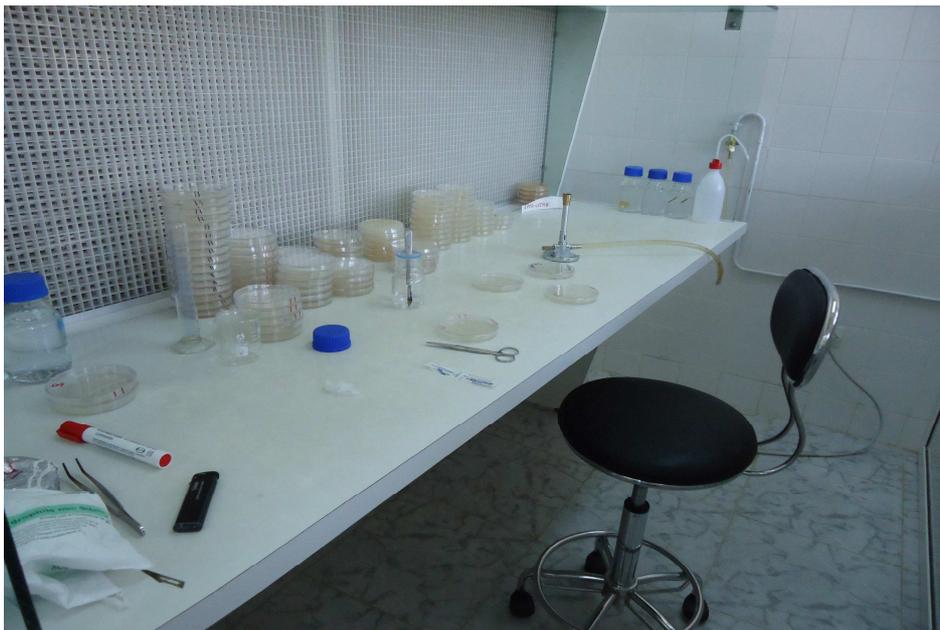


Figure 12 : Hotte des manipulations mycologiques

II.1.2.2 - Choix du milieu de culture :

Pour toutes les espèces fongiques, le choix du milieu de culture dépend des exigences nutritionnelles du champignon (Neergard, 1979). Notre objectif est de mettre au point une substance nutritive sur laquelle la germination, la croissance mycélienne et la croissance pondérale sont importantes et ce à différentes températures. A cet effet nous avons essayé trois milieux organiques : le Sabouraud provenant de l'Institut Pasteur, le Malt et le PDA que nous avons préparé au laboratoire. La composition des milieux (Rapilly 1968) (Annexe I).

II.1.3- Les rats :

Les animaux proviennent de l'Institut Pasteur d'Alger. Ils sont répartis dans des cages en polypropylène de volume de 30 cm x 20 cm x 13 cm, placées dans un local à ambiance contrôlé à savoir: température 24°C, un éclairage de 10 heures par jour et une humidité de 50%. Les animaux sont nourris par une alimentation de granulées fournie par l'O.N.A.B d'Alger. Ils reçoivent de l'eau par des biberons, (Figure 13).



Figure 13 : Elevage des rats

II.2- Méthodes :

II.2.1- Caractérisation des deux champignons entomopathogènes :

II.2.1.1 - Taux de germination :

Les Deuteromycètes ou Fungi imperfecti auxquels appartiennent les deux entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* sont caractérisés par une structure nettement filamenteuse de leurs organes de fructification. Ils sont mésophiles mais résistant au froid. Ils sont sous dépendance du complexe température – humidité relative. Ce complexe affecte le développement et la propagation de ces champignons. A cet effet nous avons essayé au cours de cette étude

préliminaire de voir l'effet de la température et du milieu de culture sur la germination de *B. bassiana* et *M. anisopliae*.

Pour réaliser cette étude nous avonsensemencé des spores de même âge dans des boites de Pétri contenant 3 milieux de culture différent Sabouraud, Malt et PDA et à différentes températures : 20°C–25°C–30°C et 35°C. Nous avons suivi le développement des spores (100 spores) depuis le gonflement jusqu'à la germination, avec 3 répétitions. Cette étude a été menée dans des étuves thermoréglables.

II.2.1.2- Mesure de la croissance mycélienne :

Pour évaluer l'effet des différents paramètres extrinsèques retenus sur la multiplication des deux champignons nous avons fait appel à la mesure de la croissance mycélienne ou radiale. Pour cette étude nous avons utilisé les mêmes températures et les mêmes milieux de culture que l'étude précédente. Ces derniers sont répartis dans des boites de Pétri qu'on laisse solidifier, leur ensemencement se fait par la technique des implants. A l'aide d'un emporte-pièce stérilisé, des explantats mycéliens calibrés de 0,5 cm sont prélevés à partir d'une culture âgée de 15 jours et déposés au centre des boites de Pétri fraîchement coulées. Tout le travail est réalisé dans une ambiance stérile en hotte.

L'estimation de la croissance mycélienne se fait en mesurant l'évolution de diamètre de l'explantat, quotidiennement jusqu'à ce que le mycélium occupe la surface totale de la boite de Pétri.

II.2.1.3- Mesure de la croissance pondérale :

Elle consiste à peser le poids du champignon après 15 jours, pour chaque milieu et pour chaque température à l'aide d'une balance de précision et cela en tenant compte d'un poids initial de 40 mg.

II.3- Etude de l'effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur la mortalité des larves du cinquième stade et des imagos de *S. gregaria*

II.3.1- Technique de traitement**II.3.1.1- Préparation de la solution entomopathogène :**

A partir des colonies âgées de 7 à 10 jours de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* des explantats sont prélevés et mis dans un Erlen-Mayer stérile contenant 50 ml d'eau distillée stérile, fermé hermétiquement pour éviter toute contamination. Pour permettre une libération maximale des spores on ajoute une goutte de twinn à 20%.

Les Erlen-Mayer sont ensuite rapidement agités pendant 10 minutes, période au bout de laquelle la concentration est évaluée à l'aide d'une cellule hématimétrique appelée cellule de MALASSEZ.

II.3.1.2 - Doses utilisées :

Les différentes concentrations désirées sont obtenues en diluant ou en concentrant la solution mère par l'application de la loi de l'équilibre général.

$$C1 V1 = C2 V2$$

C : Concentration.

V : Volume.

Toutes ces manipulations sont effectuées dans les conditions les plus stériles que possibles sous une hotte avec un matériel stérilisé.

Nous avons retenu 3 doses pour chaque stade, mentionnées sur le tableau n°1:

Tableau n°1 : Concentrations des doses utilisées pour le traitement (sp./ml)

Doses \ Stades	L5	Imagos
D1	1,46 x 10 ⁷ sp./ml.	1,46 x 10 ⁷ sp./ml.
D2	1,46 x 10 ⁶ sp./ml.	1,46 x 10 ⁶ sp./ml.
D3	1,46 x 10 ⁵ sp./ml.	1,46 x 10 ⁵ sp./ml.

II.3.1.3 - Réalisation de l'inoculation :

La suspension de spores est pulvérisée directement sur les L5 et imagos de *S. gregaria*. Le traitement par contact est recommandé par plusieurs chercheurs car il constitue une voie d'entrée préférentielle et habituelle des champignons entomopathogènes (Lepesme, 1938).

Pour cet essai nous avons utilisé 30 individus par concentration répartis en 3 lots contenant chacun 10 individus ; les témoins ont reçu de l'eau distillée stérilisée. Les individus témoins larves et imagos sont répartis de la même manière et comptent le même nombre que les individus traités. Après chaque 24h, nous effectuons un comptage des individus morts, chez la série témoin et celle des traités.

Nous avons également noté le comportement des individus et les symptômes qu'ils présentent.

II.3.2- Effet des deux champignons sur la biochimie de la cuticule des L5 de *S. gregaria* :

Pour cette étude des larves de cinquième stade provenant de l'élevage décrit précédemment sont réparties en deux lots, les témoins sont pulvérisées par de l'eau distillée stérilisée et les traitées sont pulvérisées par la DL₅₀ déterminées pour les L5 pour chacune des souches.

Ensuite ces individus sont sacrifiés à différents temps : 24 heures, 72 heures, 144 heures.

II.3.2.1-Prélèvement de la cuticule

Les abdomens des insectes témoins et traités par les deux champignons sont sectionnés du reste du corps, ainsi que leurs extrémités postérieures. A l'aide de fines pinces on enlève tout ce qui est viscères, muscles et tissus adipeux. Les cuticules abdominales sont ensuite déposées entre deux feuilles de papier filtre afin d'en éliminer tout tissu pouvant adhérer à ces dernières.

II.3.2.2- Technique de détermination chitine-protéine :

La technique sur laquelle on s'est basé pour déterminer la chitine-protéine est celle de Bordereau et Anderson (1978). Elle consiste à prélever la paroi abdominale, puis la mettre dans un mélange éther chloroforme (Volume/Volume : 1/1) à température ambiante pendant 24h, afin d'éliminer toutes traces lipidiques. Ensuite, après rinçage à l'alcool 96°, elle est séchée dans l'étuve à 60°C pendant une heure jusqu'à l'obtention d'un poids sec constant P1.

Après le traitement par NaOH à 100°C pendant deux heures, ce qui permet une hydrolyse des protéines, on obtient un résidu correspondant à la chitine. Celui-ci est récupéré et lavé à l'éthanol

absolu, puis séché une deuxième fois à 60°C jusqu'à l'obtention d'un second poids sec constant P2.

Les pesés sont réalisées grâce à une balance de précision à 0,1mg.

P1- P2 : Correspond à la teneur en protéines totales cuticulaires.

P1 : Poids sec de la cuticule (mg) sans les lipides.

P2 : Quantité de la chitine (mg).

II.4- Etude de l'effet de *B.bassiana* et de *M.anisopliae* sur l'histologie du tégument et du tube digestif des L5 de *S.gregaria*

II.4.1-Modes d'application des différents traitements biologiques

Notre étude est effectuée sur les L5 de *S. gregaria*, provenant de même élevage que les expériences précédentes.

II.4.1.1- Par contact :

Les criquets ont reçu les spores de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* par pulvérisation directe sur le corps afin d'étudier l'effet des deux champignons sur la cuticule de *S. gregaria*.

II.4.1.2- Par ingestion

Ce mode consiste à étudier l'effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur le tube digestif de l'insecte. Pour l'application du traitement, les individus de *S. gregaria* sont traités par voie buccale à l'aide d'une micropipette en prélevant 20 µl de la suspension fongique et en l'introduisant directement dans l'appareil buccal de l'insecte, et ce après un jeûne de 24h.

Pour chaque mode de traitement, 3 lots ont été préparés contenant chacun 5 individus. Le premier lot est celui des traités à la DL₅₀ de *B. bassiana*; le 2^{ème} lot celui des traités à la DL₅₀ de *M. anisopliae* tandis que le 3^{ème} lot est celui des témoins traité à l'eau distillée stérilisée.

La réalisation des coupes histologiques fait appel à une préparation particulière de l'objet, celui-ci est soumis aux étapes décrites par Martoja et Martoja (1967) et Gabe (1968) et dont les différentes étapes sont décrites dans ce qui suit :

II.4.2 - Techniques de travail. :

La technique histologique a généralement pour but l'obtention de coupes histologiques minces, transparentes de tissus et d'organes observables au microscope optique, le plus souvent après coloration par des colorants spécifiques qui donnent aux diverses parties des teintes différentes.

☒ Dissection des insectes :

Dans une boîte de Pétri remplie d'un fixateur le bain de Hollande (préparation annexe n°1) et à fond de paraffine, et une fois l'abdomen coupé du reste du corps et son extrémité postérieure ainsi que ses deux côtés latéraux sectionnés, il est fixé avec deux épingles entomologiques. A l'aide de ciseaux fins et de pinces fines nous pratiquons une incision dorsale. Les viscères, le tissu adipeux et les muscles sont enlevés dans un premier temps à l'aide de fines pinces.

Les sternites abdominaux sont alors déposés entre deux feuilles de papier filtre afin d'enlever tout tissu pouvant adhérer à la cuticule. Cette cuticule est placée dans un pilulier rempli de fixateur propre.

☒ Fixation des pièces :

Cette opération consiste à mettre la pièce prélevée dans un liquide fixateur dont le rôle est de durcir la pièce convenablement et d'immobiliser les structures en respectant dans la mesure du possible un état proche du vivant (GABE, 1968). Il existe de nombreux agents fixateurs dont le bain de Hollande à base d'acide picrique choisi dans notre cas. La fixation dure de 2 à 8 jours.

☒ Déshydratation des pièces :

Avant de procéder à la déshydratation, les pièces sont lavées à l'eau courante pendant 24 heures, ceci afin d'éliminer l'excès du fixateur. Les pièces fixées et lavées sont par la suite plongées successivement dans :

- deux bains d'alcool 70 ° pendant 30 minutes chacun pour mettre fin à l'action du liquide fixateur.
- Deux bains d'alcool 95° pendant 30 minutes chacun
- Deux bains d'alcool 100° pendant 30 minutes chacun
- Deux bains de butanol pendant 15 minutes chacun.

☒ Imprégnation à la paraffine :

Les pièces déshydratées sont imprégnées dans :

- Un bain mélange homogène moitié paraffine, moitié butanol pendant une heure dans une étuve réglée à 60°C.
- Deux bains de paraffine pure d'une heure chacun dans une étuve réglée à 60° C.

☒ Inclusion des pièces dans la paraffine :

L'inclusion des pièces est réalisée dans un moule. La paraffine fondue est versée dans ce moule, puis la pièce à inclure y est introduite et orientée convenablement. Une étiquette référencée est installée dans la paraffine en voie de solidification.

☒ Microtomisation et étalement des coupes :

Le bloc obtenu est taillé au scalpel jusqu'à éliminer l'excédent de paraffine environnant l'organe. Il est commode de donner à la surface des coupes la forme d'un trapèze ou d'un rectangle dont au moins deux cotés soient parallèles (Martoja et Martoja, 1967). Des coupes sériées de 7µm sont alors obtenues à l'aide d'un microtome. Ces portions de rubans de coupes sont déposées dans une goutte d'eau gélatinée (préparation annexe n°I) préalablement déposée sur une lame propre. Les préparations sont placées sur une platine chauffante afin d'étaler les coupes. Les lames ainsi préparées sont ensuite rangées dans une étuve à 40° C pour leur séchage.

☒ Déparaffinage et réhydratation :

Le déparaffinage consiste à éliminer le milieu d'inclusion des préparations. Celles-ci sont placées sur une platine chauffante jusqu'à ce qu'on constate la liquéfaction de la paraffine. Elles subissent ensuite successivement les bains suivants :

- deux bains de toluène pendant 15 minutes chacun
- deux bains d'alcool 100° pendant 30 minutes chacun
- deux bains d'alcool 95° pendant 30 minutes chacun
- deux bains d'alcool 70° pendant 30 minutes chacun
- deux bains d'eau distillée de 5 minutes pour réaliser leur parfaite réhydratation.

☒ Coloration des coupes :

Son but est d'établir le contraste naturel des coupes et de rendre plus évident les différents constituants cellulaires. Nous avons choisi la coloration topographique de Mallory pour le tube digestif, et la coloration topographique polychrome à l'azan heidenhain (préparation annexe n°I).

☒ Montage des coupes :

Le montage des coupes à un triple but à savoir :

- la protection mécanique de celles-ci.
- La conservation aussi longue que possible des colorations ou réactions histo-chimiques.
- L'obtention du degré de transparence et d'indice de réfraction avantageux de points de vue optique.

Le montage des coupes est réalisé entre lame et lamelle au moyen du baume de Canada. Afin que la résine interposée entre lame et lamelle soit homogène, on porte la lame fraîchement montée sur la platine chauffante et on chasse l'excès de résine et les bulles d'air vers les bords en appuyant faiblement à l'aide d'une aiguille sur la lamelle. A la fin du montage on procède au nettoyage des lames puis à leur séchage dans une étuve réglée à 40°C pendant 48 heures (Figure13).

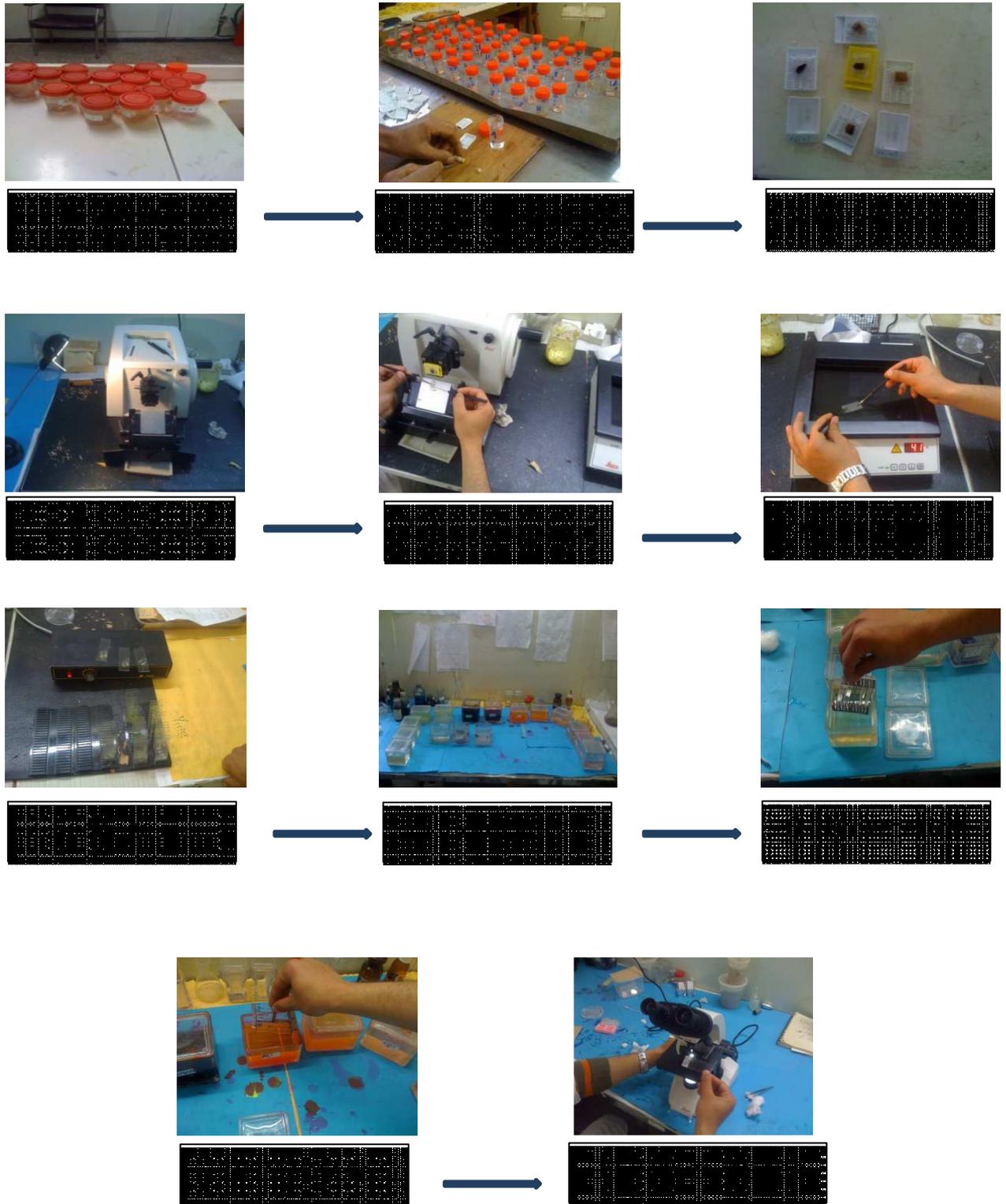


Figure 14 : Techniques de réalisation des coupes histologiques

II.5- Aspect toxicologique et biosécurité de *B. bassiana* et *M. anisopliae* :

II.5.1- Evaluation de la toxicité :

Cet essai consiste à l'inoculation des deux souches acridopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* à un animal de laboratoire appartenant aux mammifères : le rat wistar *Rattus norvegicus*, afin de contribuer à déterminer un aspect de biosécurité des deux entomopathogènes. Cette partie a été réalisée au niveau du laboratoire d'anatomopathologie de l'E.N.S.V.

Des explantats de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* ont été prélevés à partir de leurs colonies respectives afin de préparer les solutions entomopathogènes. La concentration des spores est évaluée par la cellule de Malassez. Nous avons utilisé les DL_{50} déterminées pour les L5 de *S. gregaria* pour les deux souches et une dose plus élevée de 10^{10} sp./ml.

II.5.1.1- Réalisation des inoculations :

Avant la réalisation des traitements aux deux champignons, nous avons pesé les animaux dont le poids varie de $177 \pm 19,05$ g à $198,10 \pm 6,14$ afin de suivre leur évolution pondérale. Pour l'inoculation des sujets nous avons utilisé les méthodes suivantes :

II.5.1.1.1- Gavage gastrique :

Pour réaliser ce test nous avons utilisé 02 lots de rats de sexe confondu et le troisième lot de rats témoins. Pour ce faire nous avons procédé comme suit :

-Mise à jeun des animaux la veille du test.

-Administration intra-gastrique (gavage) de 0,5 ml d'une solution de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* à chaque rat traité, les rats témoins reçoivent 0,5 ml d'eau distillée stérilisée (Figure 15).

-Suivi des animaux quotidiennement durant 20 jours.



Figure 15 : Gavage gastrique

II.5.1.1.2- Les injections sous cutané :

Sur les mêmes animaux du gavage gastrique, on administre l'inoculum des deux champignons sous forme d'injections sous cutané (Figure 16) :

Une quantité de 0,025 çml de la solution des deux entomopathogènes est administrée à chaque rat traité. De leur côté les rats témoins reçoivent 0,025 ml d'eau distillée stérilisée.



Figure 16 : Injection sous cutané

II.5.2 - Réalisation des coupes histologiques :**II.5.2.1- La dissection :**

20 jours après traitement nous avons réalisé la dissection des sujets par la technique suivante :

-Euthanasier des animaux par l'inhalation de l'éther éthylique dans une cloche à éther, (Figure17)



Figure 17 : Cloche à éther pour sacrifier les rats

-L'animal repose sur le dos sur une plaque de liège fixée, les pattes sont écartées et fixées par des épingles. la peau fine est incisée du sternum au pubis, disséquée et rabattue à droite et à gauche. La paroi abdominale est ouverte, puis la cavité thoracique (Figure 18).



Figure 18 : Dissection des rats

Nous avons prélevé : le foie, la rate, le tube digestif, et une portion de la peau. Nous mettons toutes les pièces prélevées dans un fixateur (formol) afin de réaliser des coupes histologiques, (Figure 19), la technique histologique est celle de Martoja et Martoja-Pierson (1967) est la même que celle qui a été utilisée pour l'effet des deux cryptogames sur l'histologie du criquet sauf pour la fixation et la coloration où nous utilisons de l'émalun-éosine (annexe I).



Figure 19 : Organes de prélèvement

II.6- Traitement des données :

Pour déterminer l'efficacité de nos traitements, nous avons fait appel à quelques méthodes statistiques.

II.6.1- Correction de la mortalité :

Le pourcentage de mortalité observé chez les larves et les adultes témoins et traités est estimé par la formule suivante :

$$M_o = \frac{\text{Nombre d'individus morts}}{\text{Nombre total d'individus}} \times 100$$

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

$$MC\% = \frac{M_2 - M_1}{100 - M_1} \times 100$$

M1 : Pourcentage de mortalité dans le lot témoin

M2 : Pourcentage de mortalité dans les lots traités

MC% : Pourcentage de mortalité corrigée

II.6.2- Analyse probit :

Pour estimer les DL_{50} (Dose létale au bout de laquelle on obtient 50 % de mortalité) et les TL_{50} (Temps létal au bout de laquelle on obtient 50 % de mortalité), nous avons fait la transformation en probits des pourcentages des mortalités corrigées (Bliss in Cavelier, 1976), et la transformation en logarithmes décimaux des doses et du temps (Cavelier, 1976). Ces transformations nous ont permis d'établir des équations des droites de régressions « probit – logarithmes » de type :

$$Y = a x + b$$

Y = probit des mortalités corrigées

x = logarithmes des doses ou du temps

a = pente

A partir des équations, nous avons calculé des doses létales 50 (DL_{50}) et les temps létaux 50 (TL_{50}) en remplaçant y par le probit 50 (5). Les DL_{50} et les TL_{50} peuvent être déterminés graphiquement en recherchant l'abscisse du point correspondant au probit 5 sur le graphe (Cavelier, 1976).

II.6.3- Analyse de la variance :

Pour confirmer l'influence de la température et des milieux de cultures sur le développement de nos deux entomopathogènes ainsi que pour les taux de mortalité, nous nous sommes appuyés sur l'analyse de la variance ANOVA. Ensuite, nous procédons au test de Tukey qui nous permet de classer les moyennes et d'obtenir les groupes homogènes pour chaque facteur étudié.

Chapitre III :

RESULTATS

CHAPITRE III : RESULTATS

III.1- Caractérisation des deux champignons entomopathogènes :

III.1.1- Effet de la température et des milieux de culture sur le taux de germination de *B. bassiana* et *M. anisopliae*

Les résultats concernant l'effet de la température sur le taux de germination de *B. bassiana* sont portés sur les tableaux n°2, 3 (Annexe I) et la figure 20.

Tableau n° 2 – Effet de la température et des 3 milieux de culture sur le taux % de germination *B. bassiana*.

H \ T °C		20°C	25°C	30°C	35°C
	Milieu	M±ET	M±ET	M±ET	M±ET
24 H	SBRD	65±15	82,67±16,16	70±43,59	7,33±6,43
	MALT	30±10	70±30	20±20	3,67±6,35
	PDA	70±24,46	36±5,29	11,67±10,41	3±5,2
48 H	SBRD	100±0	100±0	100±0	31,33±3,21
	MALT	100±0	100±0	81,67±20,21	8,33±7,64
	PDA	100±0	100±0	64,33±30,92	25,33±17,61
72 H	SBRD			100±0	100±0
	MALT			100±0	100±0
	PDA			100±0	100±0

SBRD: Sabouraud **PDA:** Potatoes dextrose agar

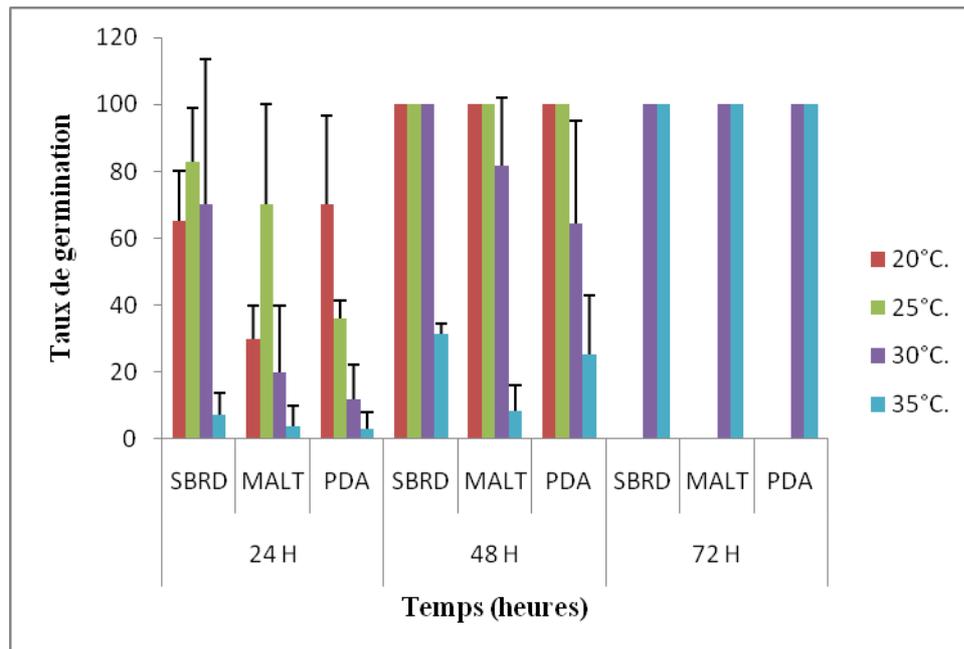


Figure 20 : Effet de la température et des 3 milieux de culture sur le taux de germination *B. bassiana*.

L'étude du taux de germination a été envisagée en fonction du temps indiquant l'évolution de notre souche fongique.

La vue des résultats affichés sur le tableau n°2 de la figure 20, démontre que la température influence significativement le taux de germination des spores de *B. bassiana*. En effet après 48 heures d'incubation le taux de germination est à son maximum à 20°C et 25°C pour les trois milieux de culture retenus. Suivi juste après par les températures 30°C et 35°C pour les trois milieux de culture et ce après 72 heures d'incubation, période au bout de laquelle toutes les conidies ont germé ; sauf pour le milieu Sabouraud où les 100% de germination ont été atteints seulement après 48 heures d'incubation à 30°C. Nous pouvons déduire que les fortes températures agissent négativement en ralentissant le développement de *B. bassiana*.

Les résultats concernant l'effet de la température sur le taux de germination de *M. anisopliae* sont portés sur les tableaux n° 4, 5 (Annexe I) et la figure 21.

Tableau n° 4 : Effet de la température et des milieux de culture sur le taux % de germination de *M. anisopliae*

H T°C	Milieu	20°C	25°C	30°C	35°C
		M±ET	M±ET	M±ET	M±ET
24 H	SBRD	15±13,23	83,33±10,04	56,67±40,41	98,33±2,88
	MALT	11,67±10,41	51,67±43,8	48,33±36,17	73,33±23,26
	PDA	8,333±7,63	46,67±23,6	55±13,23	95±5
48 H	SBRD	38,33±40,1	100±0	100±0	100±0
	MALT	50,00±43,59	100±0	100±0	100±0
	PDA	85±15	100±0	100±0	100±0
72 H	SBRD	100±0			
	MALT	58,33±36,86			
	PDA	91,67±10,41			
96 H	SBRD	100±0			
	MALT	100±0			
	PDA	100±0			

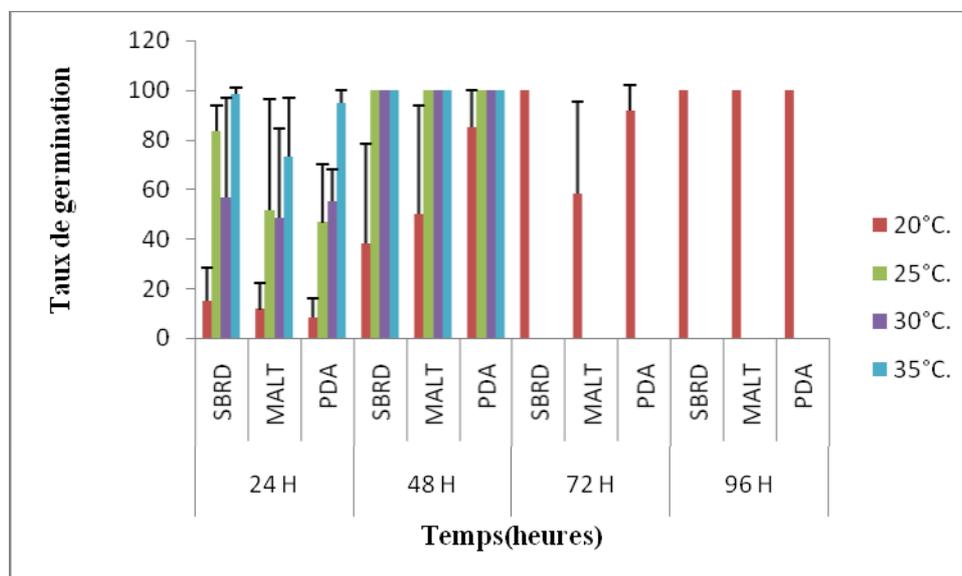


Figure 21: Effet de la température et des milieux de culture sur le taux de germination *M. anisopliae*.

Les résultats affichés sur le tableau n°3 et la figure 21, révèlent que la température affecte significativement le taux de germination des spores de *M. anisopliae*. En effet à 35°C presque

100% de germination sont atteints pour le milieu Sabouraud et PDA et cela seulement après 24 heures d'incubation. Après 48 heures d'incubation, les 100% de germination sont enregistrés à 25°, 30° et 35°C pour les trois milieux de culture. Les 100% de germination ne sont atteints qu'après 96 heures d'incubation pour les milieux Malt et PDA, à 20°C sauf pour le milieu Sabouraud où la germination est à son maximum un jour avant à savoir 72 heures. Nous constatons d'après les résultats que les faibles températures ralentissent la germination de *M. anisopliae*.

Pour interpréter ces résultats nous nous sommes basés sur l'analyse de la variance à 3 critères de classification : facteur 1 : temps, facteur 2 : température et facteur 3 : milieu de culture ; dont les résultats sont portés sur les tableaux n°6 et 7 respectivement. Aussi nous avons appliqué le test de Tukey pour la comparaison des moyennes.

Tableau n°6: Analyse de la variance relative à l'effet de la température et différents milieux de culture sur le taux de germination de *B. bassiana*.

Source	DDL	CS	C M	F.Obs	Prob	F.Théo
Temps	2	74737,834	37368,917	106,129	< 0,0001	3,12390745
Température	3	47403,566	15801,189	44,876	< 0,0001	2,73180704
Milieux de culture	2	6035,686	3017,843	8,571	0,0004	3,12390745
Var inter Fact1*2*3	10	7199,937	719,994	2,045	0,041	1,9649419
Résidus	72	25351,830				
Total	89	133982,989				

Tableau n°7 : Analyse de la variance relative à l'effet de la température et différents milieux de culture sur le taux de germination de *M. anisopliae*.

Source des variations	DDL	CS	C M	F.Obs	Prob	F.Théo
Temps	3	35775,216	11925,072	21,961	< 0,0001	2,74157419
Température	3	39887,372	13295,791	24,486	< 0,0001	2,74157419
Milieux de culture	2	10863,553	5431,777	10,003	0,00016	3,13376232
Var inter Fact1*2	14	15366,878	1097,634	2,021	0,029	1,84226393
Résidus	67	36381,059				
Total	89	103672,222				

L'analyse de la variance pour les deux souches révèle qu'il y a une différence hautement significative pour les facteurs étudiés (Probabilité < 0,05). En effet le comportement des deux souches diffère en fonction de la température, des milieux de culture et du temps. De même l'application du test de Tuckey montre pour une différence significative, tableaux n°8, 9, 10 et 11, 12, 13 (Annexe II).

III.1.2- Effet de la température et des milieux de culture sur la croissance mycélienne de *B. bassiana* et *M. anisopliae* :

Les résultats concernant l'effet de la température sur la croissance mycélienne (cm) de *B. bassiana* sont portés sur le tableau n°14 et la figure 22.

Tableau n°14 : Effet de la température et des milieux de culture sur la croissance mycélienne (cm) de *B. bassiana* :

JOURS	T°C	20°C	25°C	30°C	35°C
	Milieu	M	M	M	M
2J	SBRD	1,3±0,26	0,16±0,12	1,77±0,64	0,7±0,26
	MALT	1,33±0,15	0,5±0,3	6,77±0,28	0,63±0,35
	PDA	0,93±0,55	0,8±0,26	0,8±0,26	0,93±0,11
3J	SBRD	1,53±0,30	0,27±0,21	2,07±0,66	1,17±0,28
	MALT	1,53±0,05	0,97±0,55	1,1±0,36	1±0,5
	PDA	1,16±0,37	0,27±0,55	1,17±0,28	1,3±0,26
4J	SBRD	1,7±0,2	1±0,2	2,33±0,57	1,33±0,28
	MALT	3,83±1,25	2,83±1,05	1,5±0,5	1,13±0,32
	PDA	1,5±0,5	1,93±0,4	2,5±0,5	1,4±0,26
5J	SBRD	4,64±2,98	1,7±0,2	2,83±0,28	1,6±0,4
	MALT	4,73±1,74	3,67±1,04	2,77±0,25	1,17±0,28
	PDA	5,33±1,52	3,73±0,64	3,46±0,55	1,4±0,26
6J	SBRD	6±2,64	2,57±0,4	3,16±0,45	1,7±0,26
	MALT	6,33±1,15	5,5±2,5	4,6±0,69	1,33±0,2
	PDA	7,67±1,09	4,13±0,55	3,7±0,6	1,5±0,3
7J	SBRD	6,5±2,55	6±2,65	3,5±0,5	2,33±0,28
	MALT	7,93±0,80	6,8±1,39	5,73±2,05	1,5±0
	PDA	8,4±0	6,73±0,64	6,83±2,28	1,73±0,25
8J	SBRD	7,13±1,58	6,5±2,18	4±0,5	2,66±0,57
	MALT	8,1±0,52	7,8±0,52	6,06±1,91	1,6±0,1
	PDA	8,4±0	7,8±0,53	7,5±0,5	1,93±0,05
9J	SBRD	8,4±0	7,6±1,39	5,43±1	2,86±0,7
	MALT	8,4±0	8,2±0,2	6,47±1,74	1,8±0,2

	PDA	8,4±0	8,4±0	8,4±0	2,16±0,28
10J	SBRD		8,4±0,23	6,83±1,42	4,33±1,04
	MALT		8,4±0	6,63±1,62	2,66±0,76
	PDA		8,4±0	8,4±0	3,17±0,28
11J	SBRD			8,4±0	6,17±1,04
	MALT			8,4±0	3,77±0,92
	PDA			8,4±0	5,17±0,28
12J	SBRD				7,13±1,20
	MALT				5,13±0,70
	PDA				7,27±0,46
13J	SBRD				8,1±0,26
	MALT				6,1±0,95
	PDA				8,06±0,30
14J	SBRD				8,2±0,2
	MALT				7±0,5
	PDA				8,4±0
15J	SBRD				8,4±0
	MALT				8,4±0
	PDA				8,4±0

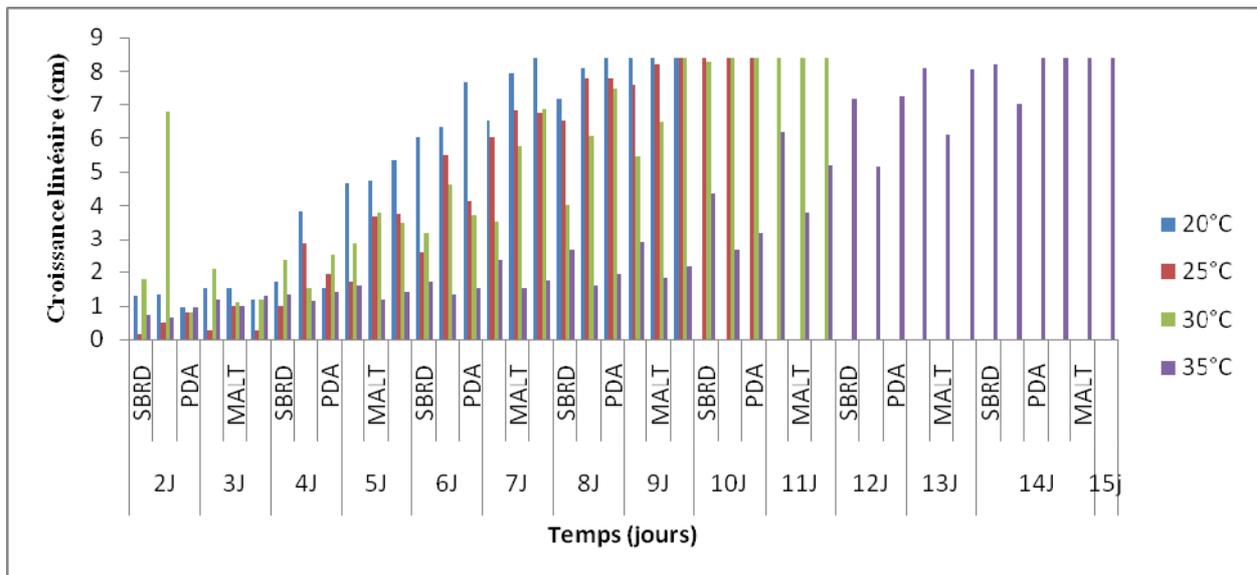


Figure 22 : Effet de la température et des milieux de culture sur la croissance mycélienne de *B. bassiana*.

Le suivi de la croissance mycélienne de *B. bassiana* durant 15 jours d'incubation à différentes températures et milieux de cultures (Figure 22), montre que notre souche est significativement influencée par ces deux paramètres. En effet la meilleure croissance est obtenue sur milieu PDA à 20°C après seulement 7 jours d'incubation. La croissance atteint son maximum après 9 jours à une température de 25°C pour le milieu Malt. Sur le milieu PDA la croissance sera retardée d'un jour. Il en est de même pour 30°C où la croissance atteint 8,4 cm pour les milieux Malt et PDA, pour le milieu Sabouraud elle atteindra son maximum le jour suivant. Enfin à 35°C le maximum de la croissance mycélienne est atteint au 14^{ème} jour d'incubation pour le milieu PDA et au 15^{ème} jour pour les deux autres milieux.

Les résultats concernant l'effet de la température sur la croissance mycélienne de *M. anisopliae* sont portés sur le tableau n° 15 et la figure 23.

Tableau n° 15 : Effet de la température et des milieux de culture sur la croissance mycélienne de *M. anisopliae* :

JOURS	T°C	20°	25°	30°	35°
	Milieu	M	M	M	M
2J	SBRD	0,7±0,36	0,17±0,06	0,57±0,36	1,17±0,3
	MALT	0,53±0,05	0,23±0,15	1,5±0,86	1,2±0,2
	PDA	3,33±0,56	0,93±0,45	1,17±0,76	3,07±0,3
3J	SBRD	0,9±0,36	2,5±0,5	1,33±0,29	1,2±0,3
	MALT	0,7±0,1	1,97±0,06	2,17±1,04	1,57±0,15
	PDA	4,3±0,45	1,27±0,64	1,83±1,04	4,9±0,55
4J	SBRD	1,1±0,36	3,5±0,5	3±0,5	1,6±0,52
	MALT	0,8±0,1	2,33±0,76	2,73±0,64	1,23±0,25
	PDA	4,9±0,36	1,57±0,81	2,67±0,93	6,1±0,26
5J	SBRD	1,13±0,32	4,03±0,45	7,63±0,55	2 ± 0,5
	MALT	0,9±0,1	5,33±0,58	2,97±0,68	2,7±0,26
	PDA	5,4±0,36	2±0,87	2,57±0,81	8,4±0
6J	SBRD	2±0,5	8,07±0,12	8,4±0	5,13±0,61
	MALT	1,13±0,11	6,67±1,26	3,5±1	5,83±0,76
	PDA	6,07±0,20	4±0,5	2,73±0,87	8,4±0
7J	SBRD	2,93±0,75	8,4±0	8,4±0	8,03±0,15
	MALT	1,8±0,26	6,97±1,45	4,17±1,26	7,17±0,20
	PDA	6,7±0,36	7,97±0,06	3,33±0,76	8,4±0
8J	SBRD	3,67±0,76	8,4±0	8,4±0	8,4±0
	MALT	2,47±0,15	7,3±1,21	5,8±1,21	8,4±0

	PDA	7,2±0,2	8,4±0	4,5±0,5	8,4±0
9J	SBRD	4±0,91	8,4±0	8,4±0	
	MALT	2,7±0,17	8,4±0	7,33±0,76	
	PDA	7,53±0,45	8,4±0	5,37±0,60	
10J	SBRD	5,5±0,5		8,4±0	
	MALT	3,43±0,40		7,73±0,64	
	PDA	7,9±0,3		8,4±0	
11J	SBRD	6,23±0,58		8,4±0	
	MALT	4±0,3		8,4±0	
	PDA	8,2±0,2		8,4±0	
12J	SBRD	6,87±0,4			
	MALT	4,97±0,05			
	PDA	8,4±0			
13J	SBRD	7,43±0,49			
	MALT	5,9±0,17			
	PDA	8,4±0			
14J	SBRD	8,2±0,2			
	MALT	7,1±0,34			
	PDA	8,4±0			
15J	SBRD	8,4±0			
	MALT	8,4±0			
	PDA	8,4±0			

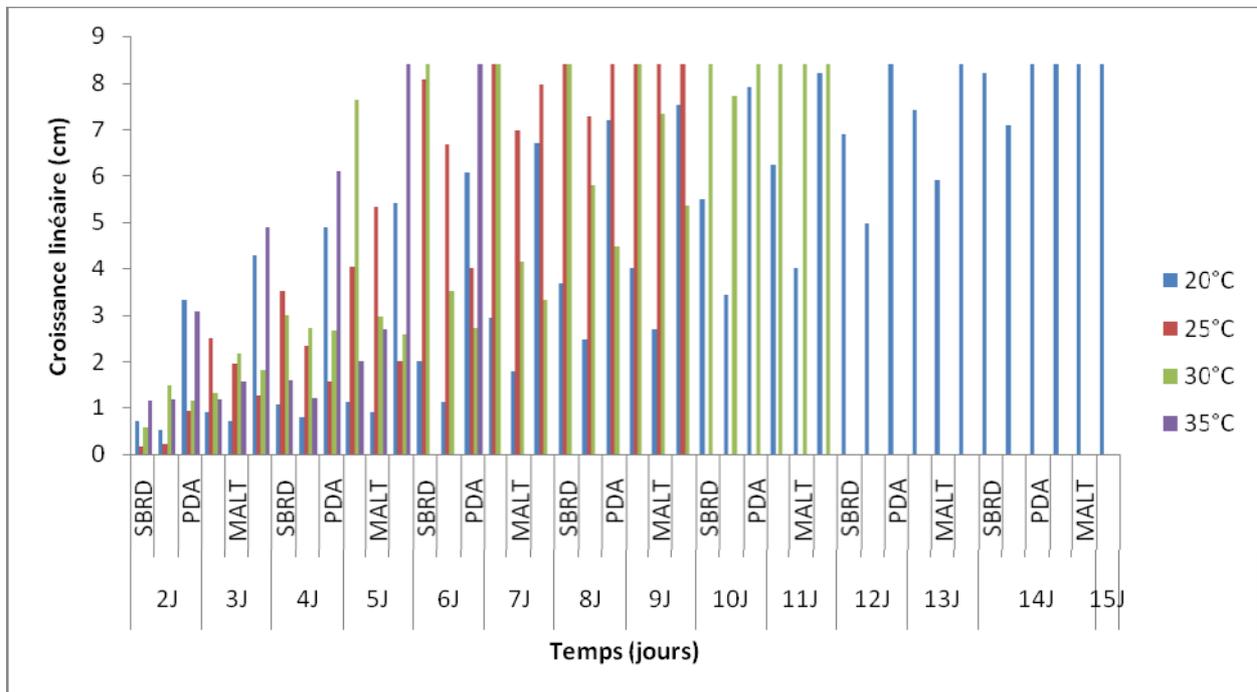


Figure 23 : Effet de la température et des milieux de culture sur la croissance mycélienne de *M. anisopliae*.

Selon les résultats relatifs à la croissance mycélienne de *M. anisopliae* à différentes températures et différents milieux de cultures, il ressort que ces deux paramètres affectent significativement son évolution. En effet le meilleur développement est obtenu à 35°C sur le milieu PDA après 5 jours d'incubation suivi des deux autres milieux au 8^{ème} jour. A 25°C la meilleure croissance est enregistrée sur milieu Sabouraud au 7^{ème} jour suivi du milieu PDA au 8^{ème} jour et enfin du milieu Malt au 9^{ème} jour. La croissance à 30°C débute d'abord sur milieu Sabouraud au 6^{ème} jour sur le PDA au 10^{ème} jour et enfin au 11^{ème} jour pour le milieu Malt.

Après cette constatation nous pouvons déduire que la rapidité du développement de *M. anisopliae* est sous l'influence de la température et de la composition des milieux de culture. Par contre l'interaction des deux facteurs n'affecte pas pour autant le développement de ce cryptogame.

Afin de confirmer l'effet de la température et des milieux de culture sur la croissance mycélienne des deux souches fongiques, nous avons procédé à une analyse de la variance à deux critères de classification. Les résultats de cette analyse sont reportés sur les tableaux n°16 et 17 respectivement.

Tableau n°16 : Analyse de la variance relative à l'effet de la température et différents milieux de culture sur la croissance mycélienne de *B. bassiana*.

Source des variations	DDL	CS	C M	F.Obs	Prob	F.Théo
Temps	12	1762,280	146,857	77,295	< 0,0001	1,77919199
Température	3	615,052	205,017	107,906	< 0,0001	2,6297764
Milieux de culture	2	17,535	8,768	4,615	< 0,0001	3,02087029
Var inter Fact1*2*3	17	2394,867	140,875	74,146	< 0,0001	1,65128912
Résidus	342	649,786				
Total	359	3044,653				

Tableau n°17 : Analyse de la variance relative à l'effet de la température et différents milieux de culture sur la croissance mycélienne de *M. anisopliae*.

Source des variations	DDL	CS	C M	F.Obs	Prob	F.Théo
Temps	13	2271,496	174,730	128,242	< 0,0001	1,75425077
Température	3	532,650	177,550	130,312	< 0,0001	2,63595107
Milieux de culture	2	427,866	213,933	157,015	< 0,0001	3,02711064
Var inter Fact1*2*3	44	471,384	10,713	7,863	< 0,0001	1,41817718
Résidus	288	392,400				
Total	350	2985,527				

L'analyse de la variance nous révèle que pour les deux souches la probabilité est inférieure à 0,05, ce qui suggère qu'il existe une différence hautement significative concernant l'effet de la température et des milieux de culture sur développement de la croissance mycélienne des deux cryptogames et cela en fonction du temps. De même l'application du test de Tukey montre pour les 2 souches une différence significative pour les différents facteurs sauf pour la température son effet n'est pas statistiquement différent tableaux 18,19, 20, et 21, 22, 23 (Annexe II).

III.1.3 - Effet sur la croissance pondérale :

Sur les tableaux n°24, 25 (Annexe II) et la figure 24 sont mentionnées les valeurs des différents poids des spores de *B. bassiana* en fonction des températures et des milieux de cultures, et ceci après une incubation de 15 jours.

Tableau n°24: Variation pondérale en milligrammes de *B. bassiana* à différentes températures et différents milieux de culture.

T°C	20°C	25°C	30°C	35°C
Milieu	M±ET	M±ET	M±ET	M±ET
SBRD	153,36±71,33	442,67±325,51	82,67±6,42	42,67±25,59
MALT	118,5±16,13	294,33±105,87	76±39,66	62,67±7,50
PDA	172,6±32,26	640±158,52	46±15,62	50±26,47

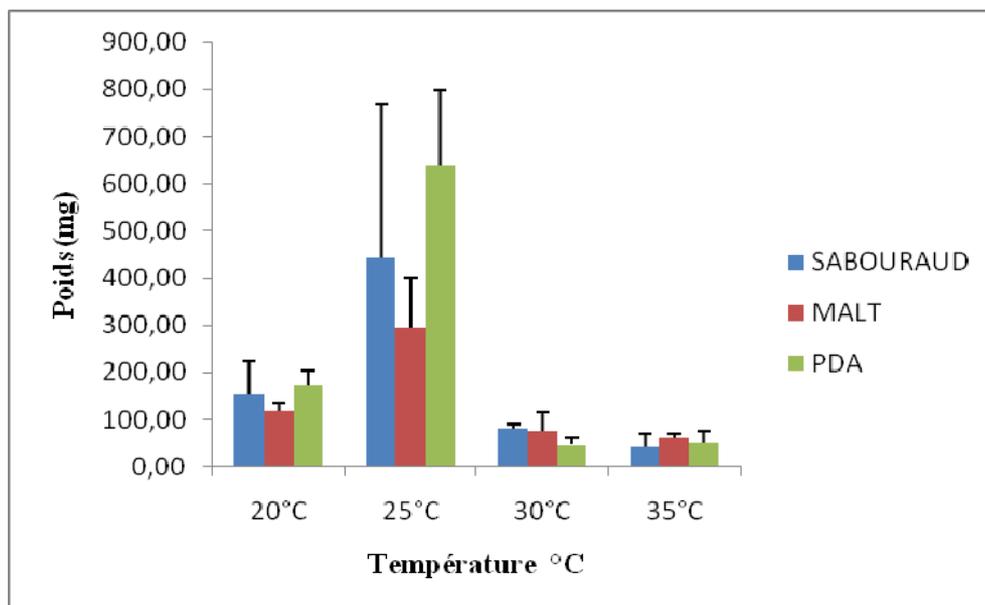


Figure 24 : Effet de la température et des milieux de culture sur l'évolution pondérale de *B. bassiana*

D'après les résultats affichés sur le tableau n°23 et la Figure 24, nous constatons que le meilleur poids frais de *B. bassiana* est enregistré à 25°C d'abord sur le milieu PDA suivi du milieu Sabouraud et enfin le milieu Malt. A 20°C le poids maximal est obtenu sur milieu Malt suivi des autres milieux Sabouraud et PDA respectivement. Pour les températures 30° et 35°C le poids a régressé ceci serait probablement due à la diminution du taux d'humidité provoqué par la forte température.

Sur le tableau n°26, 27 (Annexe II) et la figure 25 sont mentionnées les valeurs des différents poids des spores de *M. anisopliae* en fonction des températures et des milieux de cultures, et ceci après une incubation de 15 jours.

Tableau n°26 : Variation pondérale en milligrammes de *M. anisopliae* à différentes températures et différents milieux de culture.

T°C	20°C	25°C	30°C	35°C
Milieu	M±ET	M±ET	M±ET	M±ET
SBRD	82,66±25,66	265,67±104,64	284,33±39,14	286,67±194,25
MALT	48,67±8,91	207,33±121,96	310,33±35,64	642,67±219,73
PDA	42,83±2,56	555,33±48,5	66±27,07	154,17±7,65

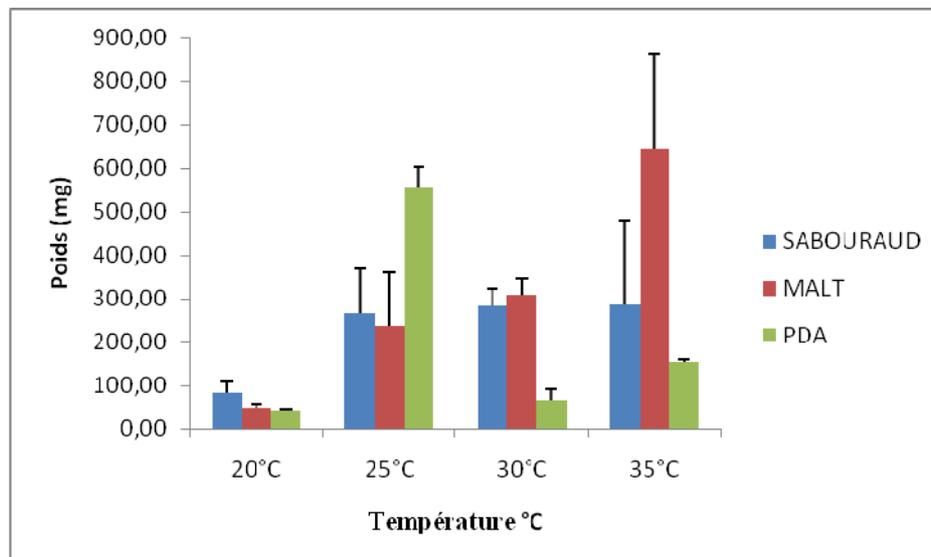


Figure 25 : Effet de la température et des milieux de culture sur l'évolution pondérale de *M. anisopliae*

Sur la base de ces pesées, les résultats obtenus sur les tableau n° 24 et la figure 25 pour le *B. bassiana* et ceux sur le tableau n°26 et la figure 28 pour le *M.anisopliae*, nous nous sommes basés sur une analyse de la variance (tableaux n°28 et 29) à deux critères de classification, à savoir le facteur 1 : température et le facteur 2 : milieu de culture, nous ont permis de comparer les poids des deux champignons. Aussi un test de Tukey a été appliqué.

Tableau n°28 : Analyse de la variance relative à l'évolution pondérale de *B. bassiana* à différentes températures et différents milieux de culture

Source des variations	DDL	CS	C M	F.Obs	Prob	F.Théo
Température	3	969997,302	323332,434	25,516369	< 0,000	3,00878657
Milieux de culture	2	47857,8539	23928,9269	1,88839493	0,173	3,40282611
Var inter Fact1*2	6	139986,339	23331,0566	1,8412129	0,133	2,50818882
Résidus	24	304117,66	12671,5692			
Total	35	1461959,16				

L'analyse de la variance à 2 critères de classification, nous révèle une différence de moyenne hautement significative pour le facteur température. Par contre pour le facteur milieu de culture et l'inter F1*2, nous avons une différence non significative car proba > 0,05. Ceci est confirmé par le test de Tukey tableau n°29, 30, 31 (Annexe II).

Tableau n°32: Analyse de la variance relative à l'évolution pondérale de *M. anisopliae* à différentes températures et différents milieux de culture

Source des variations	DDL	CS	C M	F.Obs	Prob	F.Théo
Température	3	545606,063	181868,688	18,4125209	0,0000	3,00878657
Milieux de culture	2	72374,0772	36187,0386	3,66360263	0,0408	3,40282611
Var inter Fact1*2	6	607199,309	101199,885	10,2455514	0,0000	2,50818882
Résidus	24	237058,713	9877,44639			
Total	35	1462238,16				

Selon le tableau n°32 l'analyse de la variance effectuée, montre que la température et les milieux de culture influence significativement la croissance pondérale de *M. anisopliae* $P < 0,05$, il en est de même pour leur interaction. Ceci est confirmé par le test de Tukey tableaux n°33, 34, 35 (Annexe II).

A la vue de ces résultats nous pouvons établir un tableau comparatif entre les deux souches fongiques.

Tableau n° 36: Comportement de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* vis-à-vis de la température et des milieux de culture

Souches	<i>B. bassiana</i>			<i>M. anisopliae</i>		
	% germination	Croissance mycélienne	Evolution pondérale	% germination	Croissance mycélienne	Evolution pondérale
T°C	20°C	20°C	25°C	35°C	30°C	35°C
Milieux de culture	Sabouraud	PDA	PDA	Sabouraud	PDA	MALT

III.2- Effet des deux champignons entomopathogènes *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae* vis-à-vis des larves du cinquième stade et des imagos de *Schistocerca gregaria*

III.2.1- Mortalité :

Les résultats concernant le pourcentage de mortalité des L5 et des imagos de *S. gregaria* témoins et traités au *B. bassiana* aux trois doses : D1= $1,46 \times 10^7$ sp/ml, D2= $1,46 \times 10^6$ sp/ml et D3= $1,46 \times 10^5$ sp/ml sont portés respectivement sur les tableaux n°37, 38 et 39 (Annexe II) et les figures 26, 27 et 28.

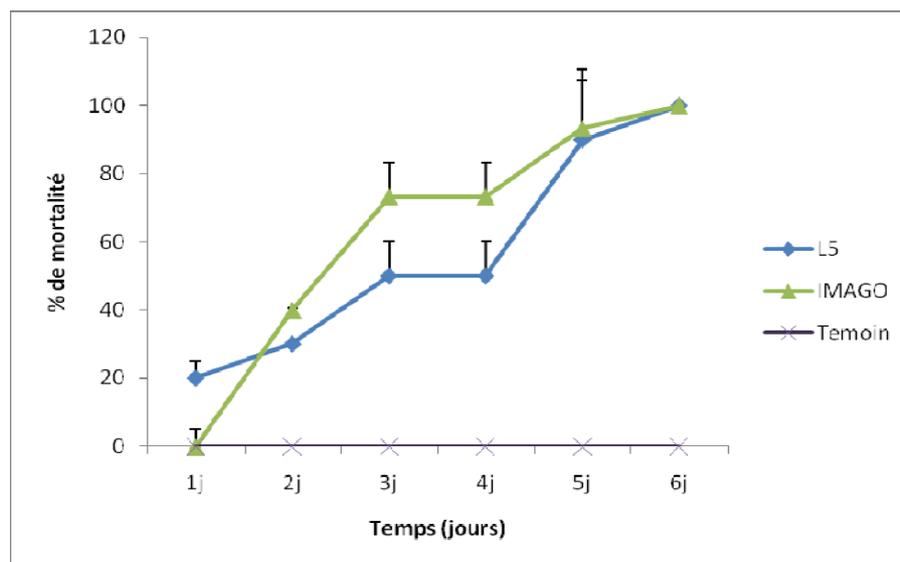


Figure 26 : Taux de mortalité des L5 et des Imagos de *S.gregaria* témoins et traités au *B.bassiana* à la D1 : $1,46 \times 10^7$ sp/ml

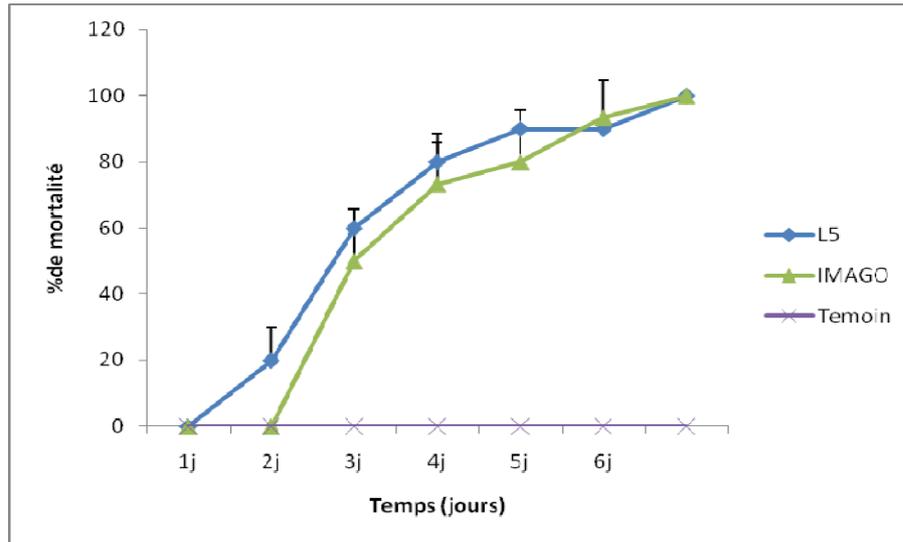


Figure 27 : Taux de mortalité des L5 et des imagos de *S.gregaria* témoins et traités au *B.bassiana* à la D2 : $1,46 \times 10^6$ sp/ml.

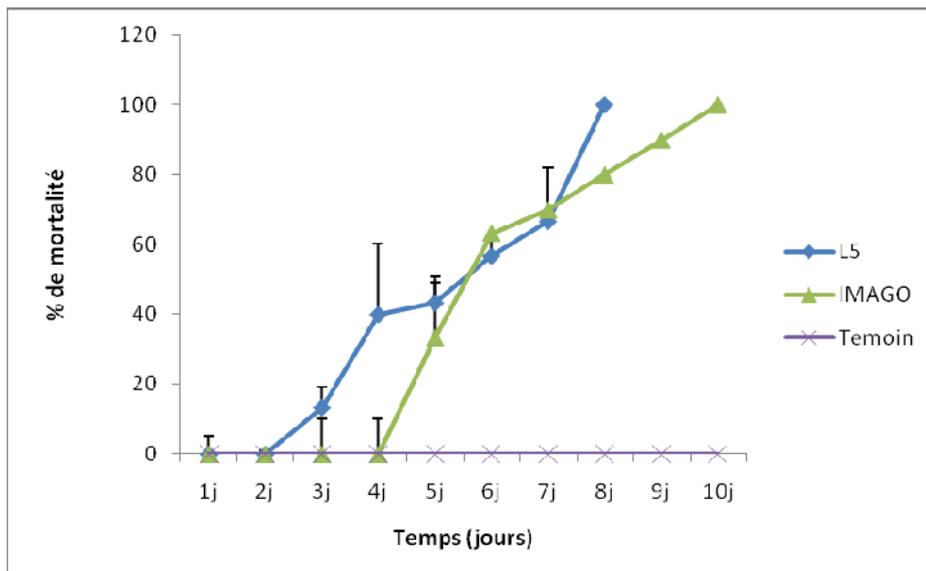


Figure 28: Taux de mortalité des L5 et des imagos de *S.gregaria* témoins et traités au *B.bassiana* à la D3 : $1,46 \times 10^5$ sp/ml.

Les résultats concernant le pourcentage de mortalité des L5 et imagos de *S. gregaria* traités au *M. anisopliae* sont portés respectivement sur les tableaux n°40, 41 et 42 (Annexe II) et les figures 32, 33 et 34.

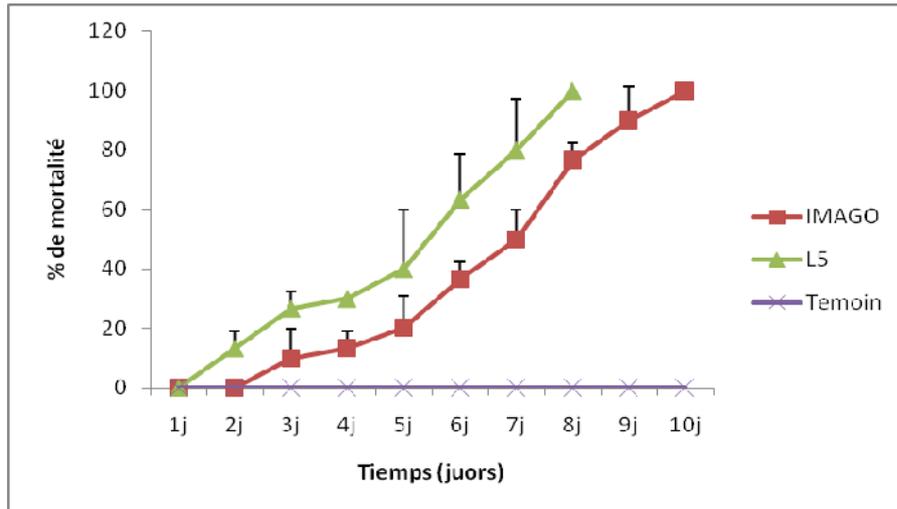


Figure 29 : Taux de mortalité des L5 et des Imagos de *S. gregaria* témoins et traités au *M. anisopliae* à la D1 : 1,46x10⁷sp/ml.

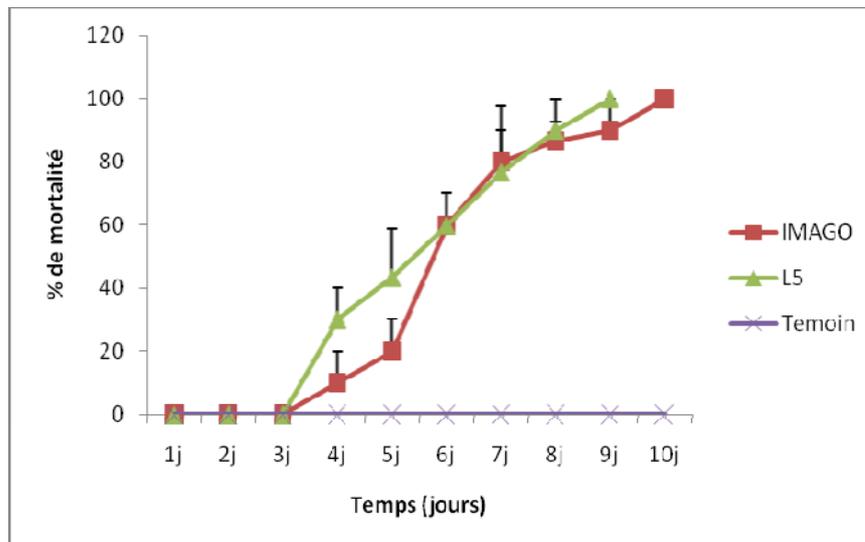


Figure 30 : Taux de mortalité des imagos de *S. gregaria* témoins et traités au *M. anisopliae* à la D2 : 1,46x10⁶sp/ml.

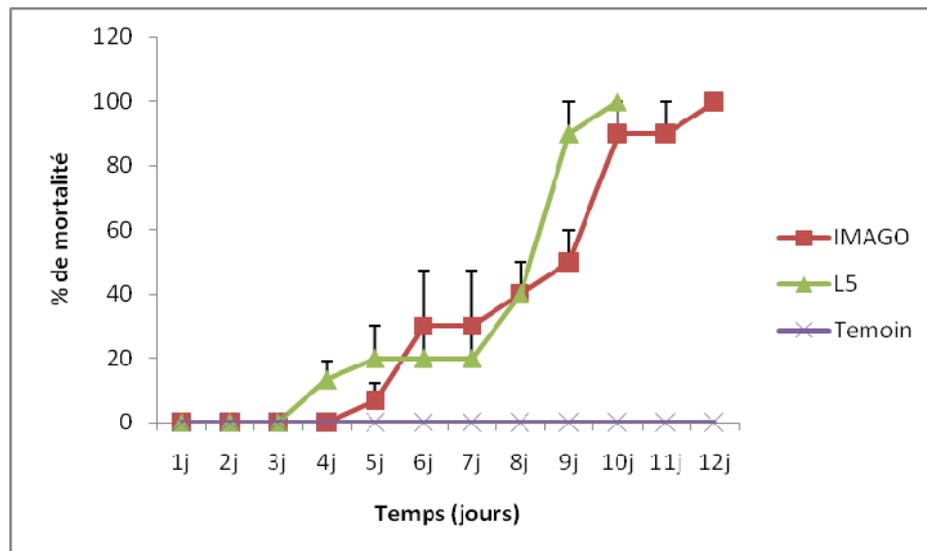


Figure 31 : % de mortalité des imagos de *S. gregaria* témoins et traités au *M. anisopliae* à la D3 : $1,46 \times 10^5$ sp/ml.

Concernant l'effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur les individus de *S. gregaria*, les résultats relatifs à cet essai démontrent une évolution de la mortalité en fonction du temps pour les deux cryptogames. En effet à la forte dose D1 les mortalités ont commencé au 1^{er} et 2^{ème} jour du traitement pour atteindre les 100% au 6^{ème} jour respectivement chez les L5 et les imagos de *S. gregaria* traités au *B. bassiana*, et débute au 2^{ème} et 3^{ème} jour pour atteindre 100% au 8^{ème} et 10^{ème} jour respectivement chez les L5 et imagos traités au *M. anisopliae*. Pour les L5 et les imagos traités au *B. bassiana* à la D2, les mortalités ont commencé respectivement au 2^{ème} et 3^{ème} jour et ont atteint 100% au 7^{ème} jour. Par contre au *M. anisopliae* la mortalité a débuté au 4^{ème} jour chez les deux stades pour atteindre les 100% au 9^{ème} chez les L5 et au 10^{ème} jour chez les imagos. Enfin à la D3 les mortalités ont débuté au 3^{ème} et 5^{ème} jour pour atteindre 100% au 8^{ème} et 10^{ème} jour de traitement respectivement chez les L5 et les imagos traités au *B. bassiana*. Chez les L5 et les imagos traités au *M. anisopliae* les mortalités ont débuté tardivement au 4^{ème} et 5^{ème} jour pour atteindre 100% au 10^{ème} et 12^{ème} jour respectivement.

Afin d'appuyer nos résultats nous avons fait appel à une analyse de la variance à quatre critères de classification (Tableaux n° 43 et n°44) soit :

Le facteur 1 : dose avec 3 niveaux (D1, D2 et D3).

Le facteur 2 : stade avec 2 niveaux (L5 et imagos).

Le facteur 3 : traitement avec 2 niveaux (témoin et traités).

Le facteur 3 : temps avec 10 niveaux.

Tableau n°43 : Analyse de la variance relative à l'effet de *B. bassiana* sur la mortalité des L5 et des imagos de *S. gregaria*

Source	DDL	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	F théorique
Temps	11	150837,996	13712,545	36,731	< 0,0001	1,83256385
Dose	3	81412,062	27137,354	72,691	< 0,0001	2,64582429
Stade	1	2343,823	2343,823	6,278	0,013	3,88427068
traitement	1	69644,751	69644,751	186,554	< 0,0001	3,88427068
Résidus	219	13889,11282	373,323			
Total	235	318127,746				

Tableau n°44 : Analyse de la variance relative à l'effet de *M. anisopliae* sur la mortalité des L5 et des imagos de *S. gregaria*

Source	DDL	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F	F théorique
Temps	11	151313,180	13755,744	213,459	< 0,0001	1,83256385
Doses	3	81489,876	27163,292	421,515	< 0,0001	2,64582429
Stade	1	3029,782	3029,782	47,016	0,005	3,88427068
Traitement	1	69228,815	69228,815	1074,281	< 0,0001	3,88427068
Résidus	219	14112,901	64,442			
Total	235	319174,555				

D'après les résultats de l'analyse de la variance mentionnés sur les tableaux n°43 et 44, nous constatons qu'il y a une différence hautement significative des facteurs étudiés $P \leq 0,05$, sauf pour le champignon *B. bassiana* où le facteur stade n'affiche pas une différence significative. En effet il ressort de ces résultats que les individus traités aux deux champignons sont fortement sensibles à leur concentration en fonction du temps et du stade. Ceci est confirmé par le test de Tukey relatif à chaque champignon pour la comparaison des moyennes, tableaux, 45, 46 et 47, 48, 49, 50 (Annexe II).

Parallèlement nous avons déterminé les doses létales DL_{50} et les temps létaux TL_{50} au bout desquels 50% des individus de *S. gregaria* traités par les deux souches sont morts, ces DL_{50} et TL_{50} sont obtenus à partir des droites de régression.

III.2.2- DL₅₀ :

a- *B.bassiana* :

Nous avons déterminé les DL₅₀ concernant les L5 et les imagos traités aux deux champignons entomopathogènes. Les résultats obtenus sont portés sur le tableau n°51 et les figures 32 et 33 pour cela, nous avons transformé les pourcentages de mortalité corrigée en probits et les doses en logarithmes décimaux.

Après transformation, nous avons tracé les droites de régression avec leurs équations afin d'obtenir les DL₅₀ relatives à chaque stade.

Tableau n° 51 : Probits des pourcentages de mortalités cumulées et logarithmes décimal des doses pour les L5 et les imagos de *S. gregaria* traités au *B. bassiana*.

Doses		Stades			
Doses	Log doses	L5		IMAGOS	
		MC%	PROBITS	MC%	PROBITS
D1	7,16	90	6,28	93,33	6,48
D2	6,16	90	6,28	80	5,84
D3	5,16	43,33	4,82	33,33	4,56

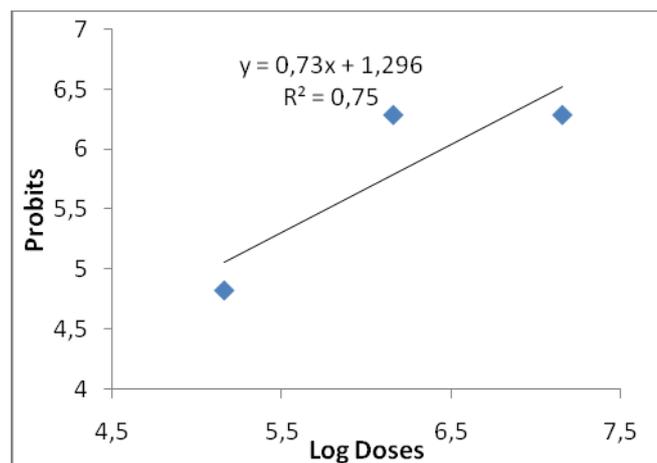


Figure 32 : Effet de *B. bassiana* vis-à-vis des L5 de *S. gregaria*

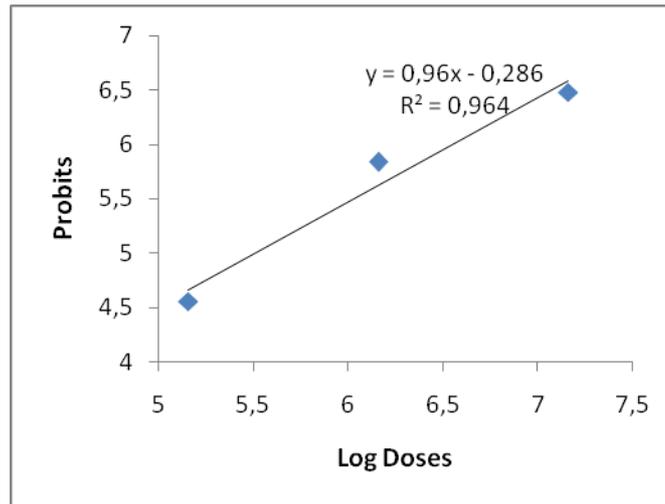


Figure 33 : Effet de *B. bassiana* vis-à-vis des imagos de *S. gregaria*

Les valeurs de DL_{50} relatives au *B. bassiana* pour les deux stades sont mentionnées sur le tableau n°52.

Tableau n° 52 : Equations des droites de régression et coefficient de corrélation et DL_{50} des L5 et imagos de *S. gregaria* traités au *B. bassiana*.

Stade	Equation de la droite de régression	R^2	DL_{50}
L5	$y = 0,73x + 1,296$	0,75	$1,19 \times 10^5$ sp/ml
Imagos	$y = 0,96x - 0,286$	0,964	$3,21 \times 10^5$ sp/ml

A partir des équations, nous avons calculé les doses létales 50 (DL_{50}) en remplaçant Y par le probit 50 (5). Les DL_{50} peuvent être déterminées graphiquement en recherchant l'abscisse du point correspondant au probit 5 sur le graphe (CAVELIER, 1976).

Nous avons estimé la DL_{50} pour les L5 = $1,19 \times 10^5$ sp/ml, et pour les imagos la DL_{50} est = $3,21 \times 10^5$ sp/ml

b- *M. anisopliae* :

Les résultats obtenus sont portés sur le tableau n° 53 et les figures 34 et 35 pour cela, nous avons transformé les pourcentages de mortalité corrigée en probits et les doses en logarithmes décimaux.

Tableau n°53 : Probits des pourcentages de mortalités cumulées et logarithmes décimaux des doses pour les L5 et les imagos de *S. gregaria* traités au *M. anisopliae*.

Doses		Stades			
Doses	Log doses	L5		IMAGOS	
		MC%	PROBITS	MC%	PROBITS
D1	7,16	40	4,75	20	4,16
D2	6,16	43,33	4,82	20	4,16
D3	5,16	20	4,16	7	3,52

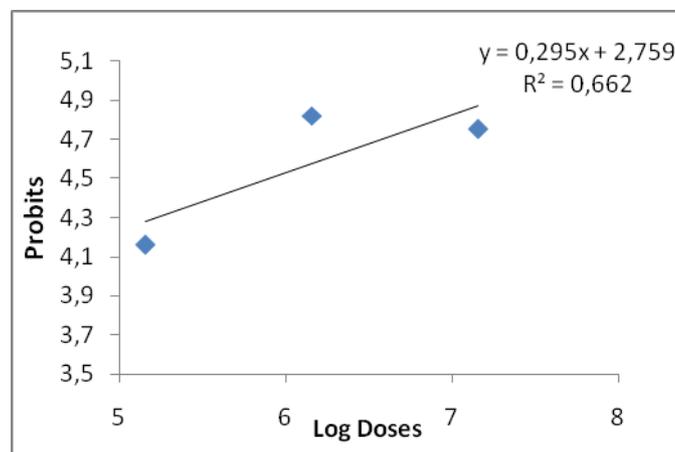


Figure 34 : Effet de *M. anisopliae* vis-à-vis des L5 de *S. gregaria*

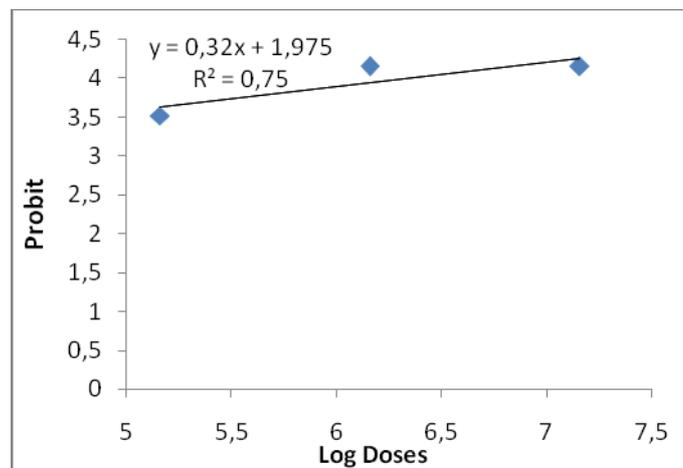


Figure 35 : Effet de *M. anisopliae* vis-à-vis des imagos de *S. gregaria*

Les valeurs de DL_{50} relatives au *M.anisopliae* pour les deux stades sont mentionnées sur le tableau n°54

Tableau n° 54 : Equations des droites de régression et coefficient de corrélation et DL_{50} des L5 et imagos de *S. gregaria* traités au *M. anisopliae*.

STADE	EQUATION DE LA DROITE DE REGRESSION	R ²	DL ₅₀
L 5	$y = 0,295x + 2,759$	0,662	$3,95 \times 10^7$ sp/ml
Imagos	$y = 0,32x + 1,975$	0,75	$2,83 \times 10^9$ sp/ml

A partir des équations, nous avons calculé les doses létales 50 (DL_{50}) en remplaçant Y par le probit 50 (5). Les DL_{50} peuvent être déterminées graphiquement en recherchant l'abscisse du point correspondant au probit 5 sur le graphe (CAVELIER, 1976).

Nous avons estimé la DL_{50} pour les L5 = $3,95 \times 10^7$ sp/ml et pour les imagos la DL_{50} est = $2,83 \times 10^9$ sp/ml

D'après les tableaux ci-dessus, nous remarquons que les valeurs de R^2 sont toutes comprises entre 0 et 1 ($0 < R^2 < 1$), donc la corrélation est dite positive, ces valeurs sont proches de 1 ce qui signifie que la mortalité et le temps sont fortement corrélés (Held, 2010).

En effet, les doses létales pour 50% des individus varient en fonction des deux souches, des doses appliquées et du stade (figure 36).

Tableau n° 55 : Valeurs des DL_{50} pour les L5 et imagos de *S.gregaria* traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*

		L5	Imago
DL ₅₀ (sp/ml)	<i>B. bassiana</i>	$1,19 \times 10^5$ sp/ml	$3,21 \times 10^5$
	<i>M. anisopliae</i>	$3,95 \times 10^7$ sp/ml	$2,83 \times 10^9$ sp/ml

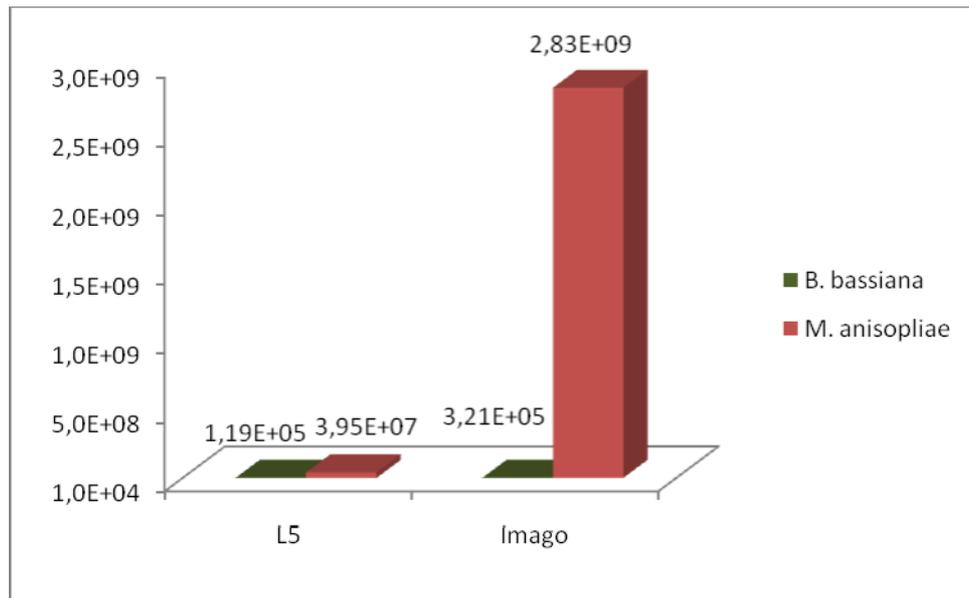


Figure 36 : DL₅₀ pour les L5 et les imagos de *S. gregaria* traités par *B. bassiana* et *M. anisopliae* aux 3doses (D1 : $1,46 \times 10^7$ sp/ml, D2 : $1,46 \times 10^6$ sp/ml, D3 : $1,46 \times 10^5$ sp/ml)

III.2.3- TL₅₀ :

a- *B. bassiana*

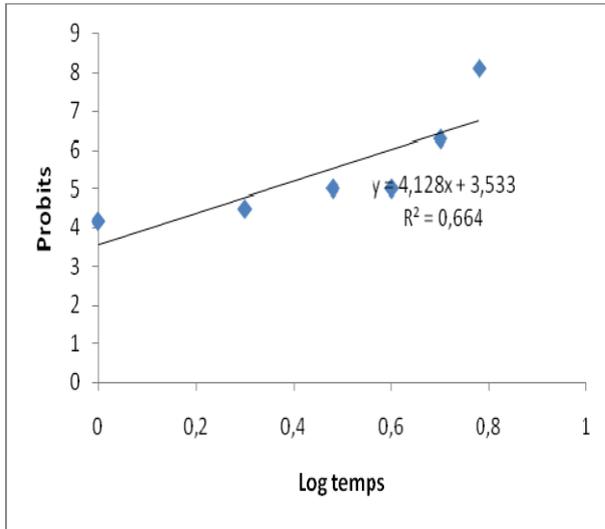
Pour estimer les TL₅₀ nous avons procédé de la même manière que pour les DL₅₀. Les résultats obtenus sont portés sur les tableaux n°56, 57 et les figures 37, 38.

Tableau n°56 : Probits des pourcentages de mortalités cumulées et logarithmes décimaux des temps pour les L5 de *S. gregaria* traitées au *B. bassiana*.

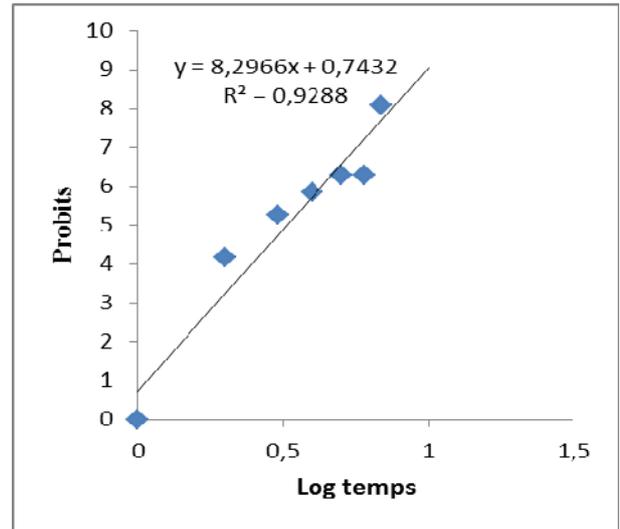
DOSE		D1		D2		D3	
Temps	Log	MC%	Probits	MC%	Probits	MC%	Probits
1	0	20	4,16	0	0	0	0
2	0,3	30	4,48	20	4,16	0	0
3	0,48	50	5	60	5,25	13,33	3,87
4	0,6	50	5	80	5,84	40	4,75
5	0,7	90	6,28	90	6,28	43,33	4,82
6	0,78	100	8,09	90	6,28	56,67	5,15
7	0,84			100	8,09	66,67	5,41
8	0,9					100	8,09

Tableau n° 57: Probits des pourcentages de mortalités cumulées et logarithmes décimaux des temps pour les imagos de *S. gragaria* traités au *B. bassiana*.

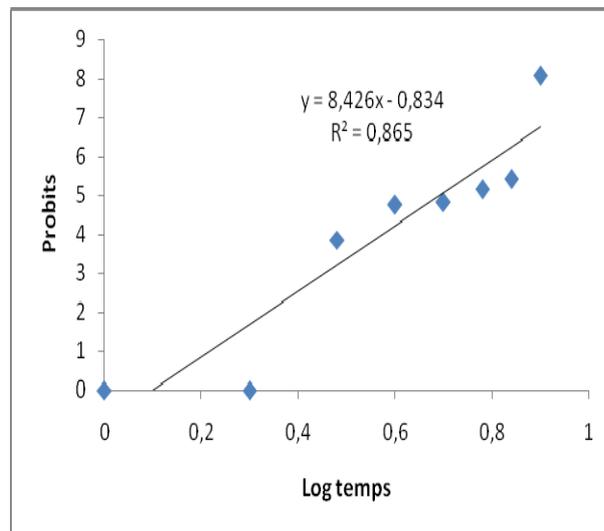
DOSE		D1		D2		D3	
Temps	Log	MC%	Probits	MC%	Probits	MC%	Probits
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0,3	40	4,75	0	0	0	0
3	0,48	73,33	5,61	50	5	0	0
4	0,6	73,33	5,61	73,33	5,61	0	0
5	0,7	93,33	6,48	80	5,84	33,33	4,45
6	0,78	100	8,09	93,33	6,48	63,33	5,33
7	0,84			100	8,09	70	5,52
8	0,9					89	5,84
9	0,95					90	6,28
10	1					100	8,09



D1= $1,46 \times 10^7$ sp/ml

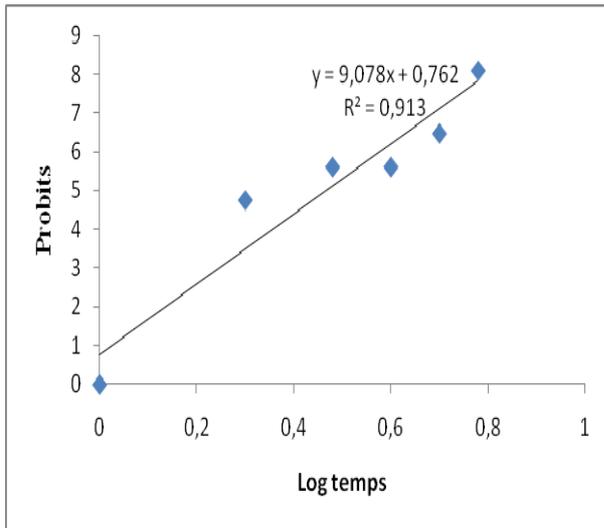


D2= $1,46 \times 10^6$ sp/ml

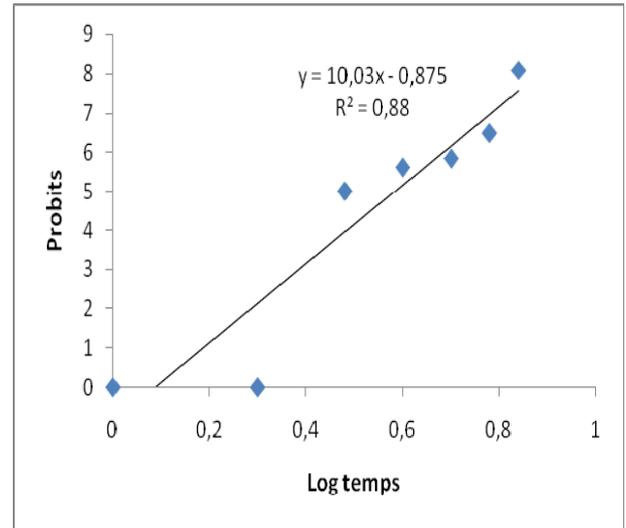


D3= $1,46 \times 10^5$ sp/ml

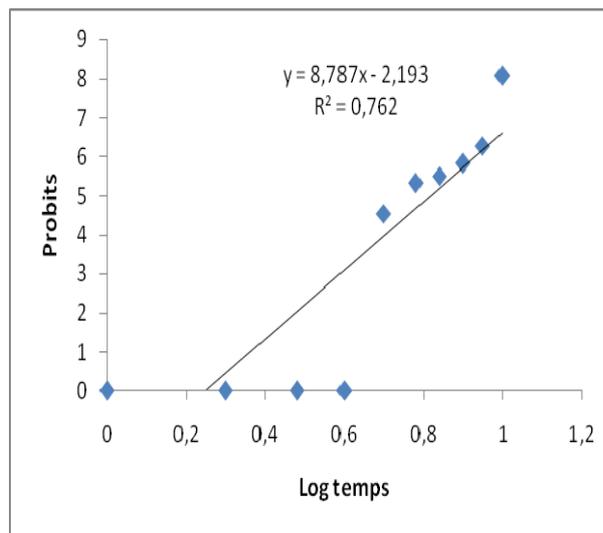
Figure 37: Evaluation des TL_{50} des L5 de *S. gregaria* traitées au *B. bassiana* aux trois doses



D1= $1,46 \times 10^7$ sp/ml



D2= $1,46 \times 10^6$ sp/ml



D3= $1,46 \times 10^5$ sp/ml

Figure 38: Evaluation des TL_{50} des Imagos de *S. gregaria* traités au *B. bassiana* aux trois doses

Les valeurs de TL_{50} relatives pour les L5 et les imagos de *S. gregaria* traités au *B. bassiana* sont mentionnées sur les tableaux n°58 et 59.

Tableau n° 58 : Equations des droites de régression et coefficient de corrélation et TL_{50} des L5 de *S. gregaria* traités au *B. bassiana*.

DOSES	EQUATION DE LA DROITE DE REGRESSION	R ²	TL ₅₀ (J)
D1	$y=4,128 x+ 3,533$	0,664	2,27
D2	$y=8,296 x+ 0,743$	0,928	3,26
D3	$y=8,426 x- 0,834$	0,865	4,92

A partir des équations, nous avons calculé les temps létaux 50 (TL_{50}) (temps léthal au bout duquel on obtient 50% de mortalité), en remplaçant Y par le probit 50 (5). Ces temps pour les L5 sont respectivement pour les 3 doses de : 2,27 j, 3,26 j, 4,92 j.

Tableau n°59 : Equations des droites de régression et coefficient de corrélation et TL_{50} des imagos de *S. gregaria* traités au *B. bassiana*.

DOSES	EQUATIONS DE LA DROITE DE REGRESSION	R ²	TL ₅₀ (J)
D1	$y=9,078 x + 0,762$	0,913	2,93
D2	$y=10,03 x -0,875$	0,88	3,85
D3	$y=8,787 x -2,193$	0,762	6,59

Nous avons estimé les TL_{50} pour les imagos qui sont respectivement pour les 3 doses de : 2,93 j, 3,85 j, 6,59 j

b- M. anisopliae

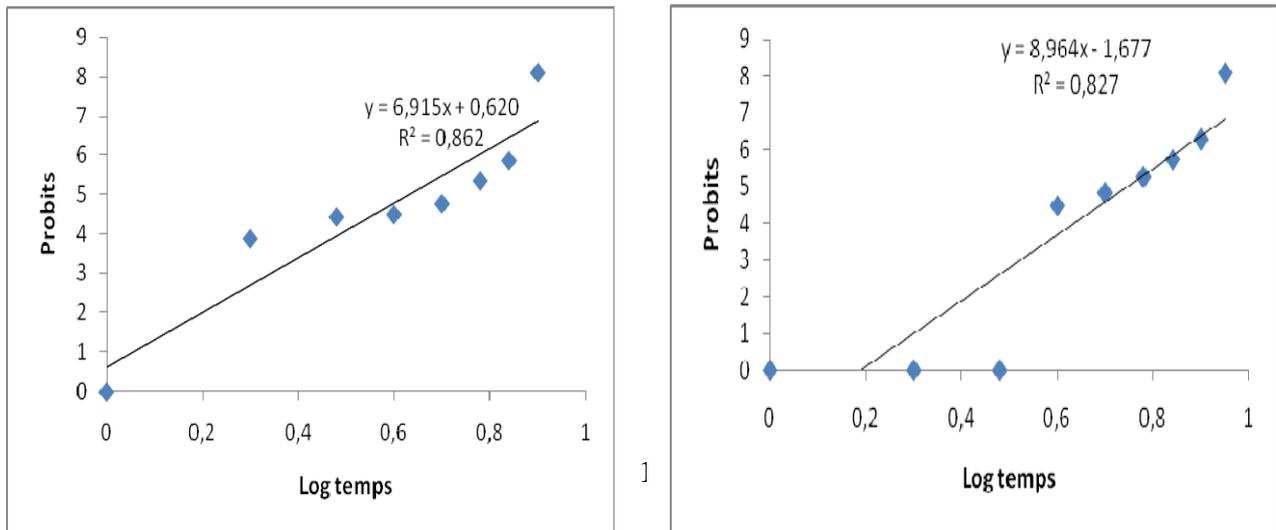
Les résultats obtenus sont portés sur les tableaux n° 60 et 61 et les figures 39 et 40 pour cela, nous avons transformé les pourcentages de mortalité corrigée en probits et les temps en logarithmes décimaux.

Tableau n°60 : Probits des pourcentages de mortalités cumulées et logarithmes décimaux des temps pour les L5 de *S. gregaria* traitées au *M. anisopliae*.

DOSE		D1		D2		D3	
Temps	Log	MC%	Probits	MC%	Probits	MC%	Probits
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0,3	13,33	3,87	0	0	0	0
3	0,48	26,67	4,42	0	0	0	0
4	0,6	30	4,48	30	4,48	0	0
5	0,7	40	4,75	43,33	4,82	13,33	3,87
6	0,78	63,33	5,33	60	5,25	20	4,16
7	0,84	80	5,84	76,67	5,74	20	4,16
8	0,9	100	8,09	90	6,28	40	4,75
9				100	8,09	90	6,28
10						100	8,09

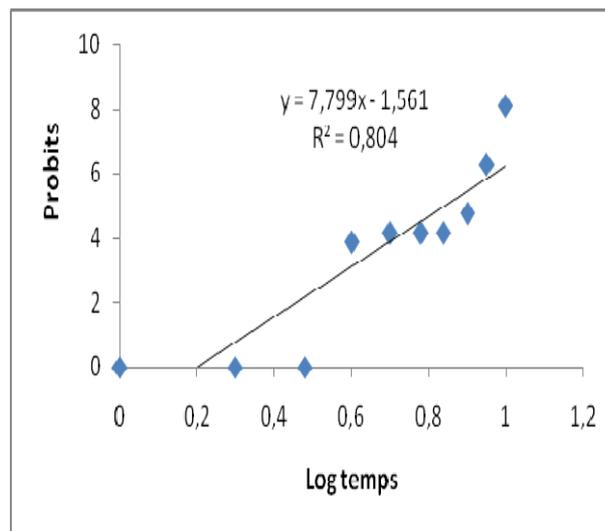
Tableau n° 61 : Probits des pourcentages de mortalités cumulées et logarithmes décimaux des temps pour les imagos de *S. gregaria* traitées au *M. anisopliae*.

DOSE		D1		D2		D3	
Temps	Log	MC%	Probits	MC%	Probits	MC%	Probits
1	0	0	0	0	0	0	0
2	0,3	0	0	0	0	0	0
3	0,48	10	3,72	0	0	0	0
4	0,6	13,33	3,87	10	3,72	0	0
5	0,7	20	4,16	20	4,16	10	3,52
6	0,78	36,67	4,61	60	5,25	30	4,48
7	0,84	50	5	80	5,84	30	4,48
8	0,9	76,67	5,74	86,67	6,13	40	4,75
9		90	6,28	90	6,28	50	5
10		100	8,09	100	8,09	90	6,28
11						90	6,28
12						100	8,09



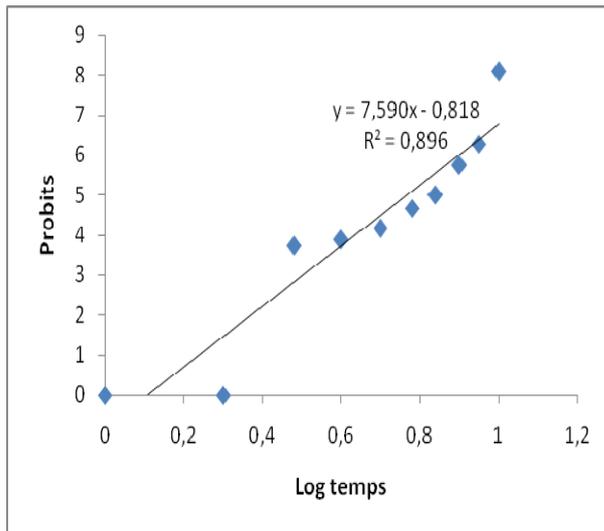
D1= 1,46x10⁷ sp/ml

D2= 1,46x10⁶ sp/ml

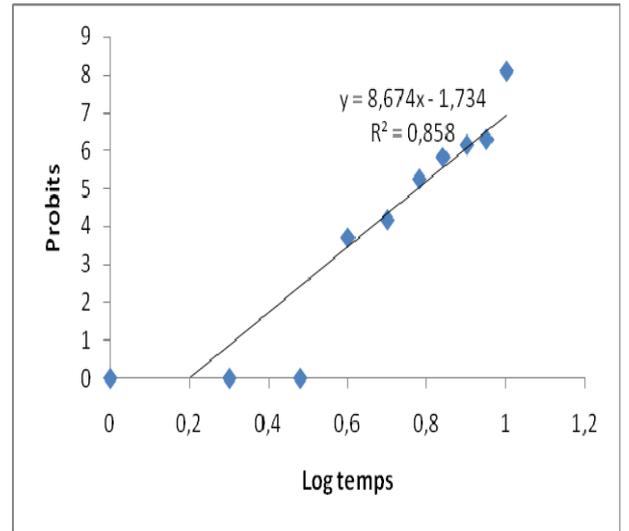


D3= 1,46x10⁵ sp/ml

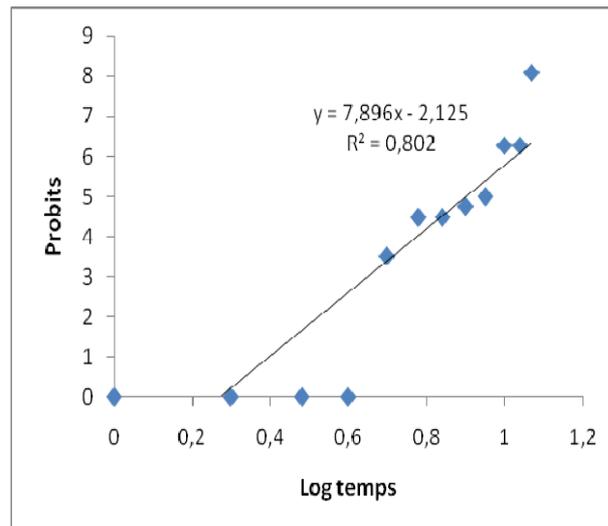
Figure 39: Evaluation des TL₅₀ des L5 de *S. gregaria* traitées au *M. anisopliae* aux trois doses



D1= 1,46x10⁷ sp/ml



D2= 1,46x10⁶ sp/ml



D3= 1,46x10⁵ sp/ml

Figure 40 : Evaluation des TL₅₀ des Imagos de *S. gregaria* traités au *M. anisopliae* aux trois doses

Les valeurs de TL_{50} relatives pour les L5 et les imagos de *S.gregaria* traités au *M.anisopliae* sont mentionnées sur les tableaux n°62 et 63.

Tableau n° 62 : Equations des droites de régression et coefficient de corrélation et TL_{50} des L5 de *S. gregaria* traités au *M. anisopliae*.

DOSES	EQUATION DE LA DROITE DE REGRESSION	R ²	TL ₅₀ (J)
D1	$y=6,915 x+ 0,620$	0,862	4,30
D2	$y=8,964x- 1,677$	0,827	5,56
D3	$y=7,799 x- 1,561$	0,805	6,94

A partir des équations, nous avons calculé les temps létaux 50 (TL_{50}) (temps léthal au bout duquel on obtient 50% de mortalité), en remplaçant Y par le probit 50 (5). Ces temps pour les L5 sont respectivement pour les 3 doses de : 4,30 j, 5,56 j, 6,94 j.

Tableau n°63 : Equations des droites de régression et coefficient de corrélation et TL_{50} des imagos de *S. gregaria* traités au *M. anisopliae*.

DOSES	EQUATIONS DE LA DROITE DE REGRESSION	R ²	TL ₅₀ (J)
D1	$y=7,590 x - 0,818$	0,896	5,84
D2	$y=8,674 x - 1,734$	0,858	5,99
D3	$y=7,896x - 2,125$	0,802	7,98

Nous avons estimé les TL_{50} pour les imagos qui sont respectivement pour les 3 doses de : 5,84 j, 5,99 j, 7,98 j.

D'après les tableaux ci-dessus, on remarque que les valeurs de R^2 sont toutes comprises entre 0 et 1 ($0 < R^2 < 1$), donc la corrélation est dite positive, ces valeurs sont proches de 1 ce qui signifie que la mortalité et le temps sont fortement corrélés (Held, 2010).

En effet, les temps létaux pour 50% des individus varient en fonction des deux souches et des doses appliquées tableau n°64 et la figure 41.

Tableau n° 64 : Les valeurs des TL_{50} pour les L5 et Imagos de *S. gregaria* traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* aux trois doses

	<i>B. bassiana</i>			<i>M. anisopliae</i>		
	D1	D2	D3	D1	D2	D3
L5	2,27	3,26	4,92	4,5	5,56	6,94
Imago	2,93	3,85	6,59	5,84	5,98	7,98

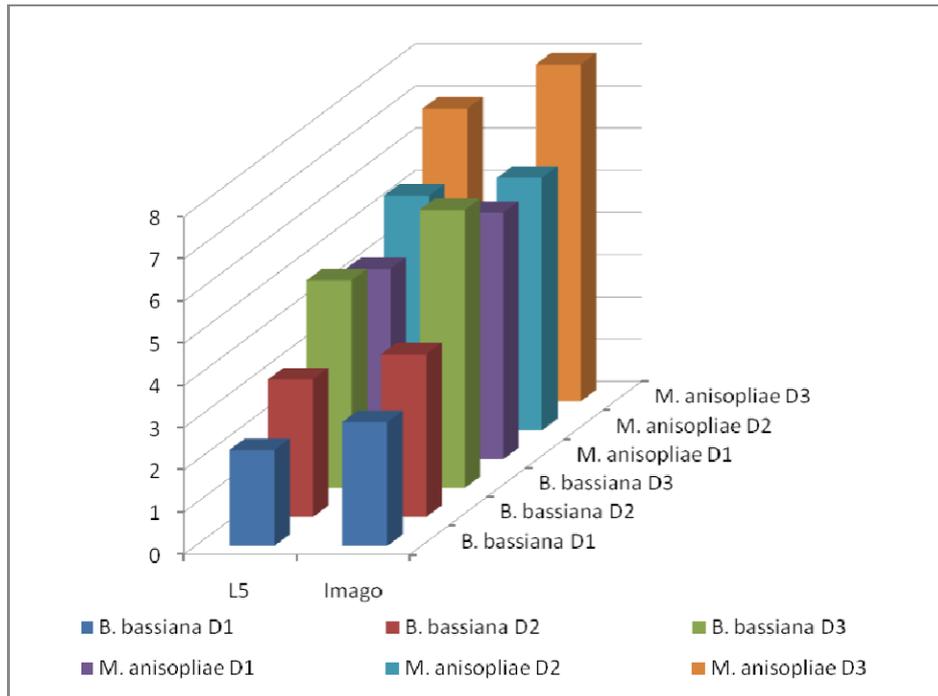


Figure 41 : TL_{50} pour les L5 et les imagos de *S. gregaria* traités par *B. bassiana* et *M. anisopliae* aux 3doses (D1 : $1,46 \times 10^7$ sp/ml, D2 : $1,46 \times 10^6$ sp/ml, D3 : $1,46 \times 10^5$ sp/ml)

III.3. Symptomatologie :

Après inoculation des individus au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*, ces derniers commencent à perdre l'appétit et leurs mouvements deviennent de plus en plus lents jusqu'à la mort avant d'être paralysés. Nous observons aussi des taches rougeâtres au niveau du thorax correspondant à la présence du mycélium. Ces dernières sont dues au dépôt de mélanine (Charnley, 1989).

En présence d'humidité le mycélium perce la cuticule surtout au niveau des membranes inter-segmentaires et commence à sporuler. Peu après, le cadavre se couvre d'une couche poudreuse blanchâtre chez les criquets traités au *B. bassiana* couleur caractéristique de la muscardine blanche (figure, 42) ; et verdâtre chez ceux traités au *M. anisopliae* qui caractérise la muscardine verte (figure, 43). Parallèlement à ces symptômes nous avons remarqué une mal formation de la mue ce qui empêche l'insecte de passer au stade supérieur (figure, 44).



Figure 42: Individus de *S. gregarütinfectés* par *B. bassiana*



Figure 43 : Individu de *S. gregaria* infecté par *M. anisopliae*



Figure 44 : Blocage de la mue.

III. 4- Effet des deux champignons sur la biochimie de la cuticule des L5 de *S.gregaria*

III.4.1- Effet sur le poids sec de la cuticule :

Le poids sec de la cuticule abdominale des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées par la DL₅₀ de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* relevé après 24, 72 et 144 heures de traitement sont mentionnés sur le tableau n° 65 et 66 (Annexe II) et la figure 45.

Tableau n°65 : Evolution du poids sec en mg de la cuticule des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées par la DL₅₀ de *B. bassiana* et de *M. anisopliae*.

Temps	Témoins	<i>B. bassiana</i>	<i>M. anisopliae</i>
24H	18,48±1,09	16,25±0,51	12,28±0,71
72H	39,09±0,61	22,37±0,14	18,08±0,74
144H	48,83±0,44	32,84±0,37	24,14±0,57

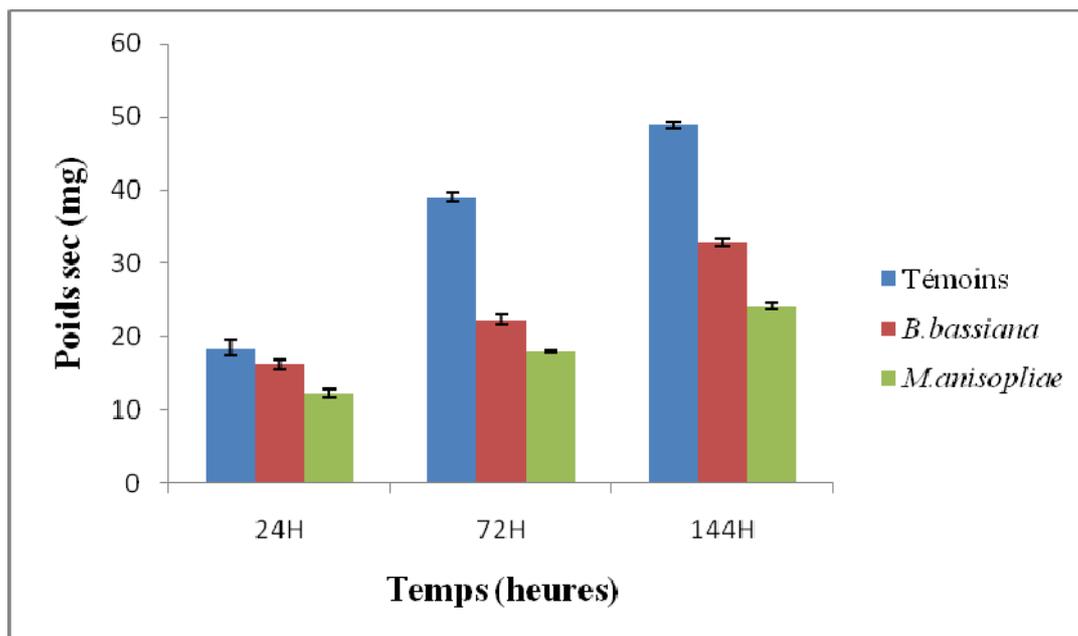


Figure 45 : Evolution du poids sec en mg de la cuticule des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et *M. anisopliae*

D'après les résultats reportés sur le tableau n°65 et la figure 45 concernant l'évolution du poids sec de la cuticule abdominale des L5 traitées au *B. bassiana* et *M. anisopliae* nous remarquons que le poids de cuticule des larves témoins est toujours supérieur à celui des larves traitées. En effet après 24h ce dernier est de $18,48 \pm 1,09$ mg, $16,25 \pm 0,51$ mg suivi de $12,28 \pm 0,71$ mg. Il atteint $39,09 \pm 0,61$ mg, $22,37 \pm 0,14$ mg et enfin $18,08 \pm 0,74$ mg après 72h et enfin après 144h le poids atteint $48,83 \pm 0,44$ mg, $32,84 \pm 0,37$ mg suivi de $24,14 \pm 0,57$ mg respectivement chez les L5 témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*.

Le traitement des résultats du tableau n°65 est effectué par l'analyse de la variance à deux critères de classification soit facteur 1 : temps, facteur 2 : traitement, et aussi par le test de Tukey sont reportés sur les tableaux n°68, 69, 70 (Annexe II).

Tableau n°67 : Analyse de la variance relative à l'évolution du poids sec de la cuticule des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*.

Source des variations	DDL	CS	CM	F.Obs	Proba	F.Théo
Temps	2	3466,69517	1733,34759	4379,81118	0,000	3,20431729
traitement	2	2802,4349	1401,2174	3540,58696	0,000	3,20431729
Var inter Fact1*2	4	677,767941	169,441985	428,144884	0,000	2,57873918
Résidus	45	17,890133	0,39575852			
Total	53	6964,70715				

Les résultats de l'analyse de la variance mentionnés sur le tableau n°73, révèlent une différence hautement significative $P < 0,05$ concernant l'évolution du poids sec de la cuticule des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*. De même l'application du test de Tuckey (tableaux n° 68, 69,70 annexe II) montre une différence significative pour toutes les combinaisons, sauf pour la combinaison (24h témoin-72h *M. anisopliae*) qui appartiennent au même groupe. Leurs effets ne sont pas statistiquement différents.

III.4.2- Effet sur la quantité de chitine :

Les quantités de chitine cubiculaires des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées par la DL_{50} de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* relevé après 24, 72 et 144 H de traitement sont mentionnés sur le tableau n° 71 et 72 (Annexe II) et la figure 46.

Tableau n°71 : Quantités de chitine cuticulaire en mg des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées par la DL₅₀ de *B. bassiana* et de *M. anisopliae*.

Temps	Témoins	<i>B. bassiana</i>	<i>M. anisopliae</i>
24H	2,18±0,30	2,15±0,60	1,42±0,32
72H	6,29±0,56	3,36±0,37	3,38±0,80
144H	9,26±0,53	9,18±0,29	9,11±0,54

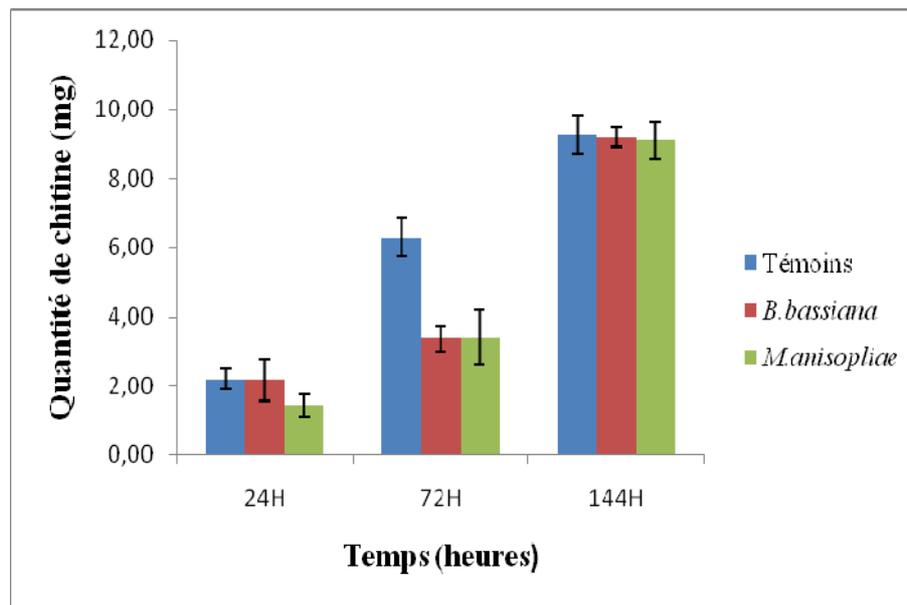


Figure 46 : Quantité de chitine cuticulaire des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et *M. anisopliae*

Au regard des résultats affichés sur le tableau n°71 et la figure 46 relatifs à la quantité de chitine cuticulaire des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées aux deux entomopathogènes, il en ressort que la quantité de chitine augmente en fonction du temps mais elle demeure toujours plus faible chez les larves traitées par rapport aux larves témoins. En effet après 24h de traitement cette quantité est de 2,19±0,50 mg, 2,16±0,30 mg suivi de 1,42±1,16 mg. Après 72h elle atteint 6,29±0,31 mg, 3,34±0,45 mg et 2,38±0,53 mg. Ensuite elle évolue pour atteindre 9,26±0,26 mg, 9,18±0,67 mg suivi de 9,11±0,13 mg après 144h de traitement respectivement chez les larves témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*.

Le traitement des résultats du tableau n°71 est effectué par l'analyse de la variance à deux critères de classification soit facteur 1 : temps, facteur 2 : traitement, et aussi par et le test de Tukey sont reportés sur les tableaux 74, 75, 76 (Annexe II).

Tableau n°73 : Analyse de la variance relative à la quantité de chitine cuticulaire des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*.

Source des variations	CS	DDL	CM	F.Obs	Proba	F.Théo
Temps	492,486515	2	246,243257	966,08499	0,000	3,20431729
Traitement	16,2999593	2	8,14997963	31,974776	0,000	3,20431729
Var inter Fact 1*2	20,0739852	4	5,0184963	19,689042	0,000	2,57873918
Résidus	11,46995	45	0,25488778			
Total	540,330409	53				

Les résultats de l'analyse de la variance mentionnés sur le tableau n°73, révèlent une différence hautement significative $P < 0,0001$ concernant l'évolution de la quantité de chitine des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*. Ceci a été confirmé par le test de Tukey qui révèle une différence significative pour les différentes combinaisons et par l'obtention de groupements hétérogènes tableaux n°74, 75, 76 (Annexe II).

III.4.3- Effet sur la quantité de protéines cuticulaires :

Les quantités de protéines cuticulaire des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées par la DL₅₀ de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* relevé après 24, 72 et 144 H de traitement sont mentionnés sur le tableau n° 77 et 78 (Annexe II) et la figure 47.

Tableau n°77 : Quantités de protéines cuticulaires en mg des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées par la DL₅₀ de *B. bassiana* et de *M. anisopliae*.

Temps	Témoins	<i>B. bassiana</i>	<i>M. anisopliae</i>
24H	16,30±0,97	14,09±1,05	10,86±0,37
72H	32,80±1,06	19,01±0,57	14,70±0,75
144H	39,56±0,92	23,66±0,60	15,01±0,60

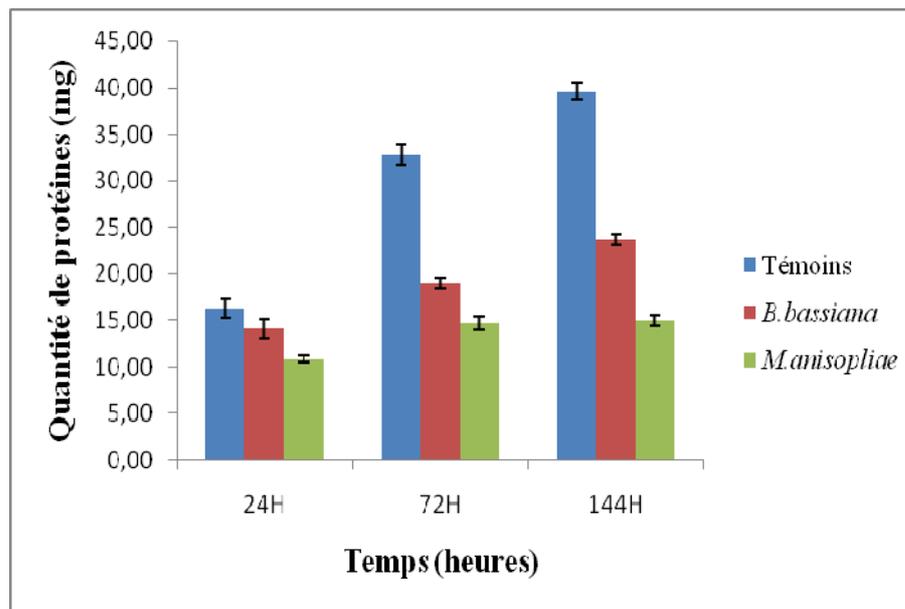


Figure 47 : Quantité de protéines cuticulaire des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*

D'après les résultats portés sur le tableau n°77 et la figure 47 concernant l'évolution des quantités de protéines totales de la cuticule abdominale chez les L5 de *S. gregaria* témoins et traités aux deux hyphomycètes, nous remarquons une évolution dans le temps chez tous les individus. Néanmoins cette quantité demeure toujours plus faible chez les larves traitées. En effet nous pouvons déduire que l'inoculation des individus a affecté significativement ces derniers en diminuant la quantité de protéines contenues dans les cuticules. Selon les résultats ces quantités varient de $16,30 \pm 0,97$ mg, $14,10 \pm 1,05$ mg suivi de $10,86 \pm 0,37$ mg après 24h de traitement. Après 72h elles varient de $32,80 \pm 1,06$ mg, $19,01 \pm 0,57$ mg suivi de $14,70 \pm 0,75$. Enfin après 144 h de traitement nous enregistrons des quantités variant de $39,56 \pm 0,92$ mg, $23,66 \pm 0,60$ mg suivi de $15,01 \pm 0,60$ mg respectivement chez les L5 témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*.

Le traitement des résultats du tableau n°77 est effectué par l'analyse de la variance à deux critères de classification soit facteur 1 : temps, facteur 2 : traitement, et aussi par et le test de Tukey sont reportés sur les tableaux 80, 81, 82 (Annexe II).

Tableau n°79 : Analyse de la variance relative à la quantité de protéines cuticulaire des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*.

Source des variations	DDL	CS	CM	F.Obs	Proba	F.Théo
Temps	2	1427,87934	713,939672	1116,0803	0,000	3,20431729
Traitement	2	2395,02741	1197,51371	1872,0371	0,000	3,20431729
Var inter Fact1*2	4	628,497311	157,124328	245,62772	0,000	2,57873918
Résidus	45	28,7858167	0,63968481			
Total	53	4480,18988				

D'après les résultats de l'analyse de la variance mentionnés sur le tableau n°79, nous remarquons qu'il y a une différence hautement significative $P < 0,0001$ concernant l'évolution de la quantité de protéines cuticulaire des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* ; le test de Tukey confirme cette différence significative par l'obtention de groupements hétérogènes tableau n°80, 81, 82 (Annexe II).

III.5- Effet de *Beauveria bassiana* et de *Metarhizium anisopliae* sur la cuticule et le tube digestif des L5 de *Schistocerca gregaria*

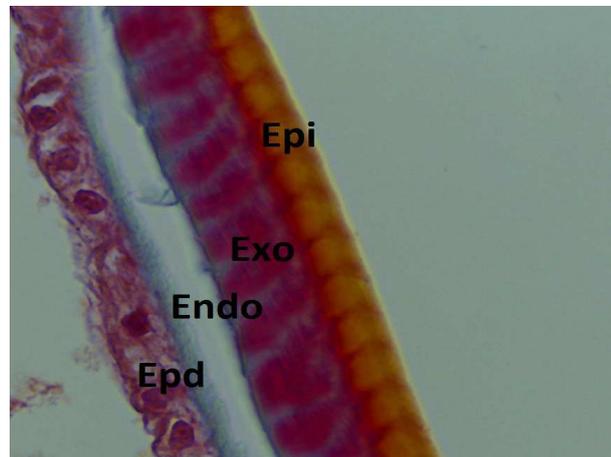
III.5.1- Effet de *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur l'histologie de la cuticule des L5 de *S.gregaria*

La cuticule des arthropodes avec son épiderme sous-jacent forment le tégument. Elle joue à la fois le rôle d'exosquelette et de barrière entre l'environnement et l'animal. Elle tapisse toute la surface du corps et s'invagine au niveau du tube digestif et du système respiratoire.

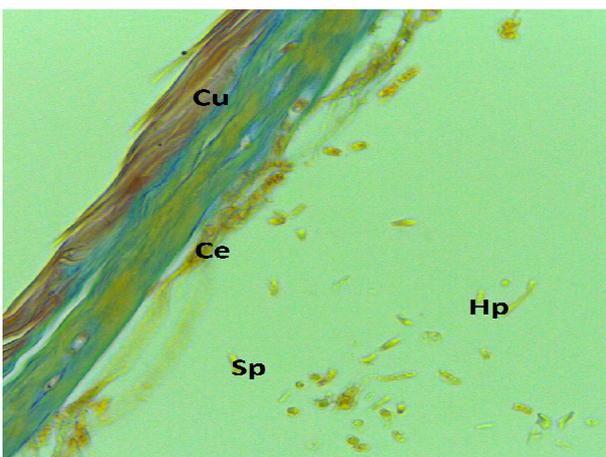
La cuticule des insectes, comme celle des autres arthropodes apparemment sans exception, contient de la chitine, représentant ainsi un type de structure chitineuse (Grassé, 1949). Selon Raccaud Schoeller (1980), la cuticule contient deux couches principales, d'après la composition chimique : l'épicuticule externe, mince non chitineuse et la procuticule (exocuticule et endocuticule) interne, plus épaisse et chitineuse.

La cuticule des L5 témoins de *S.gregaria* mise en évidence grâce à la coloration différentielle à l'azan Heidenhain, décrit la présence d'une couche superficielle colorée en orange représentant l'épicuticule. En dessous de cette dernière se positionne une deuxième couche rouge qui correspond à l'exocuticule et en dernier l'endocuticule colorée en bleu dont l'aspect est lamellaire (Figure 48 A). L'inoculation des deux champignons sur la cuticule des L5 de *S. gregaria* a provoqué des perturbations dans sa structure induisant ainsi parfois une hydrolyse

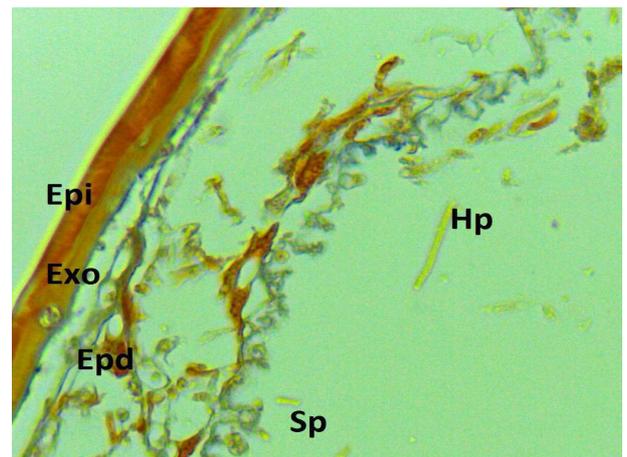
partielle de ses couches. En effet nous avons observé une désorganisation de son architecture se traduisant par une régression de l'épaisseur de ses couches voir même leur détachement. Nous avons aussi noté une désagrégation des cellules épithéliales (Figure 48 (B) et 48 (C)).



A



B



C

Figure 48 : Structure de la cuticule des L5 de *S. gregaria* témoin (A) (Gr.x100) et traitées au *B. bassiana* (B) ($1, 19 \times 10^5$ sp./ml) et au *M. anisopliae* (C) ($3,95 \times 10^7$ sp./ml) (Gr.x40)

Ce : Cellules épithéliales

Cu : Cuticule

Epd : Epiderme

Epi : Epicuticule

Exo : Exocuticule

Endo : Endocuticule

Sp : spores

Hp : hyphes

III.5.2- Effet de *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur la structure du tube digestif des L5 de *S. gregaria*

III.5.2.1 Le jabot

a- Témoins

A l'intérieur, le jabot est tapissé d'une intima cuticulaire pourvue d'un épithélium de revêtement simple cubique dont les noyaux sont arrondis au dessous du quel se trouvent des muscles longitudinaux internes. Nous observons aussi la présence de nombreuses villosités pourvues d'épines. A l'extérieur le jabot est entouré par des muscles circulaires bien développés à jonction serrée (Figure 49A).

b- Traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*

Chez les individus traités par les deux cryptogames, après la réalisation des coupes histologiques, l'examen du jabot a montré des lésions au niveau des muscles circulaires externes avec une altération apparente de l'épithélium (Figure 49B et 49C)

III.5.2.2 Le gésier

a- Témoins

De la même façon le gésier est entouré par des muscles circulaires externes, et à l'intérieur il est pourvu d'un épithélium cubique simple à noyaux arrondis revêtu d'une intima cuticulaire. Il faut noter aussi la présence de nombreuses petites villosités uniformes (Figure 50A).

b- Traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*

L'examen histologique des larves traitées aux deux hyphomycètes révèle d'importantes lésions au niveau des muscles circulaires externes, et aussi une légère altération des muscles longitudinaux (Figure 50B et 50C).

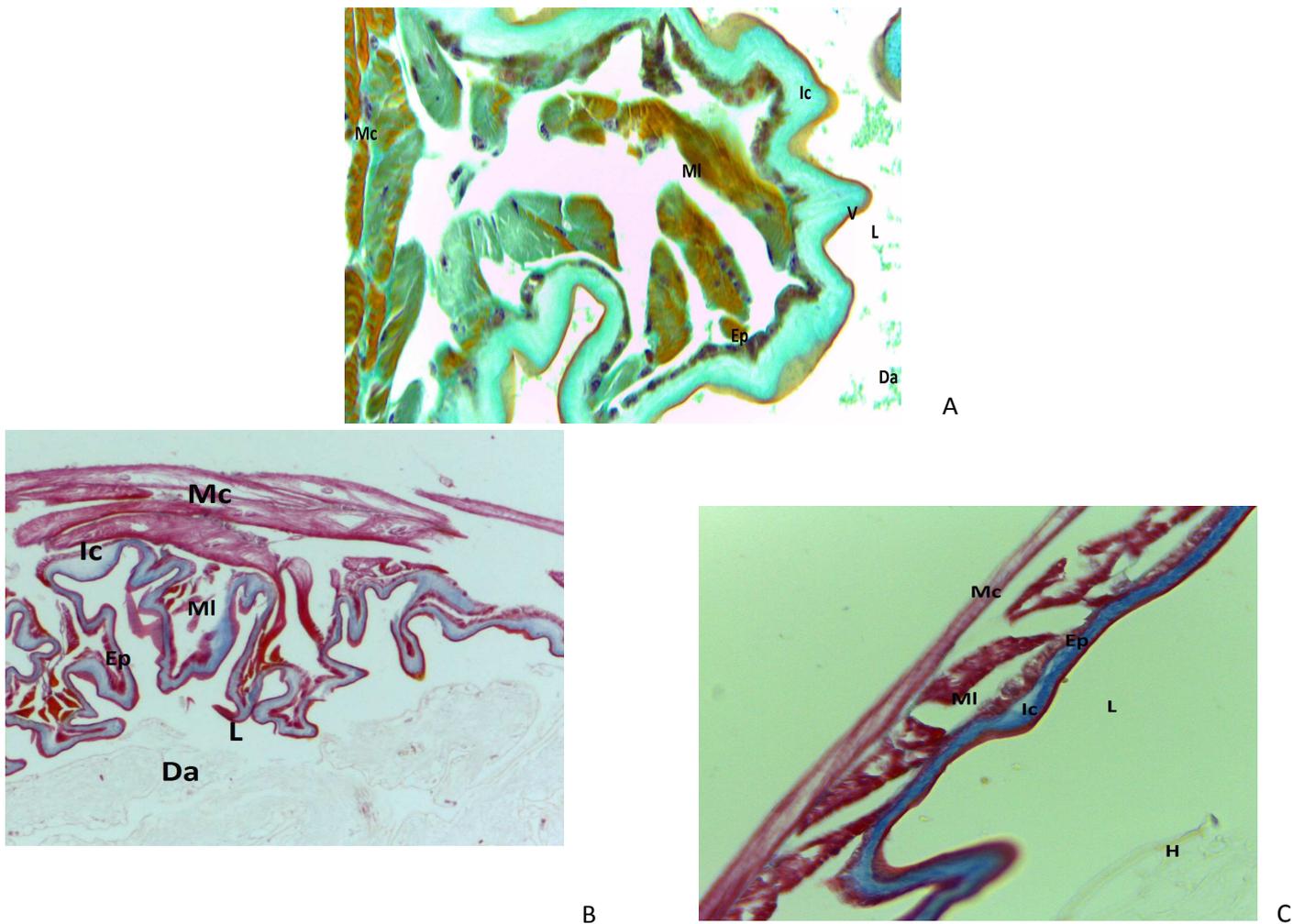


Figure 49 : Coupes histologiques transversales du jabot chez les L5 de *S. gregaria* Témoins (A) et traitées au *B. bassiana* (B) ($1, 19 \times 10^5$ sp./ml) et au *M. anisopliae* (C) ($3, 95 \times 10^7$ sp./ml) (Coloration de Mallory) (Gr.x 40).

Da : Débris alimentaires

Ep : Épithélium intestinale

Ic : Intima cuticulaire

L : Lumière intestinale

Mc : Muscles circulaires
externes

MI : Muscles longitudinaux
internes

V : Villosités

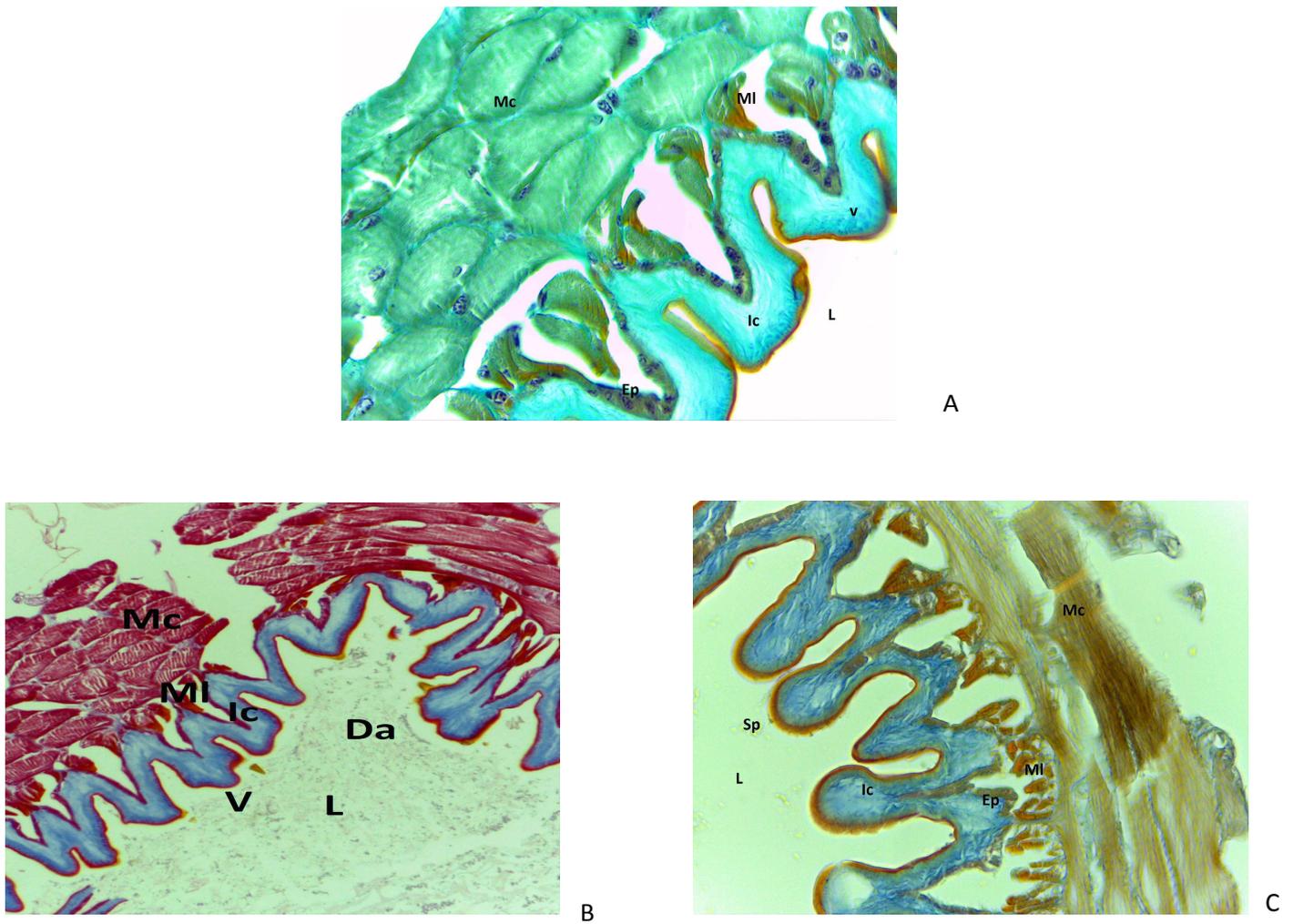


Figure 50 : Coupes histologiques transversales du gésier chez les L5 de *S. gregaria* Témoins (A) et traitées au *B. bassiana* (B) (1, 19×10^5 sp./ml) et au *M. anisopliae* (C) ($3,95 \times 10^7$ sp./ml) (Coloration de Mallory) (Gr.x 40).

Da : Débris alimentaires

Ep : Epithélium intestinale

Ic : Intima cuticulaire

L : Lumière intestinale

L : Lumière intestinale

Mc : Muscles circulaires externes

MI : Muscles longitudinaux internes

Sp : Spores

V : Villosités

III.5.2.3 Le Mésentéron

a- Témoins

Le mésentéron présente un épithélium pseudostratifié palissadique dont l'extrémité est pourvue d'une bordure en brosse. Afin d'assurer son renouvellement il est doté à sa base de cellules de régénérations situées dans des zones dites génératrices. Sa tunique musculaire est réduite formée d'une fine couche de muscles circulaires internes et quelques fibres longitudinales externes. Au niveau du mésentéron le bol alimentaire est enveloppée par une fine lamelle constituant la membrane péritrophique, qui empêche les aliments imparfaitement broyés de venir en contact avec la paroi intestinale (Figure 51A).

b- Traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*

Au niveau de l'intestin moyen, le traitement par les deux entomopathogènes a provoqué le décollement de l'épithélium dont la jonction de ses cellules a été perturbée (Figure 51B et 51C).

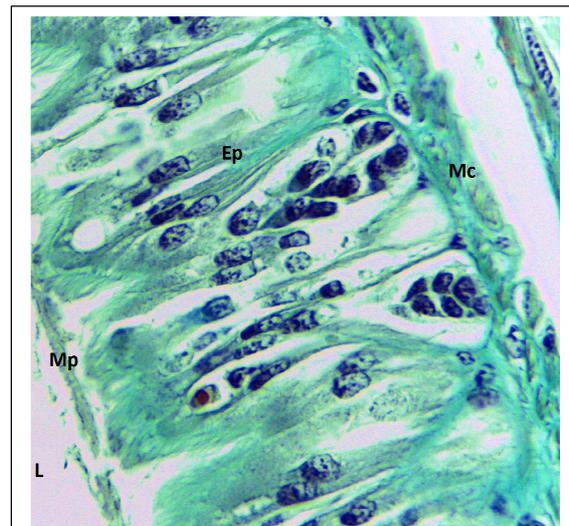
III.5.2.4 Le caecum gastrique :

a- Témoins

La région du mésentéron est pourvue de six caecums gastrique disposés radialement autour de la lumière centrale du tube digestif. Le Caecum gastrique présente un épithélium unistratifié formant de grandes villosités qui s'alternent avec d'autres plus petites représentant les cryptes de régénération. La cuticule est absente à ce niveau comme dans l'intestin moyen ; la musculature est très réduite composée d'une seule couche de muscles circulaires très fine (Figure 52A).

b-Traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*

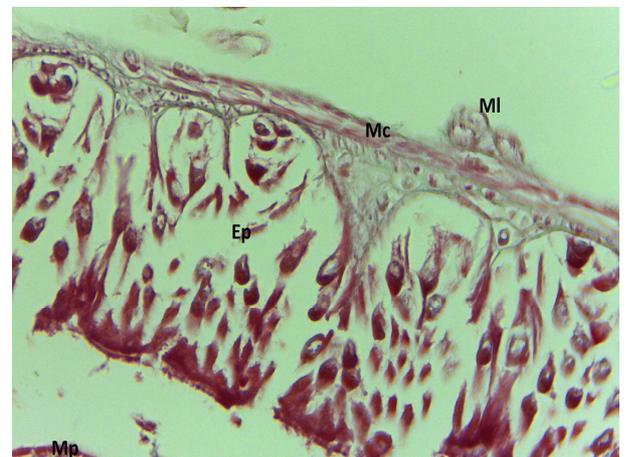
Au niveau du caecums gastrique des individus de *S. gregaria* traités par les deux souches, l'effet est marqué par une altération des muscles circulaires ou nous observons une déchirure, ainsi que des lésions au niveau de l'épithélium se traduisant par une désagrégation des cellules épithéliales (Figure 52B et 52C).



A



B



C

Figure 51 : Coupes histologiques transversales du mésentéron chez les L5 de *S. gregaria* Témoins (A) et traitées au *B. bassiana* (B) ($1, 19 \times 10^5$ sp./ml) et au *M. anisopliae* (C) ($3, 95 \times 10^7$ sp./ml) (coloration de Mallory) (Gr.x40)

Da : Débris alimentaires

Ep : Epithélium intestinale

Ic : Intima cuticulaire

L : Lumière intestinale

Mc : Muscles circulaires internes

MI : Muscles longitudinaux externes

Mp : Membrane péritrophique

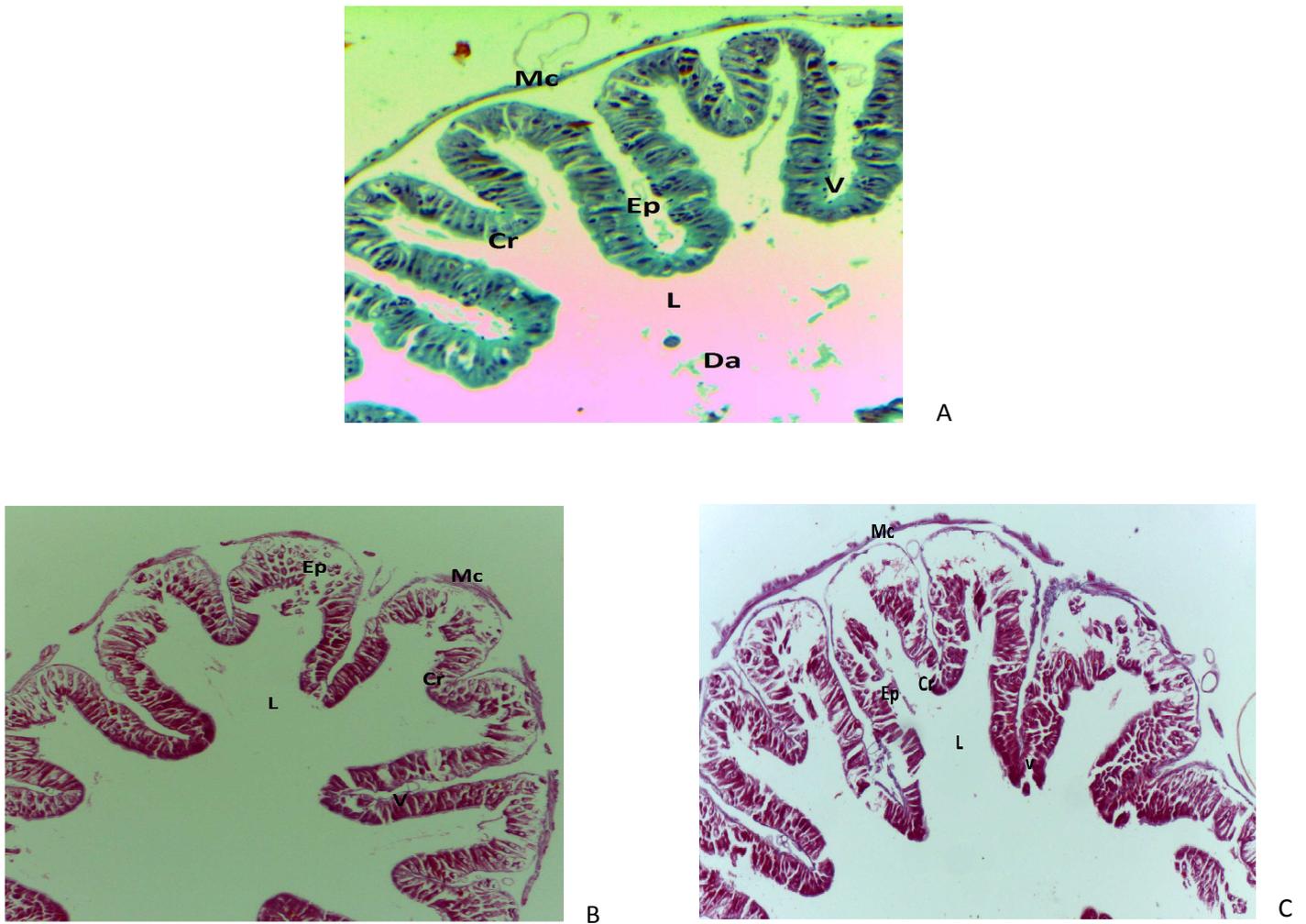


Figure 52 : Coupes histologiques transversales du Caecum gastrique chez les L5 de *S. gregaria* témoin (A) et traitées au *B. bassiana* (B) ($1, 19 \times 10^5$ sp./ml) et au *M. anisopliae* (C) ($3,95 \times 10^7$ sp./ml) (Coloration de Mallory) (Gr.x 40).

Cr : Cryptes de régénération

Ep : Epithélium intestinal

L : Lumière intestinale

Mc : Muscles circulaires

V : Villosités

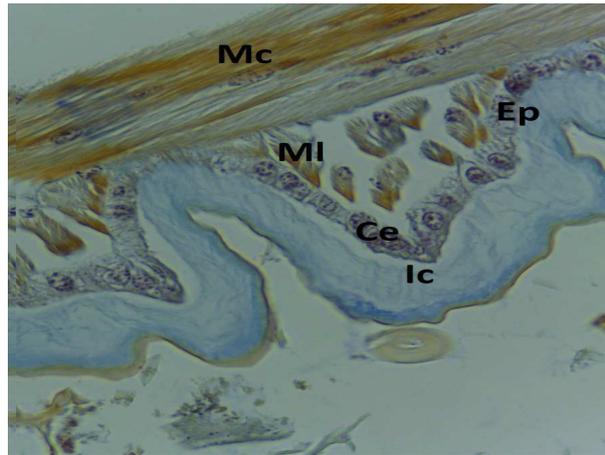
III.5.2.5 L'intestin postérieur

a- Témoins

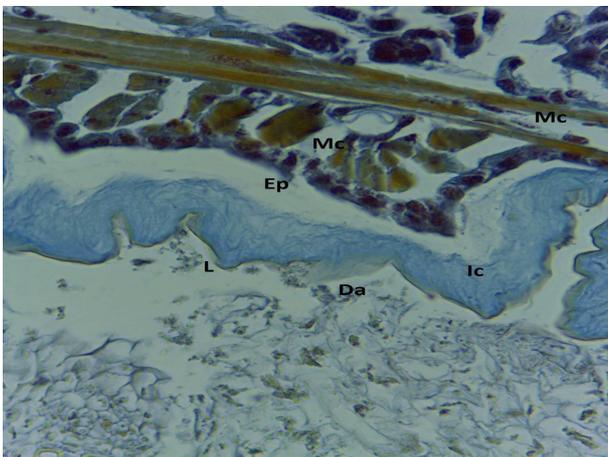
L'organe est bordé par cuticule, avec un épithélium cubique unistratifié, constitué par de nombreuses villosités délimitant une lumière large. La musculature peu développée est constituée d'une couche de muscles circulaires externes et de muscles longitudinaux internes (Figure 53A).

b- Traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*

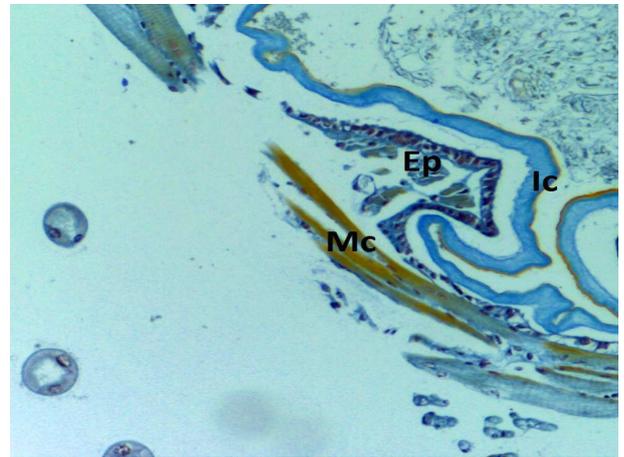
Les criquets traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*, montrent un décollement de la cuticule ainsi qu'un détachement de l'épithélium de son tissu conjonctif. Nous observons notamment des lésions au niveau des muscles circulaires (déchirure) (Figure 53B et 53C).



A



B



C

Figure 53 : Coupes histologiques transversales de l'intestin postérieur chez les L5 de *S. gregaria* témoin (A) et traitées au *B. bassiana* (B) ($1, 19 \times 10^5$ sp./ml) et au *M. anisopliae* (C) ($3, 95 \times 10^7$ sp./ml) (Coloration de Mallory) (Gr.x 40)

Ce : Cellules épithéliales

Da : Débris alimentaires

Ep : Epithélium intestinale

Ic : Intima cuticulaire

L : Lumière intestinale

Mc : Muscles circulaires
externes

MI : Muscles longitudinaux internes

III.6- Activité toxique de *B. bassiana* et *M. anisopliae* vis-à-vis du rat wistar :

III.6.1- Effet sur la mortalité :

a) *Beauveria bassiana*

Les résultats concernant l'évolution pondérale des rats témoins et traités au *B. bassiana* après 20 jours de traitement sont portés sur le tableau n°83 et 84 (Annexe III), et la figure 54.

Tableau n° 83: Gain de poids (g) des rats témoins et traités au *B. bassiana* aux deux doses D1=1,19x10⁵ sp./ml et D2= 10¹⁰ sp./ml

Traitement Ind	Témoins	D1	D2
1	15	9,25	10
2	10	11,25	11,5
3	11	10	9,25
4	10	12	9,45
5	12	11,25	11,5
6	12	11,5	10,25
7	10,25	10,5	13,5
8	9,25	12,5	12
9	11	13	12,75
10	10,5	11	11,25
M±ET	11,10±1,63	11,23±1,13	11,14±1,44

M : moyenne ET : écart type Ind : individus

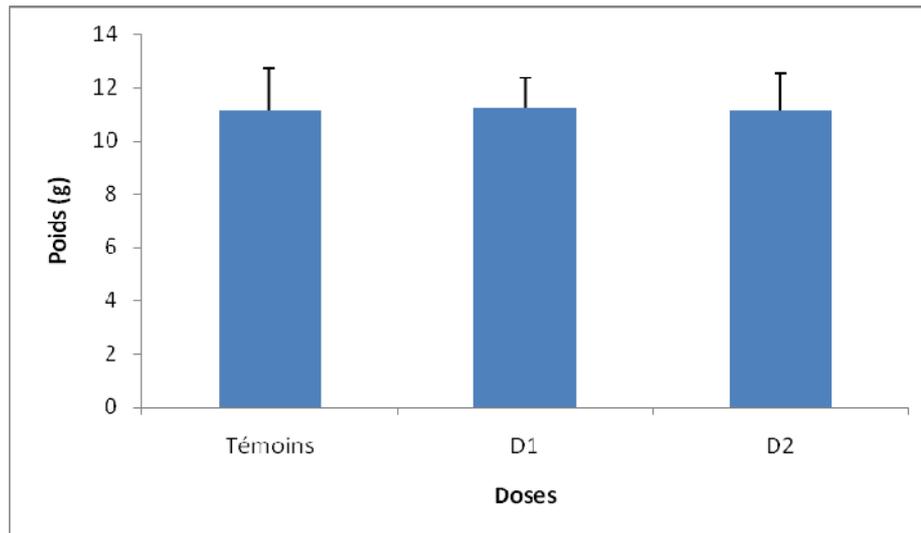


Figure 54 : Gain de poids des rats témoins et traités au *B. bassiana* et aux deux doses D1=1,19x10⁵ sp./ml et D2= 10¹⁰ sp./ml

b) Metarhizium anisopliae

Les résultats concernant la croissance pondérale des rats témoins et traités au *M. anisopliae* après 20 jours de traitement sont portés sur le tableau n°85 et 86 (Annexe III) et la figure 55.

Tableau n° 85 : Gain de poids des rats témoins et traités au *M. anisopliae* aux deux doses D1=3,95x10⁷ sp./ml et D2= 10¹⁰ sp./ml

Traitement Ind	Témoins	D1	D2
1	9,25	10	9,25
2	10	12	10,45
3	15	11,5	10
4	10,25	9,25	11,5
5	9,45	12,25	12
6	10	9	12
7	10,45	10,5	10,25
8	9,25	9	9
9	9,45	11	10,5
10	10	12	9

M±E	10,31±1,70	10,65±1,28	10,40±1,14
-----	------------	------------	------------

M : moyenne ET : écart type Ind : individus

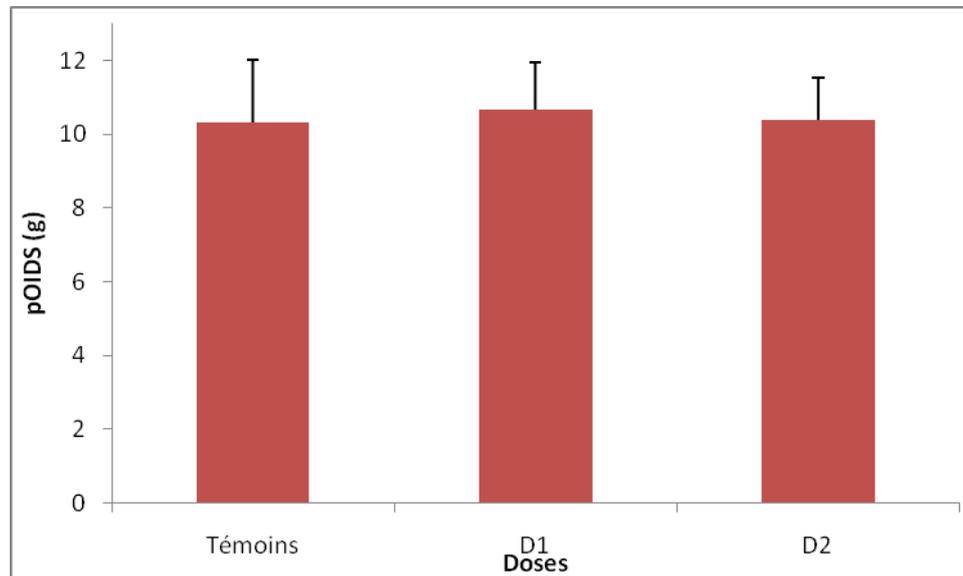


Figure 55 : Gain de poids des rats témoins et traités au *M. anisopliae* aux deux doses

D1=3,95x10⁷ sp./ml et D2= 10¹⁰ sp./ml

D'après les résultats affichés sur les tableaux n°83, 85 et les figures 54 et 55, nous constatons un gain de poids presque identique chez les rats du 1^{er} au 20^{ème} jour d'expérimentation. Les valeurs obtenues sont très rapprochées aussi bien chez rats témoins que chez les rats traités aux deux souches. En effet nous enregistrons pour les rats traités au *B. bassiana* un gain de poids de 11,23±1,13 chez les rats traités à la D1, suivi d'individus traités à la D2 =11,14±1,44 et enfin les témoins avec un gain de 11,10±1,63. Pour les rats traités au *M. anisopliae*, le gain de poids est de 10,65±1,28 à la D1, suivi d'individus traités à la D2= 10,40±1,14 et enfin les témoins avec un gain de 10,31±1,70. De ce fait nous pouvons déduire que le *B. bassiana* et le *M. anisopliae* n'ont en aucun cas affecté l'évolution ou la nutrition des rats; de plus aucune mortalité n'a été décelée dans les différents lots.

Pour interpréter les résultats affichés sur les tableaux n°83 et 85, nous avons appliqué une ANOVA à un seul critère de classification.

Tableau n°87 : Analyse de la variance concernant l'évolution pondérale des rats témoins et traités au *B. bassiana*

Source	DDL	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	2	0,080	0,040	0,020	0,980
Résidus	27	52,899	1,959		
Total	29	52,979			

Tableau n°88 : Analyse de la variance concernant l'évolution pondérale des rats témoins et traités au *M. anisopliae*

Source	DDL	Somme des carrés	Carré moyen	F de Fisher	Pr > F
Modèle	2	0,626	0,313	0,160	0,853
Résidus	27	52,701	1,952		
Total	29	53,327			

Les résultats de l'ANOVA affichés sur les tableaux n°87 et n°88 révèlent qu'il y a une différence non significative $P > 0,05$ entre les témoins et les différentes doses, ce qui indique que l'administration des deux Hyphomycètes, *B. bassiana* et *M. anisopliae* n'a pas interagit avec l'évolution pondérale des rats testés.

III.6.2- Effet sur la structure de foie des rats :

Après dissection, l'aspect macroscopique des organes prélevés n'a révélé aucune lésion ou anomalie. Les individus traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* ont présenté le même aspect structural des différents organes que les rats témoins.

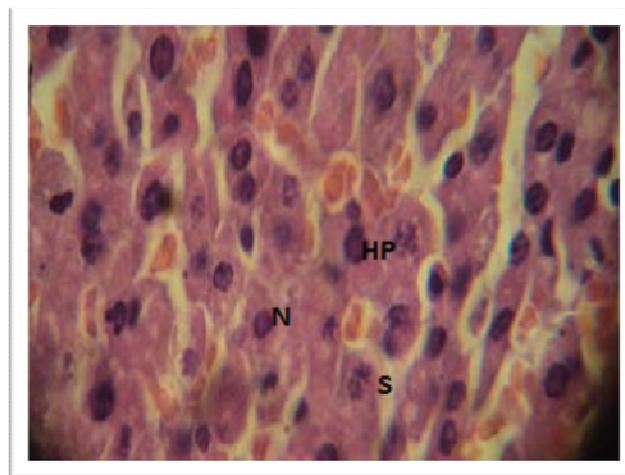
Parallèlement nous avons réalisé une étude histologique des foies des rats afin d'observer l'effet microscopique des deux souches.

A cet effet, l'examen microscopique des coupes histologiques réalisées sur les rats témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* montre une structure identique entre les deux. Au niveau du foie des rats témoins les hépatocytes (cellules hépatiques) sont disposées en travées en direction de la veine centrale ou veine centrolobulaire. Entre ces travées se trouvent de

nombreux et larges espaces appelés capillaires sinusoides, de sorte qu'un hépatocyte présente au moins deux faces cellulaires en contact avec le flux sanguin.

C'est ce qui est observé sur la figure 56, où les hépatocytes sont disposés en rayon autour de la veine centrolobulaire, avec des espaces portes ou triades portes qui contiennent : une veine, une artère et un canal biliaire. Sur la figure 57 nous observons également le parenchyme hépatique où les hépatocytes apparaissent en cellules polyédriques qui contiennent de gros noyaux ovalaires colorés en rouges par le colorant hémalum éosine.

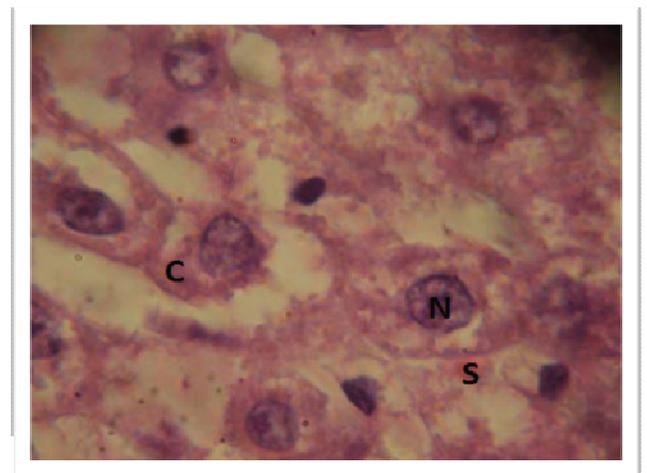
Le foie des rats traités montre une structure semblable à celle du foie des rats témoins sans aucune différenciation structurale (Figure 58).



A



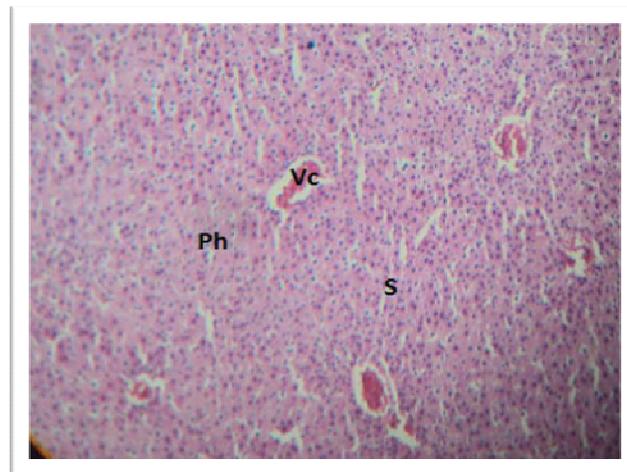
B



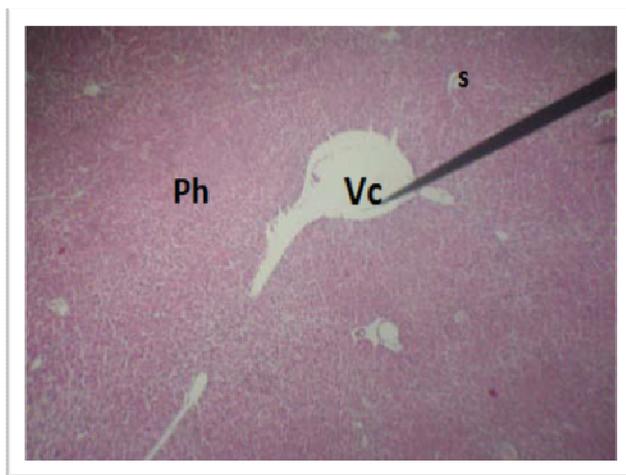
C

Figure 56 : Histologie du foie chez les rats témoins (A) et traités au *B.bassiana* (B) et au *M. anisopliae* (C) (Gr.x40)

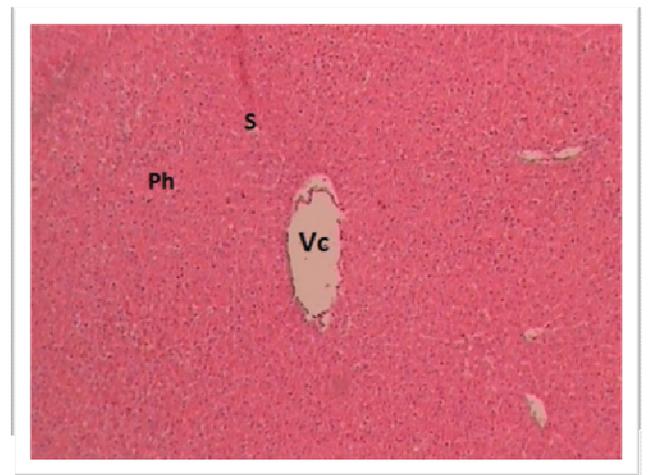
C : Cytoplasme, *Hp* : Hépatocyte, *N* : Noyau, *S* : Sinusoïde.



A



B



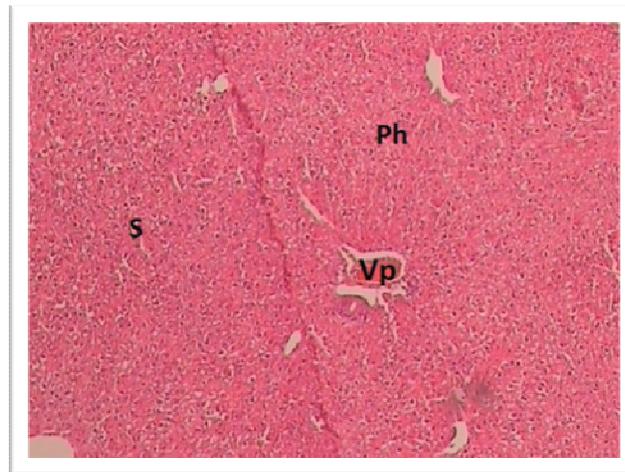
C

Figure 57 : Histologie du foie chez les rats témoins (A) et traités au *B.bassiana* (B) et au *M. anisopliae* (C) (Gr.x10)

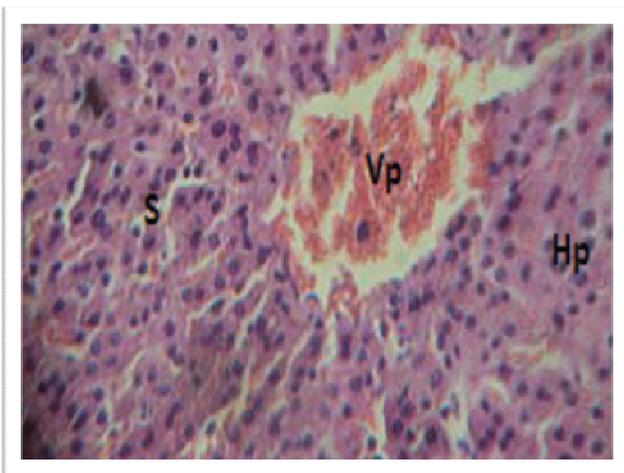
Ph : Parenchyme hépatique,

Vc : Veine centrale,

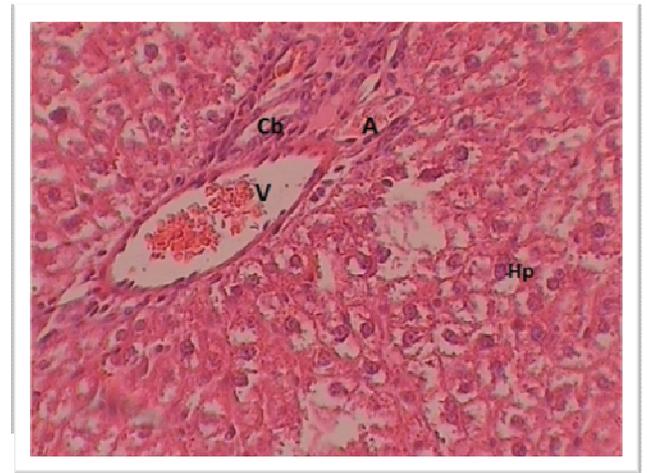
S : Sinusoïde.



A



B



C

Figure 58- Histologie du foie chez les rats témoins (A) (Gr.x10) et traités au *B.bassiana* (B) et au *M. anisopliae* (C) (Gr.x40)

A : Artère, *Cb* : Canal biliaire, *Ph* : Parenchyme hépatique,
S : Sinusoïde, *Vp* : Veine porte

Chapitre IV :

DISCUSSION

CHAPITRE IV : DISCUSSION

IV.1- Caractérisation des deux champignons entomopathogènes :

IV.1.1- Effet de la température et des milieux de culture sur le taux % de germination de *B. bassiana* et *M. anisopliae*

La vue des résultats affichés sur le tableau n° 2,3 et la figure 20, 21 et ceux relatifs à l'analyse de la variance nous laissent formuler deux hypothèses :

- La température influence significativement le taux des germinations ($P < 0,05$), en effet à 20° et 25 °C la germination des spores est déclenchée après 24 heures d'incubation et atteint son optimum (100%) dans les trois milieux de culture seulement après 48 heures. Elle est suivi juste après par la température 30° C et enfin 35°C où la germination a été déclenchée après 24 heures mais à très faibles taux, les 100% de germination ne sont atteints qu'après 72heures. Nous pouvons déduire que les fortes températures agissent négativement vis-à- vis de *B .bassiana*.

Par contre chez *M. anisopliae* les fortes températures favorisent la rapidité de germination de cette souche. En effet à 35°C presque 100% de spores ont germé après 24 heures d'incubation, suivi des températures 20°C et 25°C où nous obtenons 100% de germination après 48 heures. Enfin 20°C où les 100% sont enregistrés après 72 heures d'incubation.

- Les milieux de culture à leur tour influent significativement sur le taux de germination des deux hyphomycètes ($P < 0,05$). Mais leur action varie significativement selon les températures. Concernant *B. bassiana* nous constatons que le milieu Sabouraud offre un optimum de germination suivi du milieu Malt et enfin le milieu PDA sauf à 20°C où le milieu PDA précède le milieu MALT. Il en est de même pour *M. anisopliae*, à l'exception de 35°C où le milieu PDA offre une meilleure germination par rapport au milieu MALT. Donc l'effet du milieu de culture est fortement lié à la température. A cet effet l'interaction entre ces deux facteurs (température – milieu de culture, $P < 0,05$) agit significativement sur le taux de germination des deux souches fongiques

Cette différence pourrait être due à la composition chimique des milieux de culture, ces derniers devront fournir les éléments essentiels à la croissance des champignons (Vananuvat et Insella, 1975).

A travers les milieux de culture sur lesquels les deux cryptogames ont germé, nous avons obtenu un bon développement des deux souches fongiques qui se sont acclimatées aux trois milieux de culture durant un temps d'incubation de 72 heures au maximum. En effet quelque soit l'apport en éléments : sucre, carbone, acides aminés et azote, nous avons obtenu un bon développement de nos deux champignons.

Nos résultats vont dans le même sens que ceux de Morley-Davies *et al.*, (1995) où *B. bassiana* acheva son cycle au bout de 45h à 25°C et au bout de 196h à 40°C. Sur milieu Fargues Hassani (2000) a obtenu un taux de germination de 99% après 16h d'incubation à 27°C, pour l'entomopathogène *Poecilomyces fumosoroseus*. Pour la même température, l'auteur précité a enregistré un taux de germination de 99,33% *P. fumosoroseus* sur milieu Adamek. Hall *et al.* (1994) ont enregistré un maximum de germination de 98% après 16h à 25°C pour la même espèce. Bensaad (1999) a enregistré une germination des spores après 28h d'incubation à 25°C et après 48h à 35°C sur milieu Sabouraud. Il semblerait que la germination de certains hyphomycètes commence à se ralentir à partir de 32°C (Hajek *et al.*, 1990 ; Fargues *et al.*, 1997 et Rodman et Rath, 1997). Halouane (2008) a constaté que l'optimum du taux de germination de *B. bassiana* se situe à 25°C après 24h d'incubation, à 35°C ce taux a atteint 38,33±7,5%.

Pour d'autres espèces, les températures élevées favorisent le développement de certains champignons entomopathogènes comme l'ont souligné Zimmerman (1993) et Welling *et al.* (1994) concernant la résistance de *M. flavoviride* aux fortes températures notamment celles susceptibles de se rencontrer dans les biotopes du criquet migrateur. Sur la même espèce Boudaoudi en 1999 a remarqué que les spores de ce champignon germent au bout de 29h à 25°C et au bout de 24 h à 35°C sur milieu PDA. Badji (2013) note une germination rapide atteignant 90-95% au bout de 18 h pour les températures entre 28 et 33°C, ce taux a atteint juste 10% sous 37°C. Scalan *et al.* (2001) ont mentionné que la durée du développement de l'entomopathogène *Metarhizium anisopliae* sur les larves de *Locusta migratoria* était de 6 jours à 35°C et 21 jours à 20°C.

IV.1.2- Effet de la température et des milieux de culture sur la croissance mycélienne de *B. bassiana* et *M. anisopliae*

Le développement de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* var *acridium* a également été testé à travers la croissance mycélienne des deux souches. Un milieu de culture doit fournir au microorganisme une source de carbone comme les substances hydrocarbonées simples et le

glucose dans les milieux PDA ; OGA...et complexes comme le lactose et le saccharose dans les milieux Lactoserum et Czapeck ; une source d'azote, de phosphore et des éléments minéraux tel que le Fer, le Magnésium et le Calcium (Halouane, 2008).

A travers les résultats affichés sur le tableau n° 5 et la figure 22 nous constatons que la température et le milieu de culture influencent le développement de *B. bassiana* et *M. anisopliae*. Tous les milieux de culture ont permis la croissance mycélienne des deux souches fongiques à divers degrés. En effet un tapis des colonies de *B. bassiana* a envahi les boîtes de Pétri. La meilleure croissance (8,4 cm) est obtenue après 7 jours d'incubation à 20°C sur milieu PDA, et après 9 jours sur Sabouraud et Malt. A 25° et 30°C l'optimum de croissance survient au 9^{ème} jour toujours sur le PDA et au 10^{ème} jour sur les deux autres milieux avec un léger retard d'un jour pour le Sabouraud à 30°C. Par contre à 35°C le PDA présente une croissance plus lente et atteint son maximum au 14^{ème} jour d'incubation suivi au 15^{ème} jour du Sabouraud et Malt.

Par contre *M. anisopliae var acridium* évolue aux températures qui se situent entre 25° et 35°C, avec un optimum à 35°C où le champignon a envahi la périphérie de la boîte de Pétri après seulement 5 jours d'incubation sur milieu PDA suivi du Sabouraud et enfin le milieu Malt après 8 jours. A 30° et 25°C c'est le milieu Sabouraud qui acheva sa croissance après 6 et 7 jours, suivi du Malt et 8 et 9 jours et enfin du PDA après 10 et 11 jours. Enfin à 20°C la meilleure croissance n'est obtenue qu'après 12 jours sur milieu PDA et après 15 jours sur les autres milieux. Nous remarquons que cette croissance est retardée d'une durée d'un à trois jours entre les milieux. Ce qui est confirmé par l'analyse de la variance mentionnée sur les tableaux n° 9 et 10 ou $P < 0,05$ pour les facteurs étudiés et leur interaction.

Nos résultats sont comparable avec ceux de Halouane (1997, 2008) qui a conclu que *B. bassiana* s'est bien développée quelque soit la nature du milieu organique ou minéral. Selon le même auteur (2008), Raymond *et al.* (1995) et Scriban (1982) ; il y avait suffisamment de bagage enzymatique dans les trois milieux de culture : protéase, amylase, glucose isomérase et maltase pour dégrader le substrat cultural. Inglis *et al.*, (1997 a,b) montre que la température optimale pour la majorité des hyphomycètes se situe entre 20 et 25°C, mais l'infection et la maladie des insectes peuvent avoir lieu entre 15 et 30°C. Selon Kouassi (2001) il existe toutefois des isolats de champignons qui sont adaptés aux conditions environnementales.

En 1998, Haddadj a enregistré une croissance maximale de *M. anisopliae* à 25°C contre 35°C pour *M. flavoviridae* sur milieu PDA. Après 9 jours d'incubation de *M. anisopliae*, Welling *et al.* (1994) ont obtenu une croissance diamétrale de 13 mm à 30°C sur milieu Malt. Par ailleurs, Stephan et Zimmerman (1997) ont mentionné un meilleur développement de *M. flavoviride* sur un milieu ayant pour source d'énergie uniquement l'azote. Badji (2013) a enregistré une croissance radiale de *M. anisopliae var acridium* 4 fois plus rapide sous 28°C que sous 35°C au bout de 12 jours d'incubation. Gosselin (2008) a obtenu une croissance radiale > 90% de *B. bassiana* dans un temps variant de 48-72 h et ce à 25°C sur milieu Sabouraud. En comparaison avec d'autres champignons du sol, Bouneghou (2011) a obtenu une croissance mycélienne de 83 mm pour *Pythium sp.* après seulement 5 jours d'incubation à 28°C sur milieux PDA, Czapek-Dox, Malt et après 6 jours sur Sabouraud. Dans les mêmes conditions, le même auteur a enregistré une croissance de 55 mm pour *Fusarium roseum*.

IV.1. 3- Effet de la température et des milieux de culture sur l'évolution pondérale de *B. bassiana* et *M. anisopliae*

A travers les résultats concernant le poids frais de la masse fongique qui traduit la quantité de spores produites au 15^{ème} jour de l'évolution des deux entomopathogènes sur les trois milieux de culture et les différentes températures, et ceux affichés par l'analyse de la variance nous constatons un effet significatif de la température ($P < 0,05$). En effet chez *B. bassiana* le meilleur poids frais est enregistré à 25°C d'abord sur milieu PDA suivi du Sabouraud et enfin du Malt. A 30°C le milieu Sabouraud prend de l'avance suivi du Malt et PDA. Ce n'est que par la suite que se classe la température 20°C suivi de 35°C où le poids a significativement régressé. Cette régression serait probablement due à la diminution du taux d'humidité provoqué par la forte température. A ce propos Riviere 1999 in Hassani 2000 signale que l'activité de l'eau est indispensable à toute vie microbienne. Des résultats similaires sont enregistrés par Haddadj (2001) qui a obtenu un meilleur poids de *B. bassiana* à 25°C quelque soit le milieu de culture.

Chez le *M. anisopliae*, nous enregistrons un meilleur poids à 25° et 30°C, sur Malt, suivi de 35°C où le poids atteint son maximum sur Sabouraud. Enfin le poids le plus faible est enregistré à 20°C. Le milieu Malt semble offrir les meilleures conditions à notre champignon surtout à 25°C comparativement au PDA et au Sabouraud dont l'action est très proche.

Selon Vidal *et al.*, (1997), la composition du milieu influence la production des spores. La richesse du milieu en hydrate de carbone et en azote, permet un bon développement des

champignons entomopathogènes. La déficience en ces éléments déclenche une perturbation de la physiologie du champignon (Braga *et al.*, 1999 in Hassani 2000). En général ces éléments peuvent être facilement assimilés par la plupart des champignons et permettent de limiter la prolifération des envahisseurs indésirables (Davet et Rouxel, 2007). En étudiant une collection de champignons entomopathogènes des genres *Beauveria*, *Paecilomyces* et *Metarhizium*, Fleury *et al.* (2013) ont constaté une bonne croissance et une bonne sporulation à une température variant de 18° à 25°C sur milieu PGA et Sabouraud.

IV.2- Effet des deux champignons entomopathogènes *Beauveria bassiana* et *M.anisopliae* vis- à- vis des larves du cinquième stade et des imagos de *Schistocerca gregaria*

IV.2.1- Mortalité :

Au regard des résultats concernant la toxicité des deux champignons envers les L5 et les imagos de *S. gregaria*, nous constatons que leur activité pathogène est hautement significative comparativement aux témoins ($P < 0,05$). Elle suit une évolution par rapport à la concentration des doses et diffère avec le stade de l'insecte. En effet, nous remarquons que la mortalité est plus importante chez les L5 par rapport aux imagos. Cette variation est maintenue dans le temps. Ce taux de mortalité est plus accentué aux fortes doses : $1,46 \times 10^7$ sp./ml. et $1,46 \times 10^6$ sp./ml.

Chez les L5 et les imagos traités au *B. bassiana* le taux de mortalité diffère selon les doses. En effet chez les L5 à la forte dose D1 les mortalités sont déclenchées au 1^{er} jour du traitement pour atteindre 100% au 6^{ème} jour. Chez les imagos les mortalités ont débuté un jour plus tard et ont atteint 100% au 6^{ème} jour. Chez les L5 traitées à la D2 nous avons enregistré un début de mortalité au 2^{ème} jour de traitement pour atteindre 100% au 7^{ème} jour. Il en est de même pour les imagos avec un retard d'un jour pour le début des mortalités. La mortalité à la D3 chez les L5 débute au 3^{ème} jour et atteint 100% au 8^{ème} jour. Les 100% de mortalité sont atteints au 10^{ème} jour chez les imagos.

Pour le traitement au *M. anisopliae*, le début des mortalités a été enregistré chez les L5 traitées à la D1 au 2^{ème} jour pour atteindre 100% au 8^{ème} jour. Les mortalités ont débuté au 3^{ème} jour pour atteindre 100% au 10^{ème} jour chez les imagos. Le déclenchement des mortalités a été retardé jusqu'au 4^{ème} jour chez les L5 et imagos traité par la D2, et les 100% de mortalité ont été atteint respectivement au 9^{ème} et 10^{ème} jour. Enfin à la faible dose D3 les mortalités n'ont débuté qu'au 4^{ème} jour et atteindrons 100% au 10^{ème} jour chez les L5.

Tardivement chez les imagos, ce n'est qu'au 6^{ème} jour qu'il ya eu un déclenchement des mortalités et les 100% ne sont atteints qu'au bout du 12^{ème} jour. Parallèlement nous n'avons enregistré aucune mortalité chez les témoins durant notre expérimentation.

Nous signalons que Haddadj *et al.*, (1998) ont obtenu une mortalité totale chez *S. gregaria* après traitement au *M. anisopliae* dans un délai allant de 4 à 9 jours. Le même auteur en (2001) a enregistré 100% de mortalité allant de 5 à 7 jours après traitement des L5 de *S. gregaria* au *B. bassiana*.

Des résultats similaires ont été signalés par Halouane (2008) concernant l'effet de *B. bassiana* sur les L5 et adultes de *S. gregaria* après avoir été inoculés par les mêmes doses que les nôtres. Pour le même entomopathogène administré aux L5 de *S. gregaria*, Bissaad (1998) a obtenu 100% de mortalité au bout de 120 h à la dose de $8,6 \times 10^5$ sp./ml et au bout de 144 h pour la dose 10^2 sp./ ml. Le même auteur a signalé une mortalité de 100 % après 168 h de traitement pour la dose $8,5 \times 10^5$ sp. /ml et au bout de 192 h à la faible dose 10^2 sp. /ml chez les adultes de la même espèce. Pour les mêmes doses Chahbar (1997) a enregistré 100% de mortalité chez *S. gregaria* traité par *B. bassiana* au bout du 5^{ème} jour pour les individus traités à la forte dose et au bout du 10^{ème} jour pour ceux traités à la faible dose.

Stephan *et al.* (1997) signalent une mortalité de 90 % chez les adultes de *L. migratoria* après deux semaines suite au traitement par *M. flavoviride* à la dose 2×10^7 sp./ml. Swearingen (1993) a obtenu une mortalité de 95 % après 7 jours de traitement au *B. bassiana*, contre l'acridien *Oedaleus senegalensis* et ceci pour une dose de $2,5 \times 10^{12}$ sp./ Ha.

Jaronski et Goettel (1997) travaillant sur l'effet de *B. bassiana* vis-à-vis des adultes de *Melanoplus sanguinipes* ont obtenu des mortalités de 72 % au 2^{ème} jour à la dose $1,2 \times 10^3$ conidies/ml. Sur ce même acridien Inglis *et al.* (1997) ont obtenu 80 % de mortalité au début du 4^{ème} jour pour la dose $4,3 \times 10^3$ sp./ml.

Doumandji-Mitiche *et al.* (1997) ont obtenu 100 % de mortalité chez les adultes de *S. gregaria* au 5^{ème} jour de traitement par *B. bassiana* avec une de 10^5 sp./ml. Concernant l'effet des bactéries, Oulebsir-Mohand Kaci (2012) a enregistré 100% de mortalité allant de 12 à 22 jours chez les L5 de *L. migratoria* traitées par *Bacillus sp.*, *B. sphaericus* et *Pseudomonas fluorescens*. L'inoculation d'une dose de 32×10^6 sp.ml de *M. anisopliae var acridium* a induit une mortalité atteignant 100% au 11^{ème} et 13^{ème} jour de traitement respectivement chez les L5 et les imagos de *S. gregaria*, signale Milat-Bissaad (2011) ; aux doses inférieures ce temps varie de 11 à 16 jours.

Par voie orale, administrée sur feuille de laitue et à la dose de 10^5 conidies/ml *B. bassiana* a induit au 14^{ème} jour une mortalité de 56 % au sein des L5 de *M. sanguinipes* a souligné un auteur anonyme (1996). L'injection d'un ml de *B. bassiana* aux L3 de l'acridien précité a occasionné 98 % de mortalité au 10^{ème} jour (Inglis *et al.*, 1996).

En 1999 Benssaad a obtenu une mortalité totale au 11^{ème} et 12^{ème} jour respectivement chez les L5 et adultes de *L. migratoria* traité au *B. bassiana* à la dose 10^6 sp./ml. Selon le même auteur pour les doses 10^4 sp./ml. et 10^5 sp./ml. 100% de mortalité sont enregistrées au 11^{ème} et 12^{ème} jour respectivement chez les L5 et les adultes. Concernant la faible dose, tous les individus ont succombé au 14^{ème} jour. Outtar *et al* (2011) ont noté une mortalité variant de 79,17% à 100% après 22 jours de traitement des L5 de *S. gregaria* au *M. anisopliae*. Selon Kooyman *et al.* (2005), sur terrain la mortalité variait de 60 à 90% et ne dépassait pas 11% chez le témoin. Une mortalité de 100% est enregistrée au bout de 4 à 7 jours à une dose de $3,75 \times 10^7$ sp./ml de *M. anisopliae var acridium* selon l'espèce acridienne ont noté Greathead *et al.*(1994) après des essais au laboratoire.

A l'égard des autres ordres d'insectes, Bing et Lewis (1992) ont obtenu une mortalité de 75 % des larves de la pyrale de maïs *Ostrinia nubilalis* traitée par $1,1 \times 10^8$ conidies/g. de *B. bassiana*. Après une application d'une dose de 5×10^{12} sp./ha de *M. flavoviride* sur les L5 de criquet pèlerin au sud du Benin, Lomer *et al.*, (2001) ont obtenu des taux de mortalité de 90%. L'utilisation d'une dose de 5×10^{12} conidies/ha de *M. anisopliae var. acridium* a entraîné une réduction de la population acridienne de plus de 90% dans un délai de 6 à 14 jours signale Van Der Valk (2007). Contre le *Varroa destructor* agent parasite de l'abeille *Apis mellifica*, *B. bassiana* a provoqué des chutes importantes de ce parasite après 6 et 8 jours de traitement ce qui correspond à une efficacité maximum ont décrit Meikle *et al* (2007). L'utilisation de *B. bassiana* contre *Hypothenemus hampei* (Scolyte de café) au Cameroun a provoqué une mortalité allant jusqu'à 70,6% pour la saison humide diminue jusqu'à 8,6% en saison sèche (Amang *et al.*, 2012). Ziani (2008) déclare des mortalités très élevées de la punaise terne *L. lineolaris* après 6 jours d'incubation de *B. bassiana* sur feuillage de vigne. Sabbahi (2008) enregistre une mortalité supérieure à 83% chez les principaux ravageurs de fraiseraies inoculés par différents isolats de *B. bassiana* à une concentration de 1×10^7 conidies/ml. après sept jours de traitement.

Les résultats de l'activité biologique des deux entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* nous confirment l'efficacité satisfaisante de ces hyphomycètes contre les individus de *S.*

gregaria. Cependant nous remarquons que plus la dose est élevée plus le taux de mortalité est élevé et diffère selon le stade.

IV.2.2 DL₅₀ :

Chez les acridiens certains individus se montreront très sensibles à l'égard d'un insecticide donné et ne tolèrent que de très faibles doses de ce dernier, tandis que d'autres sont moins sensibles et toléreront des doses nettement plus élevées (Gry *et al.*, 1966).

Les doses létales enregistrées pour les L5 et les imagos de *S. gregaria* traités au *B. bassiana* s'évaluent à $1,19 \times 10^5$ sp./ml et $3,21 \times 10^5$ sp./ml respectivement et à $3,95 \times 10^7$ sp./ml et $2,83 \times 10^9$ sp./ml chez ceux traités au *M. anisopliae*.

Inglis *et al.* (1997) ont noté une DL₅₀ de 6×10^3 sp./ml chez les larves de *M. sanguinipes* traitées au *B. bassiana*. Un auteur Anonyme (1996) a trouvé une DL₅₀ de $5,8 \times 10^3$ sp./ml pour le même essai.

Bensaad (1999) a enregistré des DL₅₀ variant de 10^2 sp./ml. pour les L1, 10^3 sp./ml pour les L2, 10^5 sp./ml pour les L3, 10^6 sp./ml, pour les L4 et 10^7 sp./ml pour les L5 et les imagos de *L. migratoria* traités au *B. bassiana*. La même constatation est observée par Milat-Bissaad (2011) concernant l'effet de *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur différents stades de *S. gregaria*, les DL₅₀ chez les larves des plus jeunes stades étaient plus faibles que chez les stades les plus avancés.

Halouane (1997) a enregistré des DL₅₀ de $1,91 \times 10^3$ sp./ml par contact et de $6,58 \times 10^2$ sp./ml par ingestion chez les L5 de *S. gregaria* traitées au *M. anisopliae*. Chez les adultes de la même espèce, cet auteur note une DL₅₀ de $2,35 \cdot 10^4$ sp./ml par contact et de $2,18 \times 10^5$ sp./ml par ingestion. En 2008 le même auteur a évalué des DL₅₀ à $1,69 \times 10^5$ sp./ml et $11,75 \times 10^7$ sp./ml respectivement chez les imagos de *S. gregaria* et de *L. migratoria* traités au *B. bassiana*.

Belayel (1992) a mentionné une DL₅₀= $5,4 \times 10^4$ sp./ml quand il a traité les larves de *Geotrogus deserticola* (*Coleoptera –Melolonthina*) par *M. anisopliae* et une DL₅₀ de $1,3 \times 10^6$ sp./ml lorsque les larves sont traitées par *Trichoderma. sp.*

Après traitement à une forte dose de *B. bassiana* contre le ver gris *Agrotis ipsilon*, Gosselin (2008) a obtenu une DL₅₀= 7×10^7 sp./ml. Chez les œufs de la même espèce Aly (2002) a obtenu une DL₅₀= $2,01 \times 10^3$ sp./ml.

Au *B. bassiana* Lawrence *et al.* (1994) ont mentionné une DL_{50} de 0,026 mg.conidies/ 100 adultes et 0,7 mg de conidies/100 adultes, sur *Popillia janonica* traité au *M. anisopliae*.

L'utilisation de *Paecilomyces fumosoroseus* contre l'acarien *Tetranychus urticae* a révélé une $CL_{50} = 9,1 \times 10^4$ conidies / ml par rapport au *Verticillium lecanii* où la CL_{50} était plus importante $1,7 \times 10^6$ conidies/ml (Amjad *et al.*, 2012).

IV.2.3 TL_{50}

A travers les résultats enregistrés, il ressort que les temps létaux différent significativement d'un stade à un autre et selon les doses. En effet, les L5 présentent les TL_{50} les plus courts quelle que soit la dose considérée. Ce temps varie progressivement de la plus forte dose à la plus faible dose. On constate que les temps létaux se situent entre 2,27 jours et 4,92 jours pour les L5, et entre 2,89 jours et 6,54 jours pour les imagos traités au *B. bassiana*. Ce temps est plus long chez les individus traités au *M. anisopliae*, il varie de 4,29 jours à 7,74 jours pour les L5 et de 5,89 jours et 7,97 jours pour les imagos. Donc, en plus de la sensibilité aux doses, les individus présentent une sensibilité par rapport aux deux souches. Les TL_{50} mentionnés par Bissaad (1998) suite au traitement des différents stades larvaires de *S. gregaria* par *B. bassiana* aux deux doses (10^2 sp./ml et 10^5 sp./ml) varient de 1,4 jours chez les L1 à 8,8 jours chez les adultes à la faible dose et de 0,8 jour pour les L1 à 3,4 jours pour les adultes. En 2011 pour le même essai, l'auteur enregistre des TL_{50} variant de 6,91 à 8,14 jours et entre 7,59 à 9,25 jours respectivement chez les L5 et les imagos, ces valeurs varient entre 9 et 9,10 jours et entre 12,08 jours chez les individus traités au *M. anisopliae*.

En 1999, Bensaad a enregistré des TL_{50} courts chez les jeunes stades, de la forte dose à la faible dose. Il remarque que les temps létaux se situent entre le 6^{ème} et le 7^{ème} jour pour les L5, et pour les imagos ils se situent entre le 7^{ème} et le 9^{ème} jour et cela pour les individus de *L. migratoria* traités au *B. bassiana*.

Halouane (1997) a mentionné des TL_{50} de 2,78 jours chez les individus du 5^{ème} stade de *S. gregaria* traités au *Metarhizium anisopliae* à la dose 10^6 sp./ml et de 4,85 jours pour la faible concentration $1,3 \times 10^3$ sp./ml. Ces valeurs s'évaluent à 6 j et 15 h pour *S. gregaria* et 9 j et 9h pour *L. migratoria* traitées au *B. bassiana* mentionne le même auteur en 2008.

Les TL_{50} révélés par Bidochka et Khachotoorian (1991) lors de traitement de *M. sanguinipes* par *B. bassiana* s'évaluent à 7,33 jours. En 1998 Mohand Kaci a obtenu un TL_{50} de 6,79 jours chez les L5 de *S. gregaria* traitée à la dose de $7,3 \times 10^8$ sp./ml au *B. subtilis*. Oulebsir-Mohand

Kaci (2012) enregistre des TL₅₀ les plus faibles variant entre 3,32 jours et 4,91 jours chez les L5 de *L. migratoria* traitées respectivement au *Bacillus sp.* (HE799656) et au *P. fluorescens*, ces temps sont plus élevés chez celles traitées au *B. sphaericus*.

Sur d'autres ordres d'insectes, Fargues et Maniania (1992) mentionnent lors du traitement de *Spodoptera littoralis* par l'entomopathogène *Nomuraea rileyi* un TL₅₀ de 5,1 jours et un TL₉₀ de 6,2 jours et ceci pour une dose de 3×10^4 sp./ml. Contre une noctuelle *Spodoptera littoralis* traitée par *Bacillus thuringiensis*, Dih (1994) a obtenu un TL₅₀ ne dépassant pas les 48h.

IV. 4- Effet des deux champignons sur la biochimie de la cuticule des L5 de *S.gregaria*

IV.4.1- Effet sur le poids sec de la cuticule :

L'effet de *B. bassiana* et *M. anisopliae var aridum* sur le poids sec de la cuticule des L5 de *S. gregaria* a montré une différence significative chez les individus témoins par rapport aux individus traités.

Au moment de l'exuviation, le poids de la cuticule des insectes correspond à celui de l'exocuticule. L'acquisition de nouvelles couches endocuticulaires engendre une augmentation de ce dernier au cours du stade larvaire. Vers la fin du stade larvaire le poids de la cuticule diminue suite à une dégradation des protéines et de la chitine pour la préparation de la mue suivante (Nøhr et Andersen, 1993).

Les poids enregistrés chez les L5 de *S. gregaria* expérimentées sont supérieurs chez les larves témoins par rapport aux larves traitées aux DL₅₀ respectives des deux champignons. En effet après 24h de traitement les poids est de $18,48 \pm 1,09$ mg, $16,25 \pm 0,51$ mg suivi de $12,28 \pm 0,71$ mg. Il atteint $39,09 \pm 0,61$ mg, $22,37 \pm 0,14$ mg et enfin $18,08 \pm 0,74$ mg après 72h. Et enfin après 144h ce poids atteint $48,83 \pm 0,44$ mg, $32,84 \pm 0,37$ mg suivi de $24,14 \pm 0,57$ mg respectivement chez les L5 témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*. Nous pouvons aussi déduire que la diminution des poids des cuticules a été plus marquée par le champignon *M. anisopliae var acridium*.

Des résultats similaires ont été rapportés par plusieurs auteurs, en effet Halouane (1997) et Bouhaceine (1999) ont enregistré une réduction significative du poids sec de la cuticule des L5 et des adultes du criquet pèlerin et du criquet migrateur ; au troisième jour après traitement au *B. bassiana* et au *M. flavoviride* respectivement. De même en 2010, Bissaad et al., ont

enregistré des résultats similaires sur des L5 de *S. gregaria* traitées au *M. anisopliae* ou ce champignon a significativement baissé le poids sec de la cuticule des individus traités.

En étudiant l'effet de *B. bassiana* sur le poids sec de la cuticule des L5 et adultes de *S. gregaria*, Halouane (2008) a mentionné une réduction de ce poids au 3^{ème} jour de traitement. De pareils résultats ont été enregistrés par Milat-Bissaad (2011).

Les régulateurs de croissance agissent de façon identique aux champignons, ce qu'ont obtenu Soltani-Mazouni et Soltani (1992) chez *Cydia pomonella* traitée au diflubenzuron et chez *Panaeus kerthurus* (Soltani et al., 1995). Les mêmes résultats ont été obtenus par Smaghe et al., (1997) concernant *Spodoptora littoralis* et *S. exigua*. Allache (2005) obtient les mêmes résultats après traitement des larves de *L. migratoria* à l'hexaflumuron. Nassiruddin et Mordue (1993) ont noté les mêmes symptômes chez les adultes de *S. gregaria* et *L. migratoria* traités par *Azadirachta indica*.

IV.3.2- Effet sur la quantité de chitine :

La chitine est le composé majoritaire de la cuticule (Merzendorfer et Zimoch, 2003). Elle en représente 85% de sa masse totale (Spindler-Barth et al., 1989). Pour les pesticides elle est une cible idéale à cause de son rôle pertinent à chaque stade de la morphogénèse, son excès ou sa carence au cours des cycles morphogénétiques peut engendrer des effets néfastes ou létaux (Kramer et al., 1985).

Nos résultats mettent en évidence une réduction significative ($P < 0,05$) entre les quantités de chitine dans la cuticule abdominale des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* enregistrées dans le temps. Après 24h de traitement cette quantité est de $2,19 \pm 0,50$ mg, $2,16 \pm 0,30$ mg suivi de $1,42 \pm 1,16$ mg. Ensuite elle évolue pour atteindre $9,26 \pm 0,26$ mg, $9,18 \pm 0,67$ mg suivi de $9,11 \pm 0,13$ mg après 144h de traitement respectivement chez les larves témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*. Dans le même sens les résultats des travaux de Halouane (1997) révèlent le même effet sur des larves de cinquième stade et les adultes de *S. gregaria* traités au *M. anisoplie*. Le même auteur en 2008 et 2013 souligne les mêmes résultats en utilisant le champignon *B. bassiana*. Bouhacein (1999) a noté des résultats similaires sur la quantité de chitine des L5 et adultes de *S. gregaria* traités au *M. anisopliae* et au *B. bassiana*.

Sur d'autres insectes, les travaux de Raymond et al., (1995) ont révélé une réduction significative du contenu en chitine de la cuticule du scarabée *Blaberus giganteus* traité par *M. anisopliae*.

Concernant d'autres agents de lutte, cette réduction est aussi observée pour les dérégulateurs de croissance, par Vincent et Clark (1985) qui ont enregistré une réduction significative dans la teneur en chitine chez les adultes de *L. migratoria* traités au diflubenzuron. Les mêmes résultats sont enregistrés par Salokhe et al. (2006). De même Dahoun (2000) et Allache (2005) ont noté les mêmes résultats chez les larves de *L. migratoria* traitées respectivement par le teflubenzuron (TFB) et l'hexaflumuron. Concernant le teflubenzuron Acheuk et Doumandji-Mitiche (2013) a noté que le traitement au TFB a réduit significativement les quantités moyennes de chitine cuticulaire durant tout le cycle larvaire des L5 de *L. migratoria* et a inhibé le dépôt de chitine dans l'endocuticule nouvellement formée.

IV.3.3- Effet sur la quantité de protéines cuticulaires :

La teneur élevée des protéines cuticulaires contribue de manière significative à la solidité et la rigidité de la cuticule (Hillerton, 1979, Vincent et Clarke, 1985). Les protéines représentent 25% à 37% du poids sec de la cuticule des orthoptères (Raccaud Schoeller, 1980). Ainsi ces dernières confèrent divers degrés de flexibilité, rigidité, dureté, capacité de rétention d'eau et de résistance contre la dégradation (Andersen, 1998 et Merzendorfer, 2006).

L'effet de *B. bassiana* et *M. anisopliae* var *aridum* sur la quantité de protéines cuticulaires des L5 de *S. gregaria* montre une réduction significative chez les larves témoins par rapport aux traitées, en effet nous avons enregistré respectivement des valeurs de $16,30 \pm 0,97$ mg, $14,10 \pm 1,05$ mg suivi de $10,86 \pm 0,37$ mg après 24h, pour atteindre $39,56 \pm 0,92$ mg, $23,66 \pm 0,60$ mg suivi de $15,01 \pm 0,60$ mg après 144h de traitement. Il est à noter que les protéines représentent une majeure partie de la cuticule abdominale des L5 de *S. gregaria*. Nous remarquons également que les L5 traitées au *M. anisopliae* sont plus affectées par cette réduction que celles traitées au *B. bassiana*. Ces résultats et observations vont dans le même sens que ceux cités par Milat-Bissaad (2011). Une diminution significative de taux de protéines cuticulaires a été observée chez les larves et adultes de *S. gregaria* traités au *M. anisopliae* (Halouane, 1997). En 2008 et 2013 ce même auteur enregistre les mêmes résultats en utilisant le champignon *B. bassiana*.

Raymond et al. (1995) mentionnent que cette diminution est régie par la protéinase extracellulaire (trypsine) secrétée par l'appressoria au moment de la pénétration de l'hyphe. Ceci a été remarqué après l'infection de *Manduca sexta* par *M. anisopliae*.

La teneur en protéines des cuticules varie selon les espèces. Ces teneur s'élèvent à 63% dans la cuticule des larves de *Tenebrio molitor* (Andersen, 2002) et à 72% et 71,4% respectivement pour *Rhodnius prolixus* et *Triatoma phyllosoma* (Hillerton et Purslow, 1981).

IV.4- Effet de *Beauveria bassiana* et de *Metarhizium anisopliae* sur la cuticule et le tube digestif des L5 de *Schistocerca gregaria*

IV.4.1- Effet de sur l'histologie de la cuticule des L5 de *S.gregaria*

Parmi les agents entomopathogènes, seuls les champignons envahissent activement leurs hôtes en traversant l'exosquelette (cuticule). Dans la plupart des cas, les conidies se fixent à la cuticule, une fois fixée l'invasion se déclenche mais il faut tout d'abord que les approches de la pénétration soient adaptées à la nature de la surface cuticulaire.

Du point de vue structure dans la cuticule des L₅ de *S. gregaria* on reconnaît deux couches principales l'épicuticule externe mince, non chitineuse d'une épaisseur d'1µm, d'une procuticule (exocuticule-endocuticule) interne plus épaisse et chitineuse (Grassé, 1949, Wigless-worth, 1972 et Raccaud Schoeller, 1980).

L'application de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur le tégument des larves du 5^{ème} stade de *S. gregaria* a montré des perturbations apparentes au niveau de la cuticule dont la structure est complètement désorganisée par l'attaque fongique. En effet le traitement a engendré une résorption et parfois une disparition de certaines couches de la cuticule.

Comparativement à la cuticule des témoins où les cellules épidermiques d'origines épithéliales sont bien alignées avec un noyau centré, ce qui diffère chez la cuticule des traités où on note l'absence de cet alignement, ces cellules ont complètement perdues leurs architectures.

Etant donné que la composition chimique de la cuticule joue un rôle important dans l'installation de l'infection, la destruction des couches cuticulaires chez les larves traitées est probablement due à leur dégradation par les enzymes protéolytiques et chitinolytiques de l'unité infectieuse de notre cryptogame.

Par ailleurs la pénétration du champignon à travers la cuticule s'observe clairement par le changement de couleur de la cuticule dans certains endroits qui consiste les points de pénétration des hyphes. Cette pigmentation brune ou noire de la cuticule provoquée chez l'hôte près des hyphes pénétrants est un signe précurseur de mycose (Lomer et Prior, 1991).

Haddadj (2001) et Haddadj et Doumandji-Mitiche (2012 et 2013) ont enregistré une désorganisation structurale de la cuticule des individus de *S. gregaria* traités au *B. bassiana*.

(Halouane, 2008 et Halouane *et al.*, 2013) ont noté une disparition complète de l'épicuticule et une nette régression dans l'épaisseur de l'exocuticule et l'endocuticule chez des individus de *S. gregaria* traités au *B. bassiana*. Les mêmes résultats sont mentionnés chez des individus de *S. gregaria* après traitement au *M. anisopliae* (Green Muscle) (Milat-Bissaad, 2011 et Bissaad *et al.*, 2012).

Sur d'autres ordres d'insectes, des altérations similaires aux hyphomycètes ont été soulignées chez plusieurs insectes : chez *Manduca sexta* (Lépidoptères : *Sphingidae*) et *Calliphora vomitoria* (Diptères : *Calliphoridae*) traités au *Metarhizium anisopliae* (Jaronski et Goettel, 1997) notamment chez *S. gregaria* traitée par la même espèce (Leger, Cooper et Charnley 1987).

Avec d'autres agents de lutte, Mohand Kaci et Doumandji-Mitiche B., (2012) signalent des mortalités avant d'achever le stade imago avec des difficultés de mue imaginale et des malformations chez les survivants d'individus de *Locusta migratoria* traités au *B. sphaericus*. Une perturbation de la synthèse de l'épicuticule est notée chez les jeunes de *Tetranychus urticae* exposés au *B. thuringiensis* (Vergas, Bruce et Penman, 2002).

Moussa (2003) a signalé un retard de développement et un blocage de l'exuviation et de la mue des larves L₄ et L₅ de *Locusta migratoria* après traitement à l'huile de Neem.

Ghoneim *et al.*, (2008) ont enregistré une disparition de la cuticule et son détachement de la l'épiderme chez les imagos de *S. gregaria* traités au tebufenozide.

Toutefois, les processus biochimiques impliqués et les structures perturbées dans le mode d'action différent entre les inhibiteurs. Beaucoup d'inhibiteurs de croissance des insectes compromettent la synthèse et le dépôt de chitine dans la cuticule (Retnakaran, Pallis, Tomkins *et al.*, 1996).

IV.4.2- Effet de sur l'histologie du tube digestif des L5 de *S.gregaria*

L'examen macroscopique des tubes digestifs des individus traités par *B. bassiana* et *M. anisopliae var acridium*, n'a révélé aucune lésion indiquant des malformations pathologiques. Par contre microscopiquement, l'étude histologique a révélé des perturbations structurales et des modifications chez les individus traités aux deux champignons par rapport aux témoins. En effet, les différentes parties du tube digestif ont été atteintes par l'attaque fongique qui s'est manifestée par des lésions au niveau des muscles circulaires dont nous avons observé une régression à leur niveau ; ainsi qu'un décollement de l'intima cuticulaire et du tissu épithélial dont les cellules ont été endommagées. Aussi dans certains endroits il y a eu

déchirure de la membrane péritrophique au niveau de l'intestin moyen, ce qui explique que les champignons entomopathogènes peuvent rompre cette membrane qui constitue une barrière empêchant la pénétration et l'adhésion des microorganismes (Brandt *et al.*, 1978).

Nos résultats sont assez comparables à ceux de nombreuses études portées sur l'histopathologie du tube digestif des acridiens traités par des acridicides chimiques ou biologiques; Milat-Bissaad (2011) a enregistré les mêmes résultats quant à l'effet de *B. bassiana* et *M. anisopliae var acridium* sur les L5 de *S. gregaria*; sauf pour le mésentéron qui semble avoir développé une résistance aux deux cryptogames.

De pareilles pathologies sont observées quant à l'effet des bactéries entomopathogènes. En effet Oulebsir- Mohand Kaci (2012) enregistre des altérations histologiques surtout au niveau du mésentéron suite au traitement des L5 de *L. migratoria* par quatre souches bactériennes. Oulebsir-Mohand Kaci et Doumandji-Mitiche (2012) ont noté les mêmes pathologies au niveau du tube digestif de *L. migratoria* traité au *Pseudomonas fluorescens*. Bendou (2001) a signalé des altérations remarquables provoquées par l'ingestion des extraits de polyphénols d'olivier chez *L. migratoria* au niveau de l'intestin moyen. Labdaoui (2007) a étudié l'histologie de l'appareil digestif des adultes de *S. gregaria*, l'effet de *Beauveria bassiana* est observé au niveau de l'intestin antérieur et postérieur.

Sur d'autres d'insectes l'effet de *M. anisopliae* sur des pupes du Lepidoptère *Diatraea saccharalis* a provoqué des altérations au niveau des tissus du système digestif et e après 120h de traitement (Schneider *et al.*, 2013).

Par contre l'effet de la plante toxique *Peganum harmala* se manifeste seulement au niveau de l'intestin moyen de l'insecte. Il en est de même pour Idrissi Hassani et Hermas (2008), ayant testé les effets toxiques de *Peganum harmala* (*Zygophyllaceae*) sur le tube digestif du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* ; ont montré que l'intestin moyen présente une réduction de la musculature circulaire externe entraînant un relâchement de l'intestin et une atrophie de la muqueuse intestinale présentant un épithélium strié réduit, en brosse altérée et des signes typiques de nécrose cellulaire. Ould El Hadj *et al.* (2006), dans les mêmes conditions expérimentales, avec des extraits d'*Azadirachta indica* sur les larves L5 de *S. gregaria*, notent un noircissement du mésentéron après la mort des individus. De pareils résultats ont été obtenus par Kemassi (2008), chez des individus de la même espèce traités à l'extrait d'*Euphorbia guyoniana* et de *Citrullus colocynthis* quelques heures après leurs morts, suite à l'action de la toxine.

Nasiruddin et Mordue (1993) ont remarqué les mêmes effets après ingestion des extraits de *Melia azedarach* par le criquet pèlerin et le criquet migrateur. De même, des traitements par l'huile de Neem apportés sur les larves de cinquième stade de *Locusta migratoria* ont provoqué une destruction de l'épithélium de mésenteron, des caecum gastriques et une légère désorganisation de la musculature (Acheuk et Doumandji-Mitiche, 2006).

IV.5- Activité toxique de *B. bassiana* et *M. anisopliae* vis-à-vis du rat wistar :

Pour l'étude de la toxicité des deux entomopathogènes sur les rats wistar, aucune mortalité n'est marquée durant toute la période de suivi chez les rats traités par le *B. bassiana* et le *M. anisopliae*. Par ailleurs nous avons également enregistré un taux de croissance pondérale identique qui s'est traduit par un gain de poids dont les valeurs sont rapprochées. De même nous n'avons décelé aucune perturbation du comportement habituel des rats qui ont continué à se reproduire et à se développer et se nourrir normalement.

Concernant les perturbations engendrées par le traitement au *B. bassiana* et *M. anisopliae* au niveau de la structure du foie des rats, aucune lésion n'a été observée ni macroscopiquement ni microscopiquement. En effet aucune anomalie n'est apparue à l'œil nu, le foie a présenté une architecture lobulaire normale. Du point de vue histologique le foie a présenté une structure saine, aucune pathologie n'a été remarquée.

Il s'avère à la lumière de cette étude que l'exposition à ces agents de lutte acridopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae*, n'a aucun impact toxique sur les mammifères, donc leur utilisation sur champs comme biopesticide en agriculture n'engendre pas d'effet indésirable.

Nos résultats concordent avec ceux de certains travaux traitant de l'effet de champignons ou de bactéries vis-à-vis des mammifères. En effet Halouane (2008) après traitement des rats et des souris par le champignon *Beauveria bassiana*, n'a constaté aucun cas de mortalité. Cependant le même auteur a révélé une activité inflammatoire au niveau de la patte gauche de la souris cobay qui s'est traduit par une augmentation du poids. Nous avons obtenu des résultats similaires à ceux de Khames et Kadi (2009) ont obtenu des résultats similaires, aucune lésion n'a été observée sur les différents organes étudiés. De même Chettah et Medjader (2011) n'ont décelé aucune perturbation histologique au niveau de certains organes du rat notamment le foie suite à une inoculation du champignon *M. anisopliae*.

De même Haddadj et al., (2014) n'ont enregistré aucune perturbation physiologique ni histologique chez les rats traités au *M. anisopliae*.

Aucune mortalité n'est marquée durant toute la période de suivi chez les souris blanches de laboratoire traitées par quatre souches bactériennes. Un taux de croissance pondérale identique est également enregistré par Oulebsir-Mohand kaci (2012).

Enfin Zimmermann (2007) montre que *Beauveria bassiana* est peu spécifique, les risques d'effets sur les organismes non ciblés sont grands. Des effets négatifs ont été observés en laboratoire chez certains poissons mais pas chez les oiseaux entomophages ni les mammifères (dont l'homme).

CONCLUSION

C O N C L U S I O N

Ce travail a été entrepris dans le but de contribuer à apporter quelques connaissances concernant l'effet de deux entomopathogènes *Beauveria bassiana* souche locale, et *Metarhizium anisopliae* var *acridium* obtenu à partir d'un biopesticide « Green Muscle » sur un fléau d'une importance économique capitale, le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*.

Dans notre étude, nous avons évalué l'impact biologique, physiologique et histologique des deux souches fongiques afin de valoriser au mieux leurs efficacités dans le but d'élargir leurs spectres d'action. Mais avant cela nous avons procédé à une caractérisation des deux cryptogames.

L'étude de l'influence de la température et de trois milieux de culture : SABOURAUD, MALT, PDA sur le comportement des deux entomopathogènes hyphomycètes *B. bassiana* et *M. anisopliae* a apporté des informations complémentaires pour la connaissance de l'écologie de ces espèces fongiques. Sur le plan biologique, les taux de germination ont permis de mettre en évidence la différence de l'évolution des deux champignons. En effet nous avons enregistré une meilleure germination à 20°C et sur milieu Sabouraud pour *B. bassiana*, et à 35°C sur le même milieu pour *M. anisopliae*.

En ce qui concerne l'influence de la température et des milieux de cultures sur la croissance mycélienne, les résultats révèlent que le maximum de cette croissance est obtenu sur PDA, à 20°C qui reste la température la plus favorable pour *B. bassiana*. Cette croissance atteint son optimum à 30°C pour *M. anisopliae* sur PDA.

Les résultats obtenus se rapportant à la différence du poids entre les spores issues des trois milieux de cultures et à des différentes températures révèlent que le meilleur poids est obtenu à la température 25°C pour *B. bassiana* sur le milieu de culture PDA, et à 35°C pour *M. anisopliae* sur milieu Malt.

De ce fait nous pouvons conclure que le comportement des deux souches diffère selon la température et le milieu de culture. En effet les basses températures favorisent le développement de *B. bassiana* et ralentissent celui de *M. anisopliae*. Ce dernier obtient un

optimum de développement aux températures plus élevées. Nous avons aussi constaté que la meilleure croissance a été obtenue sur milieu PDA.

L'étude de l'efficacité de *B. bassiana* et *M. anisopliae* vis-à-vis de *S. gregaria* L5 et imagos a révélé que les deux entomopathogènes se sont montrés très efficaces contre cet acridien. En effet les mortalités enregistrées évoluent avec les concentrations de l'inoculum, plus elles sont élevées et d'autant les mortalités le sont et surviennent rapidement.

Pour *B. bassiana*, la mortalité à la forte dose D1 ($1,46 \times 10^7$ sp./ml.) des L5 débute au 1^{er} jour et atteint 100% au 6^{ème} jour. Pour les imagos elle commence au 2^{ème} jour et atteint 100% au 6^{ème} jour. Au *M. anisopliae*, la mortalité débute au 2^{ème} jour chez les L5 et atteint 100% au 8^{ème} jour ; elle se manifeste au 3^{ème} jour chez les imagos pour atteindre 100% au 10^{ème} jour.

Le traitement à la deuxième dose D2 ($1,46 \times 10^6$ sp./ml.) a retardé l'achèvement des L5 et des imagos traités au *B. bassiana* d'un jour. Il en est de même pour les L5 traitées au *M. anisopliae*, pour les imagos les 100% de mortalité sont atteints au 10^{ème} jour.

Concernant la faible dose D3 ($1,46 \times 10^5$ sp./ml.), nous avons enregistré un retard dans le déclenchement des mortalités chez les individus traités aux deux champignons. Les 100% sont atteints au 8^{ème} et 10^{ème} jour de traitement respectivement chez les L5 et imagos traités au *B. bassiana*. Toutefois les 100% de mortalités sont atteints au 10^{ème} jour chez les L5 traitées au *M. anisopliae*, ce n'est que plus tard au 12^{ème} jour que les imagos ont succombé.

Nous avons obtenue une $DL_{50} = 1,19 \times 10^5$ sp./ml. Chez les L5, contre une DL_{50} de $3,21 \times 10^5$ sp./ml., chez les imagos traités au *B. bassiana*. Par contre ces doses sont plus élevées chez les individus traités au *M. anisopliae*. En effet chez les L5 la $DL_{50} = 3,95 \times 10^7$ sp./ml. et chez les imagos elle est de $2,83 \times 10^9$ sp./ml.

Les TL_{50} les plus courts sont enregistrés chez les L5 traitées au *B. bassiana* à la forte dose D1 (2,27 j) et chez les imagos qui présentent un $TL_{50} = 2,93$ j. Les individus traités au *M. anisopliae var acridium* se sont montrés plus résistants au traitement, ceci est expliqué par les TL_{50} obtenus variant de 4,30 j à 6,94 j chez les L5, et qui s'attardent jusqu'à 7,97 j chez les imagos.

L'application de *B. bassiana* et de *M. anisopliae var aridium* a réduit significativement le poids sec de cuticule des L5 de *S. gregaria* qui est passé après 24h de $18,48 \pm 1,09$ mg chez les témoins à $16,25 \pm 0,51$ mg et $12,28 \pm 0,71$ mg respectivement chez les individus traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*. Il en est de même pour les deux derniers temps à savoir 96h et 144h où nous remarquons que le poids cuticulaire est toujours supérieur chez les témoins par

rapport aux traités. Pour le contenu de chitine nous avons observé le même phénomène, il augmente dans le temps mais demeure toujours plus faible chez les individus traités aux deux cryptogames.

La quantité de protéines chez les témoins a baissé par rapport à celle des individus traités aux *B. bassiana* et au *M. anisopliae*, cette quantité évolue dans le temps mais l'effet du traitement la réduit significativement.

Suite à l'examen histologique de la cuticule des L5, nous avons constaté des perturbations apparentes au niveau de la structure cuticulaire qui s'est surtout manifestée au niveau de l'endocuticule.

Concernant le tube digestif des individus traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* aucune lésion macroscopique n'a été observée. Cependant l'étude microscopique a révélé des altérations structurales. En effet des atteintes histologiques ont été provoquées chez les individus traités aux deux champignons par rapport aux témoins. Ces altérations se sont manifestées par des lésions au niveau des cellules épithéliales, de la cuticule et des muscles circulaires ; ceci est observé au niveau des différentes parties du tube digestif.

Concernant l'aspect de toxicité des deux souches vis-à-vis du rat wistar, les résultats concernant le gain de poids ne montrent aucune perturbation de la prise de la nourriture par les rats, ces derniers ont continué à s'alimenter d'une façon normale aussi il n'y a pas eu d'interruption du comportement habituel.

Du point de vue histologique, les deux champignons n'ont engendré aucune perturbation vis-à-vis du mammifère. En effet l'application des solutions des deux entomopathogènes n'a engendré aucune perturbation macroscopique. Aussi au niveau de la structure histologique des foies des rats traités, nous n'avons décelé aucune lésion ces derniers avaient la même structure que celle des rats témoins.

Il en ressort de notre étude que l'application de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* en agriculture est une approche prometteuse qui permet de réduire l'utilisation des pesticides. Cependant elle contribue à promouvoir une agriculture biologique soucieuse de préserver la biodiversité et l'humanité. En revanche, ce travail n'est qu'une ébauche dans la recherche des agents antagonistes ; des essais complémentaires seront nécessaires et devront confirmer les

performances mises en évidence. A partir de ce modeste travail plusieurs voies de recherche s'ouvrent notamment :

- Caractériser les souches antagonistes les plus performantes par PCR (Polymerase Chain Reaction).
- Réaliser une étude épidémiologique afin de connaître la source de l'inoculum en vue d'une production en masse pour une éventuelle homologation en Algérie.
- Tester les isolats les plus performants in vitro et en plein champs, afin d'étudier leur profil enzymatique, toxicité, rémanence et leur persistance.
- Rechercher d'autres agents antagonistes efficaces contre les locustes notamment contre d'autres insectes nuisibles.
- Approfondir les études sur la bio-écologie et la physiologie de *S. gregaria* et des autres espèces grégariaptés.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Abbot W.B., 1925 - A method for computing the effectiveness of insecticides *J. Econ. Ent.* , 18: 265 – 267.
2. Abou Thiam, 1991- Problématique de l'utilisation des insecticides chimiques dans la lutte anti-acridienne au Sahel. In : Essaid A. *La lutte anti-acridienne*. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris © : 193-206.
3. Abou Thiam, Diouf H.R., Kuiseual J. Sarr A. & Thiam M., 2004- *Pesticides et Alternatives. Lutte antiacridienne: Guérir c'est bien, mais prévenir c'est mieux*. E d. Pesticide Action Network (PAN) Africa, Dakar, n° 23, 23p.
4. Acheuk F. 2000- Effet de quelques substrats alimentaires sur quelques paramètres de la biologie et de la reproduction de *L. migratoria* (Orth. Oedipodinae). Etude de l'efficacité de deux insecticides de synthèse : Dursban et Décis au laboratoire, et des perturbations histopathologiques du tube digestif. Thèse Magister, Inst. Nat. Agro., El Harrach, 206 p.
5. Acheuk F. et Doumandji-Mitiche B., 2006. Etude de l'impact de l'huile de Neem sur l'histologie de tube digestif des larves L5 du criquet pèlerin. Recueil communic. *congré. international. Zool.*, Inst. Nati. Agro., El Harrach.
6. Acheuk F. et Doumandji-Mitiche B., 2013- Toxicité du téflubenzuron sur des larves de cinquième stade de *Locusta migratoria cinerascens* (Fabricius, 1781) (Orthoptera, Arididae). *Lebanese Science Journal*, Vol. 14, No. 1 : 61-71.
7. Albrecht F.O, 1967- *Polymorphisme phasaire et biologie des acridiens migrants*. Ed. Masson, Paris, 194 p.
8. Allache F., 2005- *Activité biologique d'un dérégulateur de croissance des insectes : l'hexaflumuron sur la cuticule des larves de Locusta migratoria* (Linné, 1758) (Orthoptera, Oedipodinae). Thèse Magister. Agro., Inst. Nati. Agro., El-Harrach, 186p.
9. Aly S.H., 2002- Susceptibility of different stages of the bak cutworm *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera, Noctuidae) to the infection with the fungus, *Beauveria bassiana*. *Journal of Agricultural Science*. 33: 177-186.
10. Amang A Mbang J., Mounjouenpou P., Mahob R. J., Mbarga Amougou M., Mouen Bedimo J., Nyasse S., Dibog L., Bidzanga Nomo L. & Tchouamo I. R., 2012- Evaluation naturelle de l'impact de *Beauveria bassiana* : Champignon entomopathogène dans la dynamique de population de *Hypothenemus hampei*, scolyte de baies des cerises de *Coffea canefora*. *African Crop Science Journal*, Vol. 20, Issue Supplement s2 : 443-451.
11. Amjad M., Hamid Bashir M., Afzal M., Altaf Sabri M. and Javed N., 2012- Synergetic Effect of Some Entomopathogenic Fungi and Synthetic Pesticides Against Two Spotted Spider Mite *Tetranychus urticae* Koch (Acari, Tetranychidae). *Pakistan, J., Zol.*, Vol. 44 (4): 977-984.

12. Amouriq L., 1973 - *Eléments sur la relation entre les insectes et champignons*. Ed. Herman, Paris, 135 p.
13. Andersen S.O., 1998- Amino acid sequence studies on endocuticular proteins from the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, 28: 421-434.
14. Andersen S.O., 2002- Characteristic properties of proteins from pre-ecdysial cuticle of larvae and pupae of mealworm *Tenebrio molitor*. *Insect. Biochem. Molec. Biol.*, 28 : 421-434.
15. Anonyme, 1995 - Surveillance des acridiens au Sahel. *Lettre S.A.S.*, n° 2 pp. 7 - 12.
16. Anonyme, 1996 - Lettre de surveillance des acridiens du Sahel S.A.A. Ed. CIRAD/PRIFAS/GERDAT, Montpellier, n° 2: 11-14.
17. Appert J. & Deuse J., 1982 - *Les ravageurs des cultures vivrières et maraîchères sous les tropiques*. Ed. Maisonneuve et Larose, Paris, 419 p.
18. Auld B.A., 1991- *Production de masse, préparation et application de champignons comme agent de lutte biologique*. pp. 221-231 in LOMER C.J et PRIOR C., (1991). *Lutte biologique, contre les Acridiens*. Ed. C.A.B. International, Wallingford, 399 p.
19. Auld B.A., Rae M.C. C.F. & Say M.M., 1988 - Potential for *Xanthium spinosum* control by *Coletotrichum orbiculare* as a mycoherbicide in: Delfosse, E.S. Ed. *Proceedings of the VII International symposium on biological control of weeds*, 6 – 11 mars, Rome: 435- 443.
20. Badji K., 2013- Efficacité et impact de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin en lutte antiacridienne au Sénégal. *Atelier international, PAN Africa*. Protéger les populations contre les invasions des criquets et des pesticides. Dakar, janvier 2013.
21. Baker JH, Lindsey JR. & Weisbroth SH. (1980) - *The Laboratory Rat*. Vol. 2. New York: Academic Press, 276 p.
22. Barbouche N., Hajjem B., Lognay G. et Ammar M., 2001- Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extraits de feuilles de *Cestrum parqui* L'Hérit. (Solanaceae) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk.). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* 2001, 5 (2) : 85-90
23. Barnett H.L., 1972 - *Illustrated general of Imperfect Fungi*. Ed. Binger publishing company, England, 215 p.
24. Beaumont A., Cassier P. 1970- *Travaux pratiques de biologie animale : zoologie, embryologie, histologie*. Ed. Dunod, Paris, 472 p.
25. Belayel T., 1992 - *Effet de deux champignons et de 20 souches bactériennes vis à vis des larves de Geotrogus deserticola (Coleoptera-Melolonthinae)*. Thèse Ing. Agro., Inst. Nat. Agro., El-Harrach, 40 p.
26. Bendou R., 2001- *Contribution à l'étude anatomique et histophysiologique de l'appareil digestif de Locusta migratoria (Linné, 1758)*. Action histopathologique des extraits

de polyphénol totaux de feuille d'olivier *Olea europea* sur le tractus digestif du criquet migrateur. Thèse magi. Sci. Agro., Inst. Nati. Agro., El-Harrach, 163p.

27. Bensaad H., 1999 - *Activité biologique de Beauveria bassiana, Bals (Hyphomycètes, Deuteromycotina) sur Locusta migratoria Linné, 1775 (Orthoptera, Acrididae). Etude de l'influence de la température sur la croissance mycélienne, la sporulation et le cycle biologique de cet hyphomycète.* Mém. Ing. Agro. Inst. Nat. Agro, El Harrach, 98 p.
28. Bidochkam J. & Khachatourian S.G., 1991 - The implication of metabolic acid produced by *Beauveria bassiana* in pathogenesis of the migratory grasshopper *Melanoplus sanguinipes*. *Jour. Invert. Path.*, 58: 106-117.
29. Bing L.A. & Lewis L.C, 1992 - Temporal relationships between *Zea mays*, *Ostrinia nubilalis* (*Lep, Pyralidae*) and endophytic *Beauveria bassiana*. *Entomophaga*, 37 (4), pp. 525 – 535.
30. Bissaad F.Z., 1998 - *Etude de l'activité biologique de Beauveria bassiana sur Schistocerca gregaria (Orthoptera, Acrididae). Efficacité et effet sur la respiration et le rythme cardiaque de cet acridien.* Mém, Ing. Agro.,Inst. Nat. Agro., El Harrach, 94 p.
31. Bissaad F.Z., Youcef M. & Doumandji-Mitiche B., 2010- Effet d'un champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* va. *Acridium* sur lacuticule de criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria*, Forskål, 1775). *European Journal of Scientific Research*, Vol. 45, N°1 : 55-63.
32. Bissaad F. Z., Youcef M., Bounacerur F. & Doumandji-Mitiche B., 2012- *Activité biologique d'un biopesticide le Green muscle sur le tégument du criquet pèlerin Schistocerca gregaria (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae).* *Nature & Technologie*, n°6 :51-58.
33. Bordereau C. & Anderson S.O., 1978- Structural cuticular proteins in termite queens. *Com. Bioch. Physiol.*, 60B: 251-265.
34. Boudaoudi H., 1999 - *L'étude de la toxicité de Metarhizium flavoviride (Gams et Rhozypal) (Hyphomycètes, Deuteromycotina) vis à vis de locusta migratoria (Linné, 1758) (Orthoptera, Acrididae) et l'influence de la température sur la croissance mycélienne, la sporulation et le cycle biologique de ce moniliale.* Thèse. Ing. Inst. Nat. Agro., El Harrach, 114 p.
35. Bouhacein M., 1999 - *Effet de deux entomopathogènes (Hyphomycètes, Deuteromycotina), Beauveria bassiana (Balsamo) Veuillemin et Metarhizium flavoviride Gams et Rozypal sur les métabolites hémolympatiques, l'hémogramme et les protéines cuticulaires chez Locusta migratoria (Linné, 1758).* Mém. Ing. Agr., Inst. Nat. Agro., El-Harrach, 121p.
36. Bouneghou S. B., 2011- *L'effet inhibiteur de Pythium sp. Sur la croissance mycélienne de Fusarium roseum et d'Alternaria alternata.* Mém. Master. Microbiologie. Université Mentouri, Constantine, 35p.
37. Brandt C.R., Adang M.J. & Spence K.D., 1978- The peritrophic membrane: Ultrastructural analysis and function as a mechanical barrier to microbial infection in *Orgyia pseudotsugata*. *J. Invertbr. Pathol.*, 32: 12-24.

38. Buckner C.H., Kingsbury P.D., McLeod B.B., Mortensen K.L. and Ray D.G.H., 1974- Evaluation of commercial preparations of *Bacillus thuringiensis* with and without chitinase against spruce budworm. F. Impact of aerial treatment on non-target organisms. Chemical Control Research Institute, Info. Rep. CC-X-59. Canadian Forestry Service, Ottawa.
39. Butt T.M., Ibrahim L., Clark S.J. & Beckett A., 1995- The germination behavior of *Metarhizium anisopliae* on the surface of aphid and flea beetle cuticles. Mycol. Res 99: 945-950.
40. Cavelier A., 1976 – *Cours de phytopharmacie*. Ed. Inst. Nat. Agro., El Harrach T.1, 514 p.
41. Chahbar N., 1997 - *Morphométrie de Schistocerca gregaria (Forsk. 1775) et Locusta migratoria cinerascens (Bonnet et Finnot, 1885) (Orthoptera, Acrididae) à Adrar en 1996. Effet du champignon entomopathogène Beauveria bassiana (Dentromycotina) sur quelques paramètres physiologiques de S.gregaria*. Mem. Ing. Agro., Ins. Nat. Agro, El Harrach, 94 p.
42. Chara B., 1995 - Eléments sur la biologie et l'écologie du criquet pèlerin *S. gregaria* (Forsk., 1975). Stage de formation en lutte antiacridienne Ed. INPV. O.A.D.A, Alger: 69-67.
43. Charnley A.K., 1989 - Mécanisme of fungal pathogenesis in insects in Xhirp S and Lunsden R., (ed) biotechnologu of fungigal imponing plant growth, Ed. Cambridge University Press, Cambridge : 85 – 127.
44. Chattah S E. M. & Medjader A.K., 2011- *Effet du champignon entomopathogène Met arhizium anisopliae sur un aspect histologique du rat wistar*. PFE. Doc. Veter., Eol. Nat. Sup. Veter. El-Harrach, 33p.
45. Chauvin, R. 1956- Anatomie et histologie du tube digestif de *Schistocerca gregaria*. *Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord*, 18: 488-499.
46. Chopard L., 1943 - *Orthopteroides de l'Afrique du nord*. Ed. librairie la rose Paris, 447 p.
47. Cloutier C. et Cloutier C., 1992 - Les solutions biologiques de lutte pour la régression des insectes et acariens ravageurs des cultures, p.p. : 19-88 in Vingt C. Et Coderred D. La lutte biologique Ed. Gaëtan Morin, Québec, 671 p.
48. Coper A., 1982- The locust and grasshopper agricultural manual for Overseas Pest Research, London. pp. 690. I n Van Huis, A., Ed. Desert locust control with exiting techniques. *Proceeding of the seminar held in Wageningen*: 11-17.
49. Dahoun G., 2000- *Activité biologique d'un dérégulateur de croissance le Teflubenzuron sur le cinquième stade larvaire de Locusta migratoria (Linné, 1768) : Efficacité et effet sur la biochimie de la cuticule, l'hémolymphe et les ovaires*. Mém. Ing. Agro., Inst. Nat. Agro., El-Harrach, 175p.
50. Davet P. & Rouxel F., 2007- *Détection et isolement les champignons du sol*. Ed. INRA, France, 203p.

51. DeGregorio R., 1996- Le criquet pèlerin *Shistocera gregaria*, biologie et élevage : Durée de développement et rythme de ponte dans les conditions de laboratoire. Ed. C.A.U.P.P.A. Serv. Film Rech. Scien., Pau (Paris).
52. Dih D., 1994 - *Inventaire et courbes de captures des noctuelles rencontrées dans la région de Staouéli. Efficacité de quelques souches locales de Bacillus thuringiensis vis à vis de Spodoptera littoralis (Bois) (Lepidoptera –Noctuidae)*. Thèse. Ing. Agro., Inst. Nat. Agro., El Harrach, 57 p.
53. Diop B. and Wilps H., 1997- Field trials with neem oil and *Melia volkensii* extracts on *Schistocerca gregaria*, pp.201-207 in Krall S., Peveling R. and Ba Diallo D., New strategies in locust control, Ed. Birkhäuser Verlag, Basel/ Switzerland, 522p.
54. Doumandji – Mitiche B., Halouane F., Chahbar N., Agrane S., Merabti N. Seddik A. et Doumandji S., 1997 - Note sur la présence de l'entomopathogène *Beauveria bassiana* (Hyphomycètes. Deuteromycotina) sur *Schistoceras gregaria*, 1775 (Orthoptera, Acrididae) sur le terrain à Adrar (Algérie). Effet sur le rythme cardiaque et la respiration de cet acridien. *Med. Fac. Landhoww, Univ. Gent*, 62/2b: 499-506.
55. Doumandji S & Doumandji - Mitiche B., 1994 - *Criquets et sauterelles (Acridologie)*. Ed. off. Pub. Univ., Alger, 99 p.
56. Duranton J.F & Lecoq, 1990 - *Criquet pèlerin au Sahel*, Coll. Acrid. Opérat., n°6, Ed CIRAD – PRIFAS, Montpellier, 183 p.
57. Duranton J.F., Launois M., Launois - Luong M.H & Lecoq M., 1982- *Manuel de prospection aridienne en zone tropicale sèche*. Ed. Cirad/Prifas, Départ. G.E.R.D.A.T., Paris, T.I, 695p.
58. Duranton J.F., Launois M., Launois - Luong M.H., Lecoq M. & Rachadi T, 1987 - *Guide antiacridien du Sahel* Ed. Min. coop. GIRAD PRIFAS, 344p.
59. FAO, 2014- L'observatoire acridien, criquet pèlerin. Disponible sur : <http://www.fao.org/ag/locusts/fr/archives/briefs/1810/2151/index.html>.
60. Fargues J., 1984- Adhesion of the fungal spore to the insect cuticle in relation to pathogenicity. In: Infection Process of Fungi. D. W. Roberts and J.R. Aist (eds). *Rockefeller Foundation* : 90-110.
61. Fargues J. et Maniania N.K., 1992 -Variabilité de la sensibilité de *Spodoptera littoralis* (lep :Noctuidae) à l'hyphomycète entomopathogène *Nomuraea rileyi*. *Entomophaga*, 37 (4) : 545-554.
62. Fargues J., Goettel M.S., Smits N., Ouedraogo A. & Rougier M., 1997- Effect of temperature on vegetative growth of *Beauveria bassiana* isolates from different origins. *Mycologica*, 89: 383-392.
63. Ferron P., Fargues J. et Riba G., 1991 - Des champignons agents de lutte micro biologique contre les ravageurs. *Dost. Cell. Env.*, n° 5 : 55-76.

64. Festing, M.F.W. 1979- Suitability of the rat for different investigations. In: Inbred and genetically defined strains of laboratory animals, part I, mouse and rat Fed. *Am. Soc. Exper. Biol.* : 237-238.
65. Fleury D., Vuagnat D., Fleury I. & Lefort F., 2013- Des hampignons pour gérer les populations d'insectes ravageurs en arboriculture. *Journal des diplômés en viticulture œnologie et arboriculture*, Edito n° (78) : 17-19.
66. Frederikson D.S., 1988 - The possibilities of biological control of locusts, pp. 99-106 in *Catastrophes naturelles et péril acridien*. Pub. Acad.Roy., Maroc, Col 1, 278 p.
67. Gabe M., 1968 - *Techniques histologiques*. Ed. Masson et Cie, Paris, 1051p.
68. Ghoneim K.S., Bakr R.F., Tanani A.G., Al Dali and Bream A.S., 2008- An Ultrastructural Study on the Desert Locust (*Schistocerca gregaria*) as Affected by Tebufenozide (RH-5992). *Int. J. Agri. Biol.*, vol.10, n°5: 475-480
69. Goettel M.S. et ROBERTS D.M., 1991 - Production de masse, formulation et application en plein champ de champignon entomopathogène pp.120-128 in Lomer C J. Et Prior C.1991- *lutte biologique contre les acridiens*. Ed. C.A.B., International, Wallingford, 399 p.
70. Gosselin M. E., 2008- *Potentiel du spinosad et de Beauveria bassiana comme agents de lutte contre le ver gris Agrotis ipsilon*. Mém., en vue de l'obtention du grade de maître ès (M.Sc.) En sciences biologiques. Université de Montréal. 74p.
71. Grasse P.P., 1949 - *Traité de Zoologie - Anatomie, systématique et biologie*. Ed. Masson et Cie, Paris, T. I IX, 1117 p
72. Greathed D.J, Kooyman C, Launois – Luong M.H et Popov C.B, 1994 - *Les ennemis naturels des criquets au Sahel*. Col. Acrid. Opérat., n° 8, Ed, CIRAD - GERDAT – PRIFAS, France, 147 p.
73. Gry J., Coquard G. & Coquard J., 1966- Appréciation en laboratoire de l'activité des insecticides à l'égard du criquet migrateur. *L'agronomie tropicale*. (6-7) :837-855. Montpellier.
74. Guendouz-Benrima A., 2005- *Ecophysiologie et biogéographie du criquet pèlerin Schistocerca gregaria (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae) dans le sud algérien*. Thèse Doctorat Sci. Agro., Inst. Nat. Agro., El-Harrach, 210p.
75. Gupta D.K. & Vyas M., 1989- Efficacy of *Bacillus subtilis* against mosquito larvae (*Anopheles culicifacies*). *Zeitschrift fuer Angewandte Zoologie* 76(1): 85-91.
76. Haddadj F., 1998- *Efficacité du champignon entomopathogène Metarhizium anisopliae (Metch) (Hyphomycètes, Deuteromycotina) sur Schistocerca gregaria (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae). Effet sur la respiration et le rythme cardiaque*. Mém. Ing. Agro., Inst. Nat. Agro., El-Harrach, 106p.
77. Haddadj F., 2001- *Evaluation de l'activité biologique de l'entomopathogène Beauveria bassiana (Bals) (Hyphomycetes, Deuteromycotina) : efficacité sur la cuticule des L5 de Schistocerca gregaria (Forskål, 1775) (Acrididae, Cyrtacantharidinae)*. Thèse Magister .Agr., Inst. Nat., Agro., El-Harrach, 96p.

78. Haddadj F. & Doumandj-Mitiche B., 2012- Effet du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* sur la cuticule de *Schistocerca gregaria*. 3^{ème} Congrès Franco-Maghrébin de Zool. d'Ichtyol. 6-10 novembre 2012, Marrakech, 183p.
79. Haddadj F. & Doumandj-Mitiche B., 2013- Effet du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* sur la cuticule de *Schistocerca gregaria* (Orthoptera, Cyrthacantacridinae). *Entomol Ger.* 34 (3) : 207-214.
80. Haddadj F., Doumadji-Mitiche B., Halouane F. & Doumandji S., 1998- Efficacité de *Metarhizium anisopliae* sur les œufs, les larves et les imagos de *S. gregaria*. Effet sur la respiration et le rythme cardiaque de cet acridien. 2^{ème} journée d'entomologie, 18mars 1998. Inst. Nat. Agro. El-Harrach, Alger.
81. Haddadj F., Doumandj-Mitiche B., Hamdi S., Kadi A., Khames M. & Zenia S., 2014- Utilisation d'un champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* (Metch) sur un aspect toxicologique du rat wistar *Rattus norvegicus*. 2nd International Congress of Plant Diversity, from 27th to 29th March 2014, Marrakech, 166p.
82. Hajek A.E. & St. Leger R.J., 1994- Interaction between fungal pathogens and insects host. *Ann. Rev. Entomo.*, (39): 293-322.
83. Hajek A.E., Carruthers R.I. & Soper R., 1990- Temperature and moisture relations of sporulation and germination by *Entomophthora mainaiga* (Zygomycetes, Entomophthoraceae) a fungal pathogen of *Lymantria dispar* (Lepidoptera, Lymantridae). *Environmental Entomology*, 19, pp: 85-90.
84. Halidou Maiga, 1996 - Utilisation d'un mycopesticide à base de *Metarhizium flavoviride*. Gams et Rozyspal contre les acridiens. Acceptabilité auprès des agriculteurs sahéliens et possibilités de production commerciale. *Sécheresse*, n° 2, volume 7 :159-160.
85. Hall R.A., Peterkin D. & Ali B., 1994- Fungal control of whitefly, Trips palmi and sugarcane froghopper in Trinidad and Tobago, *Proceeding of the Vth International Colloquium of Invertebrate Pathology and Microbial Control*, 1: 227-282.
86. Hallsworth and Magan, K.E. 1999 - Water and temperature relations of growth of three entomogenous fungi *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* and *Paecilomyces farinosus*, *J. Invertebr. Pathol.*: 261-266.
87. Halouane F., 1997 - Cycle biologique de *Schistocerca gregaria* (Forsk., 1775) et de *Locusta migratoria* (Linné, 1758) (Orthoptera, Acrididae). Efficacité de *Metarhizium anisopliae* (Metch) (Hyphomycètes, Deuteromycotina) et effet sur quelques paramètres physiologiques de *Schistocerca gregaria*. Thèse Magister, Agro., Inst. Nat., Agro, El Harrach 236p.
88. Halouane F., 2008 – Recherche sur l'acridopathogène *B.bassiana* (Hyphomycètes, Deuteromycotina) : Bioécologie production et application sur *Schistocerca gregaria* (Forsk., 1775) et *Locusta migratoria* (Linné, 1758) (Orthoptera, Acrididae). Thèse, Doc, Sci. Agro., Ecol. Nat., Sup. Agro., El Harrach 190 p.

89. Halouane F., Bissaad F.Z., Doumandji-Mitihe B., Benzina F., Chahbar N. et Hamid S., 2013- Study of the effect of *Beauveria bassiana* (Vuil.) on the biochemistry and structure of the cutiule of *Schistocerca gregaria* (Forskål). *Annals of Biological Research*, 4 (12): 68-74.
90. Hassani M., 2000 - *Developpement and proving of biocontrol methods based on Bacillus thuringiensis and entomopathogenic fungi againts the cotton pests Spodoptera littoralis, Helioverpa ornigera (Lepidoptera, Noctuidae) and Aphis gossypii (Homoptera., Aphididae)*. Thesis Doctor Agri. Sci., Justus Leibig University, Giessen, 130 p.
91. Held U., 2010- Pièges des corrélations: les coefficients de corrélation de Pearson & de Spearman. *Forum Med Suisse*. 10 (38): 652–653.
92. Hillerton J.F. & Purslow P.P., 1981- An investigation of some matrix protein components critical to the extensible properties of insect cuticule. *J. Materials Science*, 16: 1673-1679.
93. Hillerton J.E. and Vincent J.F.V., 1979- The stabilisation of insect cuticules. *J. Insect Physiology*, 25: 957-963.
94. Idrissi Hassani L. M. et Hermas J., 2008- Effets de l'alimentation en *Peganum harmala L. (Zygophyllaceae)* sur le tube digestif du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* Forsak. (*Orthoptera, Acrididae*). *Zool. baetica*, 19: 71-84.
95. Inglis G.D., Goettel M.S. and Johnson D.L., 1995- Influeene of ultraviolet light protectants on persistence of the entomopathogeni fungus, *Beauveria bassiana*. *Boiological Control* 5: 581- 590.
96. Inglis G.D., Johnson D.L. and Goettel M.S., 1997 - Field laboratory evaluation of two conidial batches of *Beauveria bassiana* (Balsamo) against grasshoppers. *Canadian entomologist*, Vol. 29 : 171-186.
97. Jankowiak C., 2013- Les insectes- le criquet migrateur .Disponible sur : [www. biopathe .fr](http://www.biopathe.fr).
98. Jaronski S.T. & Goettel M.S., 1997 - Development of *Beauveria bassiana* for control of grasshoppers and locusts Mémoires of the entomological Society of Canada, n° 171: 225-237.
99. Joung J. et Côté J. C., 2000- *Une analyse des incidences environnementales de l'insecticide microbien Bacillus thuringiensis*. Ed.AAC. Centre de recherche et développement en horticulture, *Bulletin technique* n°.29, Canada,
100. Kaidi N., 2004- *Effet de la température et des milieux de culture sur Beauveria bassiana Bals. (Hyphomyètes, Deuteromyotina)*. *Ativité biologique de cet entomopathogène vis-à-vis des imagos de Schistocerca gregaria (Forskål, 1775) (Cyrthacanthacridinae, Acrididae) etdeLocusta migratoria (Linné, 1758) (Oedipodinae,Arididae)*. Mém .ing. agro. Inst. Nat. Agro., El-Harrach, 115 p.

101. Keith D. et Kevan M.E, 1992. - Les agents de la lutte biologique existants et potentiels contre les orthopteroïdes nuisibles, p.p. 107-150 in Vincent C. et Coderre D. *La lutte biologique*. Ed. Gaëtan morin, Quebec, 671p.
102. Kemassi A., 2008- *Toxicité comparée des extraits de quelques plantes acridifuges du Sahara septentrional Est algérien sur les larves du cinquième stade et les adultes de Schistocerca gregaria (Forskål, 1775)*. Mém. Magister.Sci. Agro., Université Kasdi Merbah Ouargla, 160 p.
103. Khames m. & Kadi A., 2009- *L'effet du champignon entomopathogène Beauveria bassiana sur un aspect histologique du rat wistar*. PFE. Doc. Veter., Eol. Nat. Sup. Veter. El-Harrach, 34p.
104. Kooyman C., Ammati M., Moumène K., Chaouch A. & Zeid A., 2005- Essai de Green Muscle sur les nymphes du criquet pèlerin dans la wilaya d'El-Oued, Nord Est Algérien, avril-mai 2005. *Rapport FAO TAC 715*, 22p.
105. Kouassi M., 2001- Les possibilités de lutte biologique: emphase sur le champignon entomopathogène *B.bassiana*. *VertigO-Rev. Sci. Environ.* Vol.2, (2).
106. Kramer K. J., Dziadik-Turner C. & Koga D., 1985- Chitin metabolism in insects, p p. 75-115 in Kerkut G.A. and Gilbert L. I., *Comprehensive insect physiology biochemistry and pharmacology, Integument, Respiration and Circulation*, vol. 3, Ed. Pergamon Press, Oxford.
107. Labdaoui S., 2007- *Etude de l'effet de Beauveria bassiana et Peganum harmala sur le criquet pèlerin Schistocera gregaria (Forskål, 1775)*. Mém. DES, Fac. Sci. UMBB.
108. Lacey L. A., Frutos R., Kaya H. K. and Vail P., 2001- Insect Pathogens as Biological Control Agents: Do They Have a Future? *Biological Control* 21 : 230–248.
109. Launois – Luong M.H., 1992 - Champignon contre criquets. *Pour la science* n° 182 : 21-22.
110. Launois-Luong M.H. & Lecoq M., 1989- *Vadémécum des criquets du sahel*. Ed. CIRAD/PRIFAS, 'Collection Acridologie Opérationnelle' n°5, Montpellier, 125 p.
111. Launois–Luong M.H & Lecoq M., 1993 - *Manuel explicatif du code ONM de transmission des informations sur les criquets ravageurs*. Ed.org. Météo. Mond. org. isl. etu. Sci. Col., Genève, 30 p.
112. Launois–Luong M.H & Popov G.B, 1992 – *Schistocerca gregaria (Forskål, 1775)(Acrididae, Cyrtacanthacridinae)*. Ed. C.I.R.A.D. – PRIFAS, Paris, 4 p.
113. Launois M. & Rachadi T., 1988 - La lutte chimique contre les criquets du Sahel. Minist. Aff. Etrang. Pays Bas et CIRAD PRIFAS, *Coll. Acrid. Opérat.* N° 3, 62 p.
114. Lawrence A., Laey N. & Riberio C., 1994- Pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* for adults of the japenese beetle: *Popillia japonica* (Coleoptera: Scarabidae). *Jour. Entomol.* N°91 : 313-319.
115. Lazare K., Haubruge E., Destain J., Thonart P., Lienard V. & Gaspar C., 1996- Utilisation de *Bacillus subtilis* comme insecticide à l'égard de *Drosophila melanogaster* (MEIGEN). *Med. Fac.Landbouwen*; 61(3a): 887-893.

116. Lecoq M., 2012- *Bioécologie du criquet pèlerin. Pour la CLCPRO*, Montpellier, France, 2012. 217p.
117. Leger R., Cooper R.M and Charnley A.K., 1987 - Production of cuticule degrading enzymes by the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* during infection of cuticules. From *Calliphora vomitoria* and *Manduca sexta*. *Journal of general microbiology* 133: 1371-1382.
118. Lepasme P., 1938 - Recherche sur une aspergillose des acridiens. *Bull, Soc Hist. Nat. De l'Afrique du nord*, n° 25, T.XXIX : 372-384.
119. Lomer C.J. & Prior C., 1991 - *Lutte biologique contre les acridiens*. Ed. CAB International, Wallingford, 339 p.
120. Lomer C.J., Batman R. P., Johnson D.L., Langewald J. & Thomas M., 2001- Biological control of locusts and grasshoppers. *Annu. Rev. Entomol.*, n°46: 667-702.
121. Louveaux A. & Benhalima T., 1987 - Catalogue des orthoptères *Acridoidae* d'Afrique du nord ouest. *Bull. Soc. Ent.*, 91 (3-4), France : 73-87.
122. Luong-Skormand M.H., Rachadi T. et Lecoq M., 1999. *La lutte contre les criquets ravageurs : l'intérêt des mycopesticides*. Ed. Cirad-Amis-Programme Protection des cultures, n°19, Paris, : 49-52. (Disponible sur <http://www.inra.fr/dpenv/do.htm#d19>).
123. Magalhaes B.P., Lord J.C., Wraight S.P., Daoust R.A. & Roberts D.W., 1990- Pathogenicity of *Beauveria bassiana* and *Zoophthora radicans* to the coccinellid predators *Coleomegilla maculata* and *Eriopsis connexa*. *J. Invertebr. Pathol.* 52: 471-473.
124. Mallamaire A. & Roy J., 1968- *La lutte contre le criquet pèlerin (Schistocerca gregaria Forsk.) en Afrique occidentale française*, Ed. O.R.S.T.O.M., 113p.
125. Martoja R. & Martoja M., 1967 - *Techniques d'histologie animale*. Ed. Masson et Cie, Paris V, 331 p.
126. Meikle W., Mercadier G., Girod V., 2007- Les microchampignons, nouvel espoir dans la lutte biologique contre *Varroa destructor*. *Phatologie, abeilles & c^{ie}* n°118* 3-2007. Disponible sur www.carbi.be.
127. Merzendorfer H., 2006- Insect chitin synthases: a view. *Journal of Comparative Physiology B*, 176: 1-15.
128. Merzendorfer H. & Zimoch L., 2003- Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases. *The Journal of Experimental Biology*, 206: 4393-4412.
129. Mestre J., 1988 - *Les acridiens des formations herbeuses d'Afrique de l'ouest*, Ed. CIRAD – PRIFAS. Départ. GERDAT, France, 330 p.
130. Milat-Bissaad F.Z., 2011 – *Etude comparative de l'effet de deux entomopathogènes, Beauveria bassiana (vuil, 1912) et M.anisopliae var acridium (Metch.,1883) (Hyphomycètes,Deuteromycotina) sur le criquet pèlerin Schistocerca gregaria (Forskål,1775) (Orthoptera, Acrididae)*. Thèse, Doc. Agro., Ecol. Nat. Sup. Agro., El Harrach, 205 p.

131. Mohand Kaci H., 1998- *Etude de la toxicité de Bacillus subtilis (Sporulable, Baillaceae) sur les 5 stades larvaires et les imagos de Schistocerca gregaria (Orthoptera, Arididae). Effet sur la respiration et le rythme cardiaque.* Mém., Ing., Inst. Nat., Agro., El-Harrach, 96p.
132. Mohand Kaci H & Doumandji-Mitihe B., 2012- Mise en Evidence du Pouvoir Entomopathogène de *Bacillus sphaericus* vis-à-vis du Criquet Migrateur *Locusta migratoria* (Orthoptera: Arididae). *Entomol. Gen.*, 33(4):289-300.
133. Moore D. & Morley Davies J., 1994 - The effect of temperature and ultra violet irradiation on conidia ref *Metarhizium flavoviride* *Pests and diseases*: 1085-1090.
134. Moore D., Bateman R.P., Carey M., & Prior C, 1995 - Long term storage of *Metarhizium flavoviride* conidia in oil formulation for the control of locusts and grasshoppers *Biocont , Sci. and Techn.*, n° 55: 193-199.
135. Moretau B., 1991- Etude de certains aspects de la physiotoxicologie d'insecticides de synthèse chez *Locusta migratoria*. In : Essaid A. La lutte anti-acridienne. Ed. AUPELF UREF, John Libbey Eurotext, Paris © : 167-178.
136. Morley Davies J. Moore D. and Prior C., 1995 - Screening of *Metarhizium* and *Beauveria* ssp., conidia with exposure to simulated sunlight and of temperature. *Mucol. Res*, vol 100, n° 1: 31-38.
137. Moussa A., 2003- *Effet de l'huile de Neem (Azadirachta indica) sur quelques paramètres biologiques et physiologiques de Locusta migratoria (Linné, 1758) et Locusta migratoria migratorioides (R et F, 1850) (Orthoptera, Arididae).* Thèse Magister Sci. Agro., Inst. Nat. Agro., El-Harrach, 123p.
138. Nassirudin M. & Mordu A. J., 1993- The effect of azadirachin on the midgut histology of the locusts *Schistocerca gregaria* and *Locusta migratoria*. *Tissu and cell*.25(6): 875-884.
139. Neergard P., 1979 - Seed pathology. Ed. London, Basingstoke the Macmillan Press, T.1, 839 p.
140. Nøhr C. & Anderson S. O., 1993- Cuticular proteins from fifth instar nymphs of migratory locusts, *Locusta migratoria*. *Insect Biochem. Molec. Biol.*, vol 23, n°4: 521-531.
141. Nurein H.O.M., 1989 - *Le criquet pèlerin*. Rev. Locuste et sauteriaux. Ed. Bayer, France, p. 39.
142. Ould El Hadj M.D 1992 - *Bioécologie des sauterelles et des sauteriaux dans 3 zones d'études au Sahara* – Thèse Magister. Inst. Nat. Agro El Harrach, 85 p.
143. Ould El Hadj M. D., Tankari Dan-Badjo A., Halouane F. & Doumandji S., 2006- Toxicité comparée des extraits de trois plantes acridifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera-Cyrtacanthacridinae). *Sécheresse*, vol. 17(3) : 407-414.
144. Oulebsir-MohandKaci H., 2012- *Evaluation de l'impact biologique de quelques souches locales de Bacillus sp. Et Pseudomonas spp. Fluorescents vis à vis du criquet migrateur Locusta*

migratoria cinerascens (Orthoptera: Acrididae), Thèse, Doc., Sci., Agro., Ecol., Nat., Sup., Agro., El-Harrach, 187p.

145. Oulebsir-Mohand Kaci H. & Doumandji-Mitiche B., 2012- Etude De L'Impact Biologique De *Pseudomonas SPP. Fluorescens* Sur Les Métabolites Hémolymphatiques Et L'Histologie Du Tube Digestif Des L5 Du Criquet Migrateur *Locusta migratoria* (Linné, 1758). *Lebanese Science Journal*, Vol. 13. N°2 : 99-115.

146. Outtar F., 2006- *Effet de deux entomopathogènes Beauveria bassiana Bals et Metarhizium anisopliae var acridium Metch. (Hyphomycètes, Deuteromycotina) sur l'état embryonnaire de criquet pèlerin Schistocerca gregaria (Forskal, 1775) (Cyrtacanthacridinae, Acrididae)*. Mem. Ing. Agro.Inst. Nat. Agro., El-Harrach, 102 p.

147. Outtar F., 2009- *Utilisation de quelques biopesticides sur le criquet migrateur Locusta migratoria (Linné, 1758) (Oedipodinae, Acrididae)*. Thèse. Magister: Ecole. Nat. Sup.Agro. El.Harrach, 203p.

148. Outtar F., Doumandji-Mitiche B., Mouhouhe F. & Doumandji S., 2011- Méthodes alternatives en lutte antiacridienne. *AFPP- 4^{ème} Conférence Internationale sur les méthodes alternatives en protection des cultures*. Lile- 8et 9 Mars 2011.

149. Paillot A., 1933 - *L'infection chez les insectes : immunité et symbiose*. Ed. Pâtissier, Paris, 471 p.

150. Parker B.L., Skinner M., Brown Bridoe M. and Bouhsin I.M., 2000 -Control of insects pests with entomopathogène fungi. *Arab journal of plant protection*, vol. 18 : 138-142

151. Pastre A., Smolikowski S. & Thews G., 1988 - *La lutte antiacridienne dossier delta métrine* Ed. Roussel uclaf, division Agravet, 127 p.

152. Popov G.B., 1997- *Atlas des aires de reproduction du croquet pèlerin*. Ed. FAO-Rome, 121p.

153. Popov G.B, Duranton J.F. et Gigault J., 1991 - Etude écologique de biotopes du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskal, 1775) en Afrique du nord - occidentale Ed. CIRAD – PRIFAS, Minist. Coo. Dév., ONV, CCE, *Cent. Coo. Inter. Rech. Agro. Dév.*, 73 p.

154. Prior C., 1990 - Surveillance des acridiens au Sahel. *Lettre S.A.S.*, n° 2 : 9-10.

155. Raccaud - Schoeller J., 1980 - *Les insectes physiologie et développement* Ed. Masson, Paris, 296 p.

156. Rachadi T., 1990 - Promesses et limites des insecticides chimiques en lutte antiacridienne. *Phytoma* ; n° 421 : 53-59.

157. Rapilly F., 1960 - *Eléments d'écologie fondamentale*. Ed. Mac. Graw Hill, Paris, 197p.

158. Raymond J., Stlege R., Lokesh-Josh I., Mihael J., Bidochka M.j., Donald W.& Ret L., 1995- Protein synthesis in *Metarhizium anisopliae* growing on host cuticule. *Mycol. Res.*, 99, (9): 1034-1040.

159. Rembold H., 1997- *Melia volkensii*: a natural insecticide against desert locust, pp.185-191 in Krall S., Peveling R. and Ba Diallo D., *New strategies in locust control*, Ed. Birkhäuser Verlag, Basel/ Switzerland, 522p.
160. Retnakaran A., Pallis S.R., Tomkins W.L., Primavera M.J. & Brownwright A., 1996- The regulation of chitin synthesis and deposition in an insect. The spruce budworm at the biochemical and ultrastructural level: 174-182 in Stevens W F Rao M S. and Chandkrachang S. Chitin and Chitosan. Environmental friendly and versatile biomaterials. - Asian Institute of technology. Bangkok, Thailand.
161. Rodman L.F. & Rath A.C., 1997- Isolations and characterization of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* from substance Maquarie Island. *Journal of Invertebrate Pathology*, 69: 285-288.
162. Rogers H.E. (1979) - Nutrition, in: the laboratory rat. Biology diseases. *Academic Press*. New York, 1: 123-152.
163. Sabbahi R., 2008 – *Utilisation du champignon entomopathogène Beauveria bassiana dans une stratégie de gestion phytosanitaire des principaux insectes ravageurs en fraiseraies*, Thèse, Ph.D. en biologie, 381p.
164. Salokhe S., Sarkar A., Kulkarni A., Mukherjee S. & Pal J.K., 2006- Flufenoxuron, an acylurea insect growth regulator, alters development of *Tribolium castaneum* (Herbst) (Coleoptera: Tenebrionidae) modulating levels of chitin, soluble protein content and HSP70 and p34cdc2 in the larval tissues. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 85: 84-90.
165. Scalan J.C., Grant W.E., Hunter D.M. & Milner R.J., 2001- Habitat and environmental factors influencing the control of migratory locusts (*Locusta migratoria*) with an entomopathogenic fungus (*Metarhizium anisopliae*). *Ecological Modelling*, 136: 223-236.
166. Schneider L.C.L., Silva C.V., Pamphile J.A. and Conte H., 2013- Infection, colonisation and extrusion of *Metarhizium anisopliae* (Metsch) Sorokin (Deuteromycotina: Hyphomycetes) in pupae of *Diatraea saccharalis* F. (Lepidoptera: Crambidae), *Jour. Entom. Nematol.*, Vol. 5 (1) : 1-9, March 2013.
167. Scriban R., 1982- *Biotehnologie*, Ed. Lavoisier, Paris, 1042p.
168. Siegel J.P., and Shadduk J.A., 1990- Clearance of *Bacillus sphaericus* and *Bacillus thuringiensis ssp. israelensis* from mammals. *J. Econ. Entomol.* 83: 347-355.
169. Siegel J.P., Shadduk J.A. and Szabo J., 1987- Safety of the entomopathogen *Bacillus thuringiensis var. israelensis* for mammals. *J. Econ. Entomol.* 80: 717-723.
170. Sitouh M., 1967 - Relation entre les crues et *S. gregaria* en phase solitaire dans le Sahara central. *Ann. Inst. Nat. Agro El Harrach*: 33-83.

171. Smaghe G., Auda M., Van Laecke K. & Degheele D., 1997- Significance of penetration and metabolism on topical toxicity of deflubenzuron in *Spodoptera littoralis* and *Spodoptera exigua*. *Entomol. Exp. & Appl.*, 82(3): 255-260.
172. Soltani-Mazoni N. & Soltani N., 1992- Protein synthesis in the fat body of *Tenebrio molitor* (L.) during oocyte maturation: Effect of diflubenzuron, cycloheximide and starvation. *Journal of Stores Products Research*. Vol. 31: 117-122.
173. Soltani N., Chebira S., Pitoizet N., Delbecq J.P. & Delachambre J., 1995- Effect of Flucycloxuron, a novel benzoylphenylurea derivate, on the in vivo and in vitro production of ecdysteroids in *Tenebrio molitor*. *Med. Fac. Landlowi. Univ. Gent*. 607 (3b): 1017-1022.
174. Spindler-Barth M., Spindler K.D., Londershausen M. & Thomas H., 1989- Inhibition of chitin synthesis in an insect cell line. *Pest. Sci.*, 25: 115-121.
175. St. Leger R., 1993- Biology and mechanisms of insect-cuticle invasion by Deuteromycete fungal pathogens. In: Parasites and Pathogens of Insects. Vol. 2, Pathogens. N.E., Beckage and B. Federici - *Academic Press*: 211-230; New York.
176. Stephan D. & Zimmerman G., 1997 - Mass production of *Metarhizium flavoviride* in submerged culture using waste products the development of biopreparation in locust control. *Ed. Kral. Switzerland*: 227-229.
177. Stephan D., Wellingh & Zimmerman G., 1997 - Locust control with *Metarhizium flavoviride*: new approaches in the development of biopreparation based on blastospores in new strategies in locust control *Ed. Kral. Switzerland*: 151-158.
178. Suty L., 2010- *La lutte biologique* .Ed. Educagri et Quae .Paris. 192p.
179. Swearingen W.D., 1993 - Lutte biologique contre les acridiens - Lettre d'information du 19 octobre - *Surveillance des acridiens du sahel CIRAD – PRIFAS*, Montpellier : 17-20.
180. Symmons N. & Cressman R., 2001- *Directives sur le criquet pèlerin : Le criquet pèlerin, biologie et comportement*. Ed. Food Alimentation Organisation (F.A.O.), Rome, 43p.
181. Tail G., 1998- *Action de quelques substrats alimentaires sur quelques paramètres biologiques de Schistocerca gregaria (Forsk., 1775) (Orthoptère, Acrididae). Efficacité entomopathogène de Pseudomonas fluorescens (Pseudomonadaceae) sur quelques aspects physiologiques du criquet pèlerin*. Thèse. Mag. sci. agro., Inst. Nati. Agro., El Harrach, 190p.
182. Tkacz J.S. & Lange L., 2004- *Advances in fungal biotechnology for industry, agriculture and medicine*. Ed. Library of congress cataloging. New York, 419p.
183. Todorova, S.J., Côté IC., Martel, P. et Coderre, D. 1994 - Heterogeneity of two *Beauveria bassiana* strains revealed by biochemical tests, protein profiles and bioassays on *Leptinotarsa decemlineata* (Col: Coccinelidae) larvae. *Entomophaga*. 39: 159-169.
184. Tong-kwee, L., Muhamad, R., Fee Gait, C. and Lan Chiew, C. 1989 - Studies on *Beauveria bassiana* isolated from the cocoa mirid, *Helopeltis theobromae*. *Crop Protection* 8: 358-362.

- 185.** Turnbull I.F. & Howells A.J., 1982 - Effets of several larvicidal compounds on chitin biosynthesis by isolated larval: In teguments of the sheep Bloufly *Lucilia cuprina*. *Biol. Sci.*, 35: 491-503.
- 186.** Van Der Valk H., 2007- Rapport sur l'efficacité du *Metarhizium anisopliae* var. *acridium* contre les locustes et les sauteriaux, Atelier international sur l'avenir des biopesticides en lutte contre le criquet pèlerin, Saly, Sénégal 12-15 février 2007, 32 p.
- 187.** Vananuvat J. & Insella J., 1975- Production of yeast protein from crude lactose by *Saccharomyces Fragilis* bath culture studies *J. of food science*, vol.40: 330-341.
- 188.** Vergas R., Bruce C. & Penman D.R., 2002- Effect of thuringiensin on cuticule development of immature stages of *Tetranychus urticae* Koch. (Acarina, Tetranychidae). *Agricultura Técnica*. Vol.62. (2): 201-211.
- 189.** Vey A., Quiot M. & Paism., 1986 - Toxémie d'origine fongique chez les invertébrés et ses conséquences cytotoxiques : étude sur l'infection à *Metarhizium anisopliae* (*Hyphomycètes, Moniliales*) chez les lépidoptères et les coléoptères *Soc. ; Biol.* : 105-112.
- 190.** Vey A., Cavalier F., Courtiade B., Doumas C., Lange C., Lontelier C., Teraris M. & Vreducci J., 1996-Au secours de la protection des plantes contre les insectes : des substances produites par des champignons. *Phytoma*. 489 : 16-20.
- 191.** Vidal C., Fargues J. & Lacey A., 1997 - Introspecific viability of *Poecilomyces fumosoroseus* : effect of temperature on vegetative growth. *Journal of Invertebrate pathology*, 70:18-26.
- 192.** Vincent J.F.V. & Clark L., 1985- Effect of diflubenzuron on the stabilisation of protein within the cuticular matrix of the locust (*Ensifera: Locustodae*). *Entomol. Gen.*, 11(1/2): 15-24.
- 193.** Weiser J., 1972- *Beauveria* Vuill. In: *Nemoci hmyzu*. Naklad. Ceskolov. Akademie, Praha: 361-377.
- 194.** Welling M., Nachtigal G. & Zimmerman G., 1994 - *Metarhizium* spp isolated from Madagascar: morphology and effect of night temperature on growth and infectivity to the migratory locust *Locusta migratoria*. *Entomophaga*, 39 (3/4): 351-361.
- 195.** Wigglesworth B., 1972 - *The principals of insect physiology* Ed. Chapman and Hall, London, New York, 827 p.
- 196.** Zergoun Y., 1994 - *Bioécologie des orthoptères dans la région de Ghardaïa régime alimentaire d'Acrotylus patruelis (Herrich –Schoffer, 1838) (Orthoptera, Acrididae)*. Thèse Magister Inst. Nat. Agro, El Harrach, 110 p.
- 197.** Ziani J., 2008 - Application de *Beauveria bassiana* contre la punaise terne *Lygus lineolaris* (Palisot de beauvois) (*Hémiptères: Miridés*) dans les vignobles. Mémoire maîtrise en biologie Univ. Québec à Montréal, 70p.

198. Zimmerman G., 1993- The Entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Peste. Sei*, no 37: 375-379.
199. Zimmerman G., 2007- Review on safety of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Beauveria brongniartii*. *Biocontrol Science and Teehnology*.17(6): 553-596

ANNEXES

ANNEXE I

La composition des milieux (Rapilly 1968) (Annexe I).

Milieu Sabouraud :

- 5g extrait de levure
- 20 g glucose
- 16 g de gélose (Agar – Agar)
- 1000 ml d'eau distillée
- Autoclaver 20 mn PH = 7

Milieu Malt :

- 20 gr d'extrait de malt
- 20 gr de gélose
- 1000 ml d'eau distillée
- Autoclaver à 120° C pendant 20 mn

Milieu P.D.A (Potatoes Dextros Agar) :

- 200 gr de pomme de terre (pour obtenir un jus de pomme de terre après ébullition)
- 20 gr de glucose
- 20 gr de gélose
- 1000 ml d'eau distillée
- Autoclaver à 120° C pendant 20 mn.

Solutions utilisées pour l'étude histologique des criquets

Préparation n° 1 bouin de Hollande

Réactifs

- Acétate neutre de cuivre.....5 g
- Acide picrique.....8 g
- Formol à 40 %.....20 ml
- Acide acétique cristallisable.....3 ml

Mode Opératoire

Dissoudre à froid au mortier l'acétate de cuivre dans 100 ml d'eau distillée. Ajouter peu à peu en remuant l'acide picrique. Après dissolution agiter et ajouter le formol et l'acide acétique.

Préparation n° 2 : Eau Gélatinée

Réactifs

- Gélatine en poudre.....0,3 g

- Eau distillée.....100 ml
- Un cristal de Thymol

Mode Opérateur

Faire dissoudre 0,3 g de gélatine dans 100 ml d'eau distillée tiède. Filtrer et ajouter un cristal de Thymol.

Préparation n° 3 : Coloration de Mallory

Réactifs

- Solution aqueuse de fuschine acide à 0,5 % (1g de fuchine acide et 100 ml d'eau distillée)
- Solution bleu d'aniline orange G. acide phosphotungstique
- Bleu d'aniline.....0,5 g
- Orange G.....2 g
- Acide phosphotungstique.....1 g
- Eau distillée.....100 ml

Mode Opérateur

- Coupes déparaffinées hydratées
- Colorer pendant 30 secondes dans la solution de fuschine acide
- Egoutter et laver à l'eau distillée
- Colorer pendant 3 minutes dans le mélange de Mallory : bleu d'aniline – orange G – acide phosphotungstique, eau distillée
- Rincer à l'eau distillée déshydrater et monter au baume de Canada.
-

Préparation n° 4 : Coloration à l'azan de heidenhain :

- L'acide picrique est éliminé par un séjour de 30 mn des lames dans l'alcool aniliné puis elles sont lavées à l'eau distillée.
- Colorer pendant 1 heure à 60°C dans la solution d'azocarmin préalablement portée à 60°C.
- Sans laisser refroidir, laver à l'eau distillée.
- Différencier par l'alcool aniliné 1h30 mn.
- Séjourner 30s-1mn dans l'alcool acétique.
- Traiter par l'acide phosphotungstique de ¼ h-1 heure.
- Laver à l'eaudistillée.

- Colorer au bleu de Heidenhain ½ h-2 heures.

Solutions utilisées pour l'étude histologique des rats

Mode opératoire

La fixation :

La fixation doit être immédiate après le prélèvement au laboratoire, pour empêcher une putréfaction du tissu par autolyse et par altération microbienne. Les pièces séjourneront de 12 à 24 heures dans le fixateur et y seront totalement immergées. Ce temps est toutefois à adapter selon la consistance et la taille du tissu. Une fois fixé le prélèvement est d'abord découpé macroscopiquement en petits morceaux lorsqu'il s'agit d'un organe. Chaque morceau est bien identifié par un code (association de lettres et d'un nombre). Les prélèvements sont ensuite déposés dans des cassettes avec leur identification sur le bord des cassettes (inscription avec un crayon).

Coloration :

a) Principe :

Coloration des noyaux par une laque aluminique l'hémalum, et des fonds par un seul colorant acide : l'éosine.

Réactifs :

- Hématoxyline de Harris
- Eosine à 1%

Mode opératoire :

- Déparaffiner par le toluène
- 1^{er} bain pendant 5 min
- 2^{ème} bain pendant 7 min

Hydrater :

- Alcool 100°60" à agitation
- Alcool 90°60" à agitation
- Alcool 70°60" à agitation
- Eau distillé.....3 min

Coloration :

- l'hématine 1min et 15 mn

-Laver pendant 3 min à l'eau courante

-Colorer 3 min à l'éosine (pour la différenciation se fait par l'alcool 70° et 90°)

Déshydrater :

-Alcool 70°30 mn à agitation

-Alcool 90°30 mn à agitation

-Alcool 100°1 mn à agitation (figure 25)

Eclaircir :

-1^{er} bain : toluène pendant 5 mn

-2^{ème} bain : toluène pendant 5mn

Montage :

Résultat de la coloration : Les Noyaux sont colorés en Violet foncé et le fond est coloré en rose.

ANNEXE II

Tableau n°3 : Effet de la température et des 3 milieux de culture sur le taux % de germination *B. bassiana*.

H T °C	Milieu	20°C				25°C				30°C				35°C			
		R1	R2	R3	M±ET	R1	R2	R3	M±ET	R1	R2	R3	M±ET	R1	R2	R3	M±ET
24 H	SBRD	50	80	65	65±15	68	80	100	82,67± 16,16	90	20	100	70± 43,59	0	10	12	7,33± 6,43
	MALT	30	40	20	30±10	70	40	100	70±30	40	20	0	20± 20	0	0	11	3,67± 6,35
	PDA	50	60	100	70±24,46	38	30	40	36±5,29	0	15	20	11,67± 10,41	9	0	0	3±5,2
48 H	SBRD	100	100	100	100±0	100	100	100	100±0	100	100	100	100±0	35	30	29	31,33± 3,21
	MALT	100	100	100	100±0	100	100	100	100±0	60	85	100	81,67± 20,21	10	0	15	8,33± 7,64
	PDA	100	100	100	100±0	100	100	100	100±0	48	45	100	64,33± 30,92	20	11	45	25,33± 17,61
72 H	SBRD									100	100	100	100±0	100	100	100	100±0
	MALT									100	100	100	100±0	100	100	100	100±0
	PDA									100	100	100	100±0	100	100	100	100±0

Tableau n°8 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents

par le test de Tukey (HSD) concernant le taux de germination de *B. bassiana*

Modalités	Moyenne	Regroupements		
72H	100,000	A		
48H	75,917		B	
24H	39,111			C

Tableau n°9 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey(HSD)

Modalités	Moyenne	Regroupements		
25°C	81,444	A		
20°C	77,500	A		
30°C	71,963	A		
35°C	42,111			B

Tableau n°10 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey(HSD)

Modalités	Moyenne	Regroupements		
SBRD	75,633	A		
MALT	61,367			B
PDA	61,033			B

Tableau n°5 : Effet de la température et des milieux de culture sur le taux % de germination de *M. anisopliae*

H	T°C	20°C				25°C				30°C				35°C			
	Milieu	R1	R2	R3	M												
24 H	SBRD	0	20	25	15±13,23	80	75	95	83,33±10,04	50	20	100	56,67±40,41	100	100	95	98,33±2,88
	MAL T	0	20	15	11,67±10,41	75	0	80	51,67±43,8	25	30	90	48,33±36,17	100	55	65	73,33±23,26
	PDA	15	10	0	8,333±7,63	65	55	20	46,67±23,6	45	50	70	55±13,23	100	95	90	95±5
48 H	SBRD	0	80	35	38,33±40,1	100	100	100	100±0	100	100	100	100±0	100	100	100	100±0
	MAL T	20	30	100	50,00±43,59	100	100	100	100±0	100	100	100	100±0	100	100	100	100±0
	PDA	70	85	100	85±15	100	100	100	100±0	100	100	100	100±0	100	100	100	100±0
72 H	SBRD	100	100	100	100±0												
	MAL T	30	45	100	58,33±36,86												
	PDA	80	95	100	91,67±10,41												
96 H	SBRD	100	100	100	100±0												

MAL	10	10	100	100±0												
T	0	0														
PD	10	10	100	100±0												
A	0	0														

Tableau n°11 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey(HSD) concernant le taux de germination de *M. anisopliae*

Modalités	Moyenne	Regroupements			
96H	100,000	A			
48H	84,333	A			
72H	80,952	A			
24H	55,667				B

Tableau n°12 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey(HSD)

Modalités	Moyenne	Regroupements			
35°C	94,815	A			
25°C	78,611	A	B		
30°C	72,778		B		
20°C	47,778				C

Tableau n°13 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey(HSD)

Modalités	Moyenne	Regroupements
SBRD	79,167	A
PDA	78,167	A
MALT	69,333	A

Tableau n°18 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD) concernant la croissance mycélienne de *B. bassiana*

Modalités	Moyenne	Regroupements						
	7,867	A						
	7,422	A	B					
	6,717	A	B	C				
	6,511	A	B	C	D			
	6,378		B	C	D			
	6,344		B	C	D			
	5,792			C	D			
	5,333				D			
	4,025					E		
	3,072						F	
	1,917							G

	1,211								G	H
	0,878									H

Tableau n°19 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey(HSD)

Modalités	Moyenne	Regroupements			
20°C	5,047	A			
25°C	4,516		B		
30°C	4,514		B		
35°C	3,271				C

Tableau n°20 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey(HSD)

Modalités	Moyenne	Regroupements	
PDA	4,518	A	
MALT	4,141		B
SBRD	3,993		B

Tableau n°21 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD) concernant la croissance mycélienne de *M. anisopliae*

Modalités	Moyenne	Regroupements						
15j	8,400	A						
14j	7,900	A	B					
11j	7,272	A	B	C				
13j	7,244	A	B	C				
10j	6,894	A	B	C				
8j	6,778		B	C				
12j	6,744		B	C				
9j	6,726		B	C				
7j	6,189			C				
6j	5,161				D			
5j	3,756					E		
4j	2,594						F	
3j	2,053						F	G
2j	1,214							G

Tableau n°22 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey(HSD)

Modalités	Moyenne	Regroupements
30°C	4,993	A
35°C	4,919	A
25°C	4,883	A
20°C	4,739	A

Tableau n°23 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey(HSD)

Modalités	Moyenne	Regroupements		
PDA	5,587	A		
SBRD	4,949		B	
MALT	4,062			C

Tableau n°25 : Variation pondérale en milligrammes de *B. bassiana* à différentes températures et différents milieux de culture.

T°C	20°C				25°C				30°C				35°C			
Milieu	R1	R2	R3	M±ET	R1	R2	R3	M±ET	R1	R2	R3	M±ET	R1	R2	R3	M±ET
SBRD	91,1	231,2	137,8	153,37± 71,33	1550	2790	3630	2656,7± 1046,4	256	268	329	284,33± 39,14	500	240	120	286,67± 194,25
MALT	195,5	186,6	135,7	172,6± 32,26	100	2790	3330	2073,3± 1730,2	350	300	281	310,33± 35,64	470	568	890	642,67± 219,73
PDA	40	43,5	45	42,83± 2,56	5550	6040	5070	5553,3± 485,01	54	47	97	66± 27,07	160	145,5	157	154,17± 7,65

Tableau n°29 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD) concernant la croissance pondérale de *B. bassiana*

Modalités	Moyenne	Regroupements	
25°C	459,000	A	
20°C	148,156		B
30°C	68,222		B
35°C	51,778		B

Tableau n°30 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey(HSD)

Modalités	Moyenne	Regroupements
PDA	227,150	A
SABOURAUD	180,342	A
MALT	137,875	A

Tableau n°31 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey(HSD)

Modalités	Moyenne	Regroupements		
Température-25°C*Milieu-PDA	640,000	A		
Température-25°C*Milieu-SABOURAUD	442,667	A	B	
Température-25°C*Milieu-MALT	294,333		B	C
Température-20°C*Milieu-PDA	172,600		B	C
Température-20°C*Milieu-SABOURAUD	153,367		B	C
Température-20°C*Milieu-MALT	118,500		B	C
Température-30°C*Milieu-SABOURAUD	82,667			C
Température-30°C*Milieu-MALT	76,000			C
Température-35°C*Milieu-MALT	62,667			C
Température-35°C*Milieu-PDA	50,000			C
Température-30°C*Milieu-PDA	46,000			C
Température-35°C*Milieu-SABOURAUD	42,667			C

Tableau n° 27: Variation pondérale en milligrammes de *M. anisopliae* à différentes températures et différents milieux de culture.

T°C	20°C				25°C				30°C				35°C			
Milieu	R1	R2	R3	M±ET	R1	R2	R3	M±ET	R1	R2	R3	M±ET	R1	R2	R3	M±ET
SBRD	107,9	83,5	56,6	82,67± 25,66	7670	4450	1160	4426,7± 3255,1	80	78	90	82,67± 6,42	32	74	22	42,67± 25,59
MALT	136,1	104,4	115	118,5± 16,13	3770	3310	1750	2943,3± 1058,7	65	43	12	76± 39,66	55	70	63	62,67± 7,50
PDA	53,3	54,5	38,5	62,6± 15,08	5520	5450	8230	6400± 1585,2	36	38	64	46± 15,62	30	80	40	50± 26,47

Tableau n°33 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD) concernant la croissance pondérale de *M. anisopliae*

Modalités	Moyenne	Regroupements		
35°C	361,167	A		
25°C	352,778	A		
30°C	220,222		B	
20°C	58,089			C

Tableau n°34 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD)

Modalités	Moyenne	Regroupements	
MALT	309,775	A	
SABOURAUD	229,833	A	B
PDA	204,583		B

Tableau n°35 : Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD)

Modalités	Moyenne	Regroupements		
Température-35°C*Milieu-MALT	642,667	A		
Température-25°C*Milieu-PDA	555,333	A	B	
Température-30°C*Milieu-MALT	310,333		B	C
Température-35°C*Milieu-SABOURAUD	286,667		B	C
Température-30°C*Milieu-SABOURAUD	284,333		B	C
Température-25°C*Milieu-SABOURAUD	265,667		B	C
Température-25°C*Milieu-MALT	237,333			C
Température-35°C*Milieu-PDA	154,167			C
Température-20°C*Milieu-SABOURAUD	82,667			C
Température-30°C*Milieu-PDA	66,000			C
Température-20°C*Milieu-MALT	48,767			C
Température-20°C*Milieu-PDA	42,833			C

Tableau n° 37 : % de mortalité des L5 et des Imagos de *S. gregaria* après traitement au *B. bassiana* à la dose D1: $1,46 \times 10^7$ sp/ml

Stade	Temps	1j	2j	3j	4j	5j	6j
L5	Témoin	0	0	0	0	0	0
	R1	20	20	60	60	70	100
	R2	20	40	40	40	100	100
	R3	20	30	50	50	100	100
	M	20	30	50	50	90	100
	ET	5	0,75	10	10	17,3	0

Imagos	Témoin	0	0	0	0	0	0
	R1	0	40	70	70	90	100
	R2	0	30	80	80	100	100
	R3	0	50	70	70	90	100
	M	0	40	73,33	73,33	93,33	100
	ET	0	10	5,8	5,8	5,8	0

Tableau n° 38: % de mortalité des L5 et imagos de *S. gregaria* après traitement au *B. bassiana* à la D2 : $1,46 \times 10^6$ sp/ml.

Stade	Temps	1j	2j	3j	4j	5j	6j	7j
L5	Témoin	0	0	0	0	0	0	0
	R1	0	10	60	80	80	80	100
	R2	0	20	70	70	100	100	100
	R3	0	30	50	90	90	90	100
	M	0	20	60	80	90	90	100
	ET	0	10	10	10,0	10,0	10,0	0
Imagos	Témoin	0	0	0	0	0	0	0
	R1	0	0	40	60	90	100	100
	R2	0	0	50	90	80	100	100
	R3	0	0	60	70	70	80	100
	M	0	0	50	73,33	80,00	93,33	100
	ET	0	0	10,0	15,3	10,0	11,5	0,0

Tableau 39 : % de mortalité des L5 et imagos de *S. gregaria* après traitement au *B. bassiana* à la D 3 : $1,46 \times 10^5$ sp/ml.

Stade	Temps	1j	2j	3j	4j	5j	6j	7j	8j	9j	10j
L5	Témoin	0	0	0	0	0	0	0	0		
	R1	0	0	10	60	50	60	80	100		
	R2	0	0	10	40	40	60	50	100		
	R3	0	0	20	20	40	50	70	100		
	M	0	0	13,33	40	43,33	56,67	66,67	100		
	ET	0	0	5,77	20	5,77	5,77	15,28	0		
Imagos	Témoin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R1	0	0	0	0	30	60	70	90	100	100
	R2	0	0	0	0	30	50	70	70	80	100
	R3	0	0	0	0	40	80	70	80	90	100
	M	0	0	0	0	33,33	63,33	70	80	90	100
	ET	0	0	0	0	5,8	15,3	0	10	10	0

Tableau n°40: Pourcentage de mortalité des L5 et des Imagos de *S. gregaria* traités au *M. anisopliae* à la D1 : $1,46 \times 10^7$ sp/ml.

Stade	Temps	1j	2j	3j	4j	5j	6j	7j	8j	9j	10j
L5	Témoin	0	0	0	0	0	0	0	0		
	R1	0	10	20	30	40	80	100	100		
	R2	0	10	30	30	60	60	70	100		
	R3	0	20	30	30	20	50	70	100		
	M	0	13,33	26,67	30	40	63,33	80	100		
	ET	0	5,8	5,8	0,0	20,0	15,3	17,3	0,0		
Imagos	Témoin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R1	0	0	10	10	20	40	40	70	100	100
	R2	0	0	20	20	10	40	50	80	100	100
	R3	0	0	0	10	31	30	60	80	80	100
	M	0	0	10	13,33	20,33	36,67	50	76,67	90	100
	ET	0	0	10	5,8	10,5	5,8	10	5,8	11,5	0

Tableau n°41 : Pourcentage de mortalité des L5 et des imagos de *S. gregaria* témoins et traités au *M. anisopliae* à la D2 : $1,46 \times 10^6$ sp/ml.

Stade	Temps	1j	2j	3j	4j	5j	6j	7j	8j	9j	10j
L5	Témoin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
	R1	0	0	0	40	40	50	100	100	100	
	R2	0	0	0	20	60	70	60	90	100	
	R3	0	0	0	30	30	60	70	80	100	
	M	0	0	0	30	43,33	60	76,67	90	100	
	ET	0	0	0	10	15,3	10,0	20,8	10	0	
Imagos	Témoin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
	R1	0	0	0	10	20	70	90	90	100	100
	R2	0	0	0	0	10	50	70	80	80	100
	R3	0	0	0	20	30	60	80	90	90	100
	M	0	0	0	10	20	60	80	86,67	90	100
	ET	0	0	0	10	10	10	10	5,8	10	0

Tableau n°42 : Pourcentage de mortalité des L5 et des imagos de *S. gregaria* témoins et traités au *M. anisopliae* à la D3 : $1,46 \times 10^5$ sp/ml.

Stade	Temps	1j	2j	3j	4j	5j	6j	7j	8j	9j	10j	11j	12j
L5	Témoin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
	R1	0	0	0	20	10	10	10	50	100	100		
	R2	0	0	0	10	20	20	20	30	80	100		
	R3	0	0	0	10	30	30	30	40	90	100		
	M	0	0	0	13,33	20	20	20	40	90	100		
	ET	0	0	0	5,8	10	10	10	10	10	0		
Imagos	Témoin	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		0
	R1	0	0	0	0	1	10	10	30	50	90	90	100
	R2	0	0	0	0	10	40	40	50	60	100	100	100
	R3	0	0	0	0	10	40	40	40	40	80	80	100
	M	0	0	0	0	7	30	30	40	50	90	90	100
	ET	0	0	0	0	5,2	17,3	17,3	10	10	10	10	0

Tableau n°45 : Effet de *B. bassiana* vis-à-vis des L5 et imagos de *S. gregaria*

Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test

Modalités	Moyenne	Regroupements			
J10	75,000	A			
J9	67,500	A	B		
J8	67,500	A	B		
J7	63,125	A	B		
J6	62,917	A	B		
J5	53,750	A	B		
J4	39,583		B	C	
J3	30,833			C	
J2	11,250				D
J1	2,500				D

Tableau n°46 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents :

Modalités	Moyenne	Regroupements		
D1	60,000	A		
D2	59,762	A		
D3	42,037		B	
Témoin	0,000			C

Tableau n°47 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents

Modalités	Moyenne	Regroupements
Imagos	39,565	A
L5	39,286	A

Tableau n°48 : Effet de *M. anisopliae* vis-à-vis des L5 et imagos de *S. gregaria* Classement et regroupement des groupes non significativement différents par le test de Tukey (HSD)

Modalités	Moyenne	Regroupements				
J12	75,000	A				
J10	73,125	A				
J11	67,500	A	B			
J9	63,500	A	B			
J8	54,167	A	B			
J7	42,083	A	B			
J6	33,750		B	C		
J5	18,833			C	D	
J4	12,083				D	E
J3	4,583				D	E
J2	1,667				D	E
J1	0,000					E

Tableau n°49: Classement et regroupements des groupes non significativement différents

Modalités	Moyenne	Regroupements		
D2	44,561	A		
D1	41,870	A	B	
D3	33,652		B	
Eau	0,000			C

Tableau n°50 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents

Modalités	Moyenne	Regroupements
Imagos	30,094	A
L5	29,352	A

Tableau n° 66 - Evolution du poids sec en mg de la cuticule des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées par la DL₅₀ de *B. bassiana* et de *M. anisopliae*.

Heures		Témoin	<i>B. bassiana</i>	<i>M. anisopliae</i>
24H	R1	18,65	16,95	12,36
	R2	17,95	15,36	11,54
	R3	18,84	16,45	12,95
	R4	17,5	15,4	12,54
	R5	17,56	16,4	11,85
	R6	20,4	16,94	12,44
	M	18,48	16,25	12,28
	ET	1,1	0,7	0,5
72H	R1	39,25	22,56	18,08
	R2	38,58	21,96	17,96
	R3	39,45	22,59	18,2
	R4	40	22	18,3
	R5	38,95	21,48	17,95
	R6	38,31	23,63	17,99
	M	39,09	22,37	18,08
	ET	0,6	0,7	0,1
144H	R1	48,52	33,5	24,42
	R2	49	32,4	23,92
	R3	48,95	32,61	24,08
	R4	48,6	33,54	23,56
	R5	49,54	32,84	24,62
	R6	48,31	32,15	24,12
	M	48,82	32,84	24,12
	ET	0,4	0,6	0,4

Tableau n°68 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents

Modalités	Moyenne	Regroupements		
144H	35,260	A		
72H	26,513		B	
24H	15,671			C

Tableau n°69 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents

Modalités	Moyenne	Regroupements		
Témoin	35,464	A		
<i>B. bassiana</i>	23,820		B	
<i>M. anisopliae</i>	18,160			C

Tableau n°70 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents

Modalités	Moyenne	Regroupements							
heures-144H*individus-Témoin	48,820	A							
heures-72H*individus-Témoin	39,090		B						
heures-144H*individus- <i>B.bassiana</i>	32,840			C					
heures-144H*individus- <i>M.anisopliae</i>	24,120				D				
heures-72H*individus- <i>B.bassiana</i>	22,370					E			
heures-24H*individus-Témoin	18,483						F		
heures-72H*individus- <i>M.anisopliae</i>	18,080						F		
heures-24H*individus- <i>B.bassiana</i>	16,250							G	
heures-24H*individus- <i>M.anisopliae</i>	12,280								H

Tableau n° 72 : Quantités de chitine cuticulaire des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées par la DL₅₀ de *B. bassiana* et de *M. anisopliae*.

Heures		Témoin	<i>B. bassiana</i>	<i>M.anisopliae</i>
24H	R1	2,5	2,4	1,48
	R2	2,1	2,8	1,23
	R3	1,9	2,6	1,54
	R4	2,3	1,67	1,56
	R5	1,8	2,24	0,9
	R6	2,5	1,2	1,81
	M	2,19	2,16	1,42
	ET	0,30	0,60	0,32
72H	R1	6,61	3,84	2,7
	R2	5,98	2,96	2,08
	R3	6,3	3,21	3,8
	R4	5,32	3,5	3,97
	R5	6,8	2,98	3,92
	R6	6,73	3,67	3,83
	M	6,29	3,36	3,38
	ET	0,56	0,37	0,80
144H	R1	9,9	9,27	9,23
	R2	8,56	8,99	8,96
	R3	9,1	9,52	9,15
	R4	9,5	8,95	9,45
	R5	8,8	9,5	9,72
	R6	9,7	8,85	8,15
	M	9,26	9,18	9,11
	ET	0,53	0,29	0,54

Tableau n°74 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents

Modalités	Moyenne	Regroupements		
144H	9,183	A		
72H	4,344		B	
24H	1,918			C

Tableau n°74 : Classement et regroupements des Groupes non significativement différents

Modalités	Moyenne	Regroupements	
Témoin	5,911	A	
<i>B.bassiana</i>	4,897		B
<i>M.anisopliae</i>	4,638		B

Tableau n°76 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents

Modalités	Moyenne	Regroupements			
heures-144H*individus-Témoin	9,260	A			
heures-144H*individus- <i>B.bassiana</i>	9,180	A			
heures-144H*individus- <i>M.anisopliae</i>	9,110	A			
heures-72H*individus-Témoin	6,290		B		
heures-72H*individus- <i>M.anisopliae</i>	3,383			C	
heures-72H*individus- <i>B.bassiana</i>	3,360			C	
heures-24H*individus-Témoin	2,183				D
heures-24H*individus- <i>B.bassiana</i>	2,152				D
heures-24H*individus- <i>M.anisopliae</i>	1,420				D

Tableau n°78 : Effet de *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur la quantité de protéines cuticulaires

Heures		Témoin	<i>B.bassiana</i>	<i>M.anisopliae</i>
24H	R1	16,15	14,55	10,88
	R2	15,85	12,56	10,31
	R3	16,94	13,85	11,41
	R4	15,2	13,73	10,98
	R5	15,76	14,16	10,95
	R6	17,9	15,74	10,63
	M	16,29	14,09	10,86
	ET	0,97	1,05	0,37
72H	R1	32,64	18,72	15,38
	R2	32,6	19	15,88
	R3	33,15	19,38	14,4
	R4	34,68	18,5	14,33
	R5	32,15	18,5	14,03
	R6	31,58	19,96	14,16

	M	32,8	19,01	14,70
	ET	1,06	0,57	0,75
144H	R1	38,62	24,23	15,19
	R2	40,44	23,41	14,96
	R3	39,85	23,09	14,93
	R4	39,1	24,59	14,11
	R5	40,74	23,34	14,9
	R6	38,61	23,3	15,97
	M	39,56	23,66	15,01
	ET	0,92	0,60	0,60

Tableau n°80 : Classement et regroupements des groupes non significativement différent

Modalités	Moyenne	Regroupements		
144H	26,077	A		
72H	22,169		B	
24H	13,753			C

Tableau n°81 : Classement et regroupements des groupes non significativement différents

Modalités	Moyenne	Regroupements		
Témoin	29,553	A		
<i>B.bassiana</i>	18,923		B	
<i>M.anisopliae</i>	13,522			C

Tableau n°82 : Classement et regroupements des groupes non significativement différent

Modalités	Moyenne	Regroupements						
heures-144H*individus-Témoin	39,560	A						
heures-72H*individus-Témoin	32,800		B					
heures-144H*individus- <i>B.bassiana</i>	23,660			C				
heures-72H*individus- <i>B.bassiana</i>	19,010				D			
heures-24H*individus-Témoin	16,300					E		
heures-144H*individus- <i>M.anisopliae</i>	15,010					E	F	
heures-72H*individus- <i>M.anisopliae</i>	14,697						F	
heures-24H*individus- <i>B.bassiana</i>	14,098						F	
heures-24H*individus- <i>M.anisopliae</i>	10,860							G

ANNEXE III

Tableau n° 84: Gain de poids des rats témoins et traités au *B. bassiana*

IND	Témoins			D1			D2		
	1 ^{er} jour	20 ^{ème} jour	GP	1 ^{er} jour	20 ^{ème} jour	GP	1 ^{er} jour	20 ^{ème} jour	GP
1	200,2	209,45	9,25	178,5	188,5	10	193,4	202,65	9,25
2	212,1	222,1	10	169,7	181,7	12	195,8	206,25	10,45
3	149,6	164,6	15	205,4	216,9	11,5	200,7	210,7	10
4	163,5	173,75	10,25	180,12	189,37	9,25	189,6	201,1	11,5
5	170,74	180,19	9,45	171,8	184,05	12,25	201,7	213,7	12
6	187,21	197,21	10	156,5	165,5	9	188,7	200,7	12
7	161,11	171,56	10,45	169,5	179,5	10,5	194,7	204,95	10,25
8	185,84	195,09	9,25	189	198	9	174,6	183,6	9
9	169,56	179,01	9,45	210,67	221,67	11	204,7	215,2	10,5
10	171,2	181,2	10	197,4	209,4	12	175,6	184,6	9
M			10,31			10,65	188,80		10,40
ET			1,70			1,29			1,14

Tableau n° 86: Gain de poids des rats témoins et traités au *M. anisopliae*

IND	Témoins			D1			D2		
	1 ^{er} jour	20 ^{ème} jour	GP	1 ^{er} jour	20 ^{ème} jour	GP	1 ^{er} jour	20 ^{ème} jour	GP
1	213,6	228,6	15	187,5	196,75	9,25	195,7	205,7	10
2	198,7	208,7	10	198,6	209,85	11,25	197,8	209,3	11,5
3	185	196	11	176,7	186,7	10	200,5	209,75	9,25
4	202,6	212,6	10	188,6	200,6	12	204,7	214,15	9,45
5	184,42	196,42	12	203,6	214,85	11,25	199,7	211,2	11,5
6	178	190	12	179,6	191,1	11,5	188,7	198,95	10,25
7	209,6	219,85	10,25	186,8	197,3	10,5	187,6	201,1	13,5
8	191,5	200,75	9,25	210,7	223,2	12,5	201	213	12
9	195,7	206,7	11	212	225	13	206,7	219,45	12,75
10	189,6	200,1	10,5	198,7	209,7	11	198,6	209,85	11,25
M			11,10			11,23	200,00		11,15
ET			1,63			1,13	195,60		1,40

Influence de certains paramètres sur la viabilité et le développement de deux champignons entomopathogènes *Beauveria bassiana* (Vuil., 1912) et *Metarhizium anisopliae* (Metch., 1883) (Hyphomycètes, Deuteromycotina). Effet sur un aspect physiologique du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae).

Résumé : Notre travail est basé sur l'étude de l'effet de deux champignons entomopathogènes *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae* var *acridium* sur quelques aspect biologiques et physiologiques du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*. Dans un premier volet nous avons d'abord étudié la caractérisation des deux souches en testant différents paramètres de viabilité à savoir températures et milieux de culture sur la rapidité de l'évolution de ces hyphomycètes. Dans un second volet nous avons approché l'aspect lutte en étudiant l'activité acridicide des deux cryptogames sur les individus de *S. gregaria* et déterminé les doses et les temps létaux. Une étude histopathologique a été réalisée en observant les perturbations engendrer notamment au niveau de la cuticule et du tube digestif des L5 de cet acridien suite à leur inoculation par les deux souches. A travers le troisième volet nous avons fait une approche sur un aspect de biosécurité des deux entomopathogènes en étudiant leur effet sur un mammifère proche de l'homme le rat, et cela par rapport à la toxicité et l'histopathologie de certains organes après inoculation des deux souches fongiques dont aucune lésion n'a été observée.

Motsclés : *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Schistocerca gregaria*, caractérisation, mortalité, histologie, cuticule, tube digestif

Influence of certain parameters on the viability and development of two entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* (Vuil., 1912) and *Metarhizium anisopliae* (Metch., 1883) (Hyphomycetes, Deuteromycotina). Effect on physiological aspects of locust *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae).

Summary: Our work is based on the study of the effect of two entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var *acridium* on some biological and physiological aspect of the locust *Schistocerca gregaria*. In the first part we first studied the characterization of two strains by testing different parameters viability namely temperature and culture media on the rapid evolution of the Hyphomycetes. In a second part we approached the fight aspect acridicide studying the activity of both fungi on individuals *S.gregaria* and determined lethal dose and time. A histopathological study was conducted by observing the particular cause disturbances at the cuticle and the digestive tract of L5 this locust after their inoculation with both strains. Through the third part we approached an aspect of biosecurity two entomopathogenic by studying their effect on a man near the rat mammal, and that in relation to toxicity and histopathology of some organs after inoculation of two fungal strains, then no lesions were observed.

Keywords: *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae*, *Schistocerca gregaria*, characterization, mortality, histology, cuticle, digestif svstem.

Metarhizium anisopliae و *Beauveria bassiana*

تأثير بعض المعلمات على البقاء وتطوير اثنين من الفطريات الممرضة للحشرات

تأثير على النواحي الفيزيولوجية على الجراد الصحراوي (*S.gregaria* (Orthoptera, Acrididae)

الملخص

على بعض *Beauveria bassiana* *Metarhizium anisopliae* var *acridium* وبسند عملنا على دراسة تأثير اثنين من الفطريات الممرضة للحشرات/البوفيرية وهي درجة الحرارة وثقافة *viability* جوانب البيولوجية و الفسيولوجية الجراد . في الجزء الأول درسنا الأول توصيف سلالتين عن طريق اختبار معلمات مختلفة وتحديد *S.gregaria* دراسة النشاط كل من الفطريات على الأفراد الإعلام على التطور السريع في الفطريات الخوطية . في الجزء الثاني اقتربنا من الكفاح الجانب هذا الجراد بعد التلقيح التي يعقدونها L5 الجرعة المميتة والوقت. وقد أجريت دراسة الأنسجة من خلال مراقبة سيما سبب الاضطرابات في بشرة و الجهاز الهضمي من مع كل السلالات. من خلال الجزء الثالث تناولنا جانبا من جوانب الأمن الحيوي اثنين الممرضة للحشرات من خلال دراسة تأثيرها على رجل بالقرب من الثدييات الفئران ، و أنه فيما يتعلق السمية و التشریح المرضي من بعض الأجهزة بعد تلقيح سلالتين الفطري

كلمات مفتاح ، الجراد، وتوصيف، وفيات، علم الأنسجة، بشرة، القناة الهضم *Beaveria. Bassiana ; Metarhizium. anisopliae*