

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

Thèse

En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat en Sciences Agronomiques
Spécialité : Protection des Végétaux – Zoophytiatrie
Option : Entomologie appliquée

Sujet

Etude comparative de l'effet de deux entomopathogènes, *Beauveria bassiana* Bals. et *Metarhizium anisopliae* var *acridum* Metch. (Hyphomycètes, Deuteromycotina) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae)

Présenté par : M^{me} MILAT-BISSAAD Fatma Zohra

Devant le jury :

Président	: M. DOUMANDJI S.	Professeur (E.N.S.A. d'El Harrach)
Promoteur	: Mme DOUMANDJI- MITICHE B.	Professeur (E.N.S.A. d'El Harrach)
Examineurs	: M. BOUFERSAOUI A.	Professeur (U.S.T.H.B. de Bab Ezzouar)
	: M ^{me} GUENDOZ-BENRIMA A.	Professeur (U.S.D. de Blida)
	: M ^{me} HALOUANE F.	Maitre de conférences (U.M.B. de Boumerdes)

Soutenue le 11 / 07 /2011

Liste des abréviations

L1: Larve de premier stade.

L2 : Larve de deuxième stade

L3 : Larve de troisième stade

L4 : Larve de quatrième stade

L5 : Larve de cinquième stade

Fig. : Figure.

FAO : Organisation des Nations Unies pour l'Agriculture et l'Alimentation.

LUBILOSA : LUTte BIologique contre les LOcustes et les SAuteriaux.

UBV : Ultra Bas Volume.

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

D : Dose.

DL : Dose létale.

S : Solution mère.

I.C. : Indice de consommation.

E.C.I. : Efficacité de conversion de la nourriture ingérée.

E.C.D. : Efficacité de conversion de la nourriture digérée.

C.U.D. : Coefficient d'utilisation digestive.

I.Cr. : Indice de croissance.

R : Répétition.

M : Moyenne.

Et : Ecart type.

P : Probabilité.

MC% : Pourcentage de mortalité corrigée.

B.b : *Beauveria bassiana*

M.a : *Metarhizium anisopliae*

T : Témoin

j : Jour

PM : Poids moléculaire.

R_f : Mobilité relative.

P_m : Protéine marqueur.

Liste des tableaux

	Page
Tableau 1 : Préparation des solutions de la gamme étalon et les échantillons	43
Tableau 2 : Les principaux constituants des gels de polyacrylamide en Tris SDS pour l'électrophorèse en conditions dénaturantes	45
Tableau 3 : Pourcentage des éclosions journalières des œufs de <i>S. gregaria</i> témoins et traités au <i>B. bassiana</i> par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.....	Annexe
Tableau 4 : Pourcentage des éclosions journalières des œufs de <i>S. gregaria</i> témoins et traités au <i>M. anisopliae</i> par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.....	Annexe
Tableau 5 : Effet de <i>B.bassiana</i> sur l'éclosion des œufs de <i>S.gregaria</i> par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.....	57
Tableau 6 : Effet de <i>M. anisopliae</i> sur l'éclosion des œufs de <i>S.gregaria</i> traités par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.....	57
Tableau 7 : Pourcentage des éclosions journalières des œufs de <i>S. gregaria</i> témoins et traités au <i>B.bassiana</i> le jour même de la ponte par pulvérisation de l'inoculum sur les œufs directement.....	Annexe
Tableau 8 : Pourcentage des éclosions journalières des œufs de <i>S. gregaria</i> témoins et traités au <i>M. anisopliae</i> le jour même de la ponte par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.....	Annexe
Tableau 9 : Effet de <i>B. bassiana</i> sur l'éclosion des œufs de <i>S.gregaria</i> par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs	58
Tableau 10 : Effet de <i>M. anisopliae</i> sur l'éclosion des œufs de <i>S.gregaria</i> par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs	59
Tableau 11 : Pourcentages des éclosions journalières des œufs de <i>S. gregaria</i> témoins et traités au <i>B. bassiana</i> le 8 ^{ème} jour après la ponte par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.....	Annexe
Tableau 12 : Pourcentage des éclosions journalières des œufs de <i>S. gregaria</i> témoins et traités au <i>M.anisopliae</i> le 8 ^{ème} jour de la ponte par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.....	Annexe
Tableau 13 : Effet de <i>B. bassiana</i> sur l'éclosion des œufs de <i>S.gregaria</i> par pulvérisation de l'inoculum sur les œufs directement le 8 ^{ème} jour de leur ponte.....	60

Tableau 14 : Effet de <i>M .anisopliae</i> sur l'éclosion des œufs de <i>S.gregaria</i> par pulvérisation de l'inoculum sur les œufs directement le 8 ^{ème} jour de leur ponte.....	60
Tableau 15 : Pourcentage de mortalité journalière des 5 stades larvaires et des imagos de <i>S.gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i> à la dose D3 : 32 x10 ⁶ sp/ml.....	Annexe
Tableau 16 : Pourcentage de mortalité journalière des 5 stades larvaires et des imagos de <i>S.gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i> à la dose D2 : 16 x10 ⁶ sp/ml.....	Annexe
Tableau 17 : Pourcentage de mortalité journalière des 5 stades larvaires et des imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i> à la dose D1 : 8 x10 ⁶ sp/ml.....	Annexe
Tableau 18 : Effet de <i>B.bassiana</i> sur la mortalité des 5 stades larvaires et des imagos de <i>S.gregaria</i>	64
Tableau 19 : Pourcentage de mortalité journalière des 5 stades larvaires et des imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>M. anisopliae</i> à la dose D3 : 32 x10 ⁶ sp/ml.....	Annexe
Tableau 20 : Pourcentage de mortalité journalière des 5 stades larvaires et des imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>M. anisopliae</i> à la dose D2 : 16 x10 ⁶ sp/ml	Annexe
Tableau 21 : Pourcentage de mortalité journalière des 5 stades larvaires et des imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>M. anisopliae</i> à la dose D1 : 8 x10 ⁶ sp/ml	Annexe
Tableau 22 : Effet de <i>M.anisopliae</i> sur la mortalité des 5 stades larvaires et des imagos le stade imaginal de <i>S.gregaria</i>	67
Tableau 23 : Probits des pourcentages de mortalité et le logarithme décimal du temps pour les 5 stades larvaires et des imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>B.bassiana</i> à la dose (D3:32 x10 ⁶ sp/ml).....	68
Tableau 24 : Probits des pourcentages de mortalité et le logarithme décimal du temps pour les 5 stades larvaires de <i>S.gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i> à la dose (D2:16x10 ⁶ sp/ml).....	68
Tableau 25 : Probits des pourcentages de mortalité et le logarithme décimal du temps pour les 5 stades larvaires de <i>S.gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i> à la dose (D1 :8x10 ⁶ sp/ml).....	69
Tableau 26 : Les équations des droites de régression et les valeurs des coefficients de régression (R) pour chaque stade de <i>S. gregaria</i> traité au <i>B.bassiana</i>	69
Tableau 27 : Les valeurs de la Tl ₅₀ pour les 5 stades larvaires et les imagos de <i>S.gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i> aux doses : D1:8x10 ⁶ sp/ml, D2=16x10 ⁶ sp/ml, D3=32x10 ⁶ sp/ml.....	70
Tableau 28 : Probits des pourcentages de mortalité et le logarithme décimal du temps pour les 5 stades larvaires et les imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>M. anisopliae</i> à la	

dose (D3 : 32×10^6 sp/ml).....	75
Tableau 29 : Probits des pourcentages de mortalité et le logarithme décimal du temps pour les 5 stades larvaires et les imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>M. anisopliae</i> à la dose (D2 : 16×10^6 sp/ml).....	75
Tableau 30 : Probits des pourcentages de mortalité et le logarithme décimal du temps pour les 5 stades larvaires et les imagos de <i>S.gregaria</i> traités au <i>M. anisopliae</i> à la dose (D1= 8×10^6 sp/ml).....	76
Tableau 31 : Les équations des droites de régression et les valeurs des coefficients de régression (R) pour chaque stade de <i>S. gregaria</i> traité au <i>M.anisopliae</i>	80
Tableau 32 : Les valeurs des TL ₅₀ pour les 5 stades larvaires et les imagos de <i>S.gregaria</i> traités au <i>M.anisopliae</i> aux doses : D1 : 8×10^6 sp /ml, D2 : 16×10^6 sp/ml, D3 : 32×10^6 sp/ml.....	80
Tableau 33 : Probits des pourcentages de mortalité au 5 ^{ème} jour après traitement et le logarithme décimal des doses pour les 5 stades larvaires et les imagos de <i>S.gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i>	81
Tableau 34 : Les équations des droites de régression et les valeurs des coefficients de régression (R) de trois doses pour chaque stade de <i>S. gregaria</i> traité au <i>M.anisopliae</i>	83
Tableau 35 : Valeurs de DL ₅₀ pour les 5 stades larvaires et les adultes de <i>S.gregaria</i> traité au <i>B. bassiana</i>	83
Tableau 36 : Probits des pourcentages de mortalité au 5 ^{ème} jour après traitement et logarithme décimal des doses pour les 5 stades larvaires et les imagos de <i>S. gregaria</i> ...	84
Tableau 37 : Les équations des droites de régression et les valeurs des coefficients de régression (R) de trois doses pour chaque stade de <i>S. gregaria</i> traité au <i>M. anisopliae</i> .	86
Tableau 38 : Valeurs de DL ₅₀ pour les 5 stades larvaires et les imagos de <i>S.gregaria</i> traité au <i>M. anisopliae</i>	86
Tableau 39 : Evolution du poids des larves du 5 ^{ème} stade de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B.bassiana</i> et de <i>M.anisopliae var acridum</i>	Annexe
Tableau 40 : Effet du traitement par <i>B. Bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur l'évolution pondérale des larves L5 de <i>S.gregaria</i>	88
Tableau 41 : Gain du poids (g) chez les larves L5 de <i>S. gregaria</i> traitées par la DL50 de <i>B.bassiana</i> et de <i>M.anisopliae var acridum</i>	Annexe
Tableau 42 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur le gain de poids	

des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	89
Tableau 43 : Durée moyenne de développement en jour des larves L5 de <i>S.gregaria</i> traitées aux <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	Annexe
Tableau 44 : Effet du traitement par les deux champignons sur la durée de développement des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	90
Tableau 45 : Comportement alimentaire chez les L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B.bassiana</i> et de <i>M.anisopliae var acridum</i>	Annexe
Tableau 46 : Effet du traitement par les deux champignons sur la consommation journalière des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	91
Tableau 47 : Effet du traitement par les deux champignons sur la consommation journalière des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	92
Tableau 48 : Evaluation des indices nutritionnels E.C.I., C.U.D. et E.C.D. chez les L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B.bassiana</i> et de <i>M.anisopliae var acridum</i>	Annexe
Tableau 49 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur le coefficient d'utilisation digestif (C.U.D.%)	94
Tableau 50 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur l'efficacité de conversion de la nourriture ingérée par les larves L5 de <i>S. gregaria</i>	95
Tableau 51 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur l'efficacité de conversion de la nourriture ingérée en matière corporelle (E.C.I) des larves L5 de <i>S.gregaria</i>	96
Tableau 52 : Nombre total d'hémocytes chez les L5 de <i>S. gregaria</i> traités par la DL50 de <i>B.bassiana</i> et de <i>M.anisopliae var acridum</i>	Annexe
Tableau 53 : Nombre et taux de prohéocytes et de plasmatocytes chez les imagos de <i>S.gregaria</i> traités par la DL50 de <i>B.bassiana</i> et de <i>M.anisopliae var acridum</i>	Annexe
Tableau 54 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> sur l'hémogramme des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	99
Tableau 55 : Concentrations de BSA en µg/µl et les absorbances correspondantes.....	Annexe
Tableau 56 : Taux de protéines hémolympatiques enregistrées chez les L5 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B.bassiana</i> et de <i>M.anisopliae var acridum</i>	Annexe
Tableau 57 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> sur la concentration des protéines hémolympatiques des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	101

Tableau 58 : Effet de traitement par <i>M.anisopliae</i> sur la concentration des protéines hémolymphatiques des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	101
Tableau 59 : Poids moléculaires (PM) et les mobilités relatives (Rf) des marqueurs Promega	Annexe
Tableau 60 : Poids moléculaires (PM) et les mobilités relatives (Rf) des protéines hémolymphatiques des larves L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B.bassiana</i> aux 3 ^{ème} , 6 ^{ème} et 9 ^{ème} jour	105
Tableau 61 : Poids moléculaires (PM) et les mobilités relatives (Rf) des protéines hémolymphatiques des larves L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>M. anisopliae</i> aux 3 ^{ème} , 6 ^{ème} et 9 ^{ème} jour	106
Tableau 62 : Evolution du poids sec en mg de la cuticule abdominale des Larves L5 mâles et femelles de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B.bassiana</i> (<i>B.b</i>) et de <i>M.anisopliae var acridum</i> (<i>M.a</i>)	Annexe
Tableau 63 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur l'évolution du poids sec de la cuticule des larves L5 femelles de <i>S. gregaria</i>	108
Tableau 64 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur l'évolution du poids sec de la cuticule des larves L5 mâles de <i>S. gregaria</i>	109
Tableau 65 : Evolution de la quantité en mg de chitine cuticulaire dans L'abdomen des L5 femelles et mâles de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B.bassiana</i> (<i>B.b</i>) et de <i>M.anisopliae var acridum</i> (<i>M.a</i>)	Annexe
Tableau 66 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur la quantité de la chitine de la cuticule des larves L5 femelles de <i>S. gregaria</i>	111
Tableau 67 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur la quantité de la chitine de la cuticule des larves L5 mâles de <i>S. gregaria</i>	111
Tableau 68 : Taux (%) de chitine cuticulaire dans l'abdomen des larves L5 femelles et mâles de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B.bassiana</i> (<i>B.b</i>) et de <i>M.anisopliae var acridum</i> (<i>M.a</i>)	Annexe
Tableau 69 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> sur le taux de la chitine de la cuticule des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	113
Tableau 70 : Effet du traitement par <i>M. anisopliae</i> sur le taux de la chitine de la cuticule des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	113
Tableau 71 : Evolution de la quantité en mg des protéines cuticulaires dans l'abdomen des larves L5 femelles et mâles de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B.bassiana</i> (<i>B.b</i>) et de <i>M.anisopliae var acridum</i> (<i>M.a</i>)	Annexe

Tableau 72 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur la quantité des protéines de la cuticule des larves L5 femelles de <i>S. gregaria</i>	116
Tableau 73 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur la quantité des ² protéines de la cuticule des larves L5 mâles de <i>S. gregaria</i>	116
Tableau 74 : Taux (%) des protéines cuticulaires dans l'abdomen des larves L5 femelles et mâles de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B. bassiana</i> (<i>B.b</i>) et de <i>M. anisopliae var acridum</i> (<i>M.a</i>)	Annexe
Tableau 75 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur le taux de protéines cuticulaires des larves L5 femelles de <i>S. gregaria</i>	118
Tableau 76 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur le taux de protéines cuticulaires des larves L5 mâles de <i>S. gregaria</i>	118
Tableau 77 : Evolution de l'épaisseur moyenne de l'épicuticule en (µm) des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae var acridum</i>	Annexe
Tableau 78 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur l'épaisseur de l'épicuticule des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	125
Tableau 79 : Evolution de l'épaisseur moyenne de l'exocuticule en (µm) des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae var acridum</i>	Annexe
Tableau 80 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur l'épaisseur de l'exocuticule des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	127
Tableau 81 : Evolution de l'épaisseur moyenne de l'endocuticule en (µm) des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae var acridum</i>	Annexe
Tableau 82 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur l'épaisseur de l'endocuticule des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	128
Tableau 83 : Evolution de l'épaisseur moyenne de cuticule en (µm) des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par la DL50 de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae var acridum</i>	Annexe
Tableau 84 : Effet du traitement par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur l'épaisseur de cuticule des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	130

Listes des figures

	Page
Fig. 1 : Cycle biologique de <i>Schistocerca gregaria</i> (Forskål, 1775).....	14
Fig. 2 : Aire de répartition de <i>Schistocerca gregaria</i> dans le monde.....	20
Fig. 3 : Hyphes et mycélium de <i>Beauveria bassiana</i> et de <i>Metarhizium anisopliae</i> ...	28
Fig. 4 : Protocole expérimental utilisé dans l'étude de l'effet de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> sur l'éclosion des œufs de <i>S. gregaria</i>	36
Fig. 5 : Les différentes étapes suivies pour la réalisation des coupes histologiques ...	51
Fig.6 : Taux moyen d'éclosion des œufs de <i>S. gregaria</i> témoins et traités aux <i>M.anisopliae</i> et <i>B. bassiana</i> par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.....	56
Fig.7 : Taux moyens d'éclosion des oeufs de <i>S. gregaria</i> témoins et traités au <i>B.bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i> (4×10^6 sp/ml) le même jour de la ponte par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.....	58
Fig.8 : Taux moyen d'éclosion des œufs de <i>S. gregaria</i> traités au <i>B. Bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i> (4×10^6 sp./ml) le 8ème jour après la ponte par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.....	59
Fig. 9 : Symptômes d'infection de <i>S. gregaria</i> par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	61
Fig.10 : Pourcentages de mortalité corrigé journaliers des 5 stades larvaires de <i>S.gregaria</i> traités par <i>B. bassiana</i> à la dose de 32×10^6 spores/ml.....	62
Fig.11 : Pourcentages de mortalité journaliers des différents stades larvaires et le stade imaginal de <i>S.gregaria</i> traités par <i>M. anisopliae</i> à la dose de 16×10^6 spores/ml	63
Fig.12 : Pourcentages de mortalité journaliers des différents stades larvaires et le stade imaginal de <i>S.gregaria</i> traités par <i>B. bassiana</i> à la dose de 8×10^6 spores/ml ...	63
Fig.13 : Pourcentages de mortalité journaliers des différents stades larvaires de <i>S.gregaria</i> traités par <i>M. anisopliae</i> à la dose de 32×10^6 spores/ml.....	65
Fig.14 : Pourcentages de mortalité journaliers des différents stades larvaires de <i>S.gregaria</i> traités par <i>M. anisopliae</i> à la dose de 16×10^6 spores/ml.....	66
Fig.15 : Pourcentages de mortalité journalières des différents stades larvaires et stade imaginale de <i>S. gregaria</i> traités par <i>M. anisopliae</i> à la dose 8×10^6 spores/ml...	66
Fig.16 : Efficacité de <i>M. anisopliae</i> dans le temps vis-à-vis des 5 stades larvaires et le stade imaginal de <i>S. gregaria</i> traités à la dose $D1 = 32 \times 10^6$ spores/ml.....	71

Fig.17 : Efficacité de <i>M. anisopliae</i> dans le temps vis-à-vis des 5 stades larvaires des <i>S. gregaria</i> traités à la dose D2 = 16x10 ⁶ spores/ml.....	72
Fig.18 : Efficacité de <i>M. anisopliae</i> dans le temps vis-à-vis des 5 stades larvaires et des imagos de <i>S. gregaria</i> traités à la dose D3= 8x10 ⁶ spores/ml.....	73
Fig.19 : TL50 pour les 5 stades larvaires et le stade imaginale de <i>S. gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i> aux doses : D1 = 8 x 10 ⁶ spores /ml, D2 = 16 x 10 ⁶ spores / ml, D3 = 32 x 10 ⁶ spores /ml.	74
Fig.20 : Efficacité de <i>M. anisopliae</i> dans le temps vis-à-vis des 5 stades larvaires et des imagos de <i>S. gregaria</i> traités à la dose D2 = 32x10 ⁶ spores/ml.....	77
Fig.21 : Efficacité de <i>M. anisopliae</i> dans le temps vis-à-vis des 5 stades larvaires et des imagos de <i>S. gregaria</i> traités à la dose D2 = 16x10 ⁶ spores/ml.....	78
Fig.22 : Efficacité de <i>M. anisopliae</i> dans le temps vis-à-vis des 5 stades larvaires et des imagos de <i>S. gregaria</i> traités à la dose D1= 8x10 ⁶ spores/ml.....	79
Fig.23 : TL50 pour les 5 stades larvaires et des imagos de <i>S. gregaria</i> traités au <i>M.anisopliae</i> aux doses : D1 = 8x10 ⁶ spores/ml, D2 = 16x10 ⁶ spores/ml, D3 = 32x10 ⁶ spores /ml.....	81
Fig.24 : Analyse de probit sur l'effet de <i>B. bassiana</i> sur les 5 stades larvaires et les imagos (5 ^{ème} jour) de <i>S.gregaria</i>	82
Fig.25 : DL50 pour les 5 stades larvaires et les imagos de <i>S. gregaria</i> traités par 3 doses (D1= 8 x 10 ⁶ spores /ml, D2 = 16 x 10 ⁶ spores /ml, D3 = 32 x 10 ⁶ spores /ml) de <i>B. bassiana</i>	84
Fig.26 : Analyse probit de l'effet de <i>M.anisopliae</i> sur la mortalité des 5 stades larvaires et des imagos de <i>S.gregaria</i>	85
Fig.27 : DL50 pour les 5 stades larvaires de <i>S. gregaria</i> et imaginale traités par 3 doses (D1= 8 x 10 ⁶ spores /ml, D2 = 16 x 10 ⁶ spores /ml, D3 = 32 x 10 ⁶ spores /ml) de <i>M. anisopliae</i>	87
Fig.28 : Evolution du poids des larves du 5 ^{ème} stade de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i> et au <i>B.bassiana</i>	88
Fig.29 : Gain de poids chez les larves L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées aux <i>B.bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	89
Fig.30 : Moyennes journalières de la quantité de matière sèche d'aliment ingéré par les L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traités au <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	91
Fig.31 : Moyennes journalières de la quantité des fécès rejetés par les L5 de <i>S.gregaria</i> témoins et traités au <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	92

Fig.32 : Estimation des moyennes quotidiennes du Coefficient d'Utilisation Digestif (C.U.D.%) chez les L5 témoins et traitées au champignon.....	93
Fig.33 : Estimation des moyennes quotidiennes de l'Efficacité de Conversion de la nourriture Digérée en matière corporelle (E.C.D) chez L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par <i>B.bassiana</i> et <i>M.anisopliae</i>	94
Fig.34 : Estimation des moyennes quotidiennes de l'Efficacité de Conversion de la nourriture Ingérée en matière corporelle (E.C.I) chez L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées par <i>B.bassiana</i> et <i>M.anisopliae</i>	96
Fig.35 : Nombre total d'hémocytes chez les imagos de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et <i>M.anisopliae</i>	97
Fig.36 : Nombre et taux de prohéocytes et de plasmatocytes chez les imagos de <i>S.gregaria</i> traités au <i>B. bassiana</i> et <i>M.anisopliae</i>	98
Fig.37 : Frottis de l'hémolymphe des L5 témoins de <i>S. gregaria</i> après coloration au May GrunWald Giemsa	98
Fig.38 : Frotti de l'hémolymphe des L5 traités de <i>S. gregaria</i> au <i>M.anisopliae</i> après coloration au May GrunWald Giemsa	99
Fig.39 : Courbe de référence exprimant les absorbances à 530 nm en fonction des Concentration de BSA en $\mu\text{g}/\mu\text{l}$	100
Fig.40 : La concentration des protéines hémolympatiques des larves L5 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i>	101
Fig.41 : Profils électrophorétiques des protéines hémolympatiques des larves L5 de <i>S. gregaria</i> traitées au <i>B.bassiana</i> et au <i>M. anisopliae</i> aux 3 ^{ème} , 6 ^{ème} et 9 ^{ème} jour..	102
Fig.42 : Courbe de référence exprimant le logarithme décimal du poids moléculaires (PM) en fonction de la mobilité relative (Rf) des protéines marqueurs..	103
Fig.43 : Evolution du poids sec en mg de la cuticule abdominale des L5 femelles de de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	107
Fig.44 : Evolution du poids sec en mg de la cuticule abdominale des L5 femelles de de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	108
Fig.45 : Evolution de la quantité de chitine en mg de la cuticule abdominale des L5 femelles de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	110
Fig.46 : Evolution de la quantité de chitine en mg de la cuticule abdominale des L5 mâles de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	110
Fig.47 : Evolution du taux de chitine de la cuticule abdominale des L5 femelles de <i>S.</i>	

<i>gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	112
Fig.48: Evolution du taux de chitine de la cuticule abdominale des L5 mâles de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	112
Fig.49 : Evolution de la quantité de protéine en mg de la cuticule abdominale des L5 femelles de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	115
Fig.50: Evolution de la quantité de protéine en mg de la cuticule abdominale des L5 mâles de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	115
Fig.51: Evolution du taux de protéine de la cuticule abdominale des L5 femelles de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	117
Fig.52: Evolution du taux de protéine de la cuticule abdominale des L5 mâles de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	117
Fig.53: Coupes histologiques au niveau du chorion chez les œufs témoins de <i>Schistocerca gregaria</i>	120
Fig.54: Coupes histologiques au niveau du chorion chez les œufs de <i>Schistocerca gregaria</i> traités au <i>Beauveria bassiana</i>	121
Fig.55: Coupes histologiques au niveau du chorion chez les œufs de <i>Schistocerca gregaria</i> traités au <i>Metarhizium anisopliae</i>	122
Fig.56 : Structure de la cuticule des L5 témoins de <i>S. gregaria</i> après coloration à l'azan de Heidenhain	123
Fig.57 : Structure de la cuticule des L5 de <i>S. gregaria</i> traitées au <i>B. bassiana</i> après coloration à l'azan de Heidenhain	124
Fig.58 : Structure de la cuticule des L5 de <i>S. gregaria</i> traitées au <i>M. anisopliae</i> après coloration à l'azan de Heidenhain	124
Fig.59 : Evolution en μm de l'épaisseur de l'épicuticule des larves L5 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	125
Fig.60 : Evolution en μm de l'épaisseur de l'exocuticule des larves L5 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	126
Fig.61 : Evolution en μm de l'épaisseur de l'endocuticule des larves L5 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées par <i>B. bassiana</i> et <i>M.anisopliae</i>	127
Fig.62 : Evolution en μm de l'épaisseur de la cuticule des larves L5 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées par <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	129
Fig.63 : Coupes transversales du jabot des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> (83×10^5 spores/ml) et au <i>M. anisopliae</i> ($31,74 \times 10^6$ spores/ml) après	

coloration au Mallory.....	131
Fig.64 : Coupes transversales du gésier des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B.bassiana</i> (83×10^5 spores/ml) et au <i>M. anisopliae</i> ($31,74 \times 10^6$ spores/ml) après coloration au Mallory.....	133
Fig.65 : Coupes transversales de l'intestin moyen des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> (83×10^5 spores/ml) et au <i>M. anisopliae</i> ($31,74 \times 10^6$ spores/ml) après coloration au Mallory	134
Fig.66 : Coupes transversales de l'iléon des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> (83×10^5 spores/ml) et au <i>M. anisopliae</i> ($31,74 \times 10^6$ spores/ml) après coloration au Mallory	136
Fig.67 : Coupes transversales du colon des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> (83×10^5 spores/ml) et au <i>M. anisopliae</i> ($31,74 \times 10^6$ spores/ml) après coloration au Mallory	137
Fig.68 : Coupes transversales de l'ampoule rectale des L5 de <i>S. gregaria</i> témoins et traitées au <i>B. bassiana</i> (83×10^5 spores/ml) et au <i>M. anisopliae</i> ($31,74 \times 10^6$ spores/ml) après coloration au Mallory.....	139

Sommaire

Sommaire

	Page
Introduction	6
Chapitre I : Synthèse bibliographique.....	10
I.1- Données bibliographiques sur le criquet pèlerin <i>Schistocerca gregaria</i>	11
I.1.1- Systématique.....	11
I.1.2 -Morphologie	11
I.1.3 -Cycle biologique.....	12
I.1.3.1 - Développement embryonnaire.....	12
I.1.3.2 - Développement larvaire.....	13
I.1.3.3 - Principales étapes de la vie imaginale.....	15
I.1.3.3.1- La mue imaginale.....	15
I.1.3.3.2- Durcissement cuticulaire.....	15
I.1.3.3.3- Accumulation des réserves.....	15
I.1.3.3.4- Maturation sexuelle.....	15
I.1.3.3.5- Accouplement.....	16
I.1.4- Polymorphisme phasaire	16
I.1.5- Les milieux de vie et les biotopes de criquet pèlerin.....	17
I.1.6- Aires de répartition du criquet pèlerin.....	18
I.1.7- Les conditions de déclenchement et d'arrêt des invasions.....	21
I.1.8- Historique des invasions du criquet pèlerin	21
I.1.9- Dégâts et importance économique.....	22
I.1.10- Les méthodes de lutte anti-acridienne.....	23
I.1.10.1- La lutte mécanique.....	23
I.1.10.2- La lutte écologique	24
I.1.10.3- La lutte chimique	24
I.1.10.4- La lutte biologique	25
I.2-Données bibliographiques sur <i>Beauveria bassiana</i> et <i>Metarhizium anisopliae</i>	27
I.2.1-Généralités	27
I.2.2- Systématique.....	27
I.2.3- Identification	27
I.2.4- Morphologie	28

I.2.5- Mode d'infection	29
I.2.6- Isolement, culture et conservation	29
I.2.7- Formulation	30
Chapitre II : Matériel et méthodes.....	31
II.1- Matériel biologique.....	32
II.1.1 - Les criquets	32
II.1.2. - Les champignons entomopathogènes.....	32
II.1.2.1 - <i>Beauveria bassiana</i>	32
II.1.2.2 - <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acridum</i>	33
II.2- Matériel et produits utilisés.....	35
II.3- Méthodes.....	35
II.3.1 - Isolement des champignons.....	33
II.3.2 - La multiplication des champignons.....	33
II.3.3- Préparation d'inoculum.....	34
II.3.4 - Comptage des spores et détermination des concentrations.....	34
II.3.5- Etude de l'effet du <i>M. anisopliae</i> et de <i>B. bassiana</i> sur l'éclosion des œufs et la mortalité des 5 stades larvaires et des imagos de <i>S. gregaria</i>	35
II.3.5.1- Effet des deux entomopathogènes sur l'éclosion des œufs de <i>S.gregaria</i>	35
II.3.5.2- Effet des deux entomopathogènes sur la mortalité des larves et imagos de <i>S.gregaria</i>	37
II.3.5.2.1- Comptage des mortalités observées pour les 5 stades larvaires et les imagos de <i>S. gregaria</i>	37
II.3.5.2.2- Correction de la mortalité	37
II.3.5.2.3- Calcul de TL50 et DL50.....	38
II.3.6- Etude de l'effet de deux champignons sur l'évolution pondérale, la durée du développement et l'activité alimentaire des larves L5 de <i>S.gregaria</i>	38
II.3.6.1- Effet sur l'évolution pondérale et le gain du poids	39
II.3.6.2- Effet sur la durée du développement.....	39
II.3.6.3- Effet sur l'activité alimentaire.....	39
II.3.6.4- Effet sur la consommation journalière des larves L5.....	39
II.3.6.4.1- Effet sur l'ingéra.....	39

II.3.6.4.2- Effet sur L'egesta.....	39
II.3.6.5- Effet sur les indices nutritionnels de consommation et d'utilisation de la nourriture.....	40
II.3.7- Etude de l'effet des deux biopesticides sur l'hémolymphe des larves L5 de <i>S.gregaria</i>	41
II.3.7.1- Effet sur l'hémogramme des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	41
II.3.7.2- Effet sur les protéines hémolympatiques des larves L5 de <i>S.gregaria</i>	42
II.3.7.2.1- Dosage quantitatif des protéines.....	42
II.3.7.2.2-. Dosage qualitatif des protéines.....	44
II.3.8- Effet des deux champignons sur la biochimie de la cuticule des L5 de <i>S. gregaria</i> 48	
II.3.8.1- Prélèvement de la cuticule	48
II.3.8.2- Technique de détermination chitine-protéine	48
II.3.9- Etude de l'effet de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> sur l'histologie du chorion des œufs, du tégument et tube digestif de <i>S.gregaria</i>	49
II.3.9.1- Récupération et fixation des organes.....	49
II.3.9.2- Déshydratation des pièces	52
II.3.9.3- Imprégnation et inclusion des organes	52
II.3.9.4- Confection et coulage des coupes	52
II.3.9.5- Déparaffinage, hydratation, coloration des coupes.....	53
II.3.9.6- Déshydratation et montage des coupes	53
II.3.9.7- Observation.....	54
II.3.10- Analyse statistique	54
Chapitre III : Résultats	55
III.1- Effet de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> sur l'éclosion des œufs et la mortalité des larves et des imagos de <i>S. gregaria</i>	56
III.1.1- Effet des deux entomopathogènes sur la mortalité des œufs de <i>S. gregaria</i>	56
III.1.2- Effet de deux entomopathogènes sur la mortalité des larves et imagos de <i>S.gregaria</i>	60
III.2- Effet sur l'évolution pondérale, le gain de poids, la durée de développement et l'activité alimentaire des L5 de <i>S. gregaria</i>	87
III.2.1- Effet sur l'évolution pondérale.....	87
III.2.2- Effet sur le gain de poids.....	88

III.2.3-Effet sur la durée de développement du stade L5 au stade imago	89
III.2.4- Effet sur la consommation journalière des larves L5.....	90
III.2.5- Effet sur les indices nutritionnels de consommation et d'utilisation de la nourriture... ..	93
III.3- Effet des deux champignons sur l'hémolymph des L5 de <i>S. gregaria</i>	96
III.3.1- Effet sur l'hémogramme des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	96
III.3.2- Etude de l'effet des deux entomopathogènes sur les protéines hémolympatiques des L5 de <i>S.gregaria</i>	100
a- Analyse quantitative :	100
b- Analyse qualitative : profil électrophorétique des protéines	102
III.4- Effet des deux champignons sur la biochimie de la cuticule des L5 de <i>S. gregaria</i>	107
III.5- Etude de l'effet de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> sur la structure du chorion des œufs, du tégument et du tube digestif des L5 de <i>S.gregaria</i>	118
III.5.1 Etude de l'effet sur la structure du chorion des œufs des L5 de <i>S.gregaria</i>	118
III.5.2- Etude de l'effet sur la structure de la cuticule des L5 de <i>S.gregaria</i>	123
III.5.3- Etude de l'effet sur la structure du tube digestif des L5 de <i>S.gregaria</i>	130
Chapitre IV : Discussions	140
IV.1- Effet du <i>M. anisopliae</i> et de <i>B. bassiana</i> sur l'éclosion des œufs et la mortalité des larves et des imagos de <i>S. gregaria</i>	141
IV.1.1- Effet des deux entomopathogènes l'éclosion des œufs de <i>S.gregaria</i>	141
IV.1.2- Effet des deux entomopathogènes sur la mortalité des larves et imagos de <i>S.gregaria</i>	142
IV.2- Effet sur l'évolution pondérale, le gain de poids, la durée de développement et l'activité alimentaire des L5 de <i>S.gregaria</i>	146
IV.3- Effet de deux champignons sur l'hémolymph des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	152
IV.3.1- Effet sur l'hémogramme des larves L5 de <i>S. gregaria</i>	153
IV.3.2- Effet sur les protéines hémolympatiques des larves L5 de <i>S.gregaria</i>	153
IV.4- Effet des deux cryptogames sur la cuticule de L5 de <i>S. gregaria</i>	158
IV.5- Etude histologique de l'effet de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> var <i>acridum</i> sur le chorion des œufs, le tégument et le tube digestif des L5 de <i>S.gregaria</i>	163
Conclusion générale	169
Références bibliographiques	176
Annexe.....	188

Introduction

Introduction

Les criquets et les sauterelles menacent la production agricole depuis que les humains ont des activités agricoles. Il y a plusieurs raisons au fait que les criquets et les sauterelles sont capables de dévaster la végétation et les cultures : les acridiens sont capables d'ingérer une variété importante de végétaux : chaque individu peut manger au quotidien la valeur de son propre poids. Les criquets et les sauterelles ont la capacité de former des essaims migrants incroyablement denses, contenant de 40 à 80 millions d'individus (Steedman, 1988).

Le criquet pèlerin est considéré comme un fléau de l'agriculture et particulièrement en Afrique. Ses ravages s'étendent à la majorité des pays arides et semi-arides, de la côte ouest de l'Afrique à l'Inde. En période d'invasion, les essaims de criquets pèlerins peuvent envahir une aire couvrant plus de 29 millions de kilomètres carrés, soit plus de 20 % des terres émergées (Duranton et Lecoq, 1990). Plus de la moitié des terres émergées peuvent être sujettes à l'attaque de leurs essaims. A titre d'exemple, un essaim de criquet pèlerin de 10 km² contient environ 2 milliards d'individus consommant chacun l'équivalent de son propre poids par jour (2g) entraînant, ainsi, une perte de 4000 tonnes de végétation fraîche par jour (Coper, 1982). Les dégâts peuvent se chiffrer à plusieurs dizaines de millions d'euros par an. Les conséquences économiques demeurent généralement désastreuses lorsque les invasions n'ont pu être enrayerées à un stade précoce. À l'échelon local, les criquets peuvent causer des destructions complètes de récoltes dont l'impact sur l'autoconsommation et la fragile économie de populations vivant d'une agriculture à risques climatiques élevés est souvent très important surtout en Afrique (Lecoq, 2001).

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).

Périodiquement, faisant suite à des séquences de pluies favorables, des recrudescences et des invasions de développement. Elles sont entrecoupées de périodes de rémissions au cours desquelles les populations solitaires du criquet pèlerin ne sont présentes qu'en effectifs très faibles, distribuées dans une zone limitée; l'aire de rémission, largement désertique et éloignée des zones des cultures. Cette aire couvre 16 millions de km² et intéresse surtout les zones sahariennes. Au contraire, au cours des invasions, les populations grégaires peuvent occuper une zone beaucoup plus vaste qui concerne 65 pays d'Afrique, du Moyen Orient et

d'Asie du Sud-Ouest et qui couvre un territoire de 29 millions de km², largement cultivé et peuplé par plus de 1 milliard d'habitants (Launois-luong et Popov, 1992).

Face à ce fléau acridien, la lutte chimique, par l'utilisation des insecticides reste largement prédominante. L'utilisation massive de pesticides chimiques a entraîné des conséquences négatives sur l'environnement, la faune, les hommes et les animaux sans pour autant affecter la fréquence d'invasion (Everts, 1990). La recherche d'alternatives écologiquement saines dans le cadre de cette lutte contre les acridiens est devenue une nécessité. Les études se sont alors orientées vers l'utilisation des champignons entomopathogènes. Parmi ceux-ci citons, le développement d'un insecticide biologique à base d'un champignon *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (Driver *et al.*, 2000) par le projet Lutte Biologique contre les Locustes et les Sauteriaux (LUBILOSA). De 1992 à 1994, LUBILOSA a démontré l'efficacité et le pouvoir rémanent de la formulation huileuse d'une souche provenant du criquet puant *Z. variegatus* (Lomer *et al.*, 1993; Douro-Kpindu *et al.*, 1997; Langewald *et al.*, 1999; Thomas *et al.*, 1996) et de celle qui est obtenue d'une autre souche (IMI 330189) isolée d'un sauteriau du Sahel *Ornithacris cavroisi* (Finot) (Zakaria et Sagnia, 2003; Lomer, 1997). Des traitements effectués en plein champ ont montré que ce champignon était efficace après 10 jours et que tous les stades de l'acridien sont sensibles (Greathed *et al.*, 1994). Ce traitement a engendré la mort de la totalité des insectes au 22^{ème} jours après traitement (Sieglaff *et al.*, 1998).

L'utilisation des biopesticides à base d'entomopathogènes dans le cadre de la lutte anti-acridienne a révélé des résultats encourageants, comme cela a été démontré pour le *Metarhizium anisopliae* (Metch) lors des essais en laboratoire (Greathed *et al.*, 1994; Halouane, 1997; Sieglaff *et al.*, 1998) et en plein champ, cas de la wilaya d'El Oued au Nord-Est de l'Algérie (Kooyman *et al.*, 2005). D'autres travaux ont été menés sur le plan national et international (Jenkins et Thomas (1996); Bissaad (1998 et 2002); Bensaad (1999); Arthur et Thomas (2000; 2001); Haddadj (2001); Kaidi (2004); Hemour (2005); Djeddar (2007) Halouane (2008); Youcef (2007 et 2010); Outtar (2006 et 2009)).

Aucune étude n'a montré l'effet de traitement par les deux champignons sur les œufs et sur la structure histologique du chorion, du tégument et du tube digestif de criquet pèlerin. Dans ce cadre, nous avons jugé utile d'examiner l'effet d'une souche locale de champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* comparativement à une souche commercialisée de *Metarhizium anisopliae* var *acridum* « Green Muscle » sur cet acridien. Plusieurs aspects ont été développés à travers ce présent travail. En effet, nous avons étudié l'effet des deux champignons entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur quelques paramètres

biologiques et physiologiques de *Schistocerca S.gregaria* à savoir leurs effets sur l'éclosion des œufs, la mortalité cumulée des larves et des imagos, sur l'évolution pondérale, le gain de poids, l'activité alimentaire et l'hémolymphe des larves L5, ainsi que sur la structure du chorion des œufs, du tégument et du tube digestif de cet orthoptère.

Le présent travail est constitué de quatre chapitres. Le premier est consacré aux données bibliographiques sur le criquet pèlerin *S. gregaria* d'une part et aux deux champignons entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* var *acridum* d'autre part. Dans le deuxième chapitre sont présentés l'ensemble du matériel et les différentes méthodes utilisées. Le troisième chapitre traite des résultats et enfin le quatrième chapitre porte sur la discussion de chaque aspect étudié. Notre contribution est clôturée par une conclusion générale et des perspectives.

Chapitre I :
Synthèse bibliographique

I.1 Données bibliographiques sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*

I.1.1 Systématique

Le criquet pèlerin ou le criquet du désert (Desert locust en anglais) *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) est classé dans l'ordre des Orthoptera, le sous-ordre des Caelifera, la superfamille des Acridoidea, la famille des Acrididae et à la sous-famille des Cyrtacanthacridinae (Louveaux et Benhalima, 1987).

I.1.2 Morphologie

Le criquet pèlerin est un acridien de grande taille. Les femelles mesurent de 70 à 90 mm de long, les mâles de 60 à 75 mm. Les antennes sont filiformes. Le pronotum est comprimé dans la prozone et son bord postérieur est anguleux. Le tubercule prosternal est arrondi, mince, à apex émoussé, légèrement incliné vers l'arrière. Les élytres comme les ailes sont longs, dépassant nettement l'extrémité abdominale et les genoux postérieurs. Les cerques mâles sont courts, rectangulaires et la plaque sous-génitale est incisée. Les yeux sont striés. Les élytres sont maculés de taches brunes. Les tibias postérieurs sont de la teinte générale du corps. 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 : la plaque sous-génitale. Chez la femelle, les valves génitales dorsales et ventrales, généralement durcies et sombres, sont nettement visibles. L'ensemble de ces valves constitue l'organe de ponte (Duranton et Lecoq, 1990).

D'après Lecoq (1988), le criquet pèlerin est une espèce de locuste (la huitième plaie d'Égypte dans la Bible) et peut exister en phase solitaire ou en phase grégaire. Le changement de phase s'amorce à partir de 500 imagos par hectare. La teinte générale des individus solitaires est brune ou plus ou moins grisâtre. On note un léger jaunissement des individus mâles en période de maturité sexuelle.

Les individus de la phase grégaire de ce locuste peuvent constituer des essaims très étendus de plusieurs dizaines de kilomètres carrés. Il s'agit du criquet ayant la plus grande importance économique. Il peut être responsable de dégâts considérables en période d'invasion. On note que les individus grégaires immatures sont de teinte rosâtre, alors que les individus sexuellement mûrs sont de couleur jaune vif (couleur particulièrement accentuée chez les mâles).

Selon Duranton et Lecoq (1990), les principales différences morphologiques existant, chez le criquet pèlerin, entre les individus ailés de la phase solitaire et ceux de la phase grégaire sont :

1. La forme du pronotum en vue latérale : concave chez les grégaires, convexe chez les solitaires.
2. La forme du pronotum en vue dorsale : resserré en son milieu chez les grégaires, non resserré chez les solitaires, les bords de la prozone étant parallèles.
3. L'espace inter-oculaire plus large chez les grégaires que chez les solitaires.
4. La tête plus large chez les grégaires que chez les solitaires.
5. L'espace méso-sternal carré chez les grégaires, légèrement triangulaire chez les solitaires.

I.1.3. Cycle biologique

Le criquet pèlerin, comme tous les autres acridiens, passe par trois états successifs: l'œuf, la larve et l'ailé. Les œufs sont pondus par les femelles. Lors de l'éclosion, naissent de jeunes criquets dépourvus d'ailes, appelés larves. Les larves se débarrassent de leur cuticule cinq à six fois pendant leur développement et leur taille s'accroît à chaque fois. Ce processus s'appelle la mue et la période qui sépare deux mues successives s'appelle un stade. La dernière mue, du stade larvaire 5 (ou 6) dépourvu d'ailes à l'imago, ou ailé, s'appelle la mue imaginale. Le nouvel ailé, appelé «jeune ailé», doit attendre le séchage et le durcissement de ses ailes avant de pouvoir voler. Les ailés ne muent pas et leur taille ne s'accroît donc pas mais leur poids augmente progressivement. Les ailés qui peuvent voler sont, au départ, sexuellement immatures. Quand ils deviennent sexuellement matures, ils peuvent s'accoupler et pondre des œufs (Fig.1) (Symmons et Cressman, 2001).

Le nombre annuel de générations varie entre 2 et 3 selon les conditions écologiques. L'une des caractéristiques importantes du criquet pèlerin est la possibilité de quiescence à l'état imaginal dans le cas où l'acridien rencontre des conditions écologiques défavorables. Chez les grégaires, il existe une grande synchronisation dans le développement des populations. En un site donné, un ou deux stades biologiques seulement sont observés simultanément. Au contraire, chez les populations solitaires, des individus de tout état biologique (œufs, larves, ailés) et de tout stade de développement peuvent être observés en même temps au même endroit (Pastre et *al.*, 1988 ; Duranton et Lecoq, 1990).

I.1.3.1. Développement embryonnaire

Les œufs sont généralement pondus dans des zones de sol sablonneux dépourvu de végétation. En général, la femelle ne pond que si le sol est humide à une profondeur de 5 à 10 cm. Dans les sols sablonneux meubles, il a été signalé que des femelles ne pondaient que si

l'humidité se rencontrait à une profondeur de plus de 12 cm. Avant de pondre, la femelle sonde souvent le sol en y insérant l'extrémité de son abdomen pour déterminer si l'humidité est suffisante. Il est important de signaler qu'une ponte n'est pas toujours en cours lorsque les femelles sont en train de sonder. La femelle pond les œufs sous forme d'une masse ovigère appelée oothèque (Mallamaire et Roy, 1968). Le nombre d'oothèques pondues par une femelle dépend du temps que celle-ci met à développer chaque oothèque et de sa propre longévité. Sur le terrain, l'intervalle entre chaque ponte est d'environ 10 jours (Popov et *al.* 1990 ; Symmons et Cressman, 2001).

La période d'incubation varie selon les conditions écologiques et climatiques, d'où plusieurs auteurs ont montré cette différence. La durée d'incubation des œufs du criquet pèlerin est en moyenne de l'ordre de 13 jours ou de 10 jours (Duranton et Lecoq, 1990). 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 peut aller à environ 50 jours (De Gregorio, 1996). Elle est de 9 jours (Latchininsky et Launois-Luong, 1997) ou de 10 à 65 jours (Symmons et Cressman, 2001).

I.1.3.2. Développement larvaire

Le criquet pèlerin est un insecte hétérométabole. De l'œuf sort une jeune larve qui à la taille et à certaines caractéristiques près, ressemble à l'adulte. Morphologiquement, la larve, dite néonate, se distingue de l'adulte par l'absence d'ailes et un appareil génital rudimentaire. La présence de la cuticule, exosquelette rigide des insectes, fait que la croissance est discontinue et se réalise par mues successives (De Gregorio, 1996).

Selon Duranton et Lecoq (1990), les larves de criquet pèlerin passent, de l'éclosion à l'état imaginal, par plusieurs stades. Leur nombre est variable en fonction de la phase : 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. La durée du développement larvaire varie essentiellement en fonction de la température de l'air. Par ailleurs, dans des conditions écologiques identiques, les grégaires se développent plus rapidement que les solitaires.

Chez les grégaires, dans de bonnes conditions, la durée de développement larvaire la plus courte est de 25 jours. Dans de mauvaises conditions, elle peut aller jusqu'à plus de 50 jours. Alors que chez les solitaires, dans des conditions optimales, le développement larvaire dure au minimum 30 jours, il peut s'étendre à trois mois en cas de conditions très défavorables ; Et d'après Symmons et Cressman (2001), cette durée est de 24 à 95 jours (36 jours en moyenne).

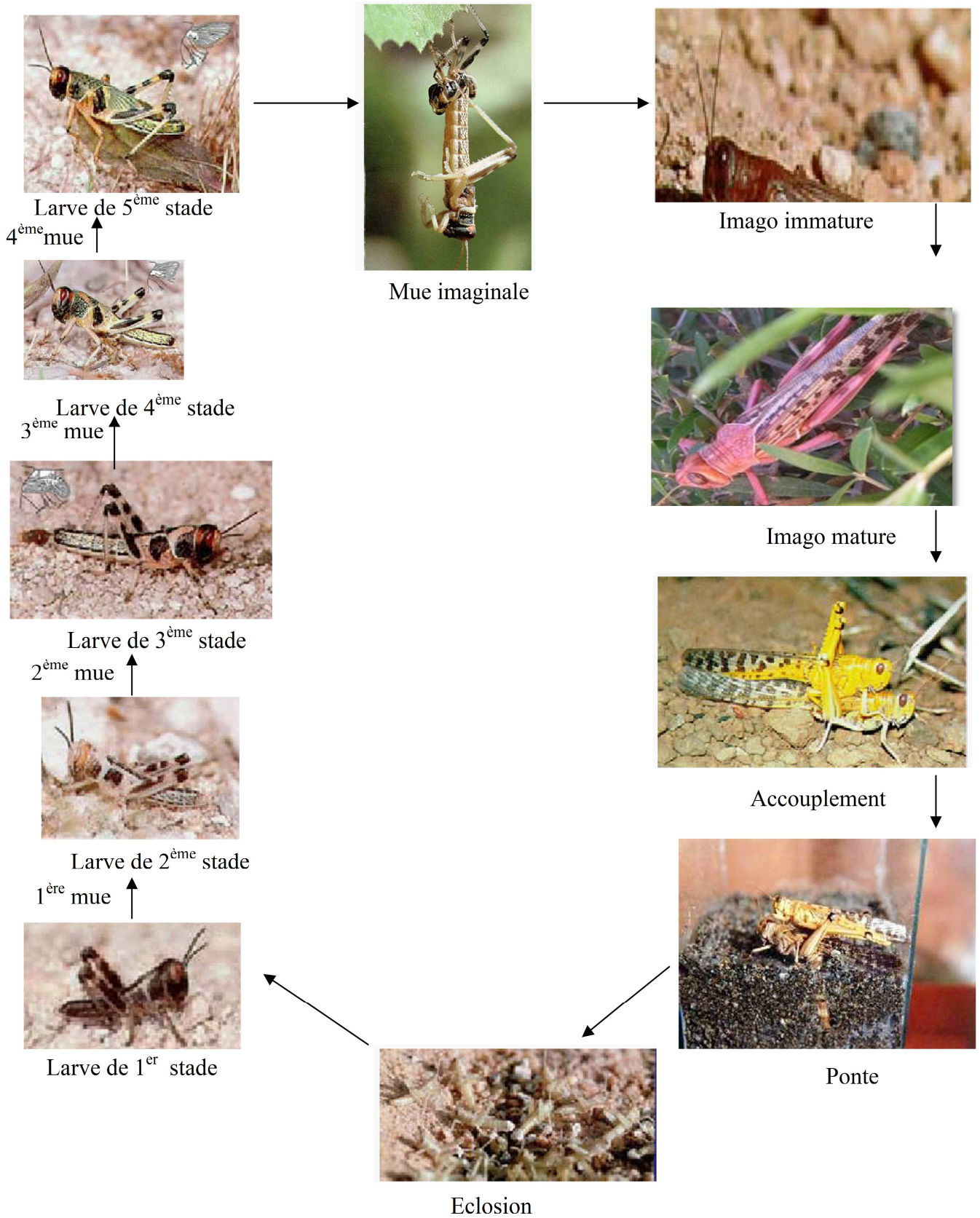


Fig. 1 : Cycle biologique de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775)
(Duranton et Lecoq, 1990 modifié)

I.1.3.3. Principales étapes de la vie imaginale

I.1.3.3.1. La mue imaginale

Selon De Gregorio (1996), la larve du 5^{ème} et dernier stade subit une mue imaginale qui donne naissance à l'adulte. La mue imaginale se déroule comme une mue larvaire. La mue débute par la rupture de la cuticule le long de lignes de moindre résistance situées au niveau de la tête et du thorax. Une fois la cuticule fendue, la larve s'extrait en dégageant successivement, la tête, le thorax puis l'abdomen. De la cuticule fendue s'extrait un individu ailé. Celui-ci possède des ailes et des organes génitaux complètement développés.

Le terme imago correspond à l'insecte ailé. Le terme adulte est réservé à l'imago en période de maturité sexuelle. Le terme ailé est parfois utilisé comme synonyme d'imago (Duranton et Lecoq, 1990).

I.1.3.3.2. Durcissement cuticulaire

Immédiatement après la mue imaginale, le jeune imago étale ses ailes et les laisse sécher en position droite, puis les replie selon les nervures longitudinales. Ce jeune imago possède des téguments mous qui durcissent progressivement en une dizaine de jours au maximum. Ils sont de couleur beige chez les solitaires, rose chez les grégaires. En quelques heures, le jeune imago est capable de marcher, le jour suivant, il peut voler localement et sauter. Le durcissement des téguments est achevé au bout de 5 à 10 jours selon la saison (et donc la température de l'air) (Duranton et Lecoq, 1990).

I.1.3.3.3. Accumulation des réserves

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).

I.1.3.3.4. Maturation sexuelle

Selon Duranton et Lecoq (1990), le criquet pèlerin peut rester sexuellement immature durant plusieurs mois (6 au maximum), jusqu'à la rencontre de conditions écologiques propices.

Avec le début de la maturation sexuelle, on note une modification de la coloration des individus. 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 peu 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 commencée (Loher, 1960 ; Norris, 1962 ; Cassier et Delorme, 1976 Albrecht, 1967).

I.1.3.3.5. Accouplement

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

I.1.4. Polymorphisme phasaire

Parmi les acridiens, le criquet pèlerin est considéré comme l'espèce la plus grégariapte (Pasquier, 1952). Selon Duranton et Lecoq (1990), le criquet pèlerin appartient à la catégorie des acridiens de type locuste présentant un phénomène de polymorphisme phasaire, c'est-à-dire la possibilité de développer des aspects variés et réversibles, selon la densité des populations. Ces différents aspects sont désignés sous le terme de phases. Schématiquement, on parle de phase solitaire pour les populations de faible densité et de phase grégaire pour les populations de forte densité, et le terme de transformation phasaire désigne le passage d'une phase à l'autre.

Le seuil de passage de l'état solitaire à l'état grégaire (transformation phasaire) est de l'ordre de 500 imagos par hectare (ou 50 000 jeunes larves ou 5 000 larves âgées) (Launois-Luong et Lecoq, 1989).

La transformation phasaire, dans les deux sens, se produit aisément et fréquemment. Les extrêmes phasaires sont très distincts tant sur le plan éthologique que sur les plans physiologique et morphologique (Popov et *al.*, 1991).

Trois étapes se succèdent dans la transformation phasaire: concentration, multiplication et grégarisation.

La transition de la phase solitaire à la phase grégaire, et vice versa, constitue une phase transitoire et on parle alors de criquets transiens. Si la densité acridienne augmente, on parle de transiens congregans et, si elle diminue, de transiens dissocians (Symmons et Cressman, 2001).

D'après Chara (1995), le passage de la phase solitaire à la phase grégaire et d'une période de rémission à une période d'invasion s'explique par :

- Le maintien de conditions écologiques favorables pendant des périodes suffisamment longues , ce qui augmente la longévité des individus et leur fécondité.
- Le dessèchement progressif de la végétation qui réduit les espaces favorables et qui conduit les criquets à se rassembler vers les taches de végétation qui persistent dans les zones d'accumulation des eaux se traduit par une centro-densation.
- L'action des vents convergents qui regroupent des individus venant d'horizons différents: l'extro-densation.
- Le rassemblement d'individus sur certaines plantes préférentiellement appelées: l'identito-densation.

Girardie (1991), a montré que les effets de groupe, les effets de masse et les facteurs abiotiques seraient les causes primaires du polymorphisme phasaire des criquets grégarisables.

I.1.5. Les milieux de vie et les biotopes de criquet pèlerin

D'après Launois-Luong et Lecoq (1989), le criquet pèlerin est une espèce xérophile de régions désertiques, géo-phytophile, à régime alimentaire polyphage. On le trouve dans les formations steppiques aux sols sableux ou sablo-argileux, à végétation constituée de quelques buissons, d'herbes pérennes ayant moins d'un mètre de hauteur et de plantes annuelles apparaissant après les pluies.

Les milieux de vie de *Schistocerca gregaria* varient selon l'état phasaire (Haskell, 1982).

Selon Launois-Luong et Lecoq (1993), les solitaires se reproduisent dans une aire limitée en zone désertique alors que les grégaires, à cause de leurs exigences écologiques moins strictes, colonisent des milieux moins xérotrophes sur des surfaces beaucoup plus considérables. Ils se rencontrent principalement dans des milieux secs avec des pseudo-steppes à *Panicum turgidum* et *Acacia ehrenbergiana* ou des formations éphémères à *Tribulus mollis* et *Showwia thebaica*.

Durantanton et Lecoq (1990), expliquent que l'examen des particularités de sa bio-écologie montre qu'il ne s'agit pas d'un insecte xérophile mais au contraire d'un organisme mésophile qui exploite des sites temporairement humides en milieu désertique chaud. Il est en effet directement dépendant de l'humidité du sol à l'état embryonnaire et indirectement à l'état larvaire puisqu'il lui faut une végétation turgescence pour trouver abri et nourriture. Il se révèle résistant au froid et à l'aridité (modérée) à l'état d'imago immature ; il est alors doté

d'un potentiel de dispersion exacerbé qui lui permet de rechercher des biotopes favorables pour accomplir sa maturité sexuelle et assure sa descendance.

Selon les mêmes auteurs, les biotopes du criquet pèlerin peuvent se répartir en quatre catégories principales:

1. Les milieux hostiles où il ne peut survivre.
2. Les biotopes de survie où le criquet pèlerin peut subsister en attendant l'apparition de conditions meilleures.
3. Les biotopes de reproduction où le criquet pèlerin peut non seulement survivre mais trouve une alimentation et une nature du sol qui lui permettent d'effectuer sa maturation sexuelle, une production d'œufs suffisante et la ponte.
4. Les biotopes de grégarisation qui offrent de bonnes (ou de très bonnes) conditions de reproduction susceptibles d'aboutir directement ou indirectement à des densités pouvant entraîner la transformation phasaire.

I.1.6. Aires de répartition du criquet pèlerin

L'aire d'invasion du criquet pèlerin couvre 29 millions de kilomètres carrés. Ses invasions portent en moyenne sur 6 à 8 ans (Popov, 1997).

De 1860 à 1972, il y a eu 7 invasions majeures ayant duré entre 7 et 22 ans. La taille des essaims du criquet pèlerin peut aller de quelques Km² à plusieurs centaines de Km². Le plus grand essaim observé avait une taille de 1 040 Km² (Launois-Luong et Lecoq, 1989).

Le criquet pèlerin est un locuste redouté, très largement répandu dans le monde. En période d'invasion, les essaims peuvent atteindre le sud de l'Europe, l'Afrique au nord de l'équateur et la péninsule Arabique et Indo-Pakistanaise (Popov, 1997).

L'aire d'invasion du *Schistocerca gregaria* représente au total 57 pays et plus de 20 % des terres émergées (Popov et al., 1991).

Lorsqu'il y a de nombreuses bandes larvaires et de nombreux essaims sur de vastes territoires, on parle de période d'invasion. Les dégâts aux cultures peuvent alors être considérables. Entre deux périodes d'invasion, on est en période de rémission (Duranton et Lecoq, 1990).

En temps normal, le criquet pèlerin est présent à de faibles densités dans des zones semi-arides ou arides, loin des principales régions agricoles. Il ne provoque alors pas de dégâts significatifs aux cultures et les bandes larvaires et les essaims sont rares ou totalement absents. Ces périodes sont appelées rémissions.

La zone au sein de laquelle ces populations sont confinées et se déplacent est appelée aire de rémission. Elle couvre 16 millions de km environ et inclue environ 30 pays. (Symmons et Cressman, 2001 ; Van Huis, 1995).

En période de rémission, les populations solitaires se réfugient dans les zones grégaires suivantes : frontière Indo-Pakistanaise où les systèmes de vents favorisent des concentrations importantes de populations ; bords de la mer Rouge et du Golfe d'Aden où le régime des pluies peut fournir des conditions compatibles à la reproduction tout au long de l'année ; bordure de certains massifs montagneux où les phénomènes d'écoulement favorisent la création de sites favorables (massifs du Sahara central et méridional, bordure sud de l'Atlas, bordure ouest des montagnes d'Oman, vallées du Mekran au Pakistan et en Iran). Toutes ces zones reçoivent entre 50 et 300 mm de pluie par an (Popov, 1997) (Fig. 2). C'est essentiellement dans ces zones qu'ont lieu les premières étapes de la transformation phasaire conduisant à une invasion généralisée.

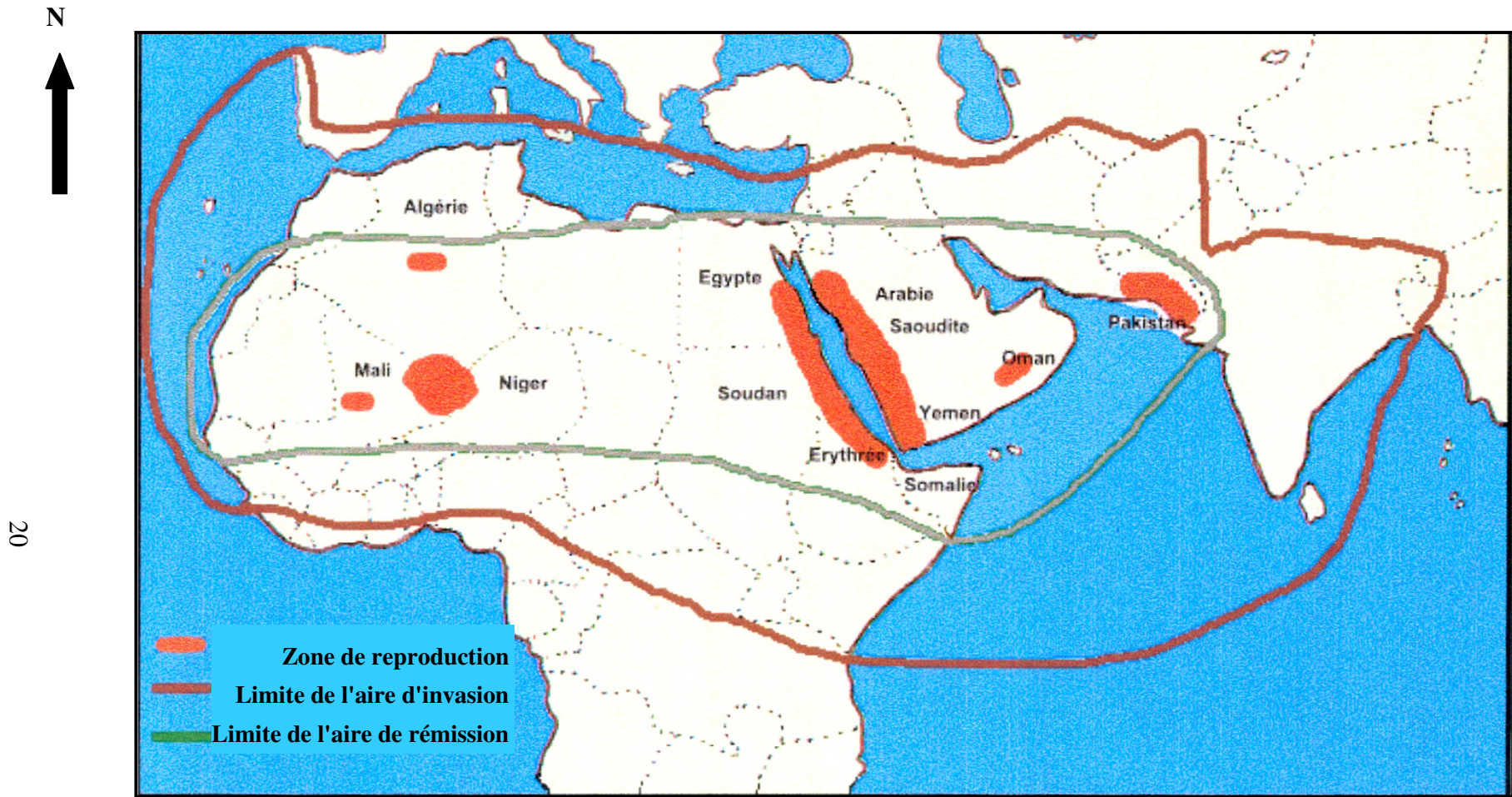


Fig. 2 : Aire de répartition de *Schistocerca gregaria* dans le monde (Nurein, 1989 modifié)

Echelle : 1/12000

Ces notions d'aires grégarigènes et de foyers de grégarisation ont beaucoup aidé à l'organisation de la surveillance et de la lutte. C'est grâce à elles qu'il a été possible de mettre au point une stratégie de lutte préventive (Lecoq, 1991).

I.1.7. Les conditions de déclenchement et d'arrêt des invasions

Selon, Rowell et Cannis (1971), le principal facteur favorable à la naissance d'une invasion généralisée est une succession de pluies abondantes concernant des surfaces très étendues (d'où l'importance de données pluviométriques de qualité et des satellites météorologiques pour donner l'alerte).

Une fois l'invasion amorcée dans l'une des régions de l'aire d'habitat du criquet pèlerin, elle se propage en général en l'espace d'un an ou deux aux autres régions.

L'invasion, une fois déclenchée, est alors très difficile à arrêter. En effet, lorsque le fléau acridien n'a pu être enrayé à son début, il prend une dimension différente pour trois raisons essentielles:

- Les formes grégaires sont plus résistantes que les formes solitaires aux conditions environnementales défavorables; elles sont donc capables d'occuper des aires géographiques considérablement plus vastes et maintiennent plus facilement leurs effectifs.
- La grégarisation s'entretient plus facilement d'elle-même qu'elle ne s'arrête; en d'autres termes, le maintien de l'état grégaire suppose des conditions d'environnement plus banales que le passage de la phase solitaire à la phase grégaire; l'invasion s'auto-entretient;
- L'arrêt de l'invasion exige des conditions éco-météorologiques aussi exceptionnelles (mais différentes) que son déclenchement.

En général, l'arrêt de l'invasion est dû à une succession de conditions écologiques défavorables: froid, sécheresse (absence ou forte baisse des pluies saisonnières permettant la reproduction), migration des essaims dans des zones défavorables où ils sont décimés, renforcement des effets des ennemis naturels.

I.1.8. Historique des invasions du criquet pèlerin

Les invasions de criquet pèlerin ne semblent pas se produire à un intervalle précis d'années. Ils se développent plutôt par intermittence. Des invasions acridiennes sont signalées depuis l'époque des pharaons, dans l'Égypte ancienne. Au cours du siècle dernier, des invasions de criquet pèlerin eurent lieu dans les intervalles d'années suivantes : 1926-1934, 1940-1948, 1949-1963, 1967-1969 et 1986-1989 (Anonyme, 2005a).

Depuis 1860, neuf invasions généralisées et dix recrudescences majeures, interrompues par des périodes de rémission et des résurgences localisées, ont eu lieu. Ces dernières ont duré de quelques mois à plusieurs années (Symmons et Cressman, 2001).

La dernière grande invasion de criquet pèlerin a duré vingt ans. Elle s'est achevée en 1963. En 1967 et 1968, des essaims se forment à nouveau. Vingt ans plus tard, une invasion généralisée se déclare. Avec l'aide de la communauté internationale, en 1987-1988, les pays concernés traitent plus de 30 millions d'hectares avec des insecticides chimiques. Plus de 300 millions de dollars US sont dépensés pour l'opération, ce qui représente environ 1,76 milliard de francs. De nouvelles invasions menacent en 1993-1994 puis en 1998, mais elles sont rapidement maîtrisées (Lecoq, 1991).

Les pays d'Afrique de l'Ouest et du Maghreb sont actuellement confrontés à un début d'invasion du criquet pèlerin en 2004. Ce ravageur fait peser à court terme une menace importante pour les cultures et les pâturages de l'ensemble de ces pays. Il y a également, à moyen terme, un risque d'extension de l'invasion à l'Est de l'Afrique et au Moyen-Orient. Cette situation fait suite à des conditions pluviométriques très favorables sur l'ensemble de la zone sahélienne au cours de l'année 2003 (Lecoq, 2001).

Le Sénégal vient de connaître sa deuxième invasion généralisée par le criquet pèlerin après son indépendance. L'invasion de 2004 a été des plus préoccupantes car ayant coïncidé avec la campagne hivernale. Si le gouvernement de la République n'avait pas pris des dispositions pour stopper l'avancée fulgurante de l'ennemi à hauteur des isohyètes 400/500 mm, aucune récolte ne serait envisageable sur l'ensemble du territoire national en vertu de ce qui précède mais aussi à cause de l'élasticité et du pouvoir destructeur du ravageur (Cisse, 2005).

I.1.9 Dégâts et importance économique

Le criquet pèlerin constitue un ravageur majeur en période d'invasion. Toutes les plantes cultivées, graminéennes ou non, sont susceptibles d'être attaquées. C'est un ravageur migrant de régions extrêmement arides. Sa survie est conditionnée par la venue de pluies erratiques, sa capacité de vol à grande distance et sa faculté à se multiplier en grand nombre en passant de l'état solitaire à l'état grégaire en l'espace de quelques générations (Krall et Herok, 1997 ; Showler, 2002).

Selon Popov et *al.*, (1991), quatre facteurs donnent à cet acridien une importance particulière :

- Sa grande mobilité,
- La fréquence élevée de ses invasions,
- Sa voracité (consommation de l'équivalent de son propre poids de matière végétale fraîche par jour),
- Sa polyphagie en phase grégaire (absence de discrimination alimentaire de sorte que pratiquement toute plante cultivée ou sauvage risque d'être attaquée).

Un criquet pèlerin en phase grégaire consomme chaque jour 2 grammes de végétation fraîche. Un essaim de densité moyenne (50 millions de criquets) consomme chaque jour 100 tonnes de matière végétale fraîche, avec une préférence pour les céréales (mil, maïs, riz, sorgho). Mais ils sont capables de s'attaquer aux écorces des arbres et on a vu des criquets dévorer la laine sur le dos des moutons. Les dégâts infligés par les nuages de criquets pèlerins sont donc considérables d'autant qu'ils s'attaquent à de très nombreuses plantes. Les palmeraies, les vignobles, les cultures maraîchères et céréalières souffrent particulièrement de leur passage. Quelques chiffres donnent la mesure du fléau qu'ils représentent pour l'agriculture (Martini *et al.*, 1998). La dernière grande invasion de criquets pèlerins qui a déferlé sur l'Afrique en 1987-1988 après vingt ans de rémission a frappé pratiquement tous les pays africains. Elle a coûté près de 300 millions de dollars fournis par la communauté internationale (Lecoq *et al.*, 2003).

La FAO a consacré, dans le cadre d'un programme d'urgence, près de 800 000 dollars à la Mauritanie et au Maroc dans le cadre de sa campagne acridienne et compte dépenser plus du double pour aider dans un futur proche l'Algérie, le Mali, le Niger, le Soudan et le Tchad. La dernière estimation de l'organisation, qui remonte au 8 avril 2004, indiquait qu'il fallait près de 17 millions pour juguler le phénomène durant le printemps et traiter pendant l'été, les aires de reproduction du criquet au Sahel et en Afrique de l'Ouest (Gbadamassi, 2004; Benhalima, 2006).

I.1.10. Les méthodes de lutte anti-acridienne

I.1.10.1. La lutte mécanique

Les méthodes de lutte mécanique contre les acridiens sont les plus anciennes. Elles diffèrent selon qu'il s'agisse de détruire physiquement les œufs, les larves ou les ailés. La destruction des œufs s'obtient en labourant les terres de 10 à 15 cm pour atteindre les pontes les plus profondes, cette méthode exige des zones cultivées car le labour ne peut pas être réalisé pour les sols inaccessibles au tracteur ou à la charrue. Les destructions des larves et

des jeunes ailés à tégument non durcis se font en rassemblant les acridiens dans un fossé préparé à l'avance. Le rabattage est pratiqué en agitant des vêtements, des feuillages, ou en faisant du bruit (tambours, cris, chants). Le feu est entretenu sur des cordons de feuillages, d'herbes sèches, ou allumées au lance-flamme. Les ailés grégaires sont difficiles à détruire mécaniquement excepté à l'aube et au crépuscule où ils sont posés au sol. Des lance flammes et des grenades ont été utilisés contre eux (Duranton et *al.*, 1982).

I.1.10.2. La 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, des facteurs agissant que l'on peut modifier, et des conséquences de ces changements sur l'écosystème tout entier.

Les suggestions de lutte écologique sont nombreuses, mais les applications à grande échelle sont encore très rares car on prend toujours le risque de remplacer un problème par un autre. Les moyens utilisés sont par exemple :

- L'inondation temporaire de certains sites de reproduction,
- La reforestation de clairières,
- Le labourage de sols indurés,
- Les semis de plantes répulsives,
- La suppression des jachères (Duranton et *al.*, 1987).

I.1.10.3. La 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 substances actives, naturelles ou de synthèse, pour les tuer ou les faire fuir.

D'après Roy (2001), Pendant l'invasion du criquet pèlerin de 1987 à 1988, d'énormes quantités d'insecticides ont été utilisées pour venir à bout de ce fléau. Des écosystèmes fragiles de régions désertiques ou semi désertiques ont souvent été largement touchés par des pulvérisations massives de produits toxiques. Les pays impliqués et la communauté internationale des pays donateurs se sont à juste titre émus de cet état de fait. Les principales préoccupations concernaient à l'époque, l'importance économique réelle de cet insecte et les coûts très élevés des opérations de lutte (315 millions de dollars dépensés en 1987-88) (Gough, 2004). Mais l'une des préoccupations majeures était sans doute liée aux quantités

considérables de pesticides utilisées : 32 000 tonnes et des millions d'hectares traités en l'espace d'à peine deux ans. Les dangers de l'utilisation de telles quantités d'insecticides pour la population humaine impliquée et l'impact sur l'environnement étaient évidents. Cet événement a permis de lancer ou de relancer de nombreux travaux de recherche destinés à trouver des produits de substitution aux insecticides chimiques traditionnels ((Launois-Luong *et al.*, 1988 ; Luong- Skormand *et al.*, 1999).

I.1.10.4. La lutte biologique

La lutte biologique est une alternative pour assurer une meilleure protection de la santé et de l'environnement. La lutte avec des agents biologiques offre des possibilités pour stopper l'invasion acridienne, tout en préservant la santé et l'environnement. Des espèces animales et végétales ont été identifiées dans le monde comme ayant un potentiel d'utilisation en lutte antiacridienne (Calvet ,1980 ; Thiam *et al.*, 2004).

❖ Les ennemis naturels

Les acridiens sont aussi la proie d'un grand nombre d'ennemis naturels vertébrés et invertébrés : prédateurs, parasitoïdes, parasites, agents pathogènes (champignons, bactéries, protozoaires, virus). Beaucoup d'entre eux entraînent la mort de l'insecte (Keith et Kevan, 1992 ; 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, présentent également des propriétés antiacridiennes intéressantes. Des extraits de fruits, de feuillages ou d'écorce protègent efficacement les cultures des attaques d'acridiens. Appliqués directement sur des larves et sur des imagos de criquets pèlerins, ces extraits végétaux provoquent une mortalité élevée au bout de deux semaines, retardent la croissance et la maturation sexuelle, réduisent considérablement le taux de reproduction et provoquent de nombreuses malformations. Ces produits sont biodégradables et ne sont pas nocifs pour l'homme et l'environnement. Par ailleurs, les plantes-source 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. Il reste cependant à résoudre des problèmes importants concernant la production de masse de ces extraits (masse

végétale nécessaire pour traiter un hectare infesté), le coût de récolte et d'extraction élevé ainsi que les homologations (Luong-Skormand et *al.*, 1999).

❖ Les mycopesticides

Sur plusieurs centaines d'espèces de champignons entomopathogènes, seul un très petit nombre affecte les acridiens. Deux genres sont particulièrement prometteurs : *Beauveria* et *Metarhizium*. Ces champignons se trouvent communément dans le sol. Grâce à la germination des spores à travers la cuticule externe ou à travers le tube digestif, ils peuvent envahir la cavité générale de l'hôte. La contamination se fait donc par contact ou par ingestion de la plante traitée par le myco-insecticide. Durant cette première étape, diverses interactions pathogène-hôte agissent au niveau de la cuticule (mécanisme de défense de l'hôte, virulence de la souche, hygrométrie ambiante, etc....) décidant ou non de la pénétration du pathogène (Fargues et Goettel, 1996). Les champignons peuvent tuer très rapidement en l'espace de quelques heures par l'intermédiaire de toxines, ou plus lentement par épuisement de l'hôte dont ils prélèvent l'eau et les nutriments pour se développer. Dans ce dernier cas, on observe une perte d'appétit et une réduction des capacités de vol des criquets ce qui limite les dommages aux cultures avant la mort du ravageur. Le taux de mortalité peut atteindre 70 à 90% et les criquets meurent au bout d'une à deux semaines après le traitement, selon l'importance de la biomasse végétale qui influe sur le taux de dilution des spores épandues, de la dose de spores, de la virulence de la souche et de la susceptibilité des acridiens cibles (Luong-Skormand et *al.*, 1999). Seulement, l'efficacité des champignons dépend de la dose d'application et du couvert végétal, tandis que le développement des criquets ainsi que du *Metarhizium* est influencé par la température et l'humidité (Milner, 2000 ; Scanlan et *al.*, 2001).

Le champignon entomopathogène, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* est en train d'être développé pour son utilisation comme mycopesticide contre les locustes et les sautereaux en Afrique (Arthur et Thomas, 2000).

❖ Les bactéries entomopathogènes :

Des bactéries impliquées dans des maladies épizootiques sont observées chez les populations de criquets sauvages et élevées au laboratoire. Deux espèces (*Serratia marcescens* et *Pseudomonas aeruginosa*) infectent uniformément des sauterelles une fois ingérées avec la nourriture et peuvent s'étendre dans la population de laboratoire (Kleespies et *al.*, 2000, Zelazny et *al.*, 1997).

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

I.2.1. Généralités

Les champignons entomopathogènes appartiennent aux sous-divisions *Mastigomycotina*, *Zygomycotina* (*Entomophthorales*), *Ascomycotina* (*Clavicipitales*) et *Deuteromycotina* (Hyphomycètes). Les espèces qui infectent les criquets font partie des 3 dernières sous-divisions. La sous-division des *Deuteromycotina* regroupe les champignons dont on ne connaît pas la reproduction sexuée (*fungi imperfecti* ou champignons imparfaits) et les formes asexuées (anamorphes). Les deux genres les mieux connus et qui infectent les criquets sont *Metarhizium* et *Beauveria* (Greathead et al., 1994).

I.2.2. Systématique

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

- Règne : Fungi.
- Phylum : Ascomycota. .
- Classe : Sordariomyceta.
- Famille : Cordicipitaceae. -
- Genre: *Beauveria*.
- Espèce : *B.bassiana* (Bals.-Criv.) (Vuil., 1912).

Tandis que le *Metarhizium anisopliae* présente la classification suivante :

- Règne : Fungi.
- Phylum : Ascomycota. .
- Classe : Sordariomyceta.
- Famille : Claviceptaceae -
- Genre: *Metarhizium*
- Espèce : *M. anisopliae* (Metschn.) Sorokin, 1883.

I.2.3. Identification

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

I.2.4. Morphologie

Beauveria 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 infecté est recouvert d’une importante couche de mycélium blanc, évoquant de la neige (Greathead et al., 1994).

Les espèces de *Beauveria* produisent des colonies cotonneuses blanches à jaunâtre. Les conidies ou spores sont soutenues par de longs filaments en zigzag qui sont des hyphes transparents et septaux avec un diamètre de 2,5 à 25 μm (Weiser, 1972). Les conidies sont produites sur des épis courts, donnant aux cellules conidiogènes un aspect épineux. En présence d’air, le champignon produit des conidiospores de forme sphérique (1- 4 μm de diamètre) ou ovales (1,55-5,5 x 1-3 μm) mais en milieu anaérobie, il produit des blastospores de forme ovale (2-3 μm de diamètre et 7 μm de longueur). Les blastospores sont aussi infectieux que les conidies (Lipa, 1975 ; Barnett et Hunter, 1998).

Metarhizium infecte une large gamme d’insectes et provoque la maladie de la “muscardine verte”. L’espèce la plus souvent mentionnée dans la littérature est *Metarhizium anisopliae*.

Cependant, les descriptions de *M. anisopliae* infectant les criquets le rapprochent plutôt de *M. flavoviride*, espèce très virulente pour la plupart des acridiens, y compris le criquet pèlerin et le criquet migrateur. On distingue *Metarhizium anisopliae* et *M. flavoviride* par la forme des spores. Celles de *M. anisopliae* sont allongées avec des côtés parallèles, tandis que celles de *M. flavoviride* sont ovales. Elles mesurent 6 μm de longueur pour 2 à 3 μm de diamètre (Greathead et al., 1994) (fig.3).

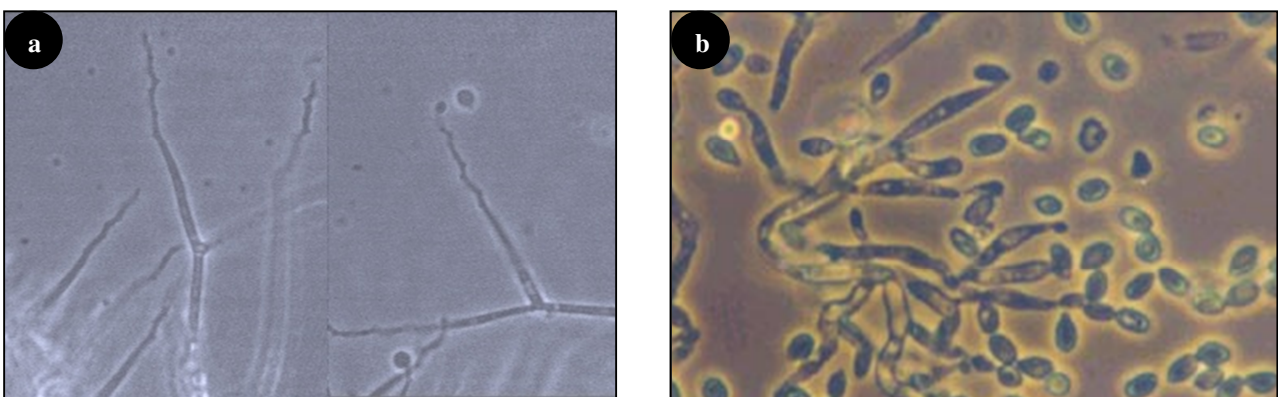


Fig. 3 :Hyphes, mycéliums et spores de *Beauveria bassiana* (a) et *Metarhizium anisopliae* (b)
(Kouassi, 2001)

I.2.5. Mode d'infection

Le mode d'infection des microchampignons entomopathogènes 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. 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 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. L'avant dernière phase est la différenciation, caractérisée par la production d'appressoria, 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. Une cuticule nutritive va stimuler la croissance myceliale plutôt que la pénétration. La dernière phase est la pénétration de l'hôte qui se fait par la combinaison de pression mécanique et enzymatique telles que les lipases, les protéases et les chitinases, la plus importante dans la pénétration étant les protéases. Certaines souches chez le genre *Beauveria* produisent des toxines non enzymatiques telles que la beauvericine, les beauverolides, les bassianolides, les isarolides qui accentuent et accélèrent le processus d'infection.

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. La pathogénécité de l'inoculum sporal et la spécificité de l'hôte sont deux paramètres importants dans le choix de l'isolat fongique. Les microchampignons entomopathogènes sont des agents de lutte très intéressants du fait de leur aptitude à infecter l'hôte par ingestion ou par simple contact rendant tous les stades, œuf, larve et adulte sensibles (Kouassi, 2001).

I.2.6. Isolement, culture et conservation

Si le cadavre d'un criquet est couvert de spores, l'isolement du champignon est assez simple. Cependant, il faut travailler avec grand soin, en conditions aussi stériles que possible pour éviter la prolifération des bactéries et des champignons saprophytes. Pour empêcher ces derniers de polluer le milieu, il faudrait utiliser des milieux sélectifs aux champignons pathogènes, comme le milieu de Veen. On transférera quelques spores sur le milieu de culture qui sera mis à incuber à une température de 25 à 30°C.

Quand le champignon se trouve à l'intérieur du cadavre, il faut stériliser l'extérieur du criquet en le trempant pendant 3 à 4 minutes dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5 %. Ensuite, l'insecte est rincé trois fois dans de l'eau distillée et stérilisé en changeant l'eau à chaque fois. La dissection du criquet se fait avec des instruments stériles. Un peu du contenu du corps est étalé avec une boucle métallique sur un milieu sélectif et mis à incuber entre 25 et 30°C.

Les cultures doivent être examinées tous les jours. Les colonies individuelles sont transférées sur un milieu nutritif comme le milieu de Molisch. Cette procédure doit être répétée en cas de contamination car les colonies de saprophytes, comme les *Penicillium* et les *Aspergillus*, se développent très vite et peuvent remplir une boîte de Pétri en quelques jours. Une fois qu'on a obtenu une culture pure, on prépare des milieux gélosés inclinés dans de petites bouteilles qui peuvent être fermées hermétiquement et on yensemence un peu de champignon.

La plupart des Hyphomycètes entomopathogènes peuvent facilement être cultivés sur des milieux simples, comme du riz cuit ou même dans un milieu liquide contenant du sucre et de la levure de brasserie.

Les cultures de champignons peuvent être maintenues en les transférant de temps en temps sur des milieux fraîchement préparés. Cependant, selon les souches, les champignons entomopathogènes perdent leur pathogénicité après un certain nombre de transferts. Il est donc conseillé d'isoler à nouveau une souche après deux ou trois transferts sur des insectes vivants. Sinon, on peut prolonger sa survie à 1 an en cultivant la souche sur un milieu nutritif (agar avec pomme de terre et carotte ou agar avec pomme de terre et dextrose dilué à un cinquième du normal) dans des bouteilles fermées hermétiquement. Une submersion dans l'huile de paraffine (qualité médicale) prolonge même la survie à 5 ans. Pour une conservation de plus longue durée, on a recours à la lyophilisation et à l'azote liquide (Barson et al., 1994 ; Regnault, 2002).

I.2.7. Formulation

La formulation de suspensions huileuses UBV (Ultra Bas Volume) de conidies des deutéromycètes des genres *Beauveria* et *Metarhizium* est relativement facile et offrent des possibilités d'application en conditions sèches. De plus, les huiles s'attachent aux exocuticules des insectes, elles s'y étalent facilement et peuvent ainsi aider le transport des conidies vers les membranes intersegmentaires vulnérables et à la pénétration ultérieure des hyphes (Prior et al., 1988 ; Auld, 1991).

Chapitre II
Matériel et méthodes

II.1. Matériel biologique

II.1.1. Les criquets

Nos essais ont porté sur des œufs, des larves et des imagos de criquet pèlerin *S. gregaria* provenant d'un élevage permanent maintenu au niveau du département de lutte anti-acridienne de l'Institut National de Protection des Végétaux d'El Harrach.

❖ Elevage des criquets

L'élevage des insectes est réalisé dans une cage parallélépipédique en bois de dimension : 121x45x77cm, grillagée sur les deux cotés et de l'avant pour l'aération. Elle est munie d'une porte coulissante en plexiglas et de deux fermetures pour faciliter le nettoyage, le renouvellement de la nourriture et la vérification des pondoirs. Ces derniers se trouvent dans les ouvertures à la base de la cage. Ils sont remplis de sable stérilisé et humidifié pour que les femelles puissent déposer leurs oothèques. L'élevage est réalisé à une température de $30\pm 5^{\circ}\text{C}$ sous un régime photopériodique de 12 heures de lumière et 12 heures d'obscurité et une humidité relative de 50 à 60%. Quant à l'alimentation, elle est à base de gazon, et un complément de son de blé.

Les pondoirs contenant les pontes sont récupérés et remplacés par d'autres pondoirs. Ils sont recouverts d'une toile moustiquaire pour l'aération et troués à la base pour permettre l'infiltration d'eau en cas d'excès afin d'éviter le risque de la pourriture des œufs. Chaque pondoir porte les indications nécessaires telles que la date de la ponte. Et ils sont mis dans une étuve réglée à 30°C . Le contrôle de ces pondoirs se fait quotidiennement pour la vérification de l'humidité du sable et les éclosions des œufs, afin d'éviter le dessèchement des œufs et la mort des larves néonates. Ces dernières sont récupérées et mises dans des cages réservées à l'élevage des larves avec les dimensions : 50x34x35 cm, de forme parallélépipédique en bois, recouvertes d'un tulle moustiquaire à petites mailles, avec une fermeture.

II.1.2. Les champignons entomopathogènes

II.1.2.1. *Beauveria bassiana*

La souche de *Beauveria bassiana* a été isolée à partir d'un apoïde qui a été trouvé au niveau du marais de Réghaia le 16 avril 2003 (36 46N 03 20E). L'isolement et l'identification de la souche ont été effectués au département de botanique de l'Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'EL-Harrach en se basant sur la clé dichotomique de Tkacz et Lange (2004).

II.1.2.2. *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*

La souche de *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (code IMI: 330189) retrouvée sur *Ornithacris cavroisi* (Finot, 1907) au Niger s'est avérée la plus virulente (Zakaria et Sagnia, 2003). Cette souche a été obtenue du département de lutte antiacridienne de l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV) d'El Harrach, sous forme d'un biopesticide appelé « Green Muscle » formulé en concentration huileuse de spores.

II.2. Matériel et produits utilisés (voir annexe)

II.3. Méthodes

II.3.1 Isolement des champignons

Avant l'utilisation des deux champignons il faut tous d'abord les isoler. *Beauveria bassiana* est isolé à partir d'un criquet pèlerin infecté par celui-ci en provenance de Zaouiet Kounta wilaya d'Adrar localisé au sud ouest d'Alger (27°14'N 0°12'O). Nous transférons quelques spores sur un milieu de culture spécifique.

Quant à la souche de *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*, elle a obtenu à partir d'un produit commercialisé un biopesticide nommé «Green Muscle» selon les étapes suivantes :

- Centrifugation de la suspension huileuse en spores de biopesticide afin d'éliminer le gasoil et les huiles pour obtenir une précipitation d'une masse en spores à la base des tubes.
- A partir des tubes centrifugés on prélève des spores à l'aide d'une pipette Pasteur. On ensemence sur le milieu gélosé Sabouraud sous une hotte à proximité d'un bec Bunzen.

II.3.2 La multiplication des champignons

Afin d'obtenir des souches fongiques pures pour nos deux cryptogames, nous avons procédé comme suit :

- Un milieu de culture spécifique à la croissance des champignons est utilisé le milieu gélose Sabouraud (annexe) en provenance de l'institut Pasteur,
- Liquéfier le milieu de culture dans un bain Marie,
- Couler le milieu dans des boîtes de Pétri en plastique,
- Après refroidissement et solidification, les boîtes de Pétri sont ensemencés par les 2 champignons et sont mises à incuber à la température de laboratoire ($20 \pm 1^\circ\text{C}$).

Toutes ces étapes sont effectuées dans un milieu stérile, à proximité d'un bec Bunzen sous une hotte, pour éviter toute contamination.

II.3.3 Préparation de l'inoculum

Nous découpons de petits fragments d'une culture âgée de 15 à 20 jours des deux champignons et nous les déposons séparément dans des flacons contenant 50ml d'eau distillée stérile. Pour assurer une libération maximale des spores, on agite cette suspension pendant 10 minutes. Ensuite, ce dernier est filtré par une gaze afin de prélever les fragments du milieu de culture.

II.3.4. Comptage des spores et détermination des concentrations

Le comptage des spores est réalisé à l'aide d'une cellule de Malassez, sous un microscope optique. Une goutte de la solution d'entomopathogène est déposée au centre de cette cellule et on la recouvre d'une lamelle en évitant la formation de bulles d'air.

Le principe de cette technique consiste à compter le nombre des spores existant dans les 10 carreaux constituant les deux diagonales de la cellule, et on fait la somme afin de déterminer la concentration de la solution mère est déterminé à partir de la relation de Guiraud (1998) suivante :

$$X = N \cdot 1/V \cdot 1/D$$

X : Concentration de la solution mère

N : nombre moyen des spores par petit carré

V : volume du petit carré

D : dilution

Une fois qu'on a calculé la concentration de la solution mère, on déduit les autres concentrations qu'on veut obtenir à l'aide de la loi d'équilibre :

$$C1.V1 = C2.V2$$

C1 : Concentration de la solution mère.

V1 : Volume de la solution mère.

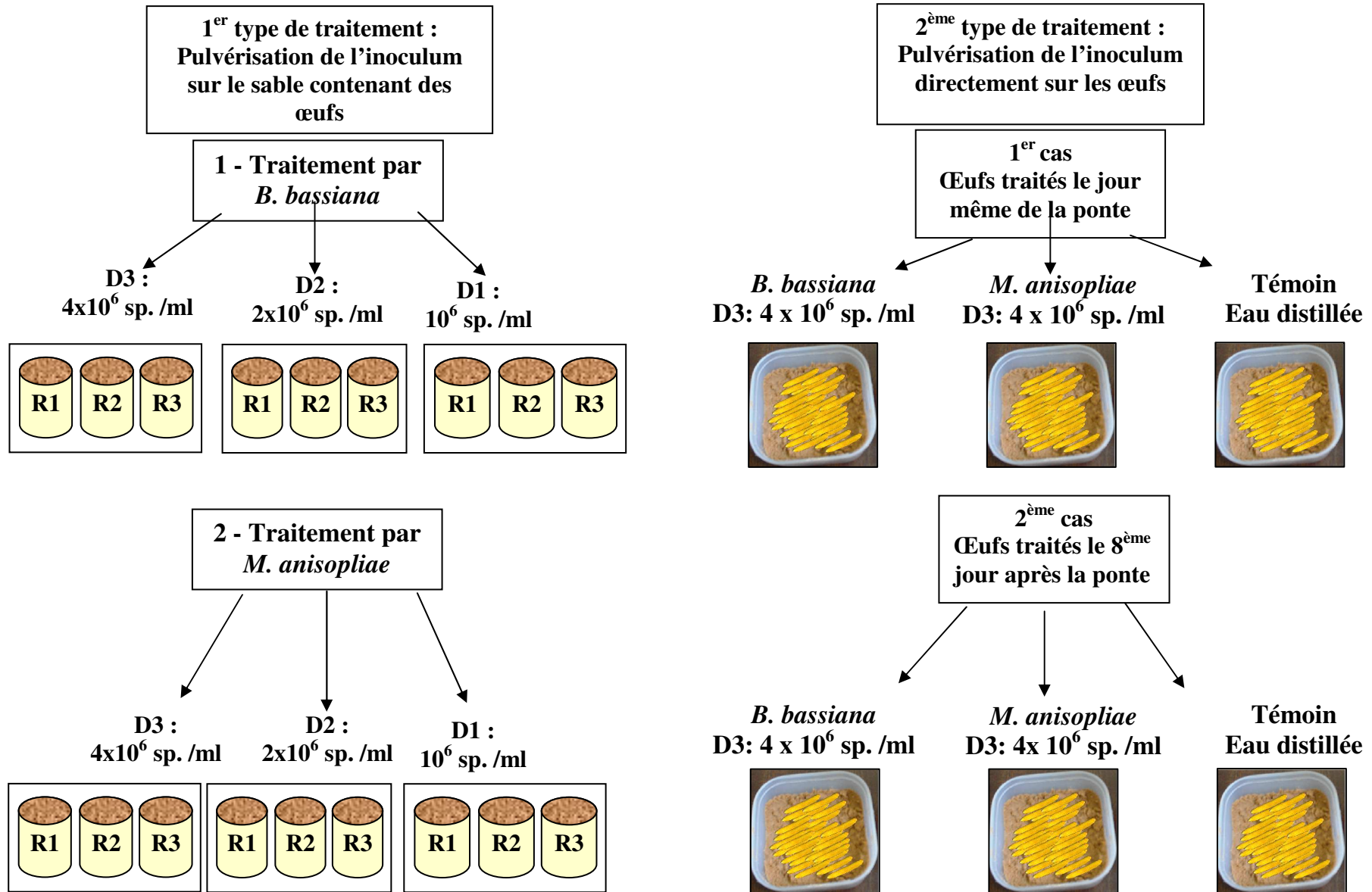
C2 : Concentration choisie.

V2 : Volume d'eau distillée pour obtenir **C2**.

II.3.5 Etude de l'effet du *M. anisopliae* et de *B. bassiana* sur l'éclosion des œufs et la mortalité des 5 stades larvaires et des imagos de *S. gregaria*

II.3.5.1 Effet des deux entomopathogènes sur l'éclosion des œufs de *S. gregaria*

Pour tester l'effet de *B. bassiana* et *M. anisopliae* var. *acridum* sur les œufs de criquet pèlerin, nous avons choisi 3 doses de traitement avec un témoin. Pour chaque dose, nous avons fait 3 répétitions, et nous avons effectué 2 types de traitement (Fig. 4) :



Soit R1, R2 et R3 : 1^{er}, 2^{ème} et 3^{ème} répétition

Fig. 4 : Protocole expérimental utilisé dans l'étude de l'effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur l'éclosion des œufs de *S. gregaria*.

➤ **1^{er} type : Traitement par pulvérisation de l'inoculum sur le sable**

Dans ce cas, nous avons utilisé 9 bacs. Dans chacun, nous plaçons 30 œufs. Les doses utilisées sont obtenues par la dilution de la solution mère des deux champignons. Dans ce traitement pour les deux entomopathogènes, nous avons choisi les concentrations suivantes :

D3: 4×10^6 spores/ml, D2: 2×10^6 spores/ml, D1: 10^6 spores/ml.

➤ **2^{ème} type : Traitement par pulvérisation de l'inoculum sur les œufs directement**

Pour cette expérience, nous avons pulvérisé l'inoculum directement sur les œufs et nous avons étudié deux cas :

• **1^{er} cas : Les œufs traités le jour même de la ponte**

Dans ce test, nous avons utilisé 9 bacs, dans chacun sont mis 30 œufs prélevés le jour même de la ponte, dont : 3 traités par *B. bassiana*, 3 traités par *M. anisopliae*, 3 témoins traités par l'eau distillée. Pour les deux champignons nous avons utilisé la forte dose : 4×10^6 sp./ml.

• **2^{ème} cas : Les œufs traités le 8^{ème} jour après la ponte**

Dans ce cas, nous avons utilisé 9 bacs. Dans chacun sont placés 30 œufs, dont 3 bacs pour le témoin, 3 traités par *B. bassiana* (4×10^6 sp./ml) et 3 traités par *M. anisopliae* (4×10^6 sp./ml). Pendant la durée d'incubation des œufs, nous avons contrôlé quotidiennement les bacs pour compter le nombre des larves éclos.

II.3.5.2 Effet des deux entomopathogènes sur la mortalité des larves et imagos de *S.gregaria*

II.3.5.2.1 Comptage des mortalités observées pour les 5 stades larvaires et les imagos

Pour déterminer les taux de mortalité, chaque jour, on fait le comptage des individus morts pour les 5 stades larvaires et les imagos aussi bien dans les séries traitées que chez les séries témoins jusqu'à ce que tous les individus traités meurent.

II.3.5.2.2 Correction de la mortalité

Le pourcentage de la mortalité observée chez les cinq stades larvaires est obtenu par la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée (\%)} = \frac{\text{Nombre d'individus morts} \times 100}{\text{Nombre total des individus}}$$

La mortalité observée est ensuite corrigée par la formule d'Abbot (1925)

$$M_c = \frac{M_2 - M_1}{100 - M_1} \times 100$$

M1 : pourcentage de mortalité dans la série témoin.

M2 : pourcentage de mortalité dans la série traitée.

Mc : pourcentage de mortalité corrigée.

II.3.5.2.3 Calcul de TL50 et DL50

Le TL50 c'est le temps nécessaire pour tuer la moitié d'une population donnée. La DL₅₀ c'est la dose létale qui donne 50% de mortalité. Pour calculer les TL₅₀ et DL₅₀, nous avons tout d'abord transformé les valeurs des pourcentages de mortalité en probits par la table donnée par BLISS in Cavelier (1976) et les temps (TL₅₀) ou les doses (DL₅₀) en logarithmes décimaux pour obtenir ainsi des droites de régression qui présentent l'équation de type :

$$Y = ax + b$$

Y : probit de mortalité corrigée.

x : logarithme décimale du temps.

a : pente de la droite qui se calcule par la formule suivante :

$$a = \frac{\sum (\bar{x} - x) (\bar{Y} - Y)}{\sum (\bar{x} - x)^2}$$

A partir de ces équations, on calcule les TL₅₀ et la DL₅₀ en remplaçant Y par le probit de 50 qui est égal à 5. Ils peuvent être également déterminés graphiquement en recherchant l'abscisse du point correspondant au probit 5.

II.3.6. Etude de l'effet de deux champignons sur l'évolution pondérale, la durée du développement et l'activité alimentaire des larves L5 de *S. gregaria*

❖ Protocole expérimental

Afin de réaliser cette étude, nous avons pris 90 larves L5 futures femelles venant de muer pour les deux entomopathogènes et le témoin (eau distillée). Pour chaque produit, nous avons effectué 3 répétitions. Dans chaque répétition, nous avons réservé à chaque produit une boîte de dimensions : 37x18,5x12 cm contenant 10 larves. Celles-ci vont être mises à jeuner pendant 24h afin de leur permettre de vider leur tube digestif et d'augmenter leur appétit.

Après 24h, nous avons marqué chaque larve au niveau de thorax par du vernis à ongles, puis donné à ces 10 larves 30g de gazon. Pour la mesure de l'effet ingestion, le gazon est pulvérisé séparément par les 2 champignons et l'eau distillé pour le témoin.

II.3.6.1. Effet sur l'évolution pondérale et le gain du poids

Chaque jour, les larves L5 mises dans les différentes boîtes témoins et traitées avec les deux entomopathogènes ont été pesées individuellement jusqu'à la mue imaginale ou la mort de l'individu afin de calculer la moyenne pondérale quotidienne et le gain du poids des larves L5 par une balance de précision (0,0001g). Ce dernier est exprimé par la différence entre le poids de l'insecte au dernier jour et son poids au premier jour.

II.3.6.2. Effet sur la durée du développement

Pour étudier ce paramètre, les larves L5 témoins et traitées aux deux champignons ont été suivies dès leur émergence jusqu'à la mue imaginale pour celles qui ont réussi à l'effectuer. Nous avons noté la durée moyenne de développement entre le stade L5 et l'imago.

II.3.6.3. Effet sur l'activité alimentaire

Le reste du végétal non consommé est récupéré quotidiennement avec les fèces déposées par les 10 larves L5 témoins et les 10 larves L5 traitées. Ils sont emballés dans du papier aluminium portant le nom du produit et le jour de leur récupération. Ils sont ensuite séchés dans une étuve réglée à 100°C pendant 24h afin d'obtenir un poids sec. Trois quantités de 30g du gazon sont aussi séchées afin de connaître leur poids sec et pour déduire la quantité moyenne sèche du végétal donné aux insectes. La pesée des fèces et du végétal a été effectuée à l'aide d'une balance de précision (0,0001g) après les avoir récupérés de l'étuve. Ils sont ensuite placés dans un dessiccateur pour l'humidification. Les fèces et le végétal ont été emballés dans du papier aluminium.

II.3.6.4. Effet sur la consommation journalière des larves L5

Les pesées faites sur la matière sèche d'aliment qui reste et sur les fèces de chaque lot de 10 larves mises dans chaque boîte, nous a permis de calculer :

II.3.6.4.1. Effet sur l'ingesta : c'est la différence entre la quantité de la matière sèche de l'aliment distribué chaque jour et celle du reste de l'aliment récupéré après 24h pour les 10 larves de chaque boîte de traitement.

II.3.6.4.2. Effet sur l'egesta : c'est le poids sec des fèces des 10 larves mises dans chaque boîte de traitement.

II.3.6.5. Effet sur les indices nutritionnels de consommation et d'utilisation de la nourriture

L'objectif de ce paramètre est la connaissance de l'impact de nos deux entomopathogènes sur la consommation, l'assimilation et la digestibilité de la nourriture ainsi que la transformation de cette dernière en matière corporelle chez les larves L5 de *S.gregaria*. Dans le but d'évaluer l'impact des deux champignons sur l'assimilation et la digestibilité de la nourriture ainsi que la transformation de cette dernière en matière corporelle, nous avons utilisé les indices nutritionnels donnés par Waldbauer (1968) et qui sont :

a) Indice de consommation (I.C.)

Il s'exprime par le rapport entre le poids de la nourriture ingérée et celui de l'animal au cours de 24 heures.

$$\text{I.C.} = \frac{\text{Poids de la nourriture ingérée}}{\text{Poids moyen de l'animal}}$$

b) Indice de croissance (I.Cr.)

Il est appelé aussi indice de croissance relative et il est exprimé par le rapport du gain de poids sur le poids moyen de l'animal.

$$\text{I.Cr.} = \frac{\text{Gain du poids}}{\text{Poids moyen de l'animal}}$$

c) Pourcentage d'efficacité de conversion de la nourriture ingérée (E.C.I.%)

Elle est définie par le rapport entre l'accroissement du poids de l'animal en 24 h et le poids de la nourriture ingérée au cours du même laps de temps. Ce rapport est multiplié par 100.

$$\text{E.C.I.} = \frac{\text{Gain du poids}}{\text{Poids de la nourriture ingérée}} \times 100$$

d) Pourcentage d'efficacité de conversion de la nourriture digérée (E.C.D. %)

Cet indice est appelé également indice d'assimilation de la nourriture digérée. Il est défini par le rapport entre l'accroissement du poids de l'animal et le poids de la nourriture retenue au cours de la digestion en un temps donné. Ce rapport est multiplié par 100.

$$\text{E.C.D.} = \frac{\text{Gain du poids}}{\text{Ingera} - \text{Egesta}} \times 100$$

e) Pourcentage du coefficient d'utilisation digestif (C.U.D. %)

Il est appelé aussi coefficient approximatif de digestibilité et il est défini par le rapport de la différence entre les poids des ingera et des egesta, sur le poids des ingera. Ce rapport est multiplié par 100.

$$\text{C.U.D.} = \frac{\text{Ingera} - \text{Egesta}}{\text{Ingera}} \times 100$$

II.3.7 Etude de l'effet des deux biopesticides sur l'hémolymphe des larves L5 de *S.gregaria***II.3.7.1 Effet sur l'hémogramme des larves L5 de *S. gregaria***

Pour réaliser cette étude, 15 larves L5 sont utilisées pour chaque traitement, parmi lesquels 5 témoins ont été pulvérisés de l'eau distillée, 5 traitées par *B. bassiana* et les 5 autres sont traitées par *M. anisopliae* var. *acidum*. Les doses utilisées pour cette étude sont les DL50 citées dans l'étude précédente. Les individus sont mis dans des cages isolées.

Le frottis sanguin est réalisé 3 jours après le traitement. D'après Guzo et Stoltz (1987), le frottis sanguin se réalise de la manière suivante :

- Prélever 5µl d'hémolymphe fraîche au moyen d'une micropipette graduée suite à une incision entre la patte postérieure et le thorax,
- Etaler une couche mince de ce volume à l'aide d'une autre lame, puis faire sécher la lame à l'air,
- Après séchage, déposer 20 gouttes de May- Grunwald dilué et laisser reposer pendant 3 minutes, ajouter quelques gouttes d'eau distillée et laisser pendant 1 mn,
- Enlever l'excès du colorant par rinçage à l'eau courante,
- Ajouter 40 gouttes de Giemsa et laisser pendant 10 mn, puis rincer la lame à l'eau courante,

- Laisser sécher la lame à l'air libre. Après séchage, faire un montage entre lame et lamelle en appliquant une fine couche du liquide de Faure aux extrémités de la lamelle, qui sera collée sur la lame puis laisser sécher.

Le comptage des différents types d'hémocytes se fait sous microscope optique à l'aide d'un compteur manuel.

II.3.7.2 Effet sur les protéines hémolympathiques des larves L5 de *S. gregaria*

Cette étude a pour but de tester l'effet de ces deux cryptogames sur les protéines hémolympathiques des larves L5 de *S. gregaria*, en prenant en considération l'étude quantitative et qualitative de ces protéines.

❖ Protocol expérimental

Pour réaliser ce test, nous avons pris 60 larves L5 futures femelles venant de muer, dont 30 réservées à l'étude quantitative et 30 pour l'étude qualitative. Des lots de dix larves sont mis dans une boîte de dimension: 14x14x6cm. Chaque larve est marquée au niveau de thorax par un vernis à ongles. Nous avons traité ces dernières par les deux champignons et le témoin est traité à l'eau distillée.

L'étude quantitative des protéines hémolympathiques fait l'objet d'un prélèvement de l'hémolymphe le 1^{er}, 3^{ème}, 5^{ème}, 7^{ème} et 9^{ème} jour, tandis que l'étude qualitative est effectuée le 3^{ème}, 6^{ème} et le 9^{ème} jour du traitement pour chaque larve.

L'hémolymphe des criquets est recueillie à l'aide d'un tube capillaire en verre par ponction de l'abdomen après avoir introduit une aiguille au niveau du point d'insertion du fémur au niveau de l'abdomen. Environ 10µl d'hémolymphe par insecte sont recueillis dans des tubes Eppendorf dans lesquels sont ajoutés quelques cristaux de phénylthiourée afin d'éviter l'activité des phénoloxydases.

L'hémolymphe recueillie est déposée dans des microtubes Eppendorf portant des étiquettes, où sont mentionnés le produit et le jour de prélèvement. Ces derniers seront centrifugés à 3000tr/mn pendant 20 mn et conservés au congélateur à -20°C jusqu'à leur utilisation.

II.3.7.2.1. Dosage quantitatif des protéines

La quantification des protéines contenues dans l'hémolymphe des insectes témoins et traités avec les deux champignons entomopathogènes est réalisée selon la méthode de Bradford (1976). Cette méthode colorimétrique est basée sur l'adsorption du colorant bleu de

Coomassie G250 sur les protéines. L'intensité de coloration est directement proportionnelle à la quantité de protéines présente dans la solution. L'absorbance est mesurée à 595 nm, une gamme étalon est réalisée avec de la protéine standard BSA.

Le réactif de Bradford, prend une teinte bleue quand il est lié aux protéines, il possède un coefficient d'extinction molaire de 595 nm. La préparation de ce réactif se fait comme suit:

❖ **Solutions à préparer :**

➤ **Réactif de Bradford :** Il se prépare comme suit :

- ✓ Bleu de Coomassie G-250 → 100 mg
- ✓ Ethanol 95° → 50 ml
- ✓ Acide orthophosphorique → (85%) 100 ml
- ✓ Compléter le volume à 1 litre par de l'eau distillée.

A noter que la préparation de ce réactif doit être effectuée dans un flacon marron foncé enveloppé avec du papier aluminium pour éviter sa détérioration suite à son contact avec la lumière.

➤ **Solutions à analyser :**

Dès leur sortie du congélateur, on complète chaque échantillon par 100ml d'eau distillée, puis on les agite à l'aide d'un vortex.

➤ **Solutions étalons de protéines :**

Les solutions de la gamme étalon sont préparées à partir d'une solution mère de sérumalbumine bovine (BSA) à 1% (1 g de BSA dans 100 ml d'eau distillée). A partir d'une solution mère de 1 µg/µl, nous avons préparé les solutions diluées de concentrations croissantes : 20, 40, 60, 80 et 100 µg/µl, afin de réaliser la courbe de référence.

❖ **Réaction colorée :**

Dans des tubes à essais numérotés de 1 à 7 pour les solutions étalons de BSA, et les autres tubes contenant les échantillons à analyser et portant toutes les indications nécessaires tels que le produit, le type de traitement et le jour de prélèvement, le réactif de Bradford est ajouté selon les indications du tableau 1.

Ensuite, les tubes des différentes solutions sont incubés à une température ambiante pendant 5mn à l'obscurité avant la lecture des absorbances.

Tableau 1 : Préparation des solutions de la gamme étalon et les échantillons.

BSA (µl)	0	4	10	20	30	40	50	Echantillons (10 µl)
Eau distillée (ml)	1,6	1,596	1,59	1,58	1,57	1,56	1,55	1,58
Réactif de Bradford (µl)	400	400	400	400	400	400	400	400

❖ Lecture des absorbances :

La lecture des densités optiques est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre mini 1240 SHIMADZU U.V. à 530 nm après l'avoir étalonné avec le témoin, en utilisant une cuve de 1cm d'épaisseur. Nous avons commencé par la Gamme étalon (BSA), pour l'établissement de la courbe de référence, en suivant les étapes suivantes :

- Prendre la cuve du spectrophotomètre et la remplir avec les solutions de la BSA, une par une, en commençant par la faible concentration jusqu'à la forte concentration. La cuve doit être remplie au moins au 2/3.
- Avant de faire passer les solutions à analyser, on doit les agiter à l'aide d'un vortex, dans le but de les homogénéiser.
- Pendant l'analyse des solutions de la BSA à travers le spectrophotomètre, il faut après chaque passage de chaque solution, vider le contenu de la cuve et la rincer avec un peu de la solution qui suit et qui va être mise à analyser.
- Puis il faut tracer la courbe de référence, qui exprime les densités optiques en fonction des concentrations du BSA.

Après l'établissement de la courbe de référence, il faut analyser les échantillons en suivant les mêmes étapes que précédemment. Dans ce cas, les cuves vont être rincées avec de l'eau distillée après les avoir vidées de leur contenu, après le passage de chaque échantillon.

Les densités optiques obtenues pour ces échantillons vont permettre de déduire les concentrations des protéines à partir de la courbe de référence.

II.3.7.2.2 Dosage qualitatif des protéines

Lors de l'électrophorèse en gel filtrant, les protéines sont séparées selon leur poids moléculaire et leur charge électrique selon la technique de Leammli (1970). Le polyacrylamide-dodécyl sulfate de sodium, agent dénaturant, permet de neutraliser les charges protéiques et d'éliminer l'influence de la configuration spatiale des protéines. La migration s'effectue ainsi sous l'action du poids moléculaire seulement. La séparation des protéines est

réalisée dans un gel de degré de polymérisation fixe sous l'effet d'un champ électrique. Les protéines occupent après leur migration des emplacements variés. Il est alors possible de les fixer et de les colorer (Kamoun, 1977).

La technique d'électrophorèse est réalisée avec un appareil type Pharmacia (plaques : 18 x 16) et un appareil type Mini-Protean II (plaques : (7 x 8)).

Confection des gels

Deux gels sont nécessaires à la technique d'électrophorèse (Tableau 2):

- Un gel de séparation dans lequel va s'effectuer la migration électrophorétique. La vitesse de migration des fractions protéiques n'étant que sous l'influence de leur poids moléculaire (présence du SDS).
- Un gel de concentration qui empile les fractions protéiques en couches serrées.

Tableau 2 : Les principaux constituants des gels de polyacrylamide en Tris SDS pour l'électrophorèse en conditions dénaturantes.

Composants	Gel de séparation		Gel de concentration à 5%
	7,5 %	10 %	
Acrylamide à 30%	5 ml	15 ml	1 ml
Tris	5 ml (pH=8,8)	12,5 ml	2,5 ml (pH=6,8)
Eau distillée	9,5 ml	22,5 ml	6,34 ml
SDS à 10%	100 µl	125 µl	100 µl
APS à 10%	100 µl	166 µl	50 µl
Temed	10 µl	33 µl	10 µl

Solution Acrylamide (30%) :

- Acrylamide : 30 g
- Bis-acrylamide : 0,8 g
- Eau distillée : 100 ml

Tampon gels

➤ Gel de séparation

Tris 3,5M (4,286g) + H₂O distillée (10 ml):

Ajuster pH à 8,8 avec HCl 1N

➤ **Gel de concentration (5%):**

Tris 0,5M (0,655g) + H₂O distillée (10 ml) :

Ajuster pH à 6,8 avec HCl 1N

➤ **Tampon échantillon**

- Tris 0,125M HCl pur pH=6,8 : 2,5 ml

- SDS 6% : 0,6 g

- Sucrose 20% : 2 g

- mercaptoéthanol 5% : 0,5 ml

- Eau distillée : 10 ml

➤ **Tampon électrophorèse:**

- Glycine : 36 g

- SDS : 2,5 g

- Eau distillée : 500 ml

Ajuster pH à 8,3 avec du Tris et ajouter 2000 ml de l'eau distillée.

❖ **Migration des protéines**

La migration des fractions protéiques est réalisée sous une tension constante de 120 Volts pour le gel de concentration puis 170 Volts pour le gel de séparation dans une solution tampon Tris-Glycine de pH=8,3 (Fine, 1981). Le bleu de bromophénol qui montre le front de migration est utilisé comme indicateur; Il permet d'arrêter la migration lorsqu'il atteint l'extrémité inférieure de la plaque.

❖ **Coloration des protéines:**

Après migration, les protéines sont colorées pendant 1 heure au bleu de Coomassie à 0,1% dans une solution (Acide acétique-méthanol). La révélation des bandes est obtenue par élimination de l'excès de colorant dans une solution de décoloration.

❖ **Ecoulement des gels et préparation des puits**

Après la préparation des gels et les différentes solutions nécessaires à l'électrophorèse, on passe à l'écoulement des gels, qui s'effectue entre deux plaques en verre. Ces dernières sont fixées dans une cuve métallique, à l'aide de l'agarose fondu.

Le gel de séparation est coulé en premier entre ces deux plaques à l'aide d'une seringue. On ajoute ensuite l'eau distillée en dessus et après la polymérisation de ce gel, on verse l'eau distillée. Le gel de concentration est déposé sur le premier gel ; ce dernier subit un rinçage à l'eau distillée. On attend jusqu'à la polymérisation de ce second gel et on verse l'eau.

Après l'écoulement du second gel, un peigne de 2 mm d'épaisseur est immédiatement introduit entre les deux plaques afin de créer les puits dans lesquels seront placés les différents échantillons. Ces puits sont au nombre de 20. Ensuite, on place les deux plaques dans le dispositif d'électrophorèse et bien les tenir avec des pinces.

❖ Préparation des échantillons

Dès leur sortie du congélateur, on ajoute à chaque quantité d'échantillon 100µl du tampon «sample buffer». Le mélange est déposé dans un bain Marie thermostaté réglé à 100°C pendant 5 mn. Après refroidissement, on dépose à l'aide d'une micro seringue 20 µl de chaque échantillon, ainsi que le mélange de protéine standard dans les puits préalablement formés.

❖ Conditions d'électrophorèse

Le dispositif d'électrophorèse avec tous les dépôts des PM et des échantillons sont reliés à un générateur du type EV243. La migration est faite à 400 Volts et une intensité de 150 Ampères pendant 25 minutes pour le gel de concentration, puis 124 V et 16 nA pendant 7 heures pour le gel de séparation. Pendant ces étapes, le tampon de migration (Tris-SDS-glycine) est rajouté. L'électrophorèse est arrêtée une fois que le front de migration atteint 1cm du bas du gel.

❖ Coloration des bandes protéiques

Après avoir retiré le gel des plaques, il est mis dans un 1^{er} colorant sous agitation pendant 1heure, puis il subit une 2^{ème} coloration sous agitation pendant 24 heures. Ensuite, le gel est décoloré et mis sous agitation pendant quelques heures. La solution de décoloration est renouvelée plusieurs fois jusqu'à l'appariation des bandes.

❖ Analyse des profils électrophorétiques

La migration des différentes bandes a été déterminée par le calcul du R_f (mobilité relative) de chacune d'elles selon la formule suivante :

$$R_f = \frac{\text{Distance parcourue par la bande}}{\text{Distance parcourue par le front de migration}}$$

Les différentes valeurs des R_f obtenues, nous permettent de représenter graphiquement les profils électrophorétiques de l'hémolymphe. Les bandes sont ensuite répertoriées visuellement selon deux critères : leur présence ou absence et leur intensité.

Ensuite, une courbe d'étalon exprimée en logarithmes décimaux du poids moléculaire standard en fonction de la mobilité relative a été tracé avec une protéine standard, marqueurs Promega dont les poids moléculaire sont : 200, 98, 68, 25, 24, 18,6, et 14,3 Kd (Anonyme, 2005b).

II.3.8 Effet des deux champignons sur la biochimie de la cuticule des L5 de *S.gregaria*

Des larves de cinquième stade mâles et femelles sont réparties en deux lots, témoins, pulvérisées par l'eau distillée et traitées à concentration de $31,74 \times 10^6$ sp/ml pour *M.anisopliae* var *acidum* et $89,40 \times 10^6$ sp./ml pour *B. bassiana* (DL_{50} déterminées pour le 5^{ème} stade). Ensuite, ces individus sont sacrifiés à différents temps : 24h, 72h, 144h et 196h. Le comportement des insectes ainsi que la durée du stade L5 sont notés quotidiennement.

II.3.8.1 Prélèvement de la cuticule

Les abdomens des insectes témoins et traités par les 2 champignons sont sectionnés du reste du corps, ainsi que leurs extrémités postérieures. A l'aide de pinces fines, on enlève tout ce qui est viscères, muscles et tissus adipeux. Les cuticules abdominales sont ensuite déposées entre deux feuilles de papier filtre pour enlever le reste des tissus pouvant adhérer à ces dernières.

II.3.8.2 Technique de détermination chitine-protéine

La technique sur laquelle on s'est basé pour déterminer la chitine-protéine est celle de Bordereau et Andersen (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 traitement par NaOH à 100°C pendant 2 heures, 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 2^{ème} fois à 60°C jusqu'à l'obtention d'un second poids sec constant P2.

Les pesées sont réalisées grâce à une balance de précision à 0,001mg.

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).

Taux de protéines = $[(P1 - P2) / P1] \times 100$.

Taux de chitine = $P2 / P1 \times 100$.

II.3.9 Etude de l'effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur l'histologie du chorion des œufs, du tégument et du tube digestif des L5 de *S.gregaria*

La technique sur laquelle on s'est basé pour faire nos coupes histologiques est celle de Martoja et Martoja-Pierson (1967).

Pour réaliser cette étude, deux modes de traitement ont été effectués : le premier est le traitement par contact direct ; ce dernier est choisi afin d'étudier l'action des 2 entomopathogènes sur la structure du chorion des œufs et de la cuticule de *S. gregaria*. Le deuxième mode de traitement est par ingestion ; ce dernier est utilisé pour étudier l'action des 2 champignons sur le tube digestif du criquet pèlerin.

Pour chaque mode de traitement, 3 lots ont été préparés contenant chacun 5 individus. Le premier lot et celui des traités au *M. anisopliae* ; le 2^{ème} lot et celui des traités au *B. bassiana* tandis que le 3^{ème} lot est réservé pour les témoins.

Dans le mode de traitement par contact, les individus du 1^{er} lot sont traités par une solution d'entomopathogène de *M. anisopliae*, ceux du 2^{ème} lot par le l'entomopathogène *B. bassiana*, et enfin le 3^{ème} lot des témoins est traité par l'eau distillée. Quant au mode de traitement par ingestion, les individus ont été mis à jeûner pendant 24h puis alimentés par les feuilles de blé traité à la DL50 de *M. anisopliae* pour le 1^{er} lot ; à la DL50 de *B. bassiana* pour le 2^{ème} lot et par l'eau distillée pour le 3^{ème} lot.

Quinze jours après traitement, les individus (témoins et traités) ont été sacrifiés et disséqués dans le liquide de Ringer. La technique histologique passe par les étapes suivantes :

II.3.9.1 Récupération et fixation des organes

Pour les œufs, on a récupéré 3 œufs de chaque lot après le 4^{ème}, le 8^{ème} et le 12^{ème} jour de traitement, ces derniers sont placés dans le liquide fixateur, le Bouin aqueux.

Concernant la cuticule, les larves de chaque lot de traitement par contact ont été récupérées ; puis sacrifiées et disséquées après cinq jours de traitement. L'abdomen est sectionné du reste du corps, ainsi que son extrémité postérieure. A l'aide de pinces fines, les

viscères sont prélevés, muscles et tissus adipeux. La cuticule abdominale est ensuite déposée entre deux feuilles de papier filtre pour enlever le reste des tissus pouvant adhérer à celle-ci puis placés dans des piluliers remplies de liquide fixateur.

Pour les tubes digestifs, ces derniers sont prélevés cinq jours après traitement. Les individus (témoins et traités) du lot de traitement par ingestion ont été sacrifiés et disséqués dans le liquide de Ringer, les intestins sont nettoyés et sectionnés à leurs deux extrémités puis immergés dans le fixateur, Bouin aqueux.

❖ Le Bouin Aqueux est constitué de :

- Acide picrique30ml
- Formol à 40%10ml
- Acide acétique cristallisable2ml

Le délai de fixation est de 24 heures. Après cette durée, les œufs sont mis dans l'alcool 70° en attente, jusqu'au 12^{ème} jour avant le passage à la 2^{ème} étape, qui est la déshydratation (Fig.5).

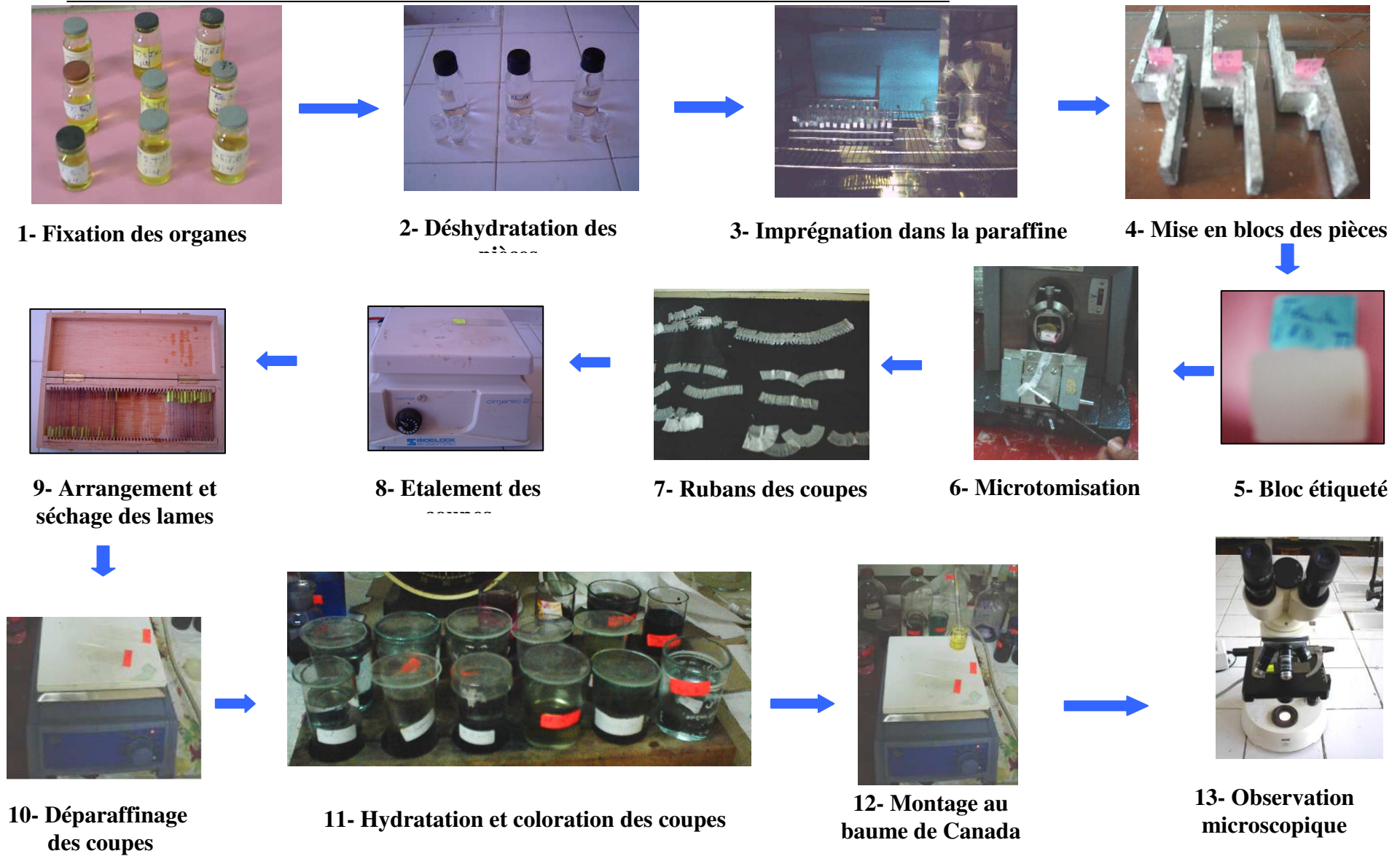


Fig. 5 - Les différentes étapes suivies pour la réalisation des coupes histologiques

II.3.9.2 Déshydratation des pièces

Cette étape a pour but d'éliminer totalement l'eau, et mettre fin à l'action du liquide fixateur. Elle consiste à passer les organes dans des bains d'alcool de concentration croissante (70°, 95°, 100°). Deux bains pour chaque alcool, et une ½ heure pour chaque bain. Puisque nous avons mis les organes dans l'alcool 70° comme un liquide d'attente, on va passer directement aux bains d'alcool 95°, et 100°. Ensuite ces derniers vont passer par les deux bains du butanol pendant 10 mn chacun.

II.3.9.3 Imprégnation et inclusion des organes

L'imprégnation se fait par un solvant à la paraffine, dans le but d'éliminer complètement les traces d'alcool et pour éviter le risque de ne pas avoir une pénétration complète de la paraffine à travers les différentes parties des pièces, car l'alcool et la paraffine ne constituent pas un mélange homogène. Le solvant le plus couramment utilisé est le butanol.

L'imprégnation des organes se fait à chaud dans les bains suivants :

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

L'inclusion et la mise en blocs de l'ensemble organe et paraffine est réalisée après avoir sorti l'organe du dernier bain de paraffine pure, et placé dans un moule constitué de deux barres de Leuckart correctement agencées sur une plaque de verre, et contenant la paraffine fondue pure. L'organe est introduit dans la paraffine et orienté transversalement. Ensuite, on complète le remplissage du moule avec la paraffine et avant sa solidification, on va mettre des étiquettes, où on mentionne toutes les informations sur la pièce. Les blocs obtenus permettent une conservation illimitée des échantillons à la température du laboratoire.

II.3.9.4 Confection et coulage des coupes

Les blocs sont taillés au scalpel jusqu'à l'élimination de l'excès de paraffine qui entoure l'organe. Il est recommandé de donner à la surface des coupes la forme d'un trapèze ou d'un rectangle.

Les coupes sont réalisées grâce au microtome (Américain optical corporation 820 SPENCER). L'épaisseur des coupes est de 7µm. Les rubans des coupes obtenus sont déposés sur des lames bien propres, portant des étiquettes, où sont mentionnés le mode de traitement et le type d'entomopathogène utilisé, et contenant une goutte d'eau gélatinée (0,3 g de

gélatine, 100ml d'eau distillée et un cristal de thymol, et les faire chauffer doucement, jusqu'à dissolution). Les lames sont placées sur une platine chauffante pour étaler les coupes. Le séchage des coupes s'effectue dans une étuve à 40°C, pendant au moins 24heures avant d'être colorées.

II.3.9.5 Déparaffinage, hydratation, coloration des coupes

Afin de réaliser ces techniques, nous nous sommes basés sur les étapes suivantes :

- Déposer les lames sur une platine chauffante afin de faire fondre la paraffine.
- Deux bains de 15mn chacun de toluène,
- Deux bains d'alcool absolu de 30mn chacun,
- Deux bains d'alcool 95° de 30mn chacun,
- Deux bains d'alcool 70° de 30mn chacun,
- Deux bains d'eau distillée de 5mn chacun pour l'hydratation des pièces,
- Coloration pendant 3 minutes par la solution de fuschine acide (1g de fuschine acide et 100ml d'eau distillée),
- Laver à l'eau distillée,
- Coloration des chorions des œufs et des tubes digestifs par la coloration topographique de Mallory (annexe) et la cuticule la coloration topographique polychrome à l'azan de Heidenhain (annexe).
- Rincer à l'eau distillée.

II.3.9.6 Déshydratation et montage des coupes

Avant de monter les coupes au baume de Canada, on va les déshydrater puis les placer dans un solvant du milieu de montage qui est le toluène, et la déshydratation se fait comme suit :

- Deux bains d'alcool 70° de 30mn chacun,
- Deux bains d'alcool 95° de 30mn chacun,
- Deux bains d'alcool absolu de 30mn chacun,
- Deux bains de 15mn chacun de toluène.

Placer la lame sur une platine chauffante, puis déposer une goutte de Baume de Canada sur la lame, près des coupes, ensuite on dépose la lamelle et on appuie faiblement sur cette dernière pour chasser l'excès de résines et les bulles d'air vers les bords.

Nettoyer 14es lames avec le toluène et le papier hygiénique, puis les mettre dans une étuve réglée à 40°C pendant 48 heures. La conservation des lames est illimitée.

II.3.9.7 Observation

Les observations des coupes sont réalisées à l'aide d'un microscope optique munis d'un objectif micrométrique.

II.3.10 Analyse statistique

Les résultats sont rapportés sous forme de moyennes \pm écarts types et comparées par le test two-way ANOVA (le logiciel XL. STAT version 6.0 - ANOVA- d'intervalle de confiance de 95%). Les différences entre les moyennes sont étudiées en utilisant le test de Newman et Keuls et sont considérées significatives à probabilité $<0,05$.

Chapitre III : Résultats

III.1. Effet du *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur l'éclosion des œufs et la mortalité des larves et des imagos de *S. gregaria*

III.1.1. Effet des deux entomopathogènes sur l'éclosion des œufs de *S.gregaria*

a. Traitement sur le sable

Les taux moyens d'éclosion des œufs de *S. gregaria* incubés dans le sable témoin et traité par les deux champignons entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* sont reportés dans les tableaux 3 et 4 (annexe) et illustrés par la figure 6.

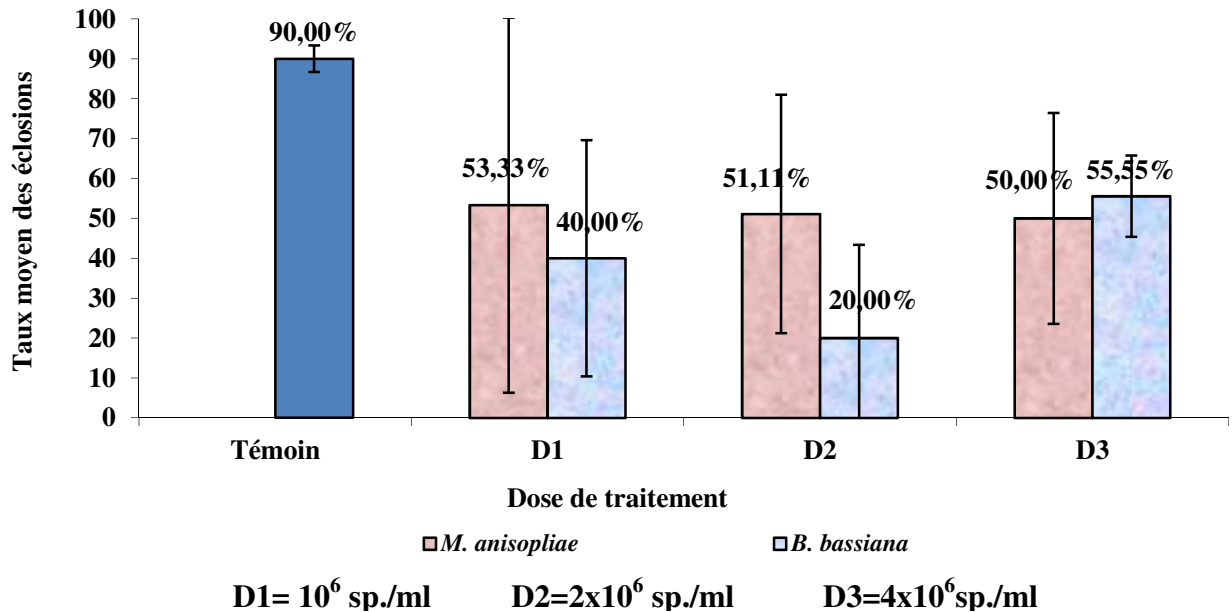


Fig.6 :Taux moyen d'éclosion des œufs de *S. gregaria* témoins et traités aux *B.bassiana* et *M. anisopliae* par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.

Nous constatons que les taux d'éclosion les plus élevés sont enregistrés sur le sable témoin avec 90% d'œufs éclos. Pour les doses D3 et D2, *M.anisopliae* donne les taux d'éclosion les plus élevés de 53,33 et 51,11% respectivement contre 40 et 20% pour le sable traité au *B. bassiana*. A la faible dose D1, le pourcentage d'éclosion le plus élevé pour *M.anisopliae*, cette fois ci, est obtenu sur le sable traité au *B.bassiana* avec 55,55%.

Pour donner une signification statistique à nos résultats, nous avons opté pour une analyse de la variance à un seul critère de classification qui est le facteur nature du traitement (témoin, *B.bassiana*, *M. anisopliae*), qui est portée sur les tableaux 5 et 6.

Tableau 5 : Effet de *B.bassiana* sur l'éclosion des œufs de *S. gregaria* par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P > F
Modèle	3	7869,556	2623,185	6,829	0,013
Résidus	8	3073,171	384,146		
Total	11	10942,726			

Le tableau 5 montre qu'il y a une différence significative entre les œufs témoins et ceux traités au *B. bassiana* (Probabilité < 0,05).

Tableau 6 : Effet de *M. anisopliae* sur l'éclosion des œufs de *S. gregaria* traités par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P> F
Modèle	3	3355,000	1118,333	1,173	0,379
Résidus	8	7629,148	953,644		
Total	11	10984,148			

D'après le tableau 6, on remarque que la probabilité est supérieure à 0,05, ce qui implique qu'il n'y a pas une différence significative entre les œufs témoins et traités au *M.anisopliae*.

b. Traitement directement sur les œufs

*** Œufs traités le jour même de la ponte**

Les résultats du traitement direct sur les œufs de *S. gregaria* le même jour de la ponte par *B.bassiana* et *M. anisopliae* (4×10^6 sp./ml) sont indiqués dans les tableaux 7 et 8 (annexe) et illustrés par la figure 7.

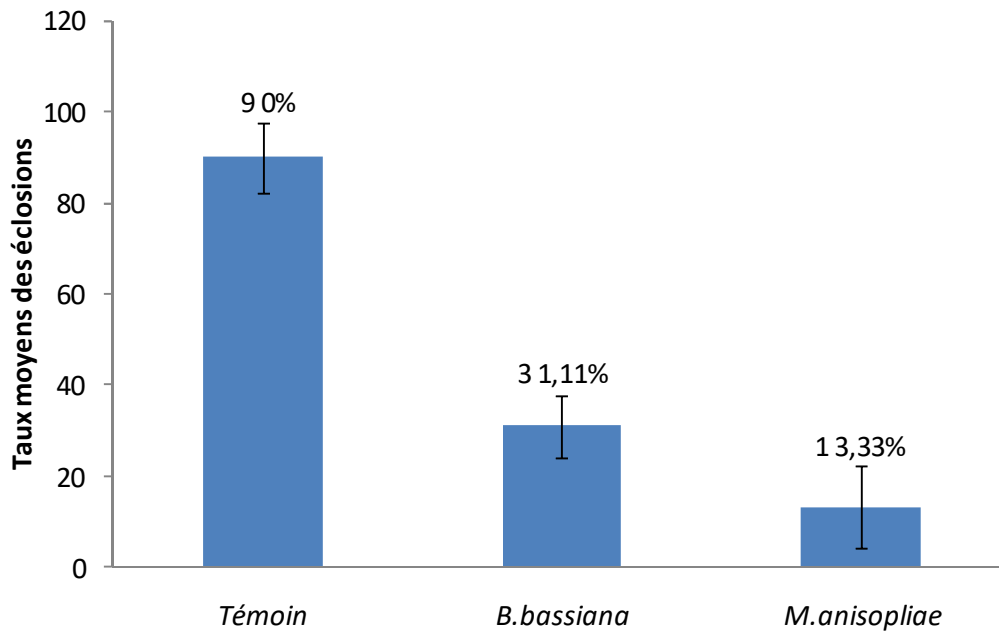


Fig. 7: Taux moyens d'éclosion des œufs de *S. gregaria* témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* (4×10^6 sp/ml) le même jour de la ponte par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs

e

D'après les résultats, on remarque que les taux d'éclosion les plus élevés sont obtenus chez les témoins avec un pourcentage de 90% d'œufs éclos, suivi par *B. bassiana* avec 31,11%. Les taux d'éclosions les plus faibles sont enregistrés cette fois ci avec le *M. anisopliae* avec 13,33%.

Pour bien expliquer l'effet du traitement direct sur les œufs de *S. gregaria* le jour même de la ponte par les deux champignons on fait appel à l'analyse de la variance à un seul critère de classification qui est le facteur nature du traitement (témoin, *B. bassiana*, *M. anisopliae*) reportée sur les tableaux 9 et 10.

Tableau 9 : Effet de *B. bassiana* sur l'éclosion des œufs de *S. gregaria* par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P > F
Modèle	3	5223,571	1741,190	67,295	0,015
Résidus	2	51,748	25,874		
Total	5	5275,319			

Tableau 10 : Effet de *M. anisopliae* sur l'éclosion des œufs de *S. gregaria* par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P> F
Modèle	3	8838,011	2946,004	264,875	0,004
Résidus	2	22,244	11,122		
Total	5	8860,256			

Nous remarquons d'après les tableaux 9 et 10, que la probabilité dans les deux cas est inférieure à 0,05, ce qui suggère qu'il existe une différence significative entre les œufs témoins et traités directement par pulvérisation des cryptogames le jour de la ponte.

*** Œufs traités le 8^{ème} jour de la ponte**

Les résultats du traitement direct sur les œufs de *S. gregaria* âgés de 8 jours par les deux champignons *B. bassiana* et *M. anisopliae* (4×10^6 spores/ml) sont reportés dans les tableaux 11 et 12 (annexe) et illustrés par la figure 8.

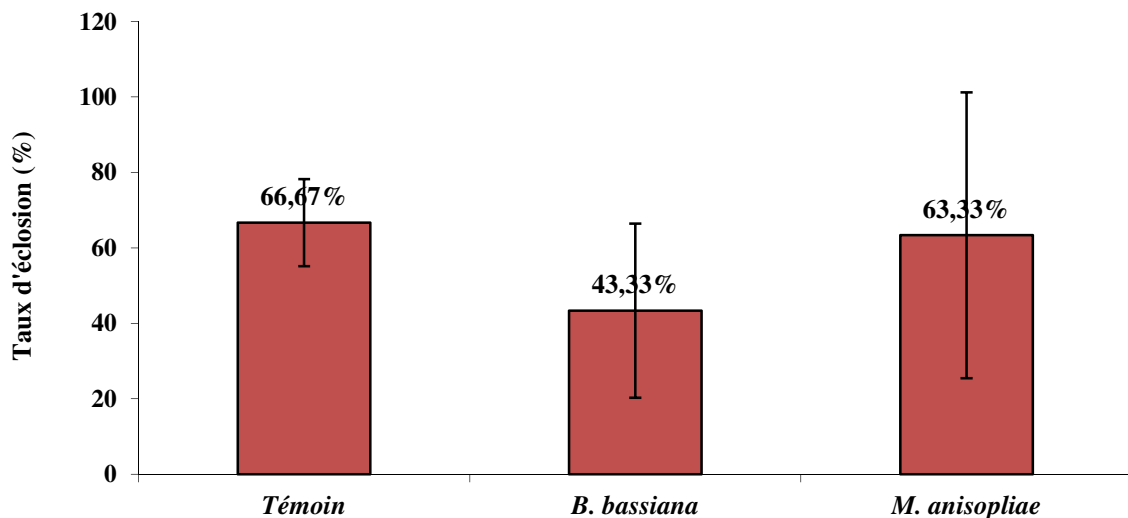


Fig.8 : Taux moyen d'éclosion des œufs de *S. gregaria* traités au *B.bassiana* et au *M. anisopliae* (4×10^6 sp./ml) le 8ème jour après la ponte par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.

On constate que les taux d'éclosion des œufs de *S. gregaria* âgés de 8 jours les plus élevés sont enregistrés chez les témoins avec un pourcentage de 66,67%, suivi par ceux traités au *M.anisopliae* avec un pourcentage de 63,33%. Le pourcentage d'éclosion le plus faible de 43,33% est obtenu chez les œufs traités au *B. bassiana*.

La comparaison des moyennes est effectuée à travers l'analyse de la variance portée sur les tableaux 13 et 14, à un seul critère de classification qui est le facteur nature du traitement (témoin, *B.bassiana*, *M. anisopliae*).

Tableau 13 : Effet de *B. bassiana* sur l'éclosion des œufs de *S. gregaria* par pulvérisation de l'inoculum sur les œufs directement le 8^{ème} jour de leur ponte.

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F. de Fisher	P
Modèle	3	1883,333	627,778	4,708	0,180
Résidus	2	266,667	133,333		
Total	5	2150,000			

Tableau 14 : Effet de *M. anisopliae* sur l'éclosion des œufs de *S. gregaria* par pulvérisation de l'inoculum sur les œufs directement le 8^{ème} jour de leur ponte.

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F. de Fisher	P
Modèle	3	3683,333	1227,778	9,208	0,100
Résidus	2	266,667	133,333		
Total	5	3950,000			

D'après les tableaux 13 et 14, on constate que la probabilité dans les deux cas est supérieure à 0,05, ce qui implique qu'il n'y a pas une différence significative entre les œufs témoins et ceux traités au *B.bassiana* et au *M. anisopliae* au 8^{ème} jour de la ponte.

III.1.2- Effet des deux entomopathogènes sur la mortalité des larves et des imagos de *S.gregaria*

Chez les insectes traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*, on assiste à une diminution des mouvements des criquets et à une baisse de l'appétit des individus. On observe aussi des taches rougeâtres sur le thorax et quelques heures après l'insecte est paralysé. Après la mort et en présence d'humidité, le corps de l'acridien est recouvert d'un duvet blanchâtre chez les criquets traités par *B.bassiana* et verdâtre chez ceux traités par *M.anisopliae* (fig. 9).

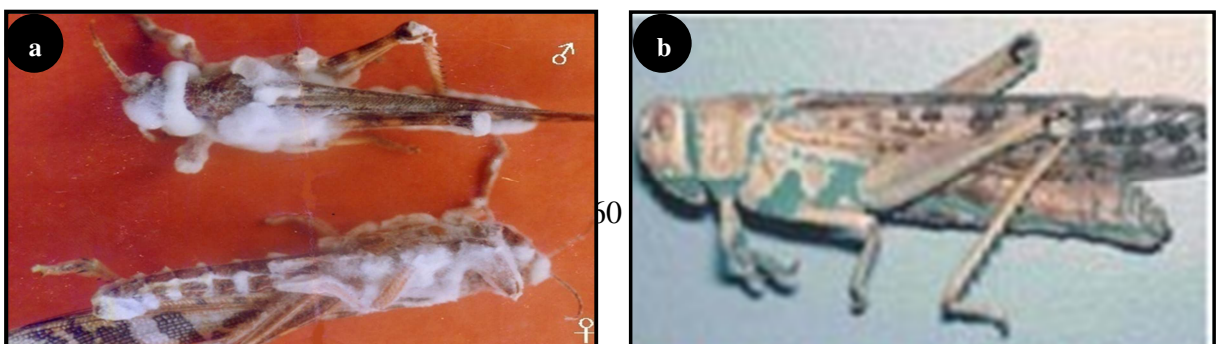


Fig. 9 : Symptômes d'infection de *S. gregaria* par *B. bassiana* (a) et *M. anisopliae* (b)

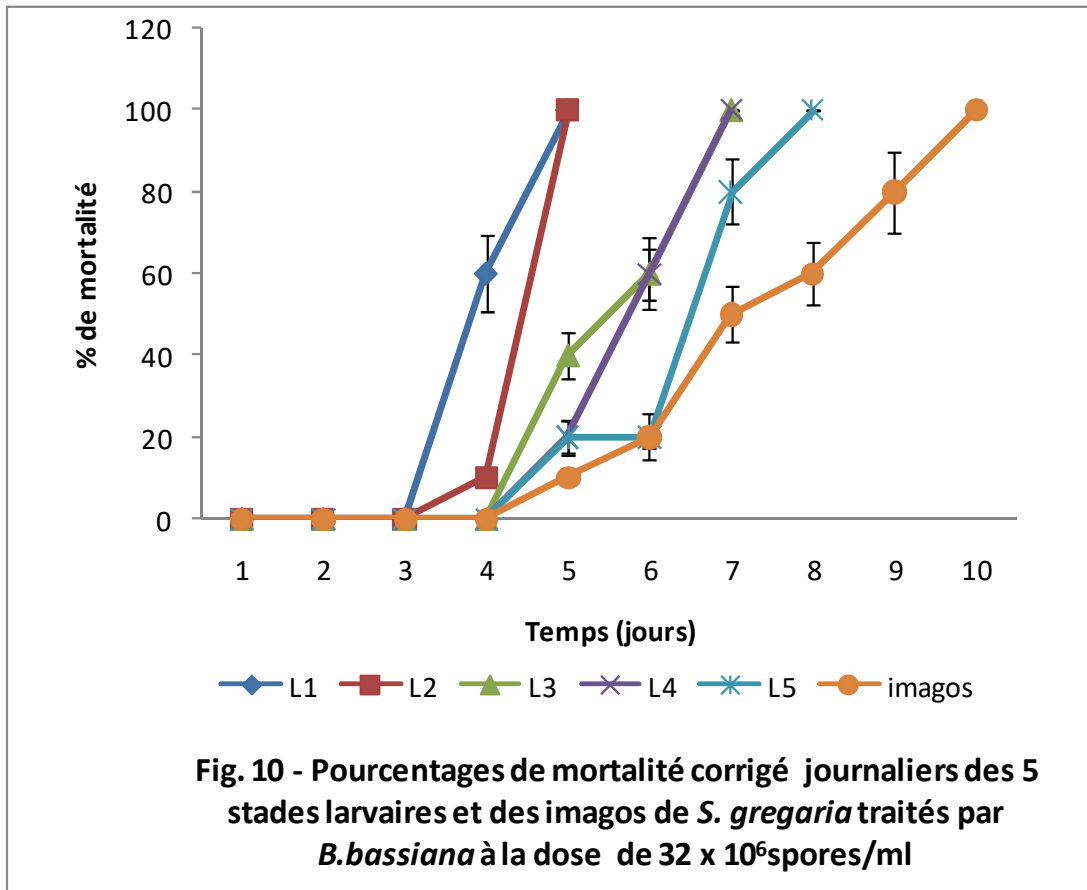
a –Effet de *B. bassiana* sur la mortalité des larves et imagos de *S. gregaria*

Les résultats relatifs aux taux de mortalité des 5 stades larvaires et des imagos de *S.gregaria* traités par le *B. bassiana* aux doses D1 = 8×10^6 spores /ml, D2 = 16×10^6 spores/ml et D3 = 32×10^6 spores /ml sont portés respectivement dans les tableaux 15, 16, 17 (annexe) et illustrés par les figures 10,11 et 12.

D'après ces résultats, on constate qu'avec la forte dose (D3: 32×10^6 spores/ml), la mortalité des L1 et L2 débute au 4^{ème} jour et s'achève au 5^{ème} jour. Tandis que, pour les L3 et les L4, elle se manifeste au 5^{ème} jour et s'achève au 7^{ème} jour. Concernant les L5 et les imagos, elle commence au 5^{ème} jour et elle s'achève respectivement au 8^{ème} et 10^{ème} jour (Tableau 15 (annexe), Fig.10).

Pour la dose intermédiaire D2 (16×10^6 spores/ml), on a enregistré un effet similaire du fait que la mortalité se manifeste au 3^{ème} jour pour le L1 et au 4^{ème} jour pour les autres stades. Elle s'achève au 5^{ème} jour pour les L1, au 6^{ème} jour pour les L2, au 7^{ème} jour pour les L3, au 8^{ème} jour pour les L4, au 9^{ème} jour pour les L5 et au 12^{ème} jour pour les imagos (Tableau 16 (annexe), Fig.11).

En ce qui concerne la faible dose (D1: 8×10^6 spores/ml), son effet est relativement différent dans le temps. On a remarqué que les mortalités sont retardées d'une journée pour les L4 et les L5 et de 2 jours pour les imagos (Tableau 17 (annexe), Fig.12). La mortalité chez les L1 commence toujours au 3^{ème} jour mais au 4^{ème} jour pour les L2 et L3.



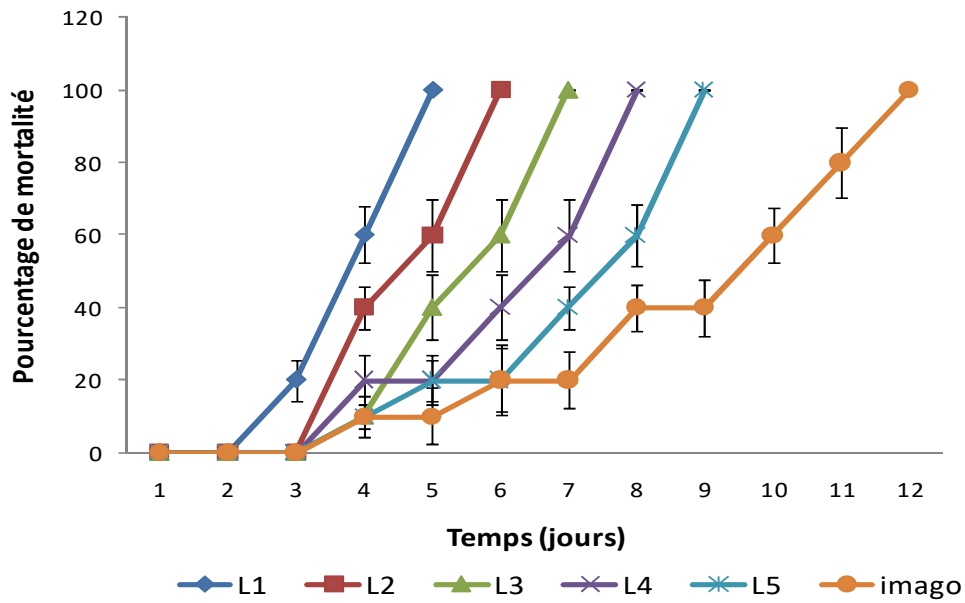


Fig. 11 : Pourcentages de mortalité corrigé journalière des différents stades larvaires et le stade imaginal de *S.gregaria* traités par *B. bassiana* à la dose de 16×10^6 spores/ml

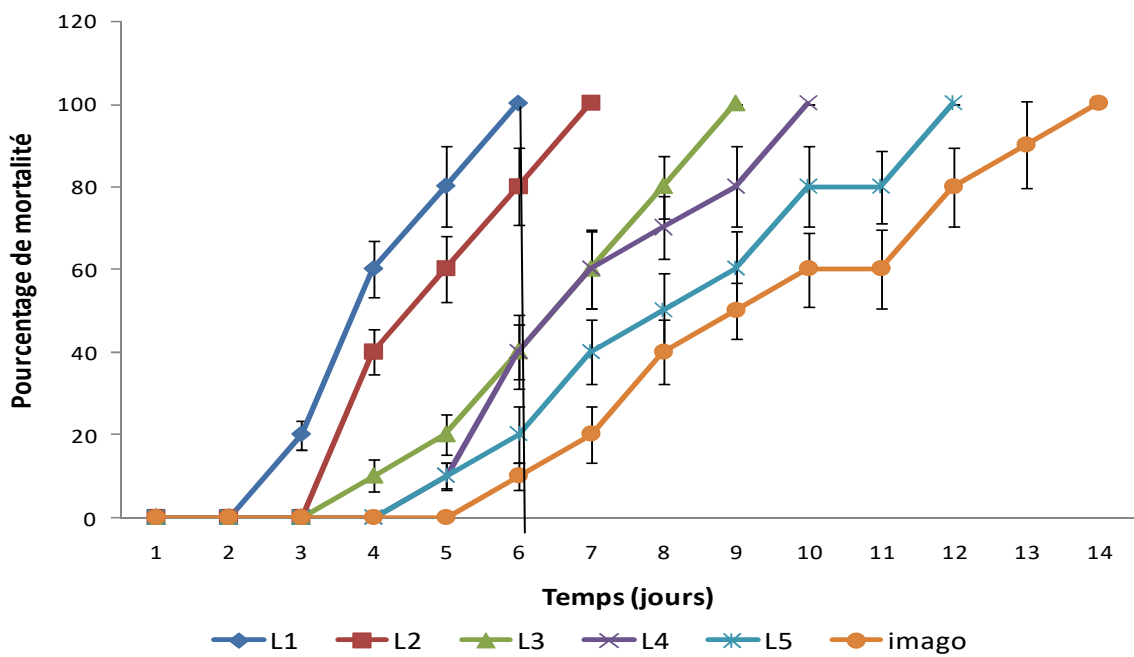


Fig. 12 : Pourcentages de mortalité corrigée journalière des différents stades larvaires et le stade imaginal de *S.gregaria* traités par *B. bassiana* à la dose de 8×10^6 spores/ml

Pour confirmer l'efficacité de notre traitement, on a fait appel à l'analyse de la variance à quatre critères de classification (tableau 18) soit :

- Le facteur 1 est le facteur dose avec 3 niveaux (D1 = 8×10^6 sp/ml, D2 = 16×10^6 sp/ml et D3 = 32×10^6 sp/ml),
- Le facteur 2 est le facteur stades avec 6 niveaux (L1, L2, L3, L4, L5, Imagos),
- Le facteur 3 est le facteur traitement avec 2 niveaux témoins et traités,
- Le facteur 4 est le facteur temps avec 14 niveaux.

Tableau 18 : Effet de *B.bassiana* sur la mortalité des 5 stades larvaires et des imagos de *S.gregaria*.

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Doses	2	163248,95	1718,41	93,66	0,000
Stades	4	99087,25	14258,15	37,42	0,000
Traitement	1	28480,15	5696,03	29,70	0,001
Temps	5	24111,4	3151,00	4,53	0,000
Résidus	484	5328,05	152,23		

D'après les résultats de l'analyse de variance, on constate qu'il y a une différence très hautement significative des quatre facteurs étudiés (doses, stades, traitement et temps) (Probabilité < 0,001). En effet, les individus traités sont fortement influencés par la concentration du champignon ainsi que par le temps. Cependant, la sensibilité de l'insecte est liée aux stades auxquels il appartient.

b –Effet de *M.anisopliae* sur la mortalité des larves et imagos de *S. gregaria*

Les résultats relatifs aux taux de mortalité des 5 stades larvaires et des imagos de *S.gregaria* traités par le *M.anisopliae* aux doses D3 = 32×10^6 spores /ml, D2 = 16×10^6 spores /ml et D1 = 8×10^6 spores /ml sont portés respectivement dans les tableaux 19, 20,21 (annexe) et illustrés par les figures 13, 14, 15.

D'après ces résultats, on constate qu'avec la forte dose (D3 : 32×10^6 spores/ml), la mortalité des L1 débute au 2^{ème} et s'achève au 6^{ème} jour. Pour les L2, la mortalité commence au 3^{ème} jour et s'achève au 7^{ème} jour et pour les L3 et les L4, elle se manifeste au 4^{ème} jour et s'achève respectivement au 8^{ème} jour et 9^{ème} jour. Concernant les L5 et les imagos, elle commence au 5^{ème} jour et elle s'achève respectivement au 11^{ème} et 13^{ème} jour. (Tableau 19 (annexe), Fig.13).

Pour la dose intermédiaire (D2 : 16×10^6 spores/ml), on a remarqué que la mortalité se manifeste toujours au 3^{ème} jour pour le L1 et L2, et au 4^{ème} jour pour L3 et pour L4, L5 et imagos, elle se manifeste au 5^{ème} jour (Tableau 20 (annexe), Fig.14).

En ce qui concerne la faible dose (D1 : 8×10^6 spores/ml), on a noté que les mortalités sont retardées d'une journée pour les L1 et L2 et L5 (Tableau 21 (annexe), Fig.15). La mortalité chez les L3 commence toujours au 4^{ème} jour mais au 5^{ème} jour pour les L4 et au 9^{ème} jour pour les imagos.

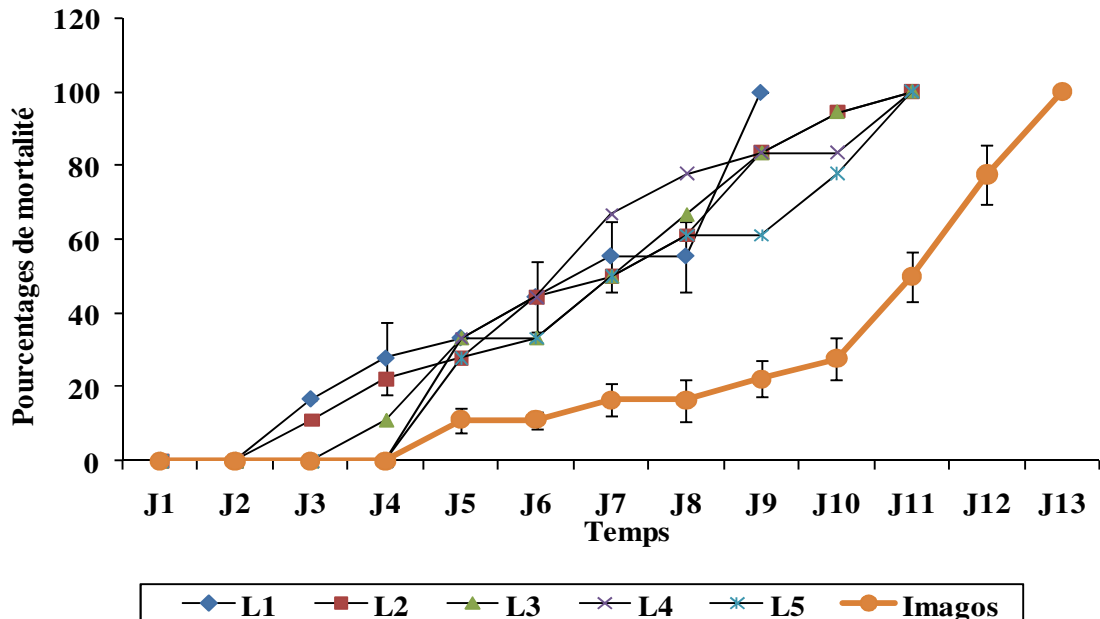


Fig.13 : Pourcentages de mortalité corrigée journalière des différents stades larvaires de *S. gregaria* traités par *M. anisopliae* à la dose 32×10^6 spores/ml

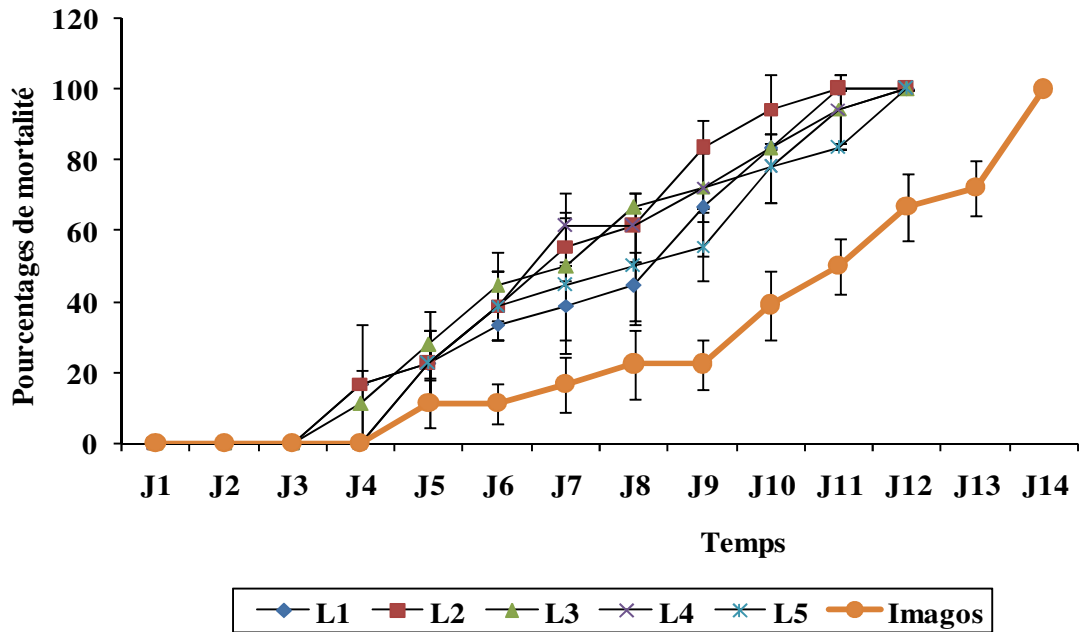


Fig.14 : Pourcentages de mortalité corrigé journalière des différents stades larvaires et des imagos de *S. gregaria* traités par *M. anisopliae* à la dose 16×10^6 spores/ml

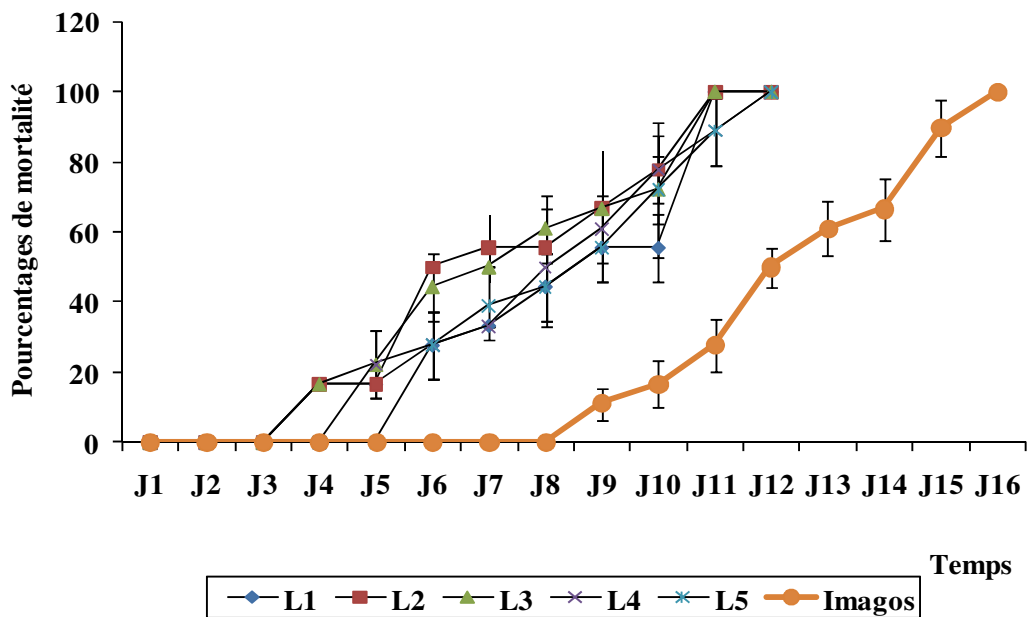


Fig. 15 : Pourcentages de mortalité journaliers des différents stades larvaires et stade imaginaire de *S. gregaria* traités par *M. anisopliae* à la dose de 8×10^6 spores/ml

Pour confirmer l'efficacité de notre traitement, on a fait appel à l'analyse de la variance à quatre critères de classification représentée dans le tableau 22 soit :

- Le facteur 1 est le facteur dose avec 4 niveaux (D1 = 8×10^6 spores /ml, D2 = 16×10^6 spores /ml et D3 = 32×10^6 spores /ml),
- Le facteur 2 est le facteur stades avec 5 niveaux (L1, L2, L3, L4, L5),
- Le facteur 3 est le facteur traitement avec 2 niveaux témoins et traité,
- Le facteur 4 est le facteur temps avec 5 niveaux.

Tableau 22 : Effet de *M.anisopliae* sur la mortalité des 5 stades larvaires et des imagos de *S.gregaria*

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P > F
Doses	2	2099,607	1049,803	8,595	0,000
Stades	4	5391,321	1347,830	11,034	0,000
Traitement	1	18086,672	18086,672	148,072	0,000
Temps	5	22847,742	4569,548	37,410	0,000
Résidus	484	59119,372	122,147		

L'analyse de variance (tableau 22), montre qu'il existe une différence très hautement significative des quatre facteurs étudiés (doses, stades, traitement et temps) (Probabilité <0,001). En effet, les individus traités sont influencés par la nature de traitement, la dose de ce champignon, par le temps d'administration et par le stade de l'insecte.

III.1.2.1- TL₅₀

a- *B. bassiana*

Nous avons mentionné les valeurs des pourcentages de mortalité transformées en probit et les jours transformés en logarithme décimaux sur les tableaux 23, 24, 25. Les valeurs obtenues vont permettre de tracer les droites de régressions avec leurs équations (tableau 26).

Tableau 23 : Probits des pourcentages de mortalité et le logarithme décimal du temps pour les 5 stades larvaires et des imagos de *S. gregaria* traités au *B. bassiana* à la dose (D3 :32 x10⁶ sp/ml).

Temps en jours	Stade	1j	2j	3j	4j	5j	6j	7j	8j	9j	10j
Logarithme décimal des temps		0	0,30	0,48	0,6	0,7	0,79	0,84	0,90	0,95	1
Pourcentages des mortalités (%)	L1	0	0	0	60	100					
	L2	0	0	0	10	100					
	L3	0	0	0	0	40	60	100			
	L4	0	0	0	0	20	60	100			
	L5	0	0	0	0	20	20	80	100		
	imagos	0	0	0	0	10	20	50	60	80	100
Probits	L1	0	0	0	5,25	8,09					
	L2	0	0	0	3,72	5,25	8,09				
	L3	0	0	0	0	4,75	5,25	8,09			
	L4	0	0	0	0	4,10	5,25	8,09			
	L5	0	0	0	0	4,10	4,10	5,84	8,09		
	imagos	0	0	0	0	3,72	4,10	5,00	5,25	5,84	8,09

Tableau 24 : Probits des pourcentages de mortalité et le logarithme décimal du temps pour les 5 stades larvaires et des imagos de *S.gregaria* traités au *B. bassiana* à la dose (D2: 16 x10⁶ sp/ml).

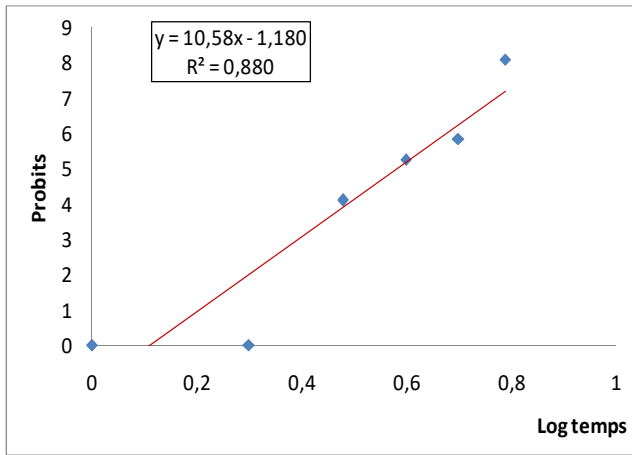
Temps en jours		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Logarithme décimal des temps		0	0,30	0,48	0,6	0,7	0,79	0,84	0,90	0,95	1	1,04	1,07
Pourcentages des mortalités (%)	Stade												
	L1	0	0	20	60	100							
	L2	0	0	0	40	60	100						
	L3	0	0	0	10	40	60	100					
	L4	0	0	0	20	20	40	60	100				
	L5	0	0	0	10	20	20	40	60	100			
imago	0	0	0	10	10	20	20	40	40	60	80	100	
Probits	L1	0	0	4,10	5,25	8,09							
	L2	0	0	0	4,75	5,25	8,09						
	L3	0	0	0	3,75	4,75	5,25	8,09					
	L4	0	0	0	4,10	4,10	4,75	5,25	8,09				
	L5	0	0	0	3,75	4,10	4,10	4,75	5,25	8,09			
	imago	0	0	0	3,75	3,75	4,10	4,10	4,75	4,75	5,25	5,84	8,09

Tableau 25 : Probits des pourcentages de mortalité et le logarithme décimal du temps pour les 5 stades larvaires et des imagos de *S.gregaria* traités au *B. bassiana* à la dose (D1:8 x10⁶ sp/ml).

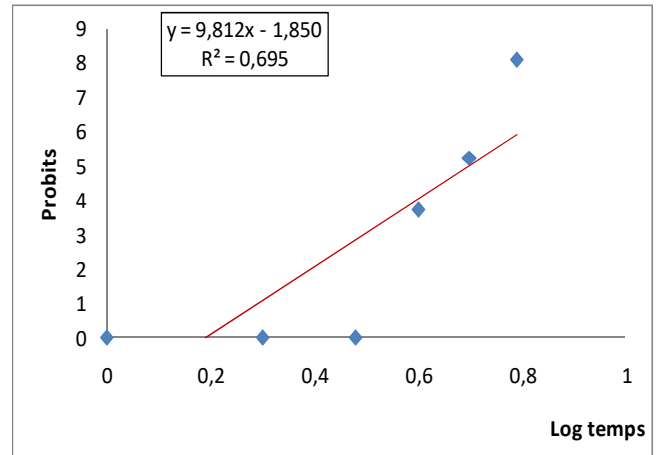
Temps en jours	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Logarithme décimal des temps	0	0,30	0,48	0,6	0,7	0,79	0,84	0,90	0,95	1	1,04	1,07	1,11	1,15
Pourcentages des mortalités (%)														
L1	0	0	20	60	80	100								
L2	0	0	0	40	60	80	100							
L3	0	0	0	10	20	40	60	80	100					
L4	0	0	0	0	10	40	60	70	80	100				
L5	0	0	0	0	10	20	40	50	60	80	80	100		
imago	0	0	0	0	0	10	20	40	50	60	60	80	90	100
Probits														
L1	0	0	4,10	5,25	5,84	8,09								
L2	0	0	0	4,75	5,25	5,84	8,09							
L3	0	0	0	3,75	4,10	4,75	5,25	5,84	8,09					
L4	0	0	0	0	3,75	4,75	5,25	5,91	5,84	8,09				
L5	0	0	0	0	3,75	4,10	4,75	5	5,25	5,84	5,84	100		
Imago	0	0	0	0	0	3,75	4,10	4,75	5	5,25	5,25	5,84	5,98	8,09

Tableau 26 : Les équations des droites de régression et les valeurs des coefficients de régression (R) pour chaque stade de *S. gregaria* traité au *B. bassiana*

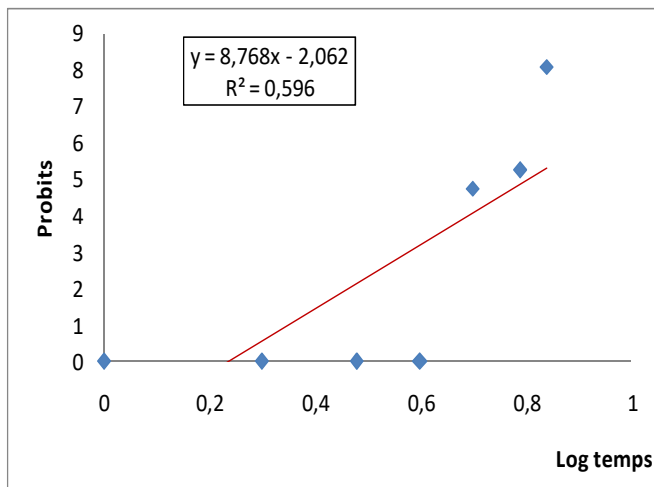
Dose de Traitement	D1 = 8 x 10 ⁶		D2 = 16 x 10 ⁶		D3 = 32 x 10 ⁶	
Stade de l'insecte	Equation de la droite de régression	R	Equation de la droite de régression	R	Equation de la droite de régression	R
L1	y =10,58x-1,180	0,938	y= 11,55x-1,319	0,912	y=10,58x - 1,180	0,938
L2	y= 9,837x-1,795	0,872	y=10,39x- 1,756	0,774	y=9,812x - 1,850	0,834
L3	y= 8,543x-1,674	0,904	y=9,259x- 1,787	0,863	y=8,768x - 2,062	0,763
L4	y=8,318x- 2,129	0,869	y=8,604x- 1,672	0,877	y=8,440x - 2,036	0,772
L5	y=7,702x- 2,013	0,888	y=7,973x- 1,588	0,886	y=8,481x - 2,121	0,808
Imagos	y=7,105x- 1,865	0,902	y=6,869x- 1,304	0,907	y=8,030x - 2,067	0,854



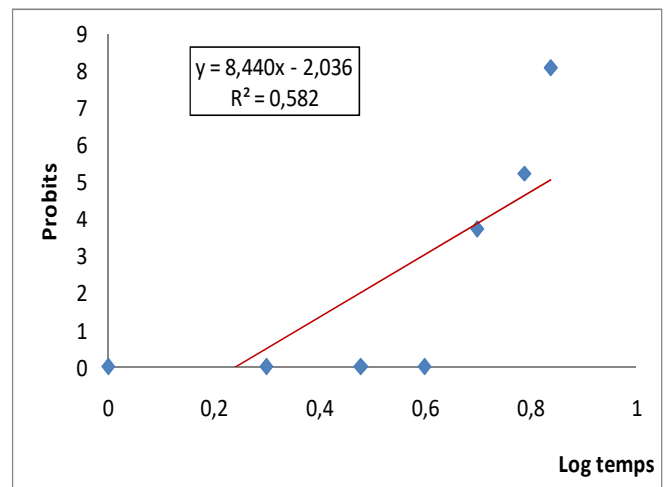
L1



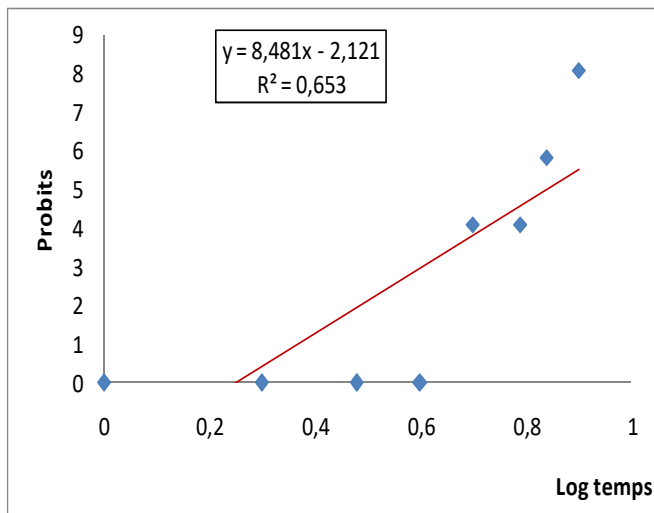
L2



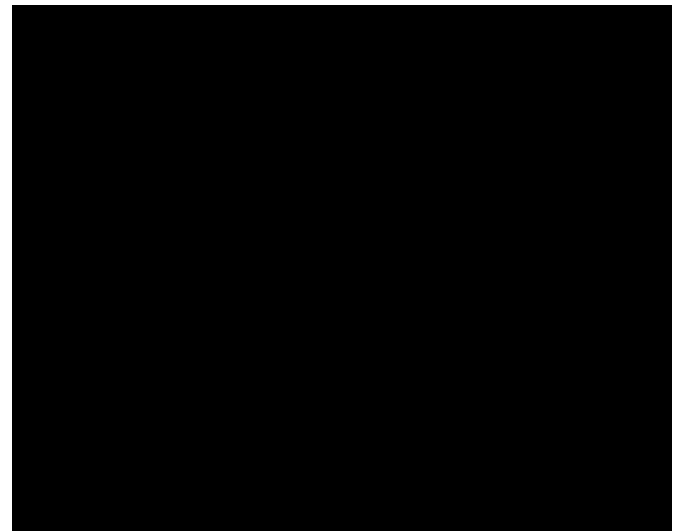
L3



L4

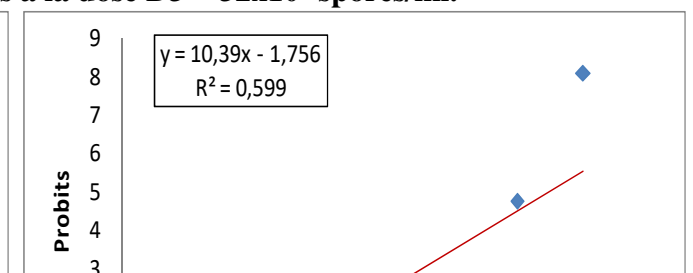
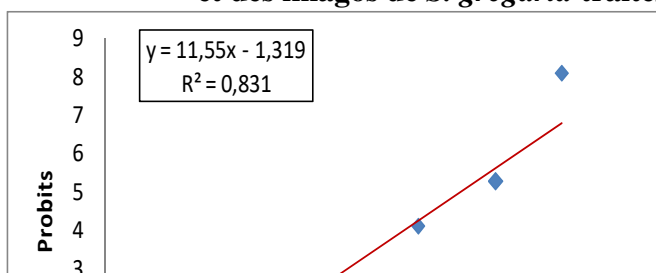


L5



Imagos

Fig. 16: Efficacité de *B. bassiana* dans le temps vis-à-vis des 5 stades larvaires et des imagos de *S. gregaria* traités à la dose D3 = 32×10^6 spores/ml.



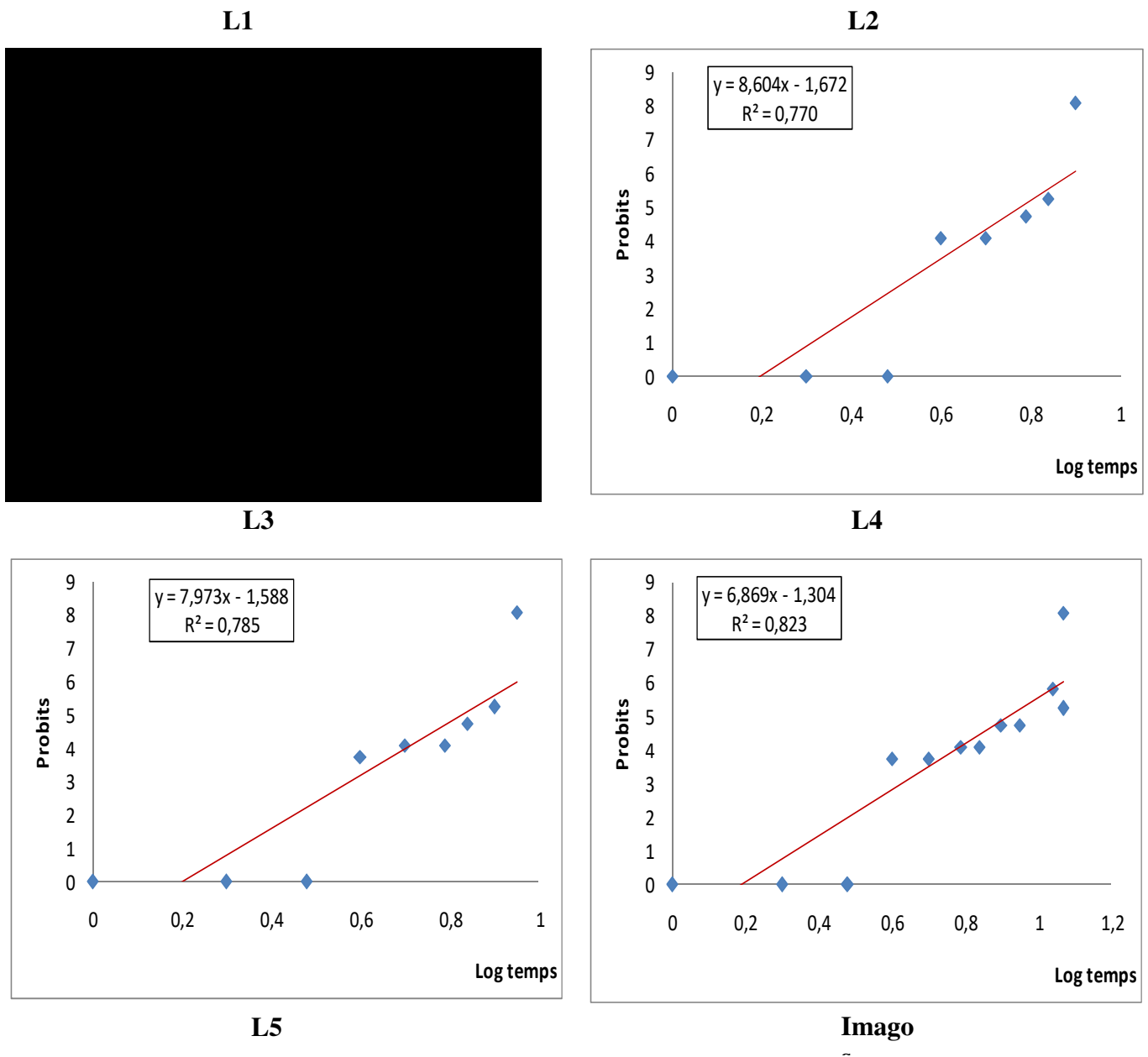
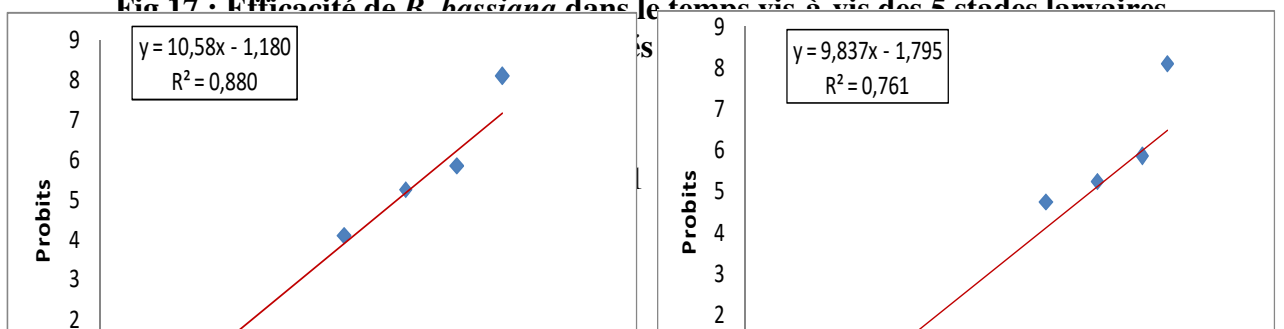


Fig 17 • Efficacité de *R. bassiana* dans le temps vis à vis des 5 stades larvaires



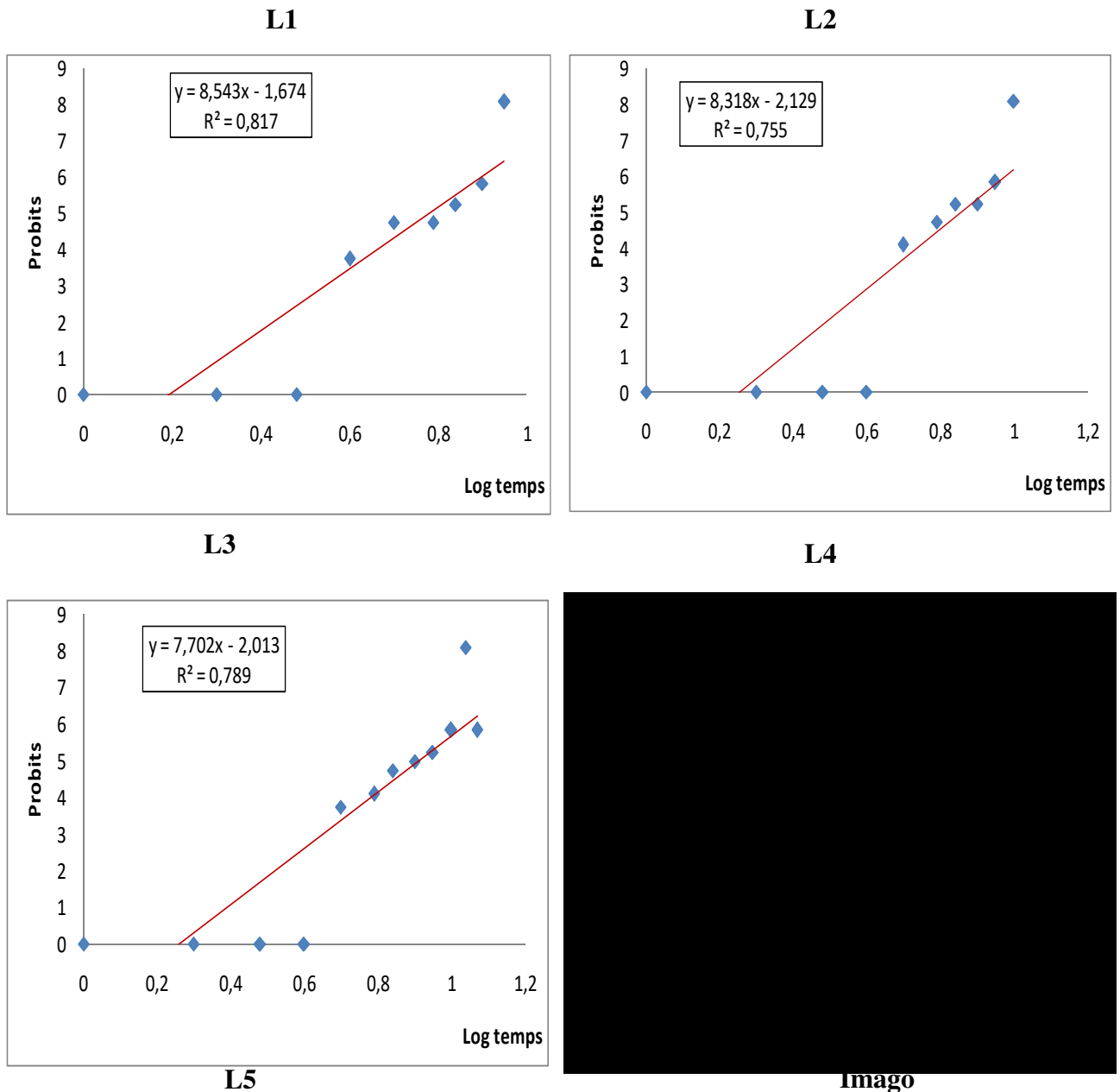


Fig.18 : Efficacité de *B. bassiana* dans le temps vis-à-vis des 5 stades larvaires et des imagos de *S. gregaria* traités à la dose $D1 = 8 \times 10^7$ spores/ml.
D'après le tableau 26, on observe que la relation qui lie la mortalité au temps est bien justifiée par les valeurs du coefficient de corrélation (R) attribuée à chaque stade de l'insecte.

Nous remarquons aussi que $0 < R < 1$, donc la corrélation est dite positive ; les taux de mortalité et les temps varient dans le même sens.

A partir de ces équations on a calculé les TL_{50} pour chaque dose et chaque stade qui sont représentés dans le tableau 27 et illustrés par la figure 19.

Tableau 27 : les valeurs de la TL_{50} pour les 5 stades larvaires et les imagos de *S.gregaria* traités au *B. bassiana* aux doses : D1 = 8×10^6 sp/ml, D2 = 16×10^6 sp/ml, D3 = 32×10^6 sp/ml

Stades Dose	L1	L2	L3	L4	L5	Imago
D1 : 8×10^6	3,84	4,91	6,04	7,20	8,14	9,25
D2 : 16×10^6	3,84	4,47	5,40	5,96	6,70	8,27
D3 : 32×10^6	3,58	4,99	6,39	6,82	6,91	7,59

Le temps le plus élevé (9,25 jours) est calculé chez les imagos traités par la faible dose (D1 : 8×10^6 spores/ml). Par contre, le temps le plus faible de 3,58 jours est noté chez les L1 traitées par la forte dose D3 (32×10^6 spores/ ml).

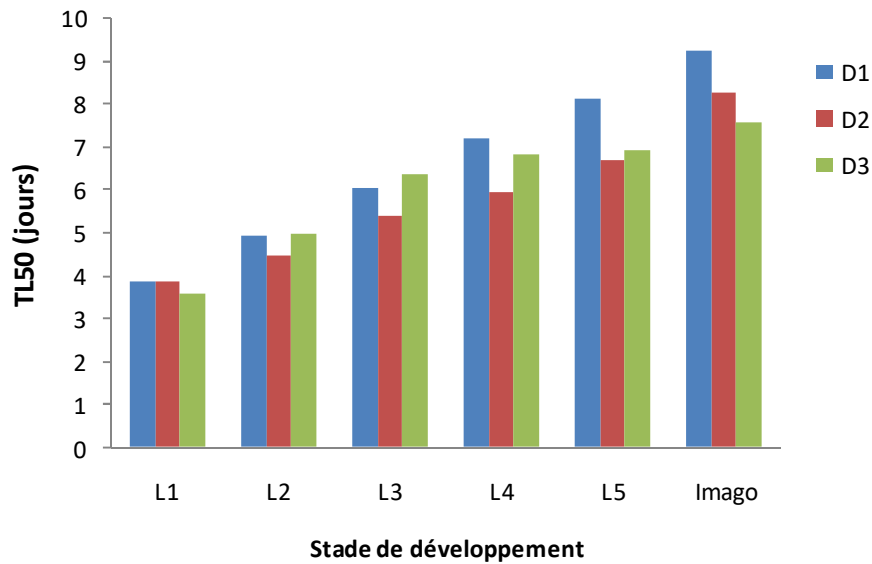


Fig. 19 : TL₅₀ pour les 5 stades larvaires et des imagos de *S.gregaria* traités au *B. bassiana* aux doses : D1 = 8×10^6 spores/ml, D2: 16×10^6 spores/ml, D3: 32×10^6 spores /ml.

b- *Metarhizium anisopliae*

Nous avons mentionné les valeurs des pourcentages de mortalité transformée en probit et les jours transformés en logarithme décimal sur les tableaux 28, 29 et 30. Les valeurs obtenues vont permettre de tracer les droites de régression avec leurs équations de corrélations (tableau 31 et fig.20, 21, 22).

Tableau 28 : Probits des pourcentages de mortalité et le logarithme décimal du temps pour les 5 stades larvaires et les imagos de *S. gregaria* traités au *M. anisopliae* à la dose (D3: 32 x10⁶ sp/ml).

Temps en jours	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Logarithme décimal des jours	0	0,30	0,48	0,6	0,7	0,79	0,84	0,9	0,95	1	1,04	1,07	1,11
Stade								0					
Pourcentages des mortalités (%)	L1	0	22,22	22,22	55,55	72,22	100						
	L2	0	0	16,66	27,77	61,11	100						
	L3	0	0	0	22,22	61,66	66,66	77,77	100				
	L4	0	0	0	0	55,55	61,11	61,66	66,66	77,77	100		
	L5	0	0	0	0	27,77	38,89	50	61,11	61,11	77,77	100	
	imago	0	0	0	0	11,11	11,11	16,66	16,66	22,22	27,77	50	77,77
Probits	L1	0	4,23	4,23	5,14	5,58	8,09						
	L2	0	0	4,23	4,56	5,58	8,09						
	L3	0	0	0	4,23	5,28	5,42	5,76	8,09				
	L4	0	0	0	0	3,4	5,28	5,28	5,42	5,76	8,09		
	L5	0	0	0	0	4,56	4,71	5	5,28	5,28	5,76	8,09	
	imago	0	0	0	0	3,77	3,77	4,03	4,03	4,23	4,56	5	5,76

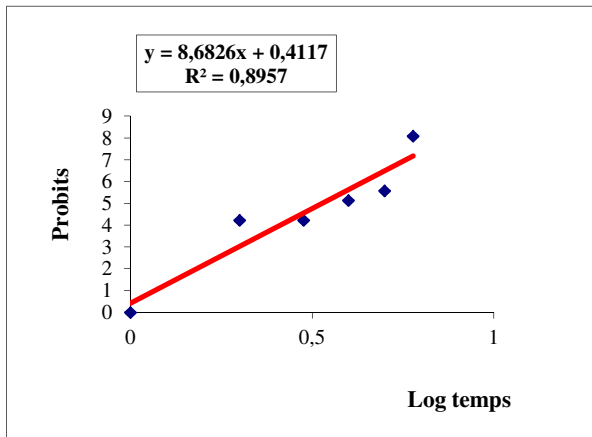
Tableau 29 : Probits des pourcentages de mortalité et le logarithme décimal du temps pour les 5 stades larvaires et les imagos de *S. gregaria* traités au *M. anisopliae* à la dose (D2:16x10⁶ sp/ml).

Temps en jours	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Logarithme décimal des jours	0	0,30	0,48	0,6	0,7	0,79	0,84	0,90	0,95	1	1,04	1,07	1,11	1,15
Stade														
Pourcentages des mortalités (%)	L1	0	0	27,77	38,9	61,6	66,6	100						
	L2	0	0	11,11	22,2	22,2	50	55,5	61,1	100				
	L3	0	0	0	11,11	38,9	44,4	50	66,6	72,2	100			
	L4	0	0	0	0	27,7	33,3	44,4	61,1	66,6	100			
	L5	0	0	0	0	16,6	22,2	33,3	38,9	50	72,2	100		
	imago	0	0	0	0	11,1	11,1	16,6	22,2	22,2	38,9	50	66,6	72,2

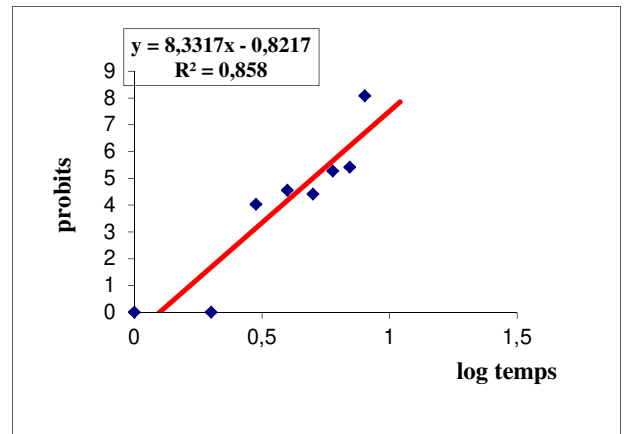
Probits	L1	0	0	4,41	4,71	5,28	5,42	8,09								
	L2	0	0	3,77	4,23	4,23	5	5,14	5,28	8,09						
	L3	0	0	0	3,77	4,71	4,85	5	5,42	5,58	8,09					
	L4	0	0	0	0	4,41	4,56	4,85	5,28	5,42	8,09					
	L5	0	0	0	0	4,03	4,23	4,56	4,71	5	5,58	8,09				
	imago	0	0	0	0	3,77	3,77	4,03	4,23	4,23	4,71	5	5,42	5,58	8,09	

Tableau 30 : Probits des pourcentages de mortalité et le logarithme décimal du temps pour les 5 stades larvaires et des imagos de *S.gregaria* traités au *M. anisopliae* à la dose (D1=8x10⁸sp/ml).

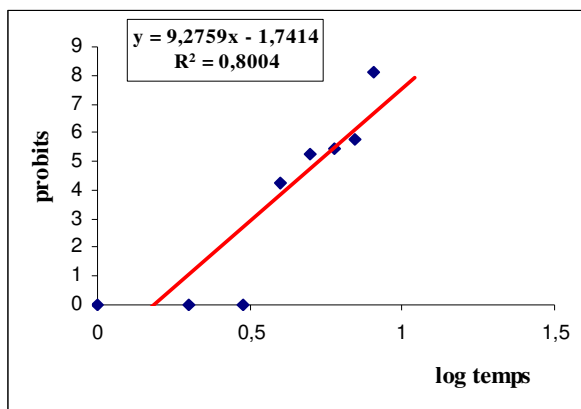
Temps en jours	Stade	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Logarithme décimal des jours		0	0,3 0	0,4 8	0,6	0,7	0,7 9	0,8 4	0,9 0	0,9 5	1	1,0 4	1,0 7	1,1 1	1,1 5	1,1 7	1,2 0
Pourcentage s des mortalités (%)	L1	0	0	0	16,66	44, 4	50	66, 6	100								
	L2	0	0	0	16,66	38, 9	44, 4	55, 5	66, 6	100							
	L3	0	0	0	11,11	33, 3	38, 9	50	61, 1	83, 3	94, 4	100					
	L4	0	0	0	0	27, 7	27, 7	33, 3	50	61, 1	77, 7	100					
	L5	0	0	0	0	0	11, 1	27, 7	44, 4	55, 5	61, 1	83, 9	100	100	100	100	100
	Imago	0	0	0	0	0	0	0	0	11, 1	16, 6	27, 7	50	61, 1	66, 6	89, 9	100
Probits	L1	0	0	0	4,03	4,8 5	5	5,4 2	8,0 9								
	L2	0	0	0	3,77	4,7 1	4,8 5	5,1 3	5,4 2	8,0 9							
	L3	0	0	0	4,05	4,5 6	4,7 1	5	5,2 8	5,9 6	7,5 4	8,0 9					
	L4	0	0	0	0	4,4 2	4,4 2	4,5 6	5	5,2 8	5,7 7	8,0 9					
	L5	0	0	0	0	0	3,7 7	4,4 2	4,8 5	5,1 3	5,8 3	5,9 6	8,0 9	8,0 9	8,0 9	8,0 9	8,0 9
	imago	0	0	0	0	0	0	0	0	3,7 7	4,0 3	4,4 2	50	5,2 8	5,4 2	5,9 6	8,0 9



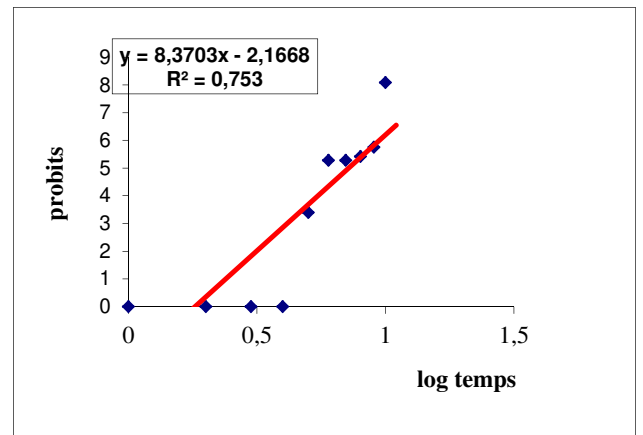
L1



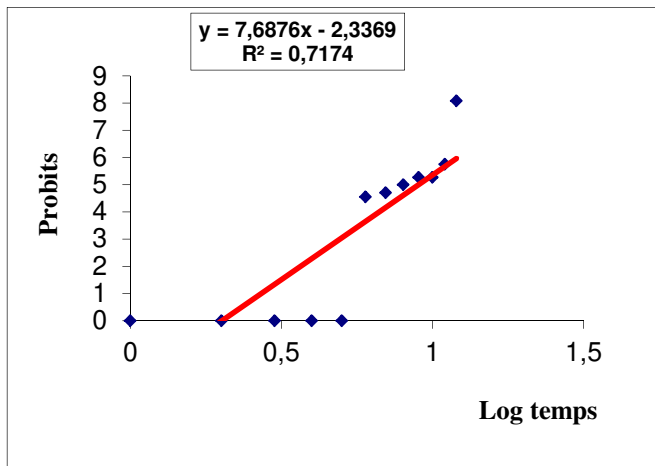
L2



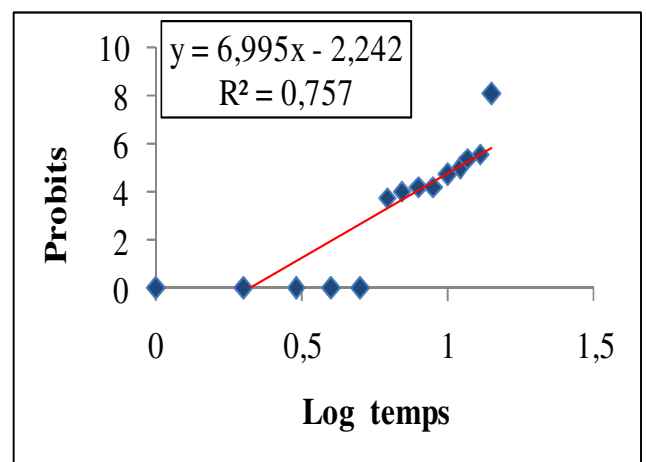
L3



L4

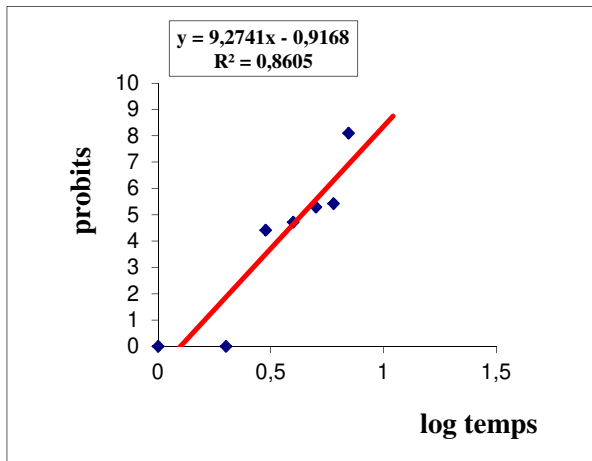


L5

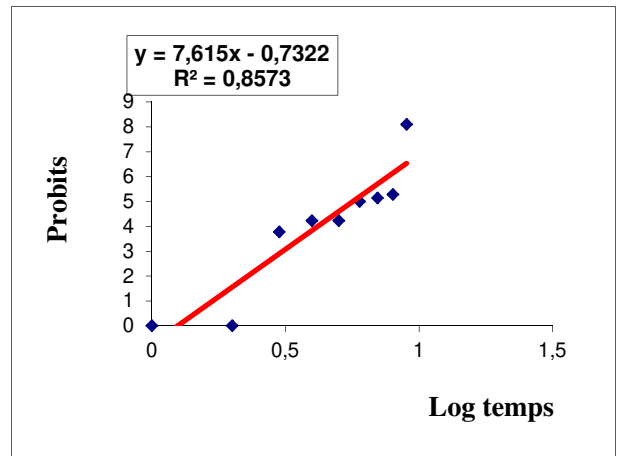


Imago

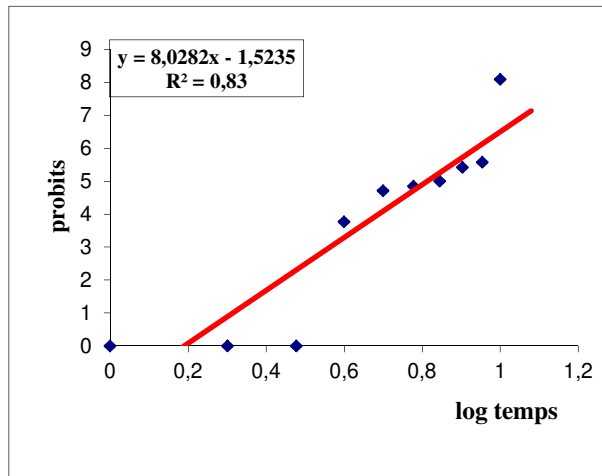
Fig. 20: Efficacité de *M. anisopliae* dans le temps vis-à-vis des 5 stades larvaires et des imagos de *S. gregaria* traités à la dose $D3=32 \times 10^6$ spores/ml.



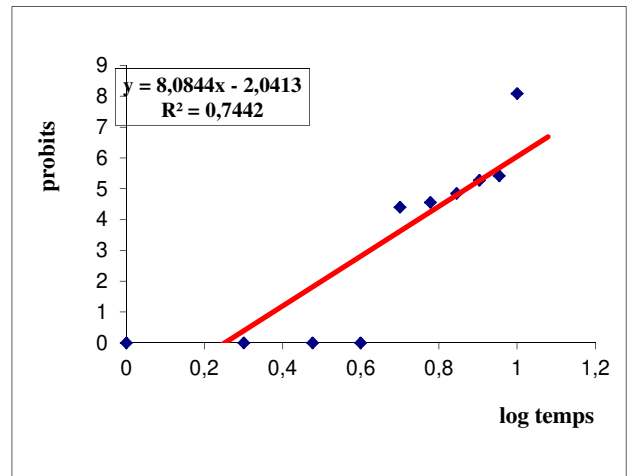
L1



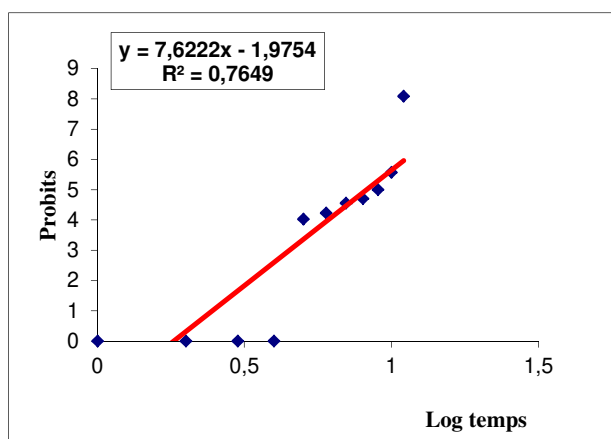
L2



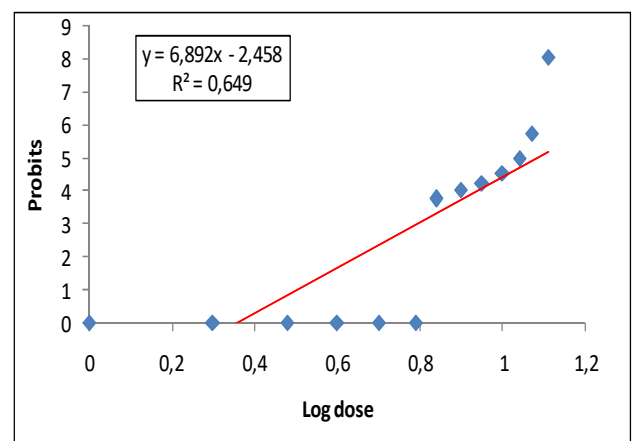
L3



L4



L5



Imago

Fig.21 : Efficacité de *M. anisopliae* dans le temps vis-à-vis des 5 stades larvaires et des imagos de *S. gregaria* traités à la dose $D2=16 \times 10^6$ spores/ml.

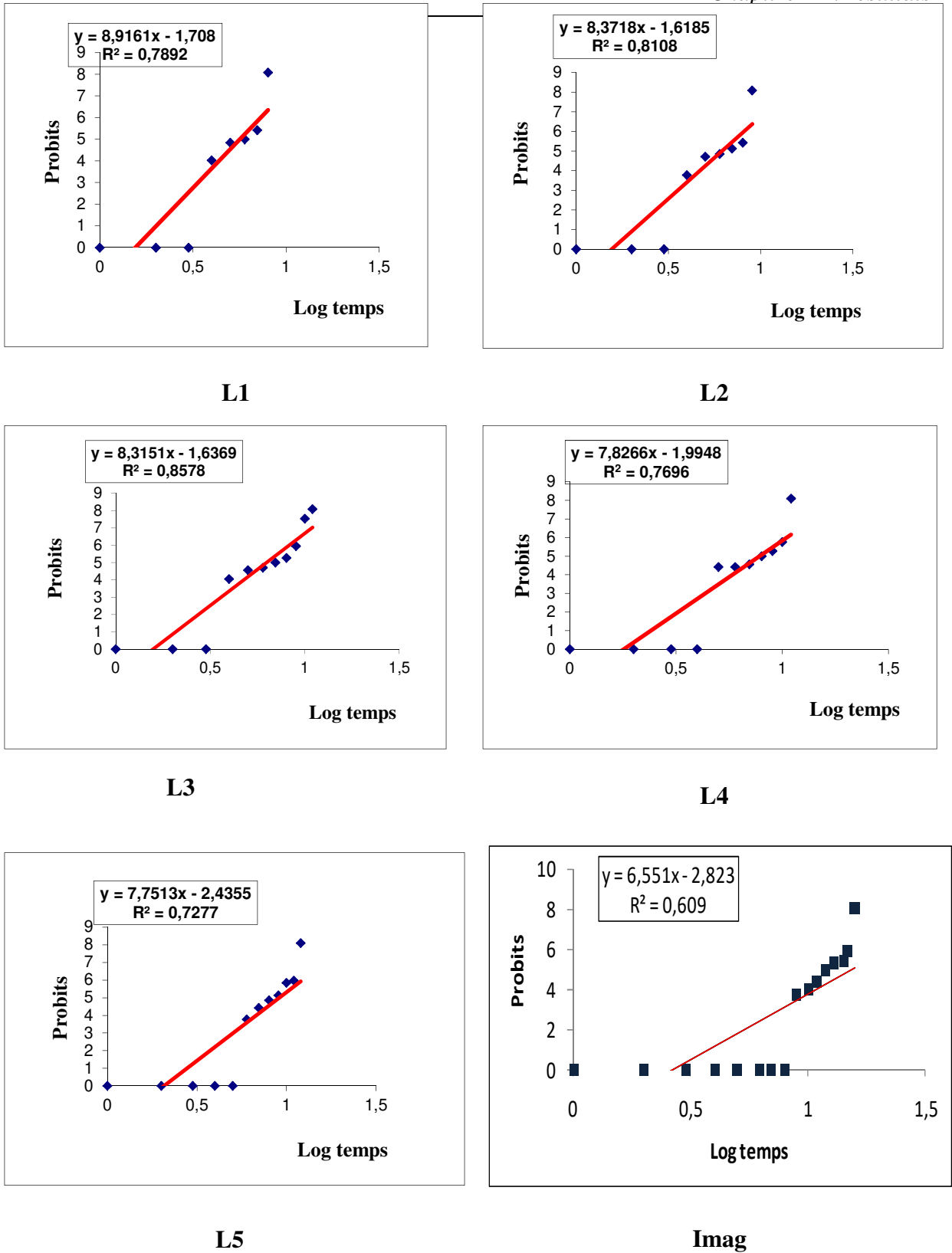


Fig.22 : Efficacité de *M. anisopliae* dans le temps vis-à-vis des 5 stades larvaires et des imagos de *S. gregaria* traités à la dose $D1=8 \times 10^6$ spores/ml.

Tableau 31 : Les équations des droites de régression et les valeurs des coefficients de corrélation (R) pour chaque stade de *S. gregaria* traité au *M. anisopliae*

Dose de Traitement	D1 = 8 x 10 ⁶		D2 = 16 x 10 ⁶		D3 = 32 x 10 ⁶	
Stade de l'insecte	Equation de la droite de régression	R	Equation de la droite de régression	R	Equation de la droite de régression	R
L1	y = 8,9161x - 1,708	0,888	y = 9,2741x - 0,9168	0,928	y = 8,6826x + 0,4117	0,946
L2	y = 8,3718x - 1,6185	0,900	y = 7,615x - 0,7322	0,926	y = 8,3317x - 0,8217	0,926
L3	y = 8,3151x - 1,6369	0,926	y = 8,0282x - 1,5235	0,911	Y = 9,2759 - 1,7414	0,895
L4	y = 7,8266x - 1,9948	0,877	y = 8,0844x - 2,0413	0,863	y = 8,3703x - 2,1668	0,868
L5	y = 7,7513x - 2,4355	0,853	y = 7,6222x - 1,9754	0,875	y = 7,6876x - 2,3369	0,847
Imagos	y = 6,551x - 2,823	0,805	y = 6,892 - 2,458	0,780	y = 6,995 x - 2,242	0,870

D'après le tableau 31, on observe que la relation qui lie la mortalité au temps est bien justifiée par les valeurs de coefficient de corrélation (R) attribuée à chaque stade de l'insecte. On remarque que $0 < R < 1$ donc, la corrélation est dite positive ; les taux de mortalité et les temps varient dans le même sens.

A partir de ces équations, on a calculé les TL₅₀ pour chaque stade de l'insecte et pour chaque dose de champignon utilisée (tableau 32 et figure 23).

Tableau 32 : Les valeurs des TL₅₀ pour les 5 stades larvaires et les imagos de *S.gregaria* traités au *M.anisopliae* aux doses : D1 : 8x10⁶ sp /ml, D2 : 16x10⁶ sp /ml, D3 : 32 x 10⁶ sp/ml

Dose \ Stades	TL ₅₀					
	L1	L2	L3	L4	L5	Imago
D1 : 8x10 ⁶	5,65	6,17	6,54	7,82	9,10	15,64
D2 : 16x10 ⁶	4,32	5,65	6,49	7,42	8,22	10,84
D3 : 32x10 ⁶	3,37	4,99	5,32	7,18	9,00	12,08

Le temps le plus élevé (15,64jours) est obtenu chez les imagos traités par la faible dose (D1 : 8 x 10⁶ spores/ml). Par contre, le temps le plus faible de 3,37 jours est calculé chez les larves du 1^{er} stade traitées par la forte dose (D3 : 32 x 10⁶ spores/ ml).

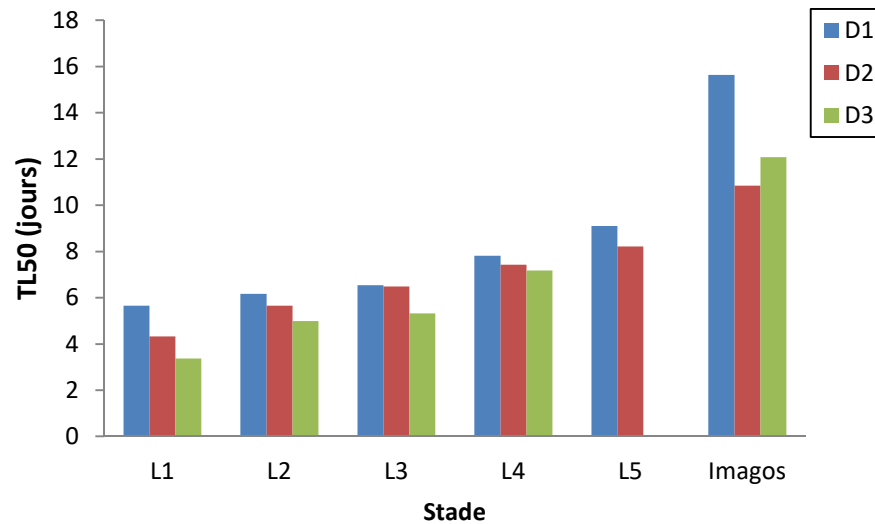


Fig. 23 : TL₅₀ pour les 5 stades larvaires et les imagos de *S.gregaria* traités au *M. anisopliae* aux doses : D1 = 8 x 10⁶ spores/ml, D2 = 16 x 10⁶ spores / ml, D3 = 32 x 10⁶ spores /ml

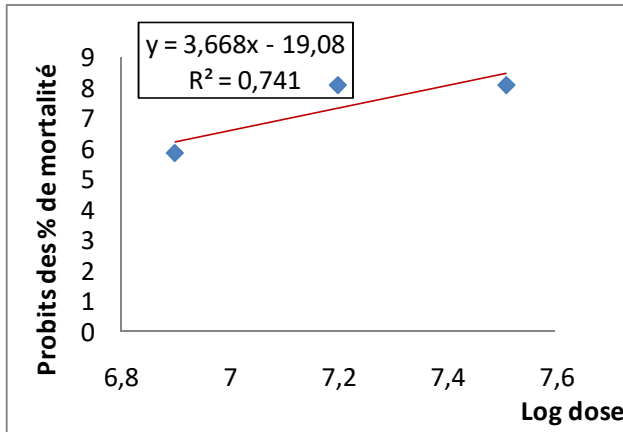
III.1.2.2 -DL₅₀

a - *Beauveria bassiana*

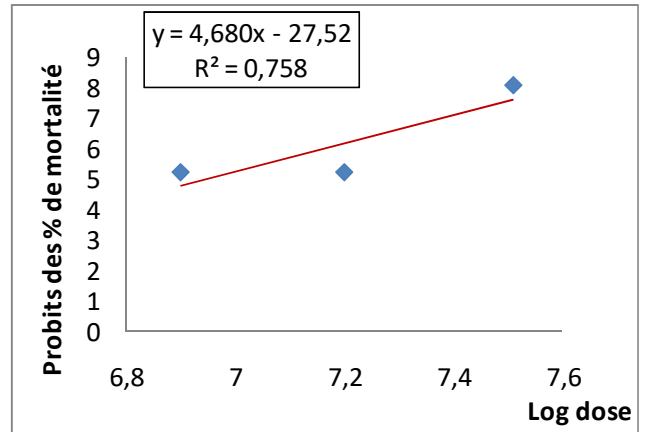
Les résultats de mortalité montrent que le taux de mortalité est en relation avec la dose administrée, le stade de l'insecte et le temps d'observation. Le calcul de la DL₅₀ (dose létale qui donne 50 % de mortalité) est obtenue par transformation des pourcentages de mortalité en probits (Tableau 33 et Fig. 24) et les doses en logarithme décimal. A partir des équations de droites de régression obtenues, on calcule la DL₅₀ pour chaque stade de l'insecte au 5^{ème} jour après traitement (Tableau 34).

Tableau 33 : Probits des pourcentages de mortalité au 5^{ème} jour après traitement et le logarithme décimal des doses pour les 5 stades larvaires et les imagos de *S.gregaria* traités au *B.bassiana*

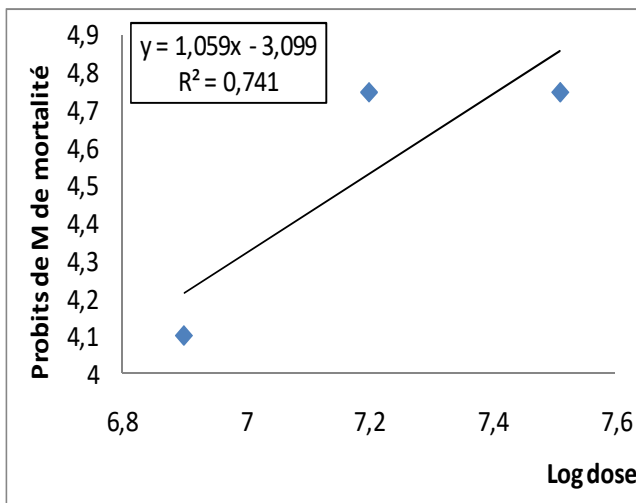
Dose (spore /ml)	Stade	8 x 10 ⁶	16 x 10 ⁶	32 x 10 ⁶
Logarithme décimal des doses		6,90	7,20	7,51
Pourcentage de mortalité (%)	L1	80	100	100
	L2	60	100	60
	L3	20	40	40
	L4	10	20	20
	L5	10	20	20
	Imago	0	0	40
Probits de pourcentage de mortalité	L1	5,84	8,09	8,09
	L2	5,25	5,25	8,09
	L3	4,10	4,75	4,75
	L4	3,72	4,10	4,10
	L5	3,75	4,10	4,10
	Imago	0	0	4,10



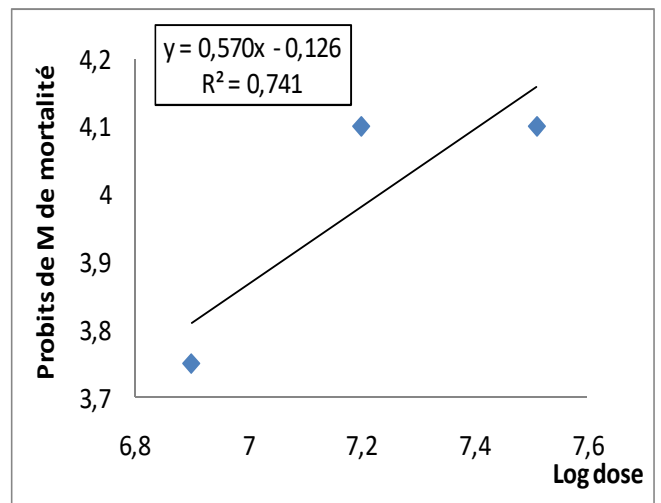
L1



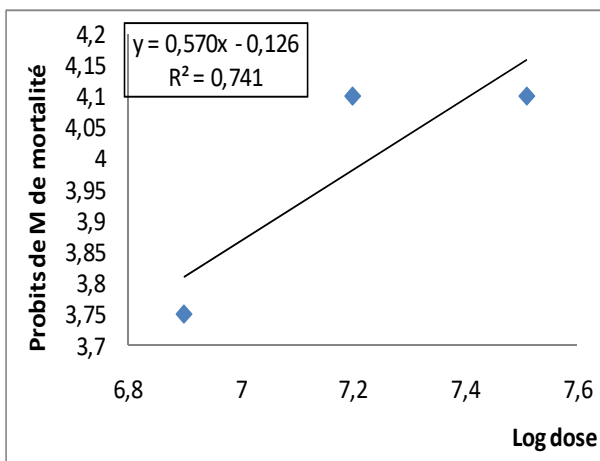
L2



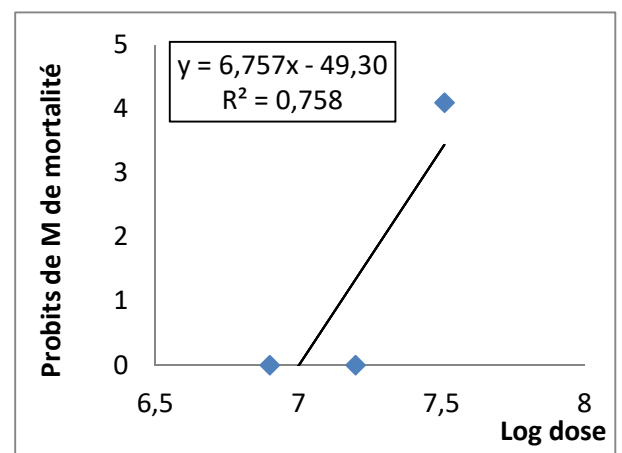
L3



L4



L5



Imagos

Fig.24 : Analyse de probit sur l'effet de *B. bassiana* sur les 5 stades larvaires et des imagos (5^{ème} jour) de *S.gregaria*

Tableau 34 : Les équations des droites de régression et les valeurs des coefficients de corrélation (R) de trois doses pour chaque stade de *S. gregaria* traité au *B. bassiana*

Dose de traitement Stade de l'insecte	D1 = 8 x 10 ⁶ spores /ml, D2 = 16 x 10 ⁶ spores /ml, D3 = 32 x 10 ⁶ sp/ml.	
	Equation de la droite de régression (Y)	R
L1	y = 3,668x - 19,08	0,861
L2	y = 4,680x - 27,52	0,871
L3	y = 1,059x - 3,099	0,861
L4	y = 0,570x - 0,126	0,861
L5	y = 0,570x - 0,126	0,861
Imago	y = 6,113x - 41,53	0,871

Les valeurs de DL₅₀ à chaque stade sont mentionnées sur le tableau 35.

Tableau 35 : Valeurs de DL₅₀ pour les 5 stades larvaires et les imagos de *S. gregaria* traités au *B.bassiana*

Stades larvaires	L1	L2	L3	L4	L5	Imagos
DL ₅₀ (spores /ml)	3,67 x10 ⁶	8,89 x10 ⁶	44,44x10 ⁶	89,40 x10 ⁶	89,40 x10 ⁶	61,51 x10 ⁶

D'après le tableau 35 et la figure 25, on remarque que la valeur la plus élevée de DL₅₀ (61,51 x10⁶sp/ml) est notée chez les imagos et la valeur la plus faible est observée chez les individus du 1^{er} stade (3,67 x10⁶ sp/ml). De plus, on remarque aussi que les DL₅₀ augmentent en fonction de stade du développement de l'acridien.

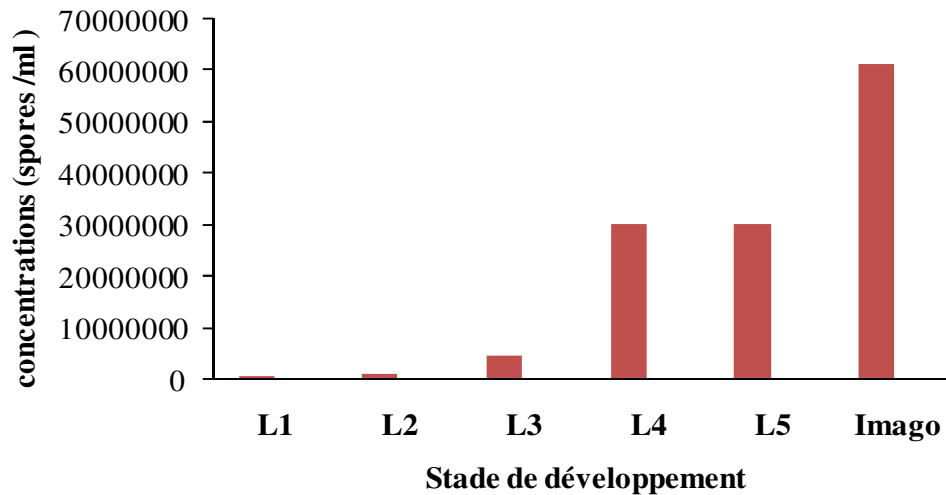


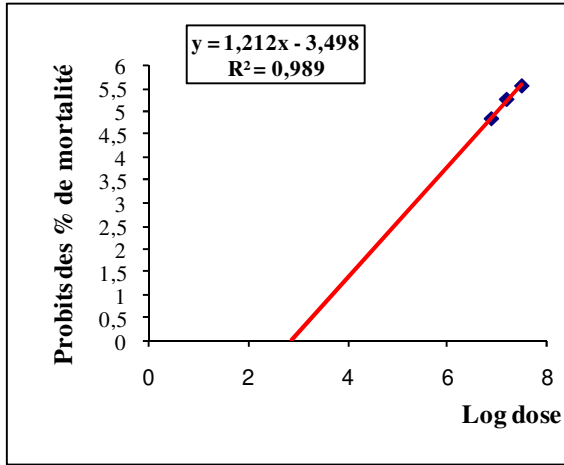
Fig.25 : DL₅₀ pour les 5 stades larvaires et les imagos de *S.gregaria* traités par 3 doses (D1:8x10⁶ spores /ml, D2:16x10⁶ spores /ml, D3:32x 0⁶ spores /ml) de *B. bassiana*.

b- *M. anisopliae*

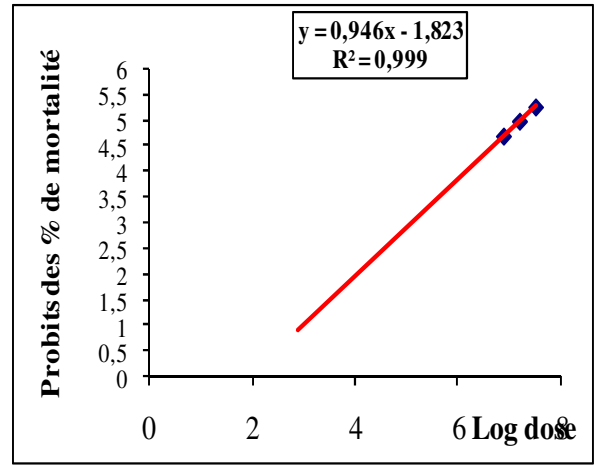
Les résultats de mortalité montrent que le taux de mortalité est en relation avec la dose utilisée, le stade de l'insecte et le temps. Le calcul des DL₅₀ pour chaque stade de l'insecte est réalisé le 5^{ème} jour après traitement. Le calcul de DL₅₀ est obtenu par transformation des pourcentages de mortalité en probits (Tableau 36 et Fig. 26) et les doses en logarithme décimal. A partir des équations de droites de régression obtenues, on calcul la DL₅₀ pour chaque stade de l'insecte au 5^{ème} jour après traitement.

Tableau 36 : Probits des pourcentages de mortalité au 5^{ème} jour après traitement au *M.anisopliae* et logarithme décimal des doses pour les 5 stades larvaires et les imagos de *S.gregaria*

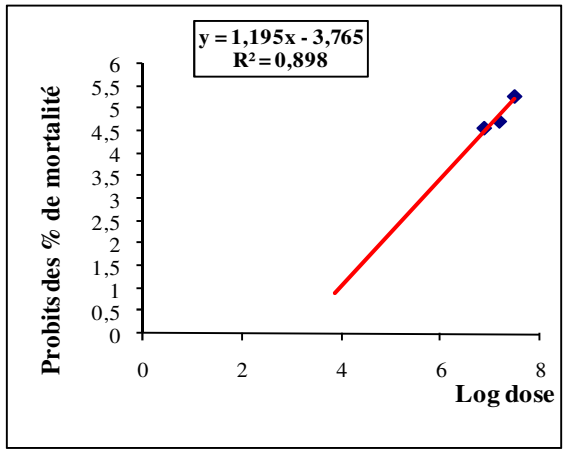
Dose (spore /ml)	Stade	8 x 10 ⁶	16 x 10 ⁶	32 x 10 ⁶
Logarithme décimal des doses	L1	6,90	7,20	7,51
Pourcentage de mortalité (%)	L1	44,44	61,11	72,22
	L2	38,33	50	61,11
	L3	33,33	38,89	61,11
	L4	33,33	33,33	61,11
	L5	0	16,66	27,77
	Imago	0	11,1	11,1
Probits de pourcentage de mortalité	L1	4,85	5,28	5,58
	L2	4,71	5	5,28
	L3	4,56	4,71	5,28
	L4	4,56	4,56	5,28
	L5	0	4,05	4,41
	Imago	0	3,77	3,77



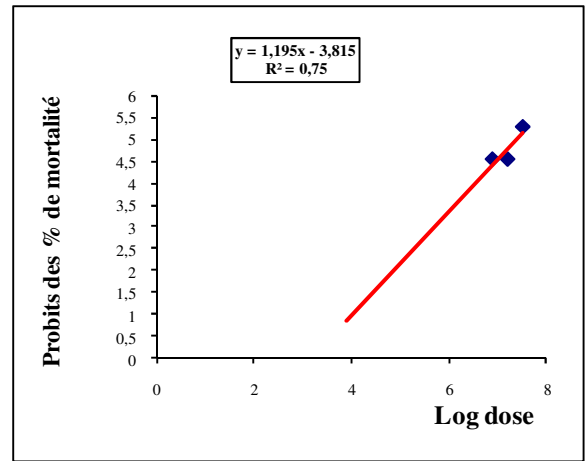
L1



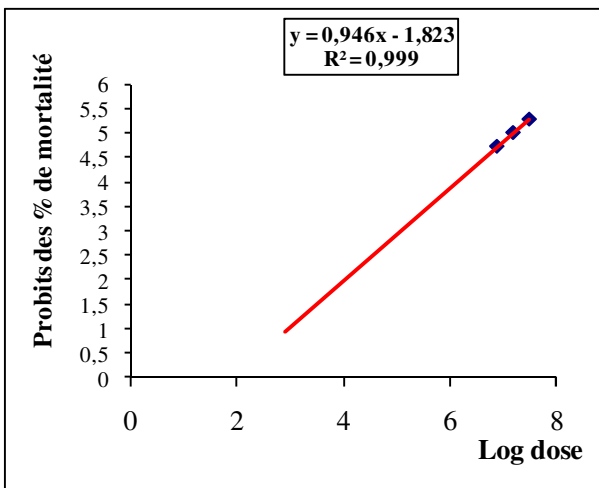
L2



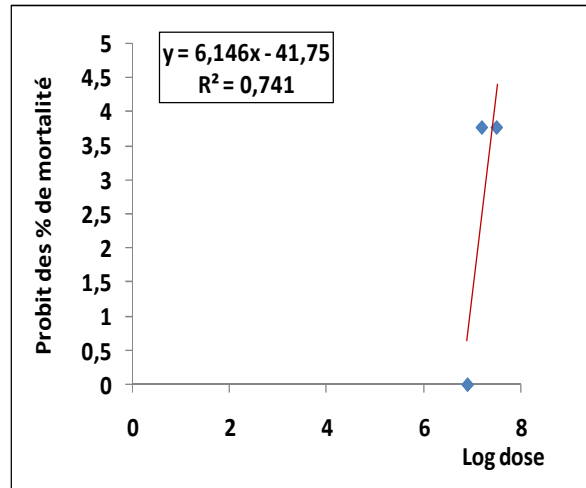
L3



L4



L5



Imagos

Fig.26 : Analyse probit de l'effet de *M.anisopliae* sur la mortalité des 5 stades larvaires et des imagos (5^{ème} jour) de *S.gregaria*

Tableau 37 : Les équations des droites de régression et les valeurs des coefficients de corrélation (R) des trois doses pour chaque stade de *S. gregaria* traité au *M.anisopliae*

Dose de traitement Stade de l'insecte	D1 = 8 x 10 ⁶ spores /ml, D2 = 16 x 10 ⁶ spores /ml, D3 = 32 x 10 ⁶ spores /ml.	
	Equation de la droite de régression (Y)	R
L1	y = 1,2125x - 3,4984	0,979
L2	y = 0,9467x - 1,8238	0,999
L3	y = 1,1959x - 3,7654	0,948
L4	y = 1,1959x - 3,8154	0,866
L5	y = 7,3249x - 49,949	0,900
Imago	y = 6,146x - 41,75	0,861

Les valeurs de DL₅₀ à chaque stade sont mentionnées sur le tableau ci-dessous.

Tableau 38 : Valeurs de DL₅₀ pour les 5 stades larvaires et les imagos de *S. gregaria* traités au *M.anisopliae*

Stades larvaires	L1	L2	L3	L4	L5	Imagos
DL ₅₀ (spores /ml)	10,20x10 ⁶	16,14 x10 ⁶	21,35 x10 ⁶	23,51 x10 ⁶	31,74 x10 ⁶	40,42 x10 ⁶

D'après le tableau 38 et la figure 27, on remarque que la valeur la plus élevée de DL₅₀ (40,42 x10⁶ sp/ml) est calculée chez les imagos et la valeur le plus faible est observée chez les individus du 1^{er} stade L1 (10,20 x 10⁶ sp/ml). Donc, les DL₅₀ augmentent avec la croissance de l'insecte.

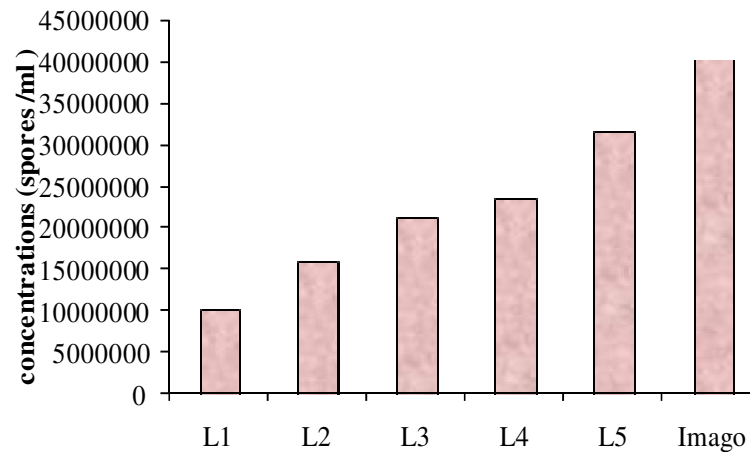


Fig.27 : DL₅₀ pour les 5 stades larvaires de *S. gregaria* et imaginal traités par 3 doses (D1= 8×10^6 spores /ml, D2 = 16×10^6 spores /ml, D3 = 32×10^6 spores /ml) de *M. anisopliae*.

III.2- Effet des deux champignons sur l'évolution pondérale, le gain de poids, la durée de développement et l'activité alimentaire des L5 de *S.gregaria*

III.2.1- Effet sur l'évolution pondérale

Les résultats du poids moyen des larves L5 de *S.gregaria* traitées à la DL50 par les deux entomopathogènes sont portés sur le tableau 39 (Annexe) et illustrés par la figure 28.

L'examen des données sur les pesées faites quotidiennement sur les larves L5 traitées aux deux entomopathogènes, montre une différence entre les individus témoins et traités. En effet, le poids moyen initial enregistré est de $1,10 \pm 0,06$ g chez les larves témoins, de $1,09 \pm 0,14$ g chez les larves traitées au *B. bassiana* et $1,08 \pm 0,13$ g chez les traitées au *M.anisopliae*. Ce poids augmente avec le temps et avec le développement des larves. Ensuite, diminue et arrive à un poids moyen final avant la mue de 1,52g pour larves les témoins, de 1,25g pour celles les traitées au *B.bassiana* et de 1,03g pour L5 traitées au *M. anisopliae*.

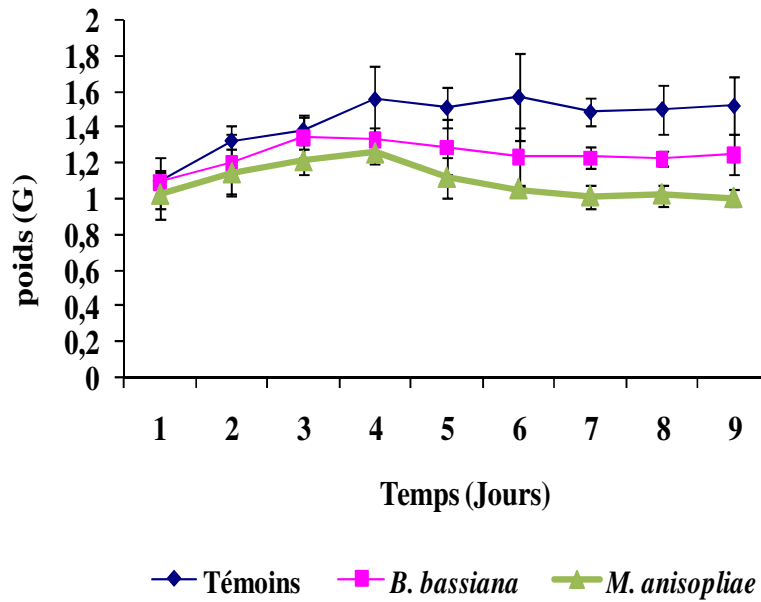


Fig. 28 : Evolution du poids des larves du 5^{ème} stade de *S.gregaria* témoins et traitées au *B.bassiana* et au *M.anisopliae*

Analyse de la variance

Les résultats de cette analyse sont portés sur le tableau 40.

Tableau 40 : Effet du traitement par *B. Bassiana* et *M. anisopliae* sur l'évolution pondérale des larves L5 de *S.gregaria*

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P> F
Modèle	1	0,087	0,090	1,333	0,027
Résidus	81	1,657	0,541		
Total	82	1,744			

D'après le tableau 40, on constate que la probabilité est inférieure à 0,05, ce qui implique qu'il y'a une différence significative entre le poids des larves témoins et traitées aux deux champignons.

III.2.2. Effet sur le gain de poids

Les résultats obtenus concernant le gain de poids des larves L5 de *S. gregaria* témoins et traitées aux deux entomopathogènes sont consignés dans le tableau 41 (annexe) et illustrés par la figure 29.

En examinant ces résultats, on trouve que le gain de poids moyen est remarquable chez les larves témoins avec une valeur de 0,423g. Chez les larves traitées au *B. bassiana*, il est moins important, ce gain est de 0,159g. Il est encore moindre chez celles traitées au *M. anisopliae*, il est de l'ordre de 0,011g.

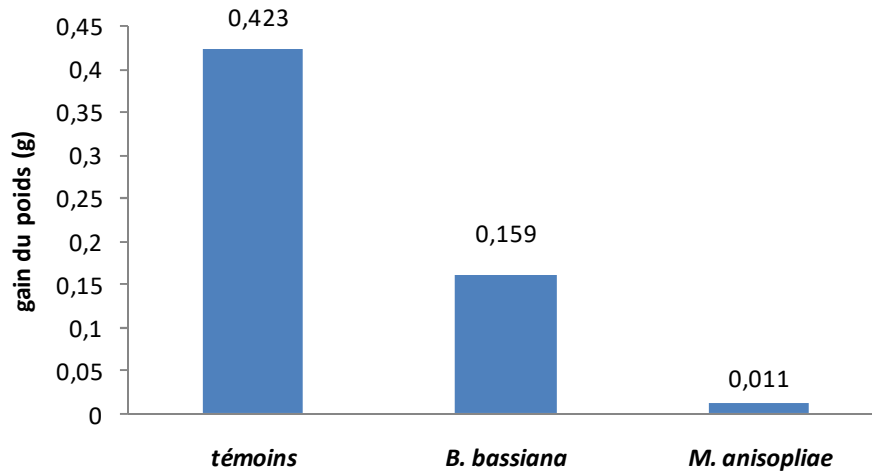


Fig. 29 : Gain de poids chez les larves L5 de *S. gregaria* témoins et traitées aux *B. bassiana* et au *M. anisopliae*

❖ Analyse de la variance

Les résultats de cette analyse sont portés sur les tableaux 42.

Tableau 42 : Effet du traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur le gain de poids des larves L5 de *S. gregaria*

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	1	0,234	0,234	4,400	0,006
Résidus	81	0,567	0,019		
Total	82	0,801			

D'après le tableau 42, on constate que la probabilité est inférieure à 0,05, ce qui implique qu'il y'a une différence significative entre le gain de poids des larves témoins et celles traitées aux deux entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae*.

III.2.3 Effet sur la durée de développement du stade L5 au stade imago

Pour les deux champignons testés, au cours de nos essais, toutes les larves du stade L5 n'ont pas pu atteindre le stade imago. Elles sont toutes mortes au cours de ce passage.

Les résultats de la durée moyenne de développement des larves L5 de *S. gregaria* traitées aux deux cryptogames sont consignés dans le tableau 43.

Le suivi des larves témoins et traitées aux deux champignons montre que la durée moyenne de développement des larves témoins est de 13,5 jours et elle est nulle pour celles traitées aux deux champignons.

Tableau 43 : Durée moyenne de développement en jour des larves L5 de *S. gregaria* traitées aux *B. bassiana* et au *M. anisopliae*

Produits Individus	Eau (Témoin)	<i>B. bassiana</i>	<i>M. anisopliae var acridum</i>
1	14	-	-
2	12	-	-
3	14,5	-	-
4	12,5	-	-
5	13	-	-
Moyenne±Ecartype	13,00±1,037	-	-

❖ Analyse de la variance

Les résultats de cette analyse sont portés sur le tableau 44.

Tableau 44 : Effet du traitement par les deux champignons sur la durée de développement des larves L5 de *S. gregaria*

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	1	143,765	143,765	17,123	0,000
Résidus	4	76,546	12,876		
Total	5	220,311			

Le tableau 44 montre une différence hautement significative entre la durée de développement des larves témoins et celles traitées aux deux champignons (Probabilité < 0,05).

III.2.4. Effet des traitements sur la consommation journalière des L5

a- Effet sur l'ingéra

Les moyennes de la quantité de matière sèche d'aliment consommé par individu ainsi que celles des fèces récupérés quotidiennement chez les larves témoins et traitées par les deux entomopathogènes sont enregistrées sur dans le tableau 45 (annexe) et illustrées par la figure 30.

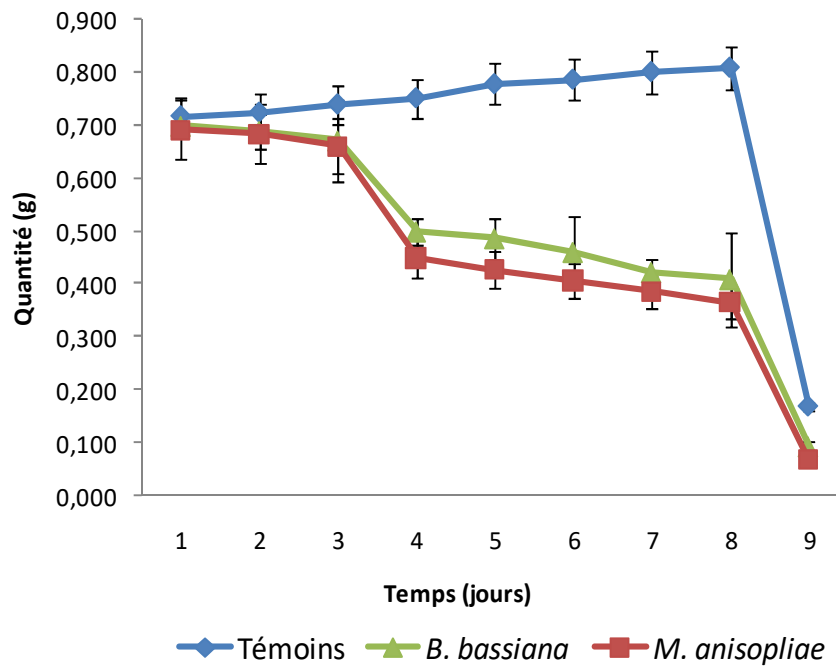


Fig. 30 : Moyennes journalières de la quantité de matière sèche d'aliment ingéré par les L5 de *S.gregaria* témoins et traités au *B. bassiana* et au *M.anisopliae*.

Selon ces données, nous avons remarqué que la consommation initiale débute avec $0,716 \pm 0,086$ pour les larves témoins contre $0,698 \pm 0,116$ g et $0,691 \pm 0,083$ g respectivement chez les L5 traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*. Ensuite, cette consommation augmente puis diminue au cours de temps et atteint des valeurs soit supérieures ou inférieures aux valeurs initiales. Au 9^{ème} jour, on a noté une consommation de : $0,168 \pm 0,020$ g, $0,029 \pm 0,005$ g et $0,068 \pm 0,008$ g respectivement pour les larves témoins, les traitées au *B.bassiana* et au *M.anisopliae*.

❖ Analyse de la variance

Les résultats de l'analyse sont portés sur le tableau 46.

Tableau 46 : Effet du traitement par les deux champignons sur la consommation journalière des larves L5 de *S. gregaria*

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	1	763,127	763,127	23,435	0,1000
Résidus	4	94,235	43,324		
Total	5	857,362			

Le tableau 46 montre une différence significative entre la consommation journalière des larves L5 de *S. gregaria* témoins et traitées aux deux champignons.

b- Effet sur l'egesta

Les pesées réalisées quotidiennement sur les fèces des larves donnent des valeurs initiales de $0,045 \pm 0,008g$, $0,698 \pm 0,116g$ et $0,691 \pm 0,083g$ respectivement pour les témoins et les traitées au *B.bassiana* et au *M. anisopliae*. Le poids des excréments augmente puis diminue au cours du temps et atteint des valeurs soit supérieures ou inférieures aux valeurs initiales pour atteindre au 9^{ème} jour $0,042 \pm 0,007g$, $0,029 \pm 0,005g$ et $0,016 \pm 0,003g$ respectivement pour les témoins et traitées au *B.bassiana* et au *M. anisopliae* (fig. 31).

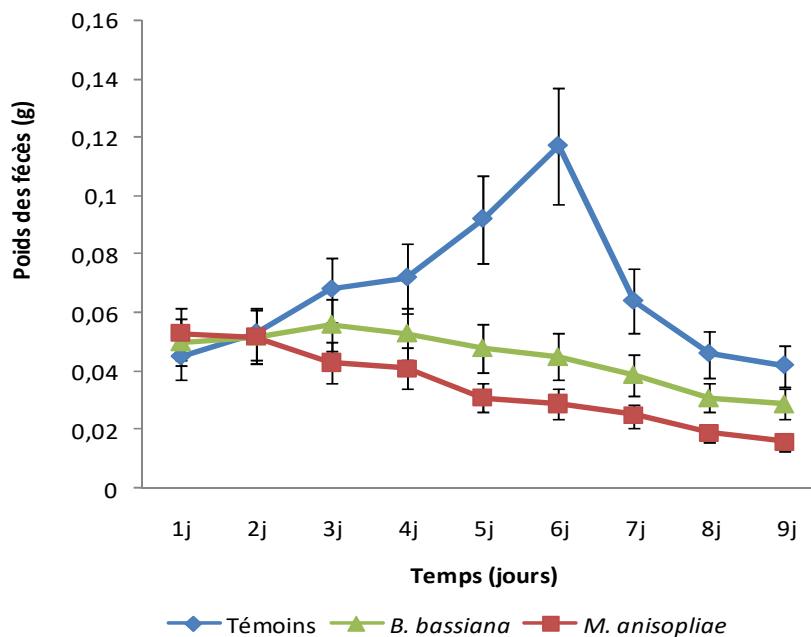


Fig.31 : Moyennes journalières de la quantité des fèces rejetés par les L5 de *S. gregaria* témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*.

❖ **Analyse de la variance**

Les résultats de cette analyse sont portés sur le tableau ci dessous.

Tableau 47 : Effet du traitement par les deux champignons sur la consommation journalière des larves L5 de *S. gregaria*

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	1	543,324	543,324	19,534	0,0003
Résidus	4	37,987	67,435		
Total	5	581,311			

L'analyse statistique portée sur le tableau 47 révèle une différence significative entre le poids sec des fèces des larves témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* (Probabilité < 0,05)

III.2.5 Effet sur les indices nutritionnels de consommation et d'utilisation de la nourriture

f) Coefficient d'Utilisation Digestive (C.U.D.%)

Les résultats de l'effet des deux champignons sur le coefficient d'utilisation digestive (C.U.D.%) des larves L5 de *S. gregaria* sont consignés dans le tableau 48 (annexe) et illustrés par la figure 32. Ces résultats montrent que le coefficient d'utilisation digestive (C.U.D.%) chez les L5 de *S.gregaria* traitées par les deux entomopathogènes ne diffère pas tellement des moyennes notées chez les témoins et cela tout au long de cette expérience.

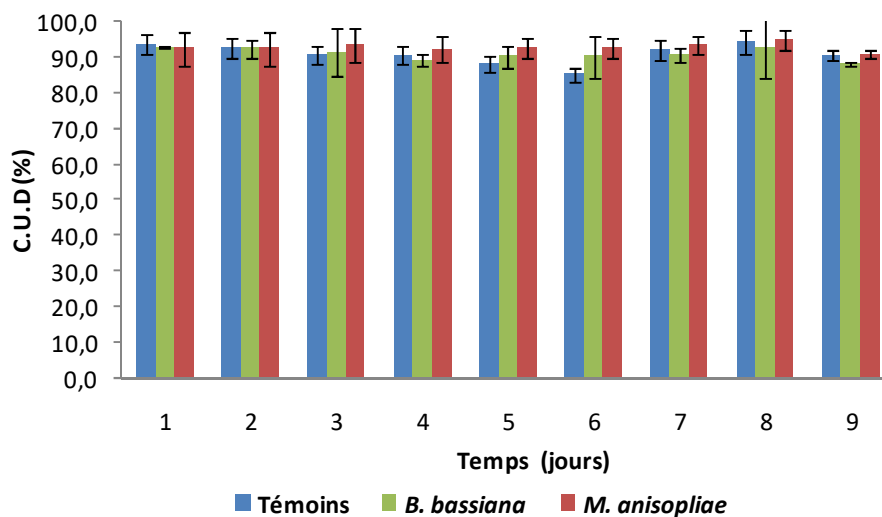


Fig. 32: Estimation des moyennes quotidiennes du coefficient d'Utilisation Digestive (C.U.D.) chez les L5 témoins et traitées au *B.bassiana* et au *M. anisopliae*

❖ Analyse de la variance

Les résultats de cette analyse sont portés sur le tableau 49.

Tableau 49 : Effet du traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur le coefficient d'utilisation digestive (C.U.D.%)

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	1	45,653	45,653	14,090	0,613
Résidus	81	50,673	0,752		
Total	82	96,326			

Le tableau 48 montre qu'il n'y a pas une différence significative entre le coefficient d'utilisation digestive (C.U.D.%) des larves L5 témoins et traitées aux deux champignons.

g) Efficacité de Conversion de la nourriture Digérée en matière corporelle (E.C.D.)

Les résultats de l'Efficacité de Conversion de la nourriture Digérée par les larves L5 de *S.gregaria* témoins et traitées aux deux cryptogames sont consignés dans le tableau 48 (annexe) et illustrés par la figure 33. D'après ces résultats, on constate que l'efficacité de conversion de la nourriture digérée (E.C.D.) la plus élevée est enregistrée chez les larves témoins, suivie par celles traitées au *B. bassiana*. Chez les larves traitées par *M.anisopliae*, on a enregistré les valeurs les plus faibles.

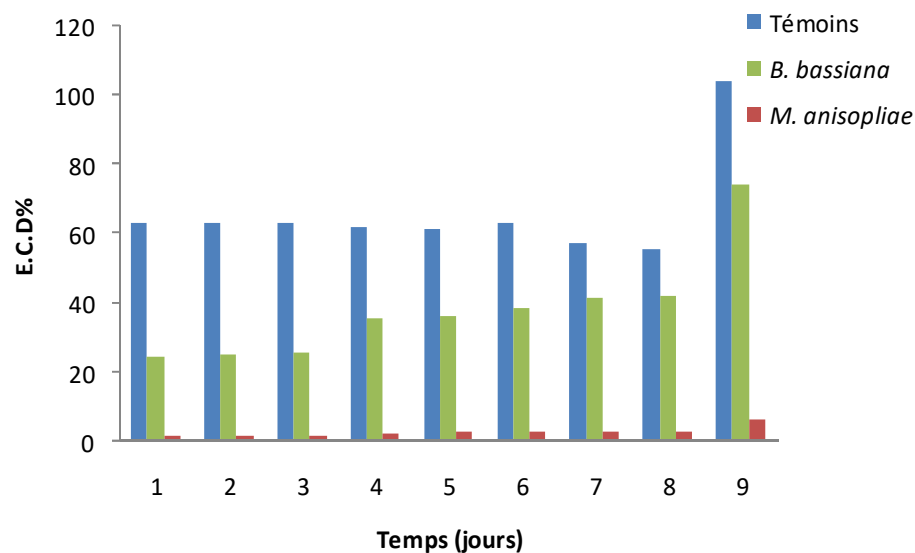


Fig. 33 : Estimation des moyennes quotidiennes de l'Efficacité de Conversion de la nourriture Digérée en matière corporelle (E.C.D) chez les L5 de *S. gregaria* témoins et traitées par *B.bassiana* et *M.anisopliae*

❖ **Analyse de la variance**

Les résultats de cette analyse sont portés sur le tableau suivant.

Tableau 50 : Effet du traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur l'Efficacité de Conversion de la nourriture Digérée par les larves L5 de *S. gregaria*

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	1	1,753	1,753	0,053	0,04
Résidus	81	1543,764	64,985		
Total	82	1545,517			

La probabilité dans tableau ci-dessus est inférieure à 0,05, ce qui explique qu'il y a une différence significative entre l'efficacité de conversion de la nourriture digérée par les larves témoins et traitées par *B. bassiana* et *M. anisopliae*.

h) Efficacité de Conversion de la nourriture Ingérée en matière corporelle (E.C.I)

Les résultats de l'Efficacité de Conversion de la nourriture Ingérée en matière corporelle (E.C.I) des larves L5 de *S. gregaria* traitées aux deux entomopathogènes sont mentionnés dans le tableau 48 (annexe) et illustrés par la figure 34. L'E.C.I enregistrée chez les larves traitées aux deux champignons ne diffère pas tellement de celle des témoins. Néanmoins, mais on note qu'elle est légèrement plus élevée pour les traitées au *M. anisopliae* suivie par celles obtenue avec le *B.bassiana*. Les valeurs les plus faibles sont obtenues chez les larves témoins (Fig.34).

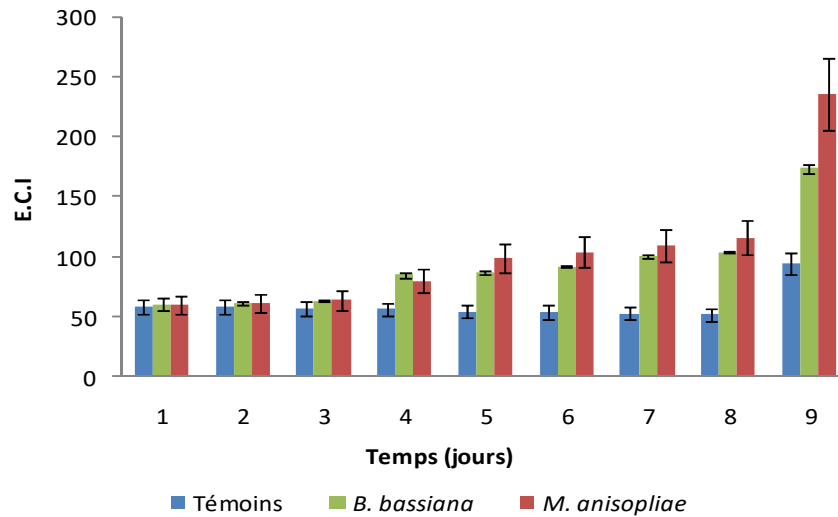


Fig.34: Estimation des moyennes quotidiennes de l'Efficacité de Conversion de la nourriture Ingérée en matière corporelle (E.C.I) chez L5 de *S. gregaria* témoins et traités par *B.bassiana* et *M.anisopliae*

❖ Analyse de la variance

Les résultats de cette analyse sont portés sur le tableau 51.

Tableau 51 : Effet du traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur l'Efficacité de Conversion de la nourriture Ingérée en matière corporelle (E.C.I) des larves L5 de *S.gregaria*

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	1	78,765	87,543	0,654	0,049
Résidus	81	5543,765	234,287		
Total	82	5622,53			

D'après le tableau ci-dessus, on remarque que la probabilité est inférieure à 0,05, ce qui implique qu'il y'a une différence entre l'Efficacité de Conversion de la nourriture Ingérée des larves témoins et celles traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*.

III.3. Effet de deux champignons sur l'hémolymphe des larves L5 de *S. gregaria*

III.3.1- Effet sur l'hémogramme des larves L5 de *S. gregaria*

Après l'examen du frottis sanguin des L5 de *S. gregaria*, nous avons pu déterminer trois catégories de cellules sanguines, mais étant donné la variabilité de la taille et de la forme de ces cellules ainsi que notre faible connaissance sur leur aspect physiologique, nous sommes arrivés à déterminer seulement deux d'entre elles à savoir : Les prohémoctes (cellules de

petite taille avec des noyaux plus ou moins volumineux) et les plasmatocytes (cellules caractérisées par un grand noyau rond ou ovoïde et une forme le plus souvent fusiforme).

Nous avons compté le nombre total d'hémocytes trouvées ainsi que le nombre et le taux relatif à chaque catégorie de cellules identifiées et cela dans 5 μ l d'hémolymphe prélevée au 3^{ème} jour après traitement à partir des L5 de *S. gregaria* témoins et traitées. Les résultats obtenus sont mentionnés dans les tableaux 52 et 53 (annexe) et illustrés par les figures 35 et 36.

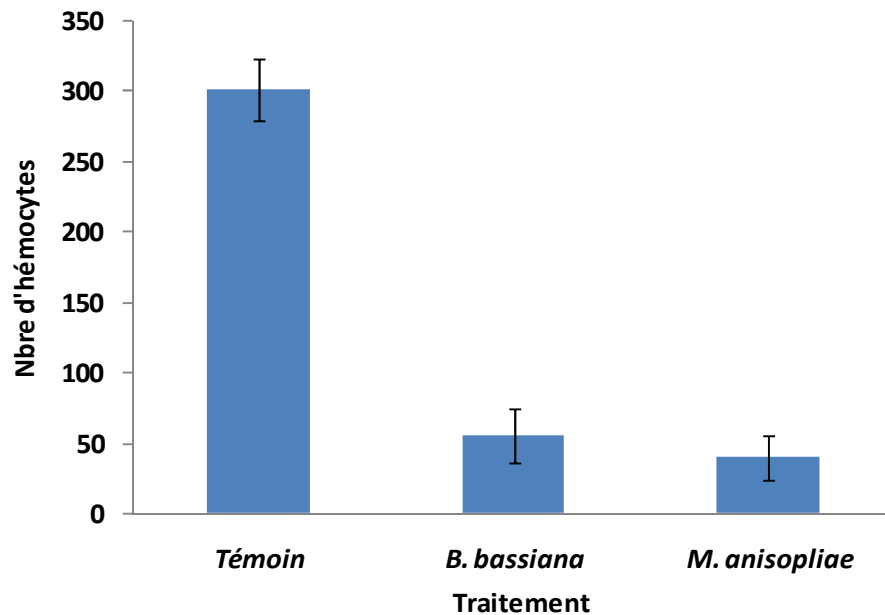


Fig. 35 : Nombre total d'hémocytes chez les imagos de *S.gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et *M.anisopliae*

Nous remarquons que le nombre total moyen d'hémocytes des L5 de *S. gregaria* est de 301±22,6 chez les témoins, il a été réduit chez les traités au *B. bassiana* et *M. anisopliae* à des valeurs de 55,24±19,54 et 39,5±15,78 hém/ μ l (Fig.35). La même réduction a été observée concernant le taux moyen des prohémocytes et des plasmatocytes (Fig.36). Par le traitement aux deux champignons, nous avons remarqué aussi que *M. anisopliae* provoque une chute plus remarquable des deux catégories de cellules que *B.bassiana*.

Le traitement par les deux champignons nous a permis de détecter d'importantes altérations structurales des cellules totalement absentes chez les individus traités *B. bassiana* (38a) et *M. anisopliae* (38b) comparativement aux témoins. Ces cellules atteintes présentent un aspect rétracté, dense et diffus et qui ont tendance à se regrouper pour former des agrégats.

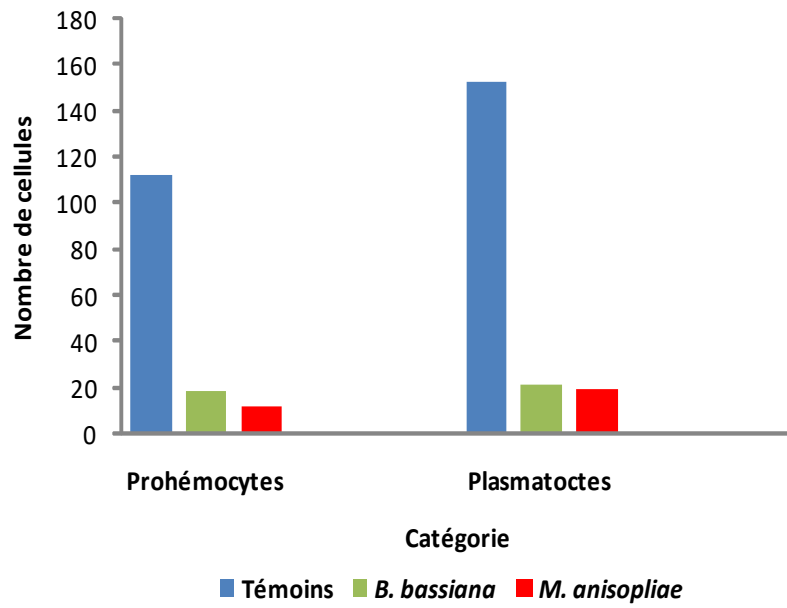
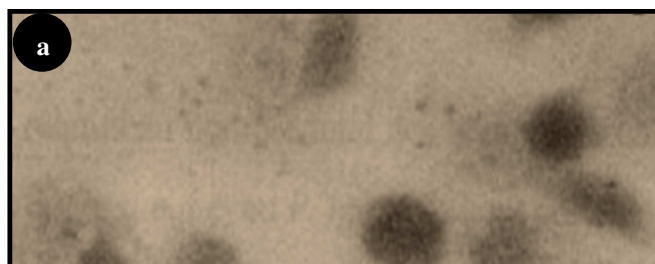


Fig. 36 : Nombre et taux de prohémocytes et de plasmatocytes chez les imagos de *S. gregaria* traités au *B. bassiana* et *M. anisopliae*



Fig. 37 : Frottis de l'hémolymphe des L5 témoins de *S. gregaria* après coloration au May GrunWald Giemsa (A : prohémocyte, B : plasmatocyte) (G. x40)



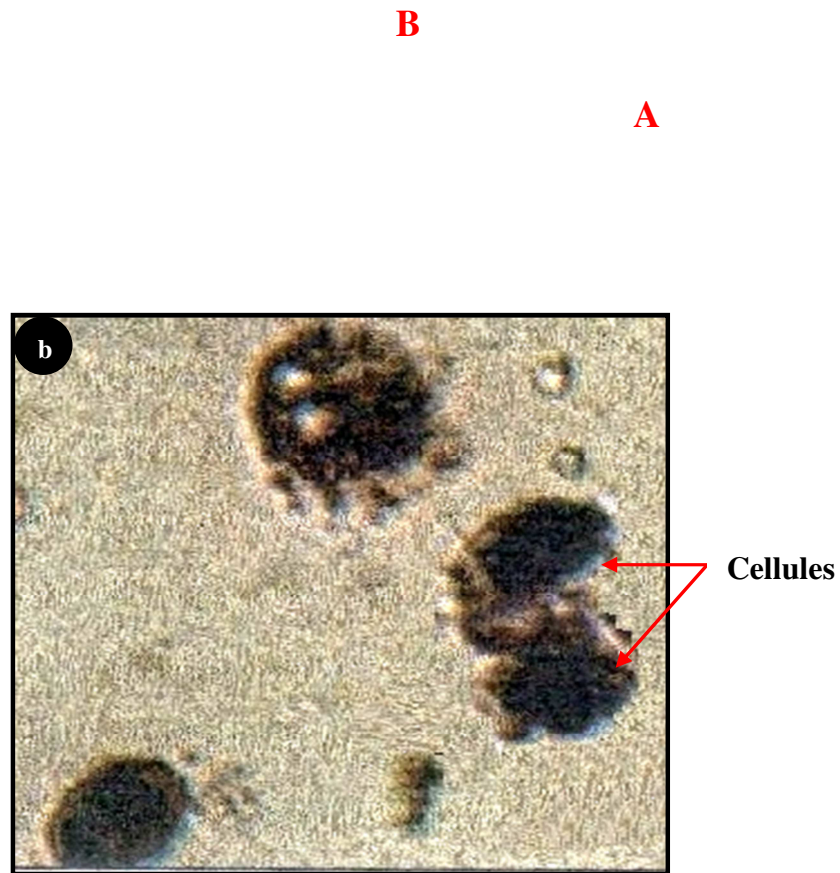


Fig. 38 : Frottis de l'hémolymphe des L5 de *S. gregaria* traitées au *B. bassiana* (a) et au *M.anisopliae* (b) après coloration au May GrunWald Giemsa (A : prohémostocyte, B : plasmatocyte) (G :x 40).

❖ **Analyse de la variance**

Les résultats de cette analyse sont portés sur le tableau 54.

Tableau 54 : Effet du traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur l'hémogramme des larves L5 de *S. gregaria*

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	1	23,984	45,44	0,345	0,006
Résidus	81	3245,435	543,876		
Total	82	3269,419			

L'analyse de la variance nous a révélé qu'il existe un effet significatif du traitement par les deux champignons entomopathogènes sur le nombre total d'hémocytes ($p < 0,05$) chez les L5 de *S.gregaria* traitées comparativement aux témoins.

III.3.2- Etude de l'effet des deux entomopathogènes sur les protéines hémolympathiques des L5 de *S. gregaria*

a- Analyse quantitative

Pour déterminer le taux des protéines hémolympathiques des larves L5 de *S. gregaria*, témoins et traitées aux deux champignons, nous avons d'abord déterminé les concentrations de BSA (Bovine Serum Albumen) illustrées par la figure 39 et tableau 55 (annexe).

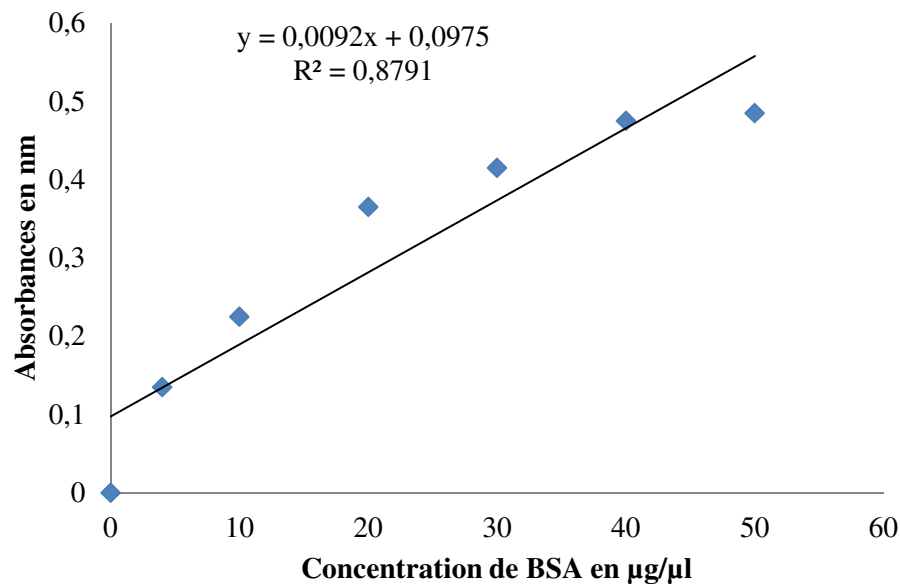


Fig. 39 : Courbe de référence exprimant les absorbances à 530 nm en fonction des Concentration de BSA en µg/µl

Les résultats obtenus des moyennes du taux des protéines hémolympathiques des adultes de *S.gregaria* témoins et traités au *M. anisopliae* sont portés sur le tableau 56 (annexe) et illustrés par la figure 40.

D'après ces résultats, on constate que le taux des protéines hémolympathiques des larves témoins sont importants par rapport à celles traitées par les deux champignons. Ce taux est plus important chez les témoins, il diminue chez les traitées au *B.bassiana*. Les taux les plus faibles sont obtenus chez celles traitées au *M. anisopliae*. Les taux enregistrés sont de 41,37 µg/ml, 41,67 µg/ml et 40,66 µg/ml µg/ml au 1^{er} jour et de 84,67 µg/ml, 72,54 µg/ml et

66,23µg/ml au 9^{ème} jour, respectivement pour les témoins, les traitées au *B.bassiana* et les traitées au *M.anisopliae*.

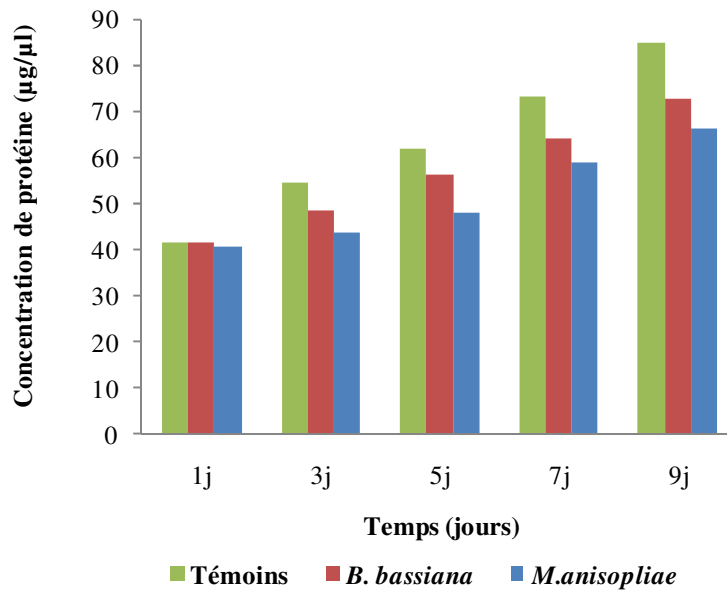


Fig. 40 : La concentration des protéines hémolympatiques des larves L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*

❖ Analyse de la variance

Les résultats de cette analyse sont portés sur les tableaux 57 et 58.

Tableau 57 : Effet du traitement par *B. bassiana* sur la concentration des protéines hémolympatiques des larves L5 de *S. gregaria*.

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	2	1975,583	324,986	7,520	0,003
Résidus	6	34,697	5,456		
Total	8	2010,28			

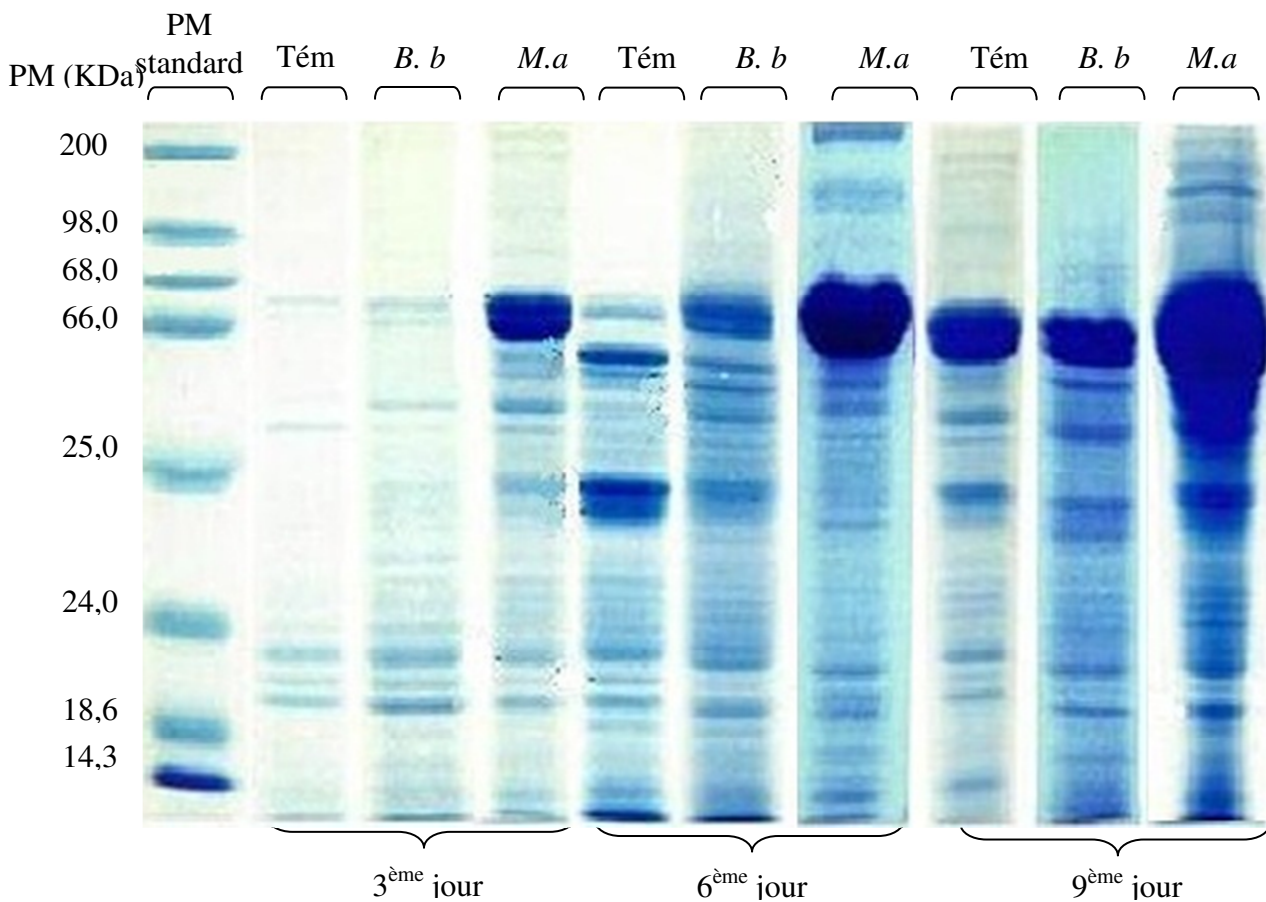
Tableau 58 : Effet du traitement par *M. anisopliae* sur la concentration des protéines hémolympatiques des larves L5 de *S. gregaria*

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	2	786,123	675,762	18,126	0,001
Résidus	6	97,253	98,547		
Total	8	883,376			

D'après les tableaux 57 et 58, on remarque qu'il y a une différence significative entre la concentration des protéines hémolympatiques des larves L5 témoins et traitées au *B.bassiana* et une différence hautement significative entre la concentration des protéines hémolympatiques des larves témoins et celles traitées au *M.anisopliae* (Probabilité < 0,001).

b- Analyse qualitative : profil électrophorétique des protéines

Les profils protéiques de l'hémolymphe des larves L5 de *S. gregaria*, témoins et traitées aux deux entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* aux 3^{ème}, 6^{ème} et 9^{ème} jour sont représentés dans la fig.41.



Tém : témoin, *B.b* : *Beauveria bassiana*, *M.a* : *Metarhizium anisopliae*, PM : poids moléculaire KDa : kilo dalton

Fig.41 : Profils électrophorétiques des protéines hémolympatiques des larves L5 de *S. gregaria* traitées au *B.bassiana* et au *M. anisopliae* aux 3^{ème}, 6^{ème} et 9^{ème} jour

Afin de connaître les poids moléculaires des protéines hémolympatiques des larves L5 de *S.gregaria* témoins et traitées aux deux champignons aux 3^{ème}, 6^{ème} et 9^{ème} jour, nous avons d'abord tracé la courbe de calibration exprimée en logarithme décimal du poids moléculaire (PM) en fonction de la mobilité relative (Rf) des marqueurs Promega mentionnées sur le tableau 59 (annexe) et représentés par la fig.42.

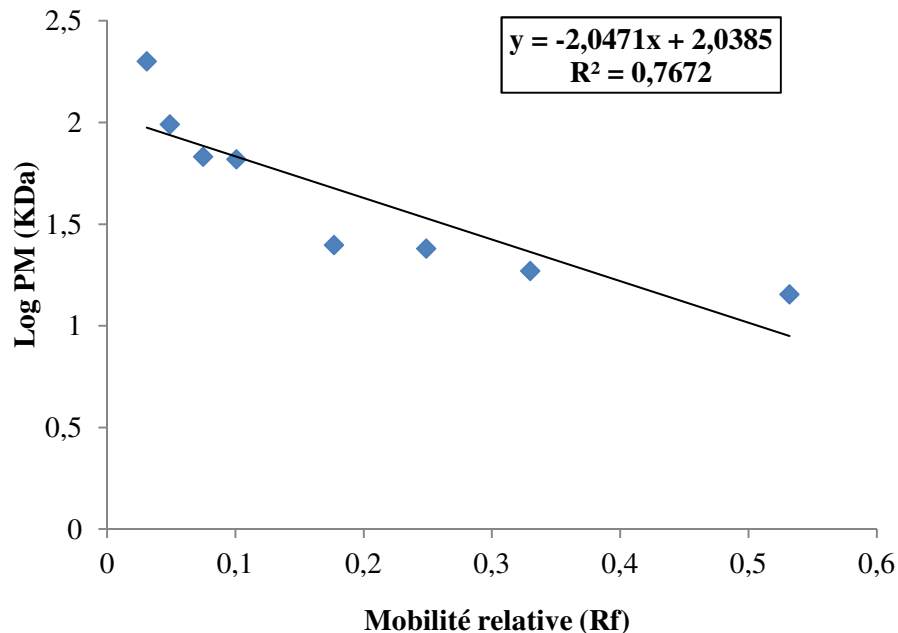


Fig .42 : Courbe de référence exprimant le logarithme décimal du poids moléculaires (PM) en fonction de la mobilité relative (Rf) des protéines marqueurs

Les résultats du poids moléculaire (PM) et les mobilités relatives (Rf) des protéines hémolympatiques des larves L5 de *S.gregaria* témoins et traitées par les deux entomopathogènes *B.bassiana* et *M. anisopliae* aux 3^{ème}, 6^{ème} et 9^{ème} jour, sont reportés dans les tableaux 60 et 61.

D'après ces résultats, on constate qu'il y a une différence dans le nombre et la qualité des bandes protéiques de l'hémolymphe des larves témoins et celles traitées aux deux entomopathogènes, d'où on a remarqué que la série témoin a donné 8 bandes caractérisées par des poids moléculaires variant de 10,340 kda à 61,995 kda au 3^{ème} jour et 9 bandes avec des poids moléculaires variant toujours entre 10,340 kda à 61,995 kda au 6^{ème} jour et 12 bandes avec des poids moléculaires variant entre 10,340 kda à 61,995 kda au 9^{ème} jour. Le traitement par *B. bassiana* a donné 9 bandes caractérisées par des poids moléculaires variant entre 10,340 kda à 61,995 kda au 3^{ème} jour, 13 bandes avec des poids moléculaires variant de 10,340 kda à 61,995 kda au 6^{ème} jour et 14 bandes avec des poids moléculaires variant de

10,340 kda à 86,298 kda au 9^{ème} jour. Pour le traitement par *M. anisopliae*, on a compté 11 bandes avec des poids moléculaires variant de 10,340 kda à 61,995 kda au 3^{ème} jour, 13 bandes caractérisées par leurs poids moléculaires allant de 10,340 kda à 94,842 kda au 6^{ème} jour et 16 bandes avec des poids moléculaires variant de 10,340 kda à 104,232 kda au 9^{ème} jour.

L'étude électrophorétique des protéines hémolympatiques des larves L5 de *S.gregaria* traitées aux deux champignons, a démontré une augmentation du nombre de bandes aux 3^{ème}, 6^{ème} et 9^{ème} jour. Cette augmentation est plus importante chez les larves traitées par *M.anisopliae* comparativement à celles traitées au *B. bassiana*. Aussi, nous avons remarqué que les bandes des individus traités au *M. anisopliae* sont plus intenses comparativement aux témoins. Concernant les bandes des larves traitées au *B. bassiana* elles présentent presque la même intensité que celle des témoins.

Tableau 60 : Poids moléculaires (PM) et les mobilités relatives (Rf) des protéines hémolympatiques des larves L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B.bassiana* aux 3^{ème}, 6^{ème} et 9^{ème} jour

n° de la bande	3 ^{ème} jour						6 ^{ème} jour						9 ^{ème} jour					
	Témoins			<i>B. bassiana</i>			Témoins			<i>B. bassiana</i>			Témoins			<i>B. bassiana</i>		
	Rf	PM (KDa)	LogP M(Kda)	Rf	PM (KDa)	LogPM (Kda)	Rf	PM (KDa)	LogPM (Kda)	Rf	PM (KDa)	LogP M(Kda)	Rf	PM (KDa)	LogP M(Kda)	Rf	PM (KDa)	LogP M(Kda)
1	0,120	61,995	1,792	0,120	61,995	1,792	0,120	61,995	1,792	0,120	61,995	1,792	0,050	86,298	1,936	0,050	86,298	1,936
2	0,200	42,560	1,629	0,135	57,810	1,710	0,160	51,286	1,710	0,160	51,286	1,710	0,120	61,995	1,792	0,120	61,995	1,792
3	0,220	38,695	1,588	0,200	42,560	1,506	0,260	32,063	1,506	0,185	45,604	1,659	0,160	51,286	1,710	0,160	51,286	1,710
4	0,355	20,464	1,311	0,220	38,695	1,465	0,280	29,174	1,465	0,210	40,551	1,608	0,185	45,604	1,659	0,185	45,604	1,659
5	0,380	18,203	1,260	0,355	20,464	1,260	0,380	18,203	1,260	0,260	32,063	1,506	0,260	32,063	1,506	0,210	40,551	1,608
6	0,395	16,960	1,229	0,380	18,203	1,229	0,395	16,960	1,229	0,280	29,174	1,465	0,280	29,174	1,465	0,260	32,063	1,506
7	0,410	15,803	1,199	0,395	16,960	1,199	0,410	15,803	1,199	0,355	20,464	1,311	0,380	18,203	1,260	0,280	29,174	1,465
8	0,500	10,340	1,015	0,410	15,803	1,055	0,480	11,350	1,055	0,380	18,203	1,260	0,395	16,960	1,229	0,355	20,464	1,311
9				0,500	10,340	1,015	0,500	10,340	1,015	0,395	16,960	1,229	0,410	15,803	1,199	0,380	18,203	1,260
10										0,410	15,803	1,199	0,430	14,388	1,158	0,395	16,960	1,229
11										0,430	14,388	1,158	0,480	11,350	1,055	0,410	15,803	1,199
12										0,480	11,350	1,055	0,500	10,340	1,015	0,430	14,388	1,158
13										0,500	10,340	1,015				0,480	11,350	1,055
14																0,500	10,340	1,015

Tableau 61 : Poids moléculaires (PM) et les mobilités relatives (Rf) des protéines hémolympatiques des larves L5 de *S. gregaria* témoins et traitées aux *M. anisopliae* au 3^{ème}, 6^{ème} et 9^{ème} jour

n° de la bande	3 ^{ème} jour						6 ^{ème} jour						9 ^{ème} jour					
	Témoins			<i>M.anisopliae var acridum</i>			Témoins			<i>M.anisopliae var acridum</i>			Témoins			<i>M.anisopliae var acridum</i>		
	Rf	PM (KDa)	LogP M(Kda)	Rf	PM (KDa)	LogPM (Kda)	Rf	PM (KDa)	LogPM (Kda)	Rf	PM (KDa)	LogP M(Kda)	Rf	PM (KDa)	LogP M(Kda)	Rf	PM (KDa)	LogP M(Kda)
1	0,120	61,995	1,792	0,120	61,995	1,792	0,120	61,995	1,792	0,030	94,842	1,977	0,050	86,298	1,936	0,010	104,232	2,018
2	0,200	42,560	1,629	0,160	51,286	1,710	0,160	51,286	1,710	0,050	86,298	1,936	0,120	61,995	1,792	0,050	86,298	1,936
3	0,220	38,695	1,588	0,175	47,863	1,680	0,260	32,063	1,506	0,070	78,524	1,895	0,160	51,286	1,710	0,070	78,524	1,895
4	0,355	20,464	1,311	0,200	42,560	1,629	0,280	29,174	1,465	0,120	61,995	1,792	0,185	45,604	1,659	0,120	61,995	1,792
5	0,380	18,203	1,260	0,220	38,695	1,588	0,380	18,203	1,260	0,160	51,286	1,710	0,260	32,063	1,506	0,160	51,286	1,710
6	0,395	16,960	1,229	0,260	32,063	1,506	0,395	16,960	1,229	0,185	45,604	1,659	0,280	29,174	1,465	0,185	45,604	1,659
7	0,410	15,803	1,199	0,355	20,464	1,311	0,410	15,803	1,199	0,210	40,551	1,608	0,380	18,203	1,260	0,210	40,551	1,608
8	0,500	10,340	1,015	0,380	18,203	1,260	0,480	11,350	1,055	0,260	32,063	1,506	0,395	16,960	1,229	0,260	32,063	1,506
9				0,395	16,960	1,229	0,500	10,340	1,015	0,280	29,174	1,465	0,410	15,803	1,199	0,280	29,174	1,465
10				0,410	15,803	1,199				0,355	20,464	1,311	0,430	14,388	1,158	0,355	20,464	1,311
11				0,500	10,340	1,015				0,380	18,203	1,260	0,480	11,350	1,055	0,380	18,203	1,260
12										0,395	16,960	1,229	0,500	10,340	1,015	0,395	16,960	1,229
13										0,430	14,388	1,158				0,410	15,803	1,199
14										0,480	11,350	1,055				0,430	14,388	1,158
15										0,500	10,340	1,015				0,480	11,350	1,055
16																0,500	10,340	1,015

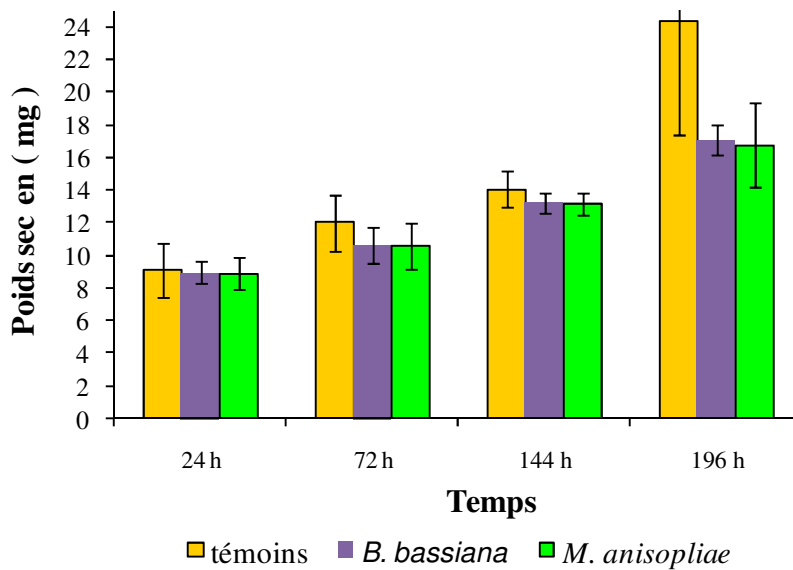
106

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

a –Effet sur le poids sec de la cuticule

Les résultats de l'évolution du poids sec de la cuticule abdominale des larves L5 mâles et femelles de *S.gregaria* témoins et traitées sont rapportés dans le tableau 62 (annexe) et représentés par les figures 43 et 44.

Le poids enregistré chez les larves L5 femelles est de $9,09 \pm 1,62$ mg, $8,87 \pm 0,9$ mg et $8,97 \pm 0,68$ mg au 24h après traitement. Il est de $12,01 \pm 1,7$ mg, $10,54 \pm 1,39$ mg et $10,61 \pm 1,13$ mg après 72h et de $14,06 \pm 1,1$ mg, $13,13 \pm 0,70$ mg et $13,22 \pm 0,57$ après 144h respectivement chez les individus témoins et traités au *M. anisopliae* et au *B. bassiana*. Ces poids augmentent jusqu'à atteindre des valeurs de $24,39 \pm 7,03$ mg, $16,97 \pm 2,38$ mg et $17,06 \pm 0,89$ mg respectivement chez les larves témoins et traitées au *M. anisopliae* et au *B.bassiana*. D'après ces données, nous remarquons que les poids de cuticule des larves des individus témoins sont toujours supérieurs à ceux des individus traités.



Fig, 43 : Evolution du poids sec en mg de la cuticule abdominale des L5 femelles de *S.gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et *M. anisopliae*

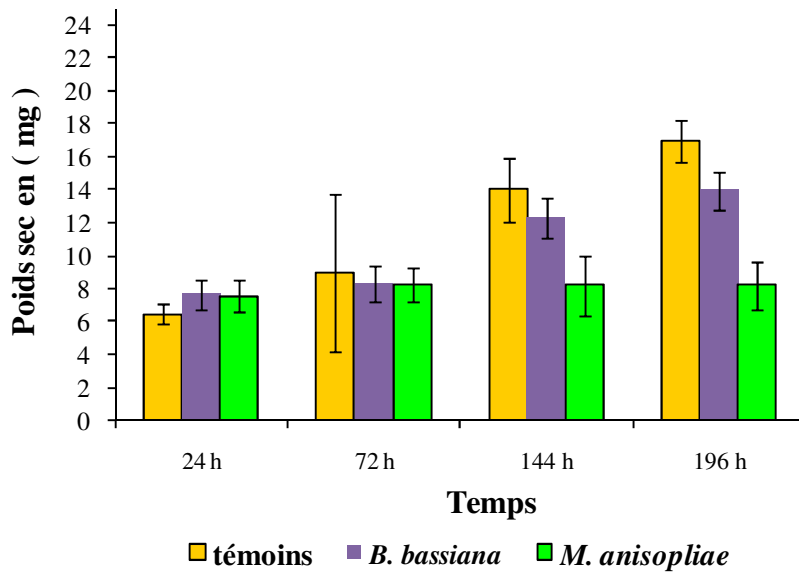


Fig. 44 : Evolution du poids sec en mg de la cuticule abdominale des L5 mâles de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et *M. anisopliae*

Nous avons remarqué aussi que, les poids enregistrés chez les larves L5 mâles traitées au *M. anisopliae* et au *B. bassiana* sont supérieurs à ceux des larves témoins après 24h de traitement ($7,56 \pm 1,02$ mg, $6,46 \pm 0,57$ mg et $7,64 \pm 0,87$ mg). Dans les trois derniers temps 72, 144h et 196 h après traitement le phénomène inverse est observé.

❖ Analyse de la variance

Les résultats de cette analyse sont portés sur les tableaux 63 et 64.

Tableau 63 : Effet du traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur l'évolution du poids sec de la cuticule des larves L5 femelles de *S. gregaria*.

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	7	544,053	77,722	9,370	0,0001
Résidus	16	132,713	8,295		
Total	23	676,766			

Tableau 64 : Effet du traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur l'évolution du poids sec de la cuticule des larves L5 mâles de *S. gregaria*

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	7	111,026	37,009	13,137	0,002
Résidus	16	22,537	2,817		
Total	23	133,563			

D'après les tableaux 63 et 64, on remarque qu'il y a une différence significative entre le poids sec de la cuticule des larves L5 mâles et femelles de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* (Probabilité < 0,05).

b– Effet sur la quantité de chitine

Les données relatives à la quantité en mg de la chitine cuticulaire des larves L5 femelles et mâles de *S. gregaria* témoins et traitées sont mentionnées dans le tableau 65 (annexe) et représentées par les figures 45 et 46.

Nous remarquons à travers ces données que, la quantité de chitine cuticulaire des L5 femelles augmente en fonction du temps chez les individus témoins et les traités. Après 24h de traitement, elle est de $2,62 \pm 1,20$ mg, $2,57 \pm 0,42$ mg et $2,62 \pm 0,33$ mg respectivement chez les témoins et les traitées au *M. anisopliae* et au *B. bassiana*. Ensuite, elles se développent avec le temps jusqu'à atteindre au 196 h un maximum de $10,47 \pm 3,01$ mg, $7,75 \pm 0,26$ mg et $2,98 \pm 0,23$ mg respectivement chez les individus témoins et les traités au *M. anisopliae* et au *B. bassiana*.

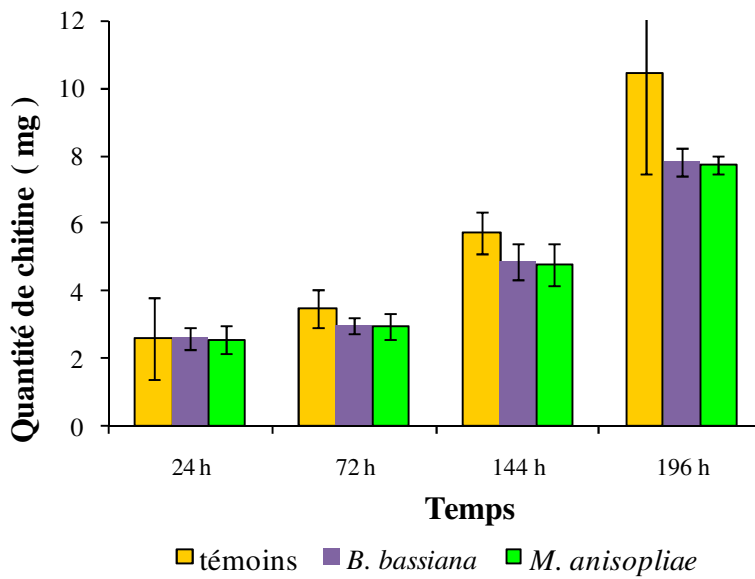


Fig. 45 : Evolution de la quantité de chitine en mg de la cuticule abdominale des L5 femelles de *S.gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et *M.anisopliae*

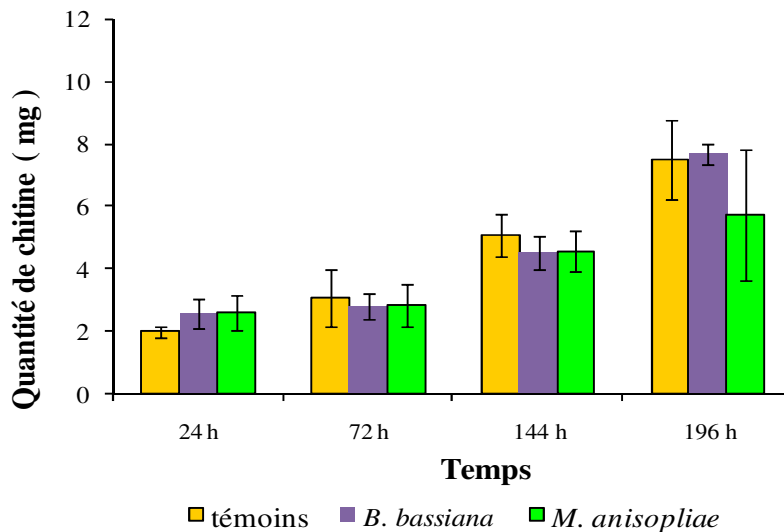


Fig. 46 : Evolution du quantité de chitine en mg de la cuticule abdominale des L5 mâles de *S.gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et *M. anisopliae*

Concernant la quantité de chitine chez les larves L5 mâles, nous enregistrons après 24h de traitement des valeurs de $2,61 \pm 0,58$ mg et $2,59 \pm 0,47$ mg respectivement chez individus traités au *M.anisopliae* et au *B. bassiana*. Ces quantités sont supérieures à celles des individus témoins $1,99 \pm 0,17$ mg. Par contre, 72h, 144h et 196h, après nous remarquons que la quantité

de chitine chez les larves témoins reste toujours supérieure à celle des larves traitées aux deux champignons.

❖ Analyse de la variance

Les résultats de cette analyse sont portés sur les tableaux 66 et 67.

Tableau 66 : Effet du traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur la quantité de la chitine de la cuticule des larves L5 femelles de *S. gregaria*.

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	7	7,337	7,337	3,485	0,008
Résidus	16	277,411	92,470		
Total	23	13,813	4,604		

Tableau 67 : Effet du traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur la quantité de la chitine de la cuticule des larves L5 mâles de *S. gregaria*

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	7	432,279	144,093	1,681	0,024
Résidus	16	685,669	85,709		
Total	23	1117,948			

L'analyse de la variance montre une différence significative entre la quantité de la chitine des larves L5 mâles et femelles de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* (Probabilité < 0,05).

c- Effet sur le taux de la chitine

Les résultats des taux de la chitine cuticulaire abdominale chez les larves L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* sont inscrits sur le tableau 68 (annexe) et représentés par les figures 47 et 48.

D'après ces résultats, nous constatons que les taux moyens de la chitine des larves L5 femelles témoins après 24h sont supérieurs à ceux des larves traitées au *M. anisopliae* et au *B. bassiana*, ils sont respectivement de $30,43 \pm 16,64\%$, $28,97 \pm 2,83\%$ et $29,21 \pm 3,68\%$. Ces taux diminuent pour atteindre des valeurs de $2,53 \pm 5,78\%$, $28,6 \pm 6,54\%$ et $28,09 \pm 2,17\%$ respectivement chez les larves témoins et traitées au *M. anisopliae* et au *B. bassiana* après 72

h après traitement. Ensuite, ces taux augmentent chez les larves témoins jusqu'à atteindre $40,77 \pm 3,90\%$ après 144h, est de $36,60 \pm 6,86\%$, chez les larves traitées au *M. anisopliae* et $36,98 \pm 3,93\%$ pour les traitées au *B. bassiana*. Après 196h, ces taux continuent à augmenter arrivant à $42,96 \pm 4,12\%$ chez les témoins et $46,82 \pm 5,84\%$ chez les larves traitées au *M. anisopliae* et $45,84 \pm 2,40\%$ pour les traitées au *B. bassiana*. Pendant ce temps, on note aussi que le taux moyens de chitine chez les larves traitées sont supérieurs à ceux des larves témoins.

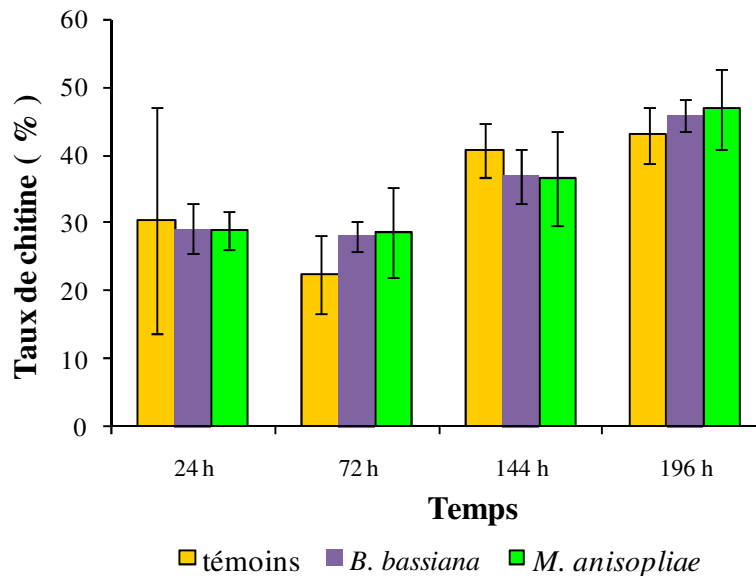


Fig. 47 : Evolution du taux de chitine de la cuticule abdominale des L5 femelles de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et *M. anisopliae*

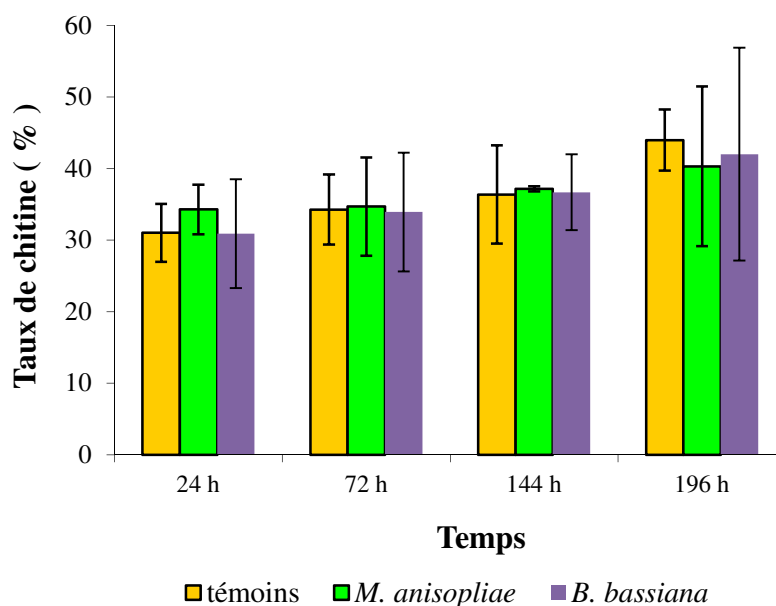


Fig.48 : Evolution du taux de chitine de la cuticule abdominale des L5 mâles de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et *M. anisopliae*

Concernent les taux de chitine des larves L5 mâles, les valeurs enregistrées après 24h chez larves traitées au *M. anisopliae* et au *B. bassiana* ($34,30 \pm 3,47\%$, $30,9 \pm 7,59\%$) sont supérieures à celles des larves témoins ($31,02 \pm 4,03\%$). Après 72h, on a noté un taux de $34,28 \pm 4,90\%$ chez les témoins et de $34,70 \pm 6,86\%$ chez les traitées au *M. anisopliae* et $33,94 \pm 8,30\%$ chez les traitées au *B. bassiana*. Après 144h, ils sont de l'ordre de $36,38 \pm 6,88\%$, $37,17 \pm 0,34\%$ et $36,69 \pm 5,29\%$ respectivement chez les larves témoins et les traitées au *M. anisopliae* et au *B. bassiana*. Au temps 196 h, on constate l'inverse, le taux de chitine chez les larves mâles témoins est supérieur à celui des larves traitées.

❖ Analyse de la variance

Les résultats de cette analyse sont portés sur les tableaux 69 et 70.

Tableau 69 : Effet du traitement par *B. bassiana* sur le taux de la chitine de la cuticule des larves L5 de *S. gregaria*.

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	7	432,279	144,093	1,681	0,24
Résidus	16	685,669	85,709		
Total	23	1117,948			

Tableau 70 : Effet du traitement par *M. anisopliae* sur le taux de la chitine de la cuticule des larves L5 de *S. gregaria*

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	1	0,058	0,058	0,001	0,97
Résidus	22	921,399	41,882		
Total	23	921,457			

L'analyse statistique montre une différence non significative entre le taux de la chitine des larves L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* (Probabilité > 0,05).

d- Effet sur la quantité de protéines cuticulaires

Les résultats de l'évolution des quantités de protéines cuticulaires abdominales des larves L5 femelles de *S.gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* sont mentionnés dans le tableau 71 (annexe) et représentés par les figures 49 et 50.

Chez les L5 témoins, la quantité des protéines évolue et augmente au cours du temps. Ces quantités sont de l'ordre de $6,47 \pm 2,5$ mg à 24h, $8,29 \pm 1,78$ mg après 72h, $8,33 \pm 0,93$ mg après 144h et $13,92 \pm 4,34$ après 196 h. Chez les larves traitées au *M.anisopliae*, on a remarqué aussi une évolution des quantités de protéines au cours du temps. Après 24h de traitement, on a noté une quantité de $6,29 \pm 0,66$ mg à 72h après on observé des quantités de $7,58 \pm 1,59$ mg et de $8,36 \pm 1,32$ mg après 144h $9,01 \pm 2,35$ mg au 196h. Pour les larves traitées au *B.bassiana*, on a noté une quantité de $6,36 \pm 0,72$ mg après 24h de traitement, $7,67 \pm 0,89$ h après 72h, $8,45 \pm 1,06$ mg au bout de 144h et $10,23 \pm 1,33$ h après 196h

Concernant l'évolution des quantités de protéines chez les L5 mâles, nous avons remarqué que les quantités de protéines enregistrées après 24h chez les larves traitées sont supérieures à celles des témoins ($4,94 \pm 0,43$ mg chez les traitées au *M. anisopliae*, $5,08 \pm 0,92$ mg chez les traitées au *B. bassiana* et $4,46 \pm 0,61$ mg pour les témoins). A partir de 72h, les larves témoins présentent une teneur en protéines supérieures à celles des traitées. Nous avons noté après 196h une quantité de protéines chez les témoins de $9,48 \pm 0,17$ mg, $8,20 \pm 0,60$ mg chez les traitées au *M. anisopliae* et de $8,73 \pm 1,58$ mg chez les traitées au *B.bassiana*.

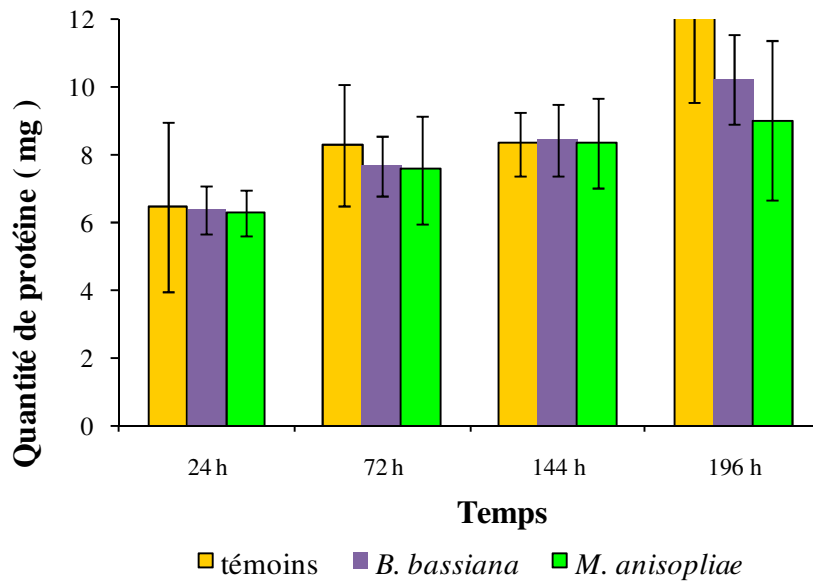


Fig. 49 : Evolution de la quantité de protéines en mg de la cuticule abdominale des L5 femelles de *S.gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et *M. anisopliae*

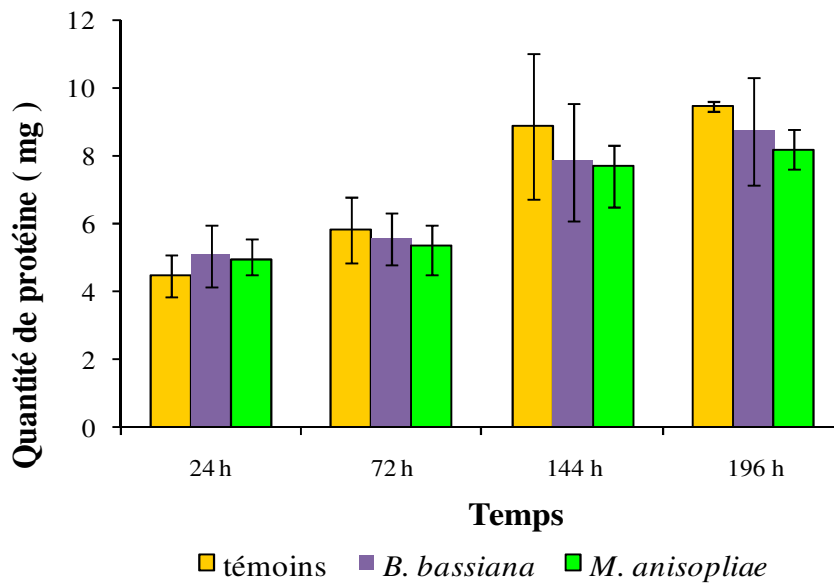


Fig. 50 : Evolution de la quantité de protéines en mg de la cuticule abdominale des L5 mâles de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et *M. anisopliae*

❖ **Analyse de la variance**

Les résultats de cette analyse sont portés sur les tableaux 72 et 73.

Tableau 72 : Effet du traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur la quantité de protéines de la cuticule des larves L5 femelles de *S. gregaria*.

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	7	93,823	31,274	4,201	0,04
Résidus	16	59,561	7,445		
Total	23	153,384			

Tableau 73 : Effet du traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur la quantité de protéines de la cuticule des larves L5 mâles de *S. gregaria*

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	7	118,569	16,938	3,383	0,02
Résidus	16	80,108	5,007		
Total	23	198,677			

D'après les tableaux ci-dessus, on remarque qu'il y a une différence significative entre le taux de la chitine des larves L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* ($P < 0,05$).

e-Effet sur le taux de protéine cuticulaires

Les résultats des taux de protéines cuticulaires abdominales chez les larves L5 de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* sont désignés par le tableau 74 (annexe) et représentés par les figures 51 et 52.

Les taux des protéines cuticulaires des larves L5 femelles les plus élevés chez les individus témoins et traitées aux deux champignons sont enregistrés au bout de 72h après traitement. Ces taux sont de : $70,46 \pm 5,78$ %, $71,39 \pm 6,54$ % et $72,29 \pm 8,39$ % respectivement chez les témoins, les traitées au *M. anisopliae* et au *B. bassiana*. Après 24h, ces taux sont de l'ordre de : $71,02 \pm 2,83$ %, $69,56 \pm 16,54$ % et $70,90 \pm 8,03$ %. A partir de 144h, on a noté une réduction des taux de protéines aussi bien chez les larves témoins que chez les traitées avec des taux de $59,22 \pm 3,90$ %, $63,39 \pm 6,86$ % et $63,92 \pm 8,02$ %. Ces taux à diminuer jusqu'à $43 \pm 14,19$ % chez les témoins, $38,38 \pm 11,80$ % chez les traitées au *M. anisopliae* et $40,96 \pm 7,80$ % chez les traitées au *B. bassiana* 196 h après le traitement.

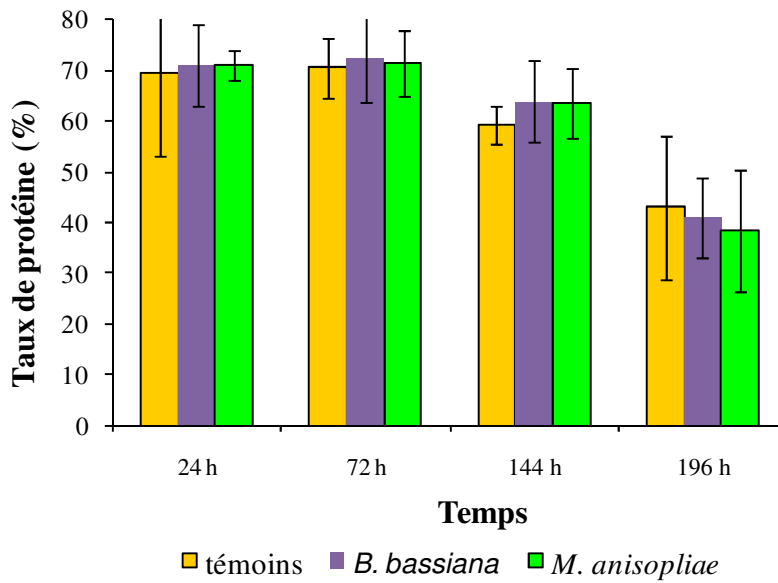


Fig. 51: Evolution du taux de protéines de la cuticule abdominale des L5 femelles de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et *M. anisopliae*

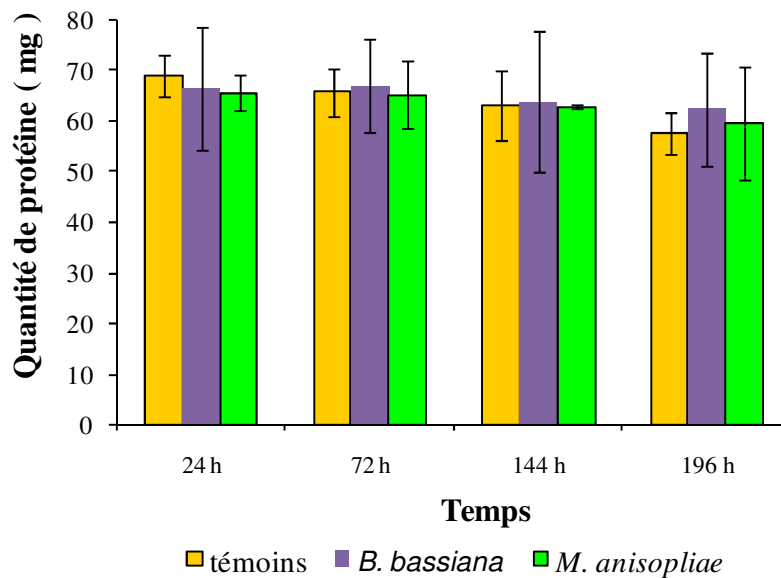


Fig.52 :Evolution du taux de protéines de la cuticule abdominale des L5 mâles de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et *M. anisopliae*

Pour les larves L5 mâles, nous remarquons que les taux des protéines diminuent en fonction du temps. En effet, 24h après traitement, on a noté un taux de protéines de l'ordre de $68,97 \pm 4,03\%$, $65,69 \pm 3,47\%$, $66,49 \pm 12,04\%$, de $65,71 \pm 4,90\%$, $65,29 \pm 6,86\%$ et $67,03 \pm 9,15\%$. Après 72h et de $63,16 \pm 6,88\%$, $62,82 \pm 0,34\%$ et $63,87 \pm 14,08\%$ après 144h. Finalement après

196h, ces taux sont de l'ordre de $57,62 \pm 4,17\%$, $59,67 \pm 11,16\%$ et $63,87 \pm 14,08\%$ respectivement chez les témoins et les traitées au *M. anisopliae* et au *B. bassiana*.

Analyse de la variance

Les résultats de cette analyse sont portés sur les tableaux 75 et 76.

Tableau 75 : Effet du traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur le taux de protéines cuticulaires des larves L5 femelles de *S. gregaria*.

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	1	51,129	51,129	0,175	0,680
Résidus	22	6426,220	292,101		
Total	23	6477,349			

Tableau 76 : Effet du traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur le taux de protéines cuticulaires des larves L5 mâles de *S. gregaria*

Source	Ddl	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	P
Modèle	3	254,515	84,838	2,823	0,065
Résidus	20	601,126	30,056		
Total	23	855,641			

D'après les tableaux 75 et 76, on remarque qu'il y a pas une différence significative entre les taux de protéines cuticulaires des larves L5 mâles et femelles de *S. gregaria* témoins et traitées au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* ($P < 0,05$).

III.5- Etude de l'effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur la structure du chorion des œufs, du tégument et du tube digestif des L5 de *S.gregaria*

III.5.1 Effet sur la structure du chorion des œufs des L5 de *S.gregaria*

L'œuf de criquet pèlerin est enveloppé par plusieurs couches protectrices et nourricières dont les origines et les fonctions sont bien distinctes. Juste après la ponte, il est recouvert de l'intérieur vers l'extérieur de :

- Fine membrane vitelline qui va disparaître rapidement ;
- Chorion bien développé (composé de deux couches, l'endochorion et l'exochorion) produit à l'intérieur de l'ovariole par les cellules folliculaires et dont l'empreinte sur le

chorion constitue une ornementation appelée sculpture chorionique qui peut aider à identifier l'oothèque ;

- Extrachorion sécrété par les cellules muqueuses des parois de l'oviducte au passage de l'ovocyte.
- Le périplasme est une mince couche de cytoplasme périphérique, qui est désigné par les termes de périplasme ou de cortex, est finement granuleux, généralement dépourvu de globules vitellins.

D'après nos coupes histologiques faites sur le chorion des œufs de *S. gregaria* au 4^{ème}, 8^{ème} et 12^{ème} jour chez individus témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*, on constate qu'il n'y a pas de différence entre les œufs témoins et ceux traités aux deux champignons. Mais on remarque que la structure du chorion diffère selon les stades de développement embryonnaire. Pour les œufs du 4^{ème} jour, le chorion est constitué seulement par l'extrachorion et l'exochorion pour les témoins et les traités aux deux cryptogames (fig. 53a, 54a, 55a). Concernant les stades embryonnaires les plus développés (8^{ème} jour et 12^{ème} jour), le chorion est composé de trois couches : l'extrachorion, l'exochorion et l'endochorion suivi par le périplasme pour les témoins et les traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* (fig. 53b, 53c, 54b, 54c, 55b, 55c).

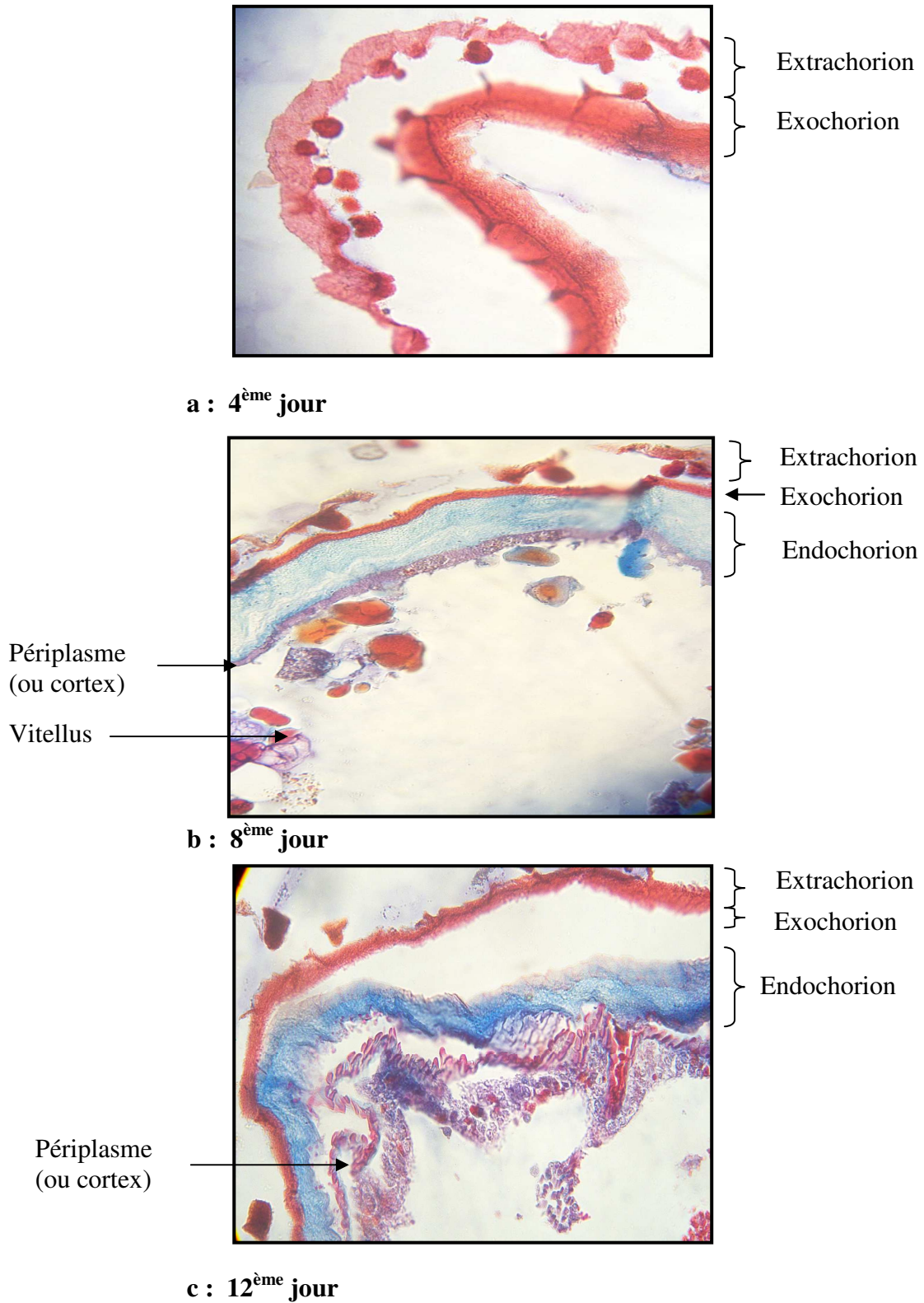


Fig. 53 : Coupes histologiques au niveau du chorion chez les œufs témoins de *Schistocerca gregaria* après coloration au Mallory (Gr. : x 40)

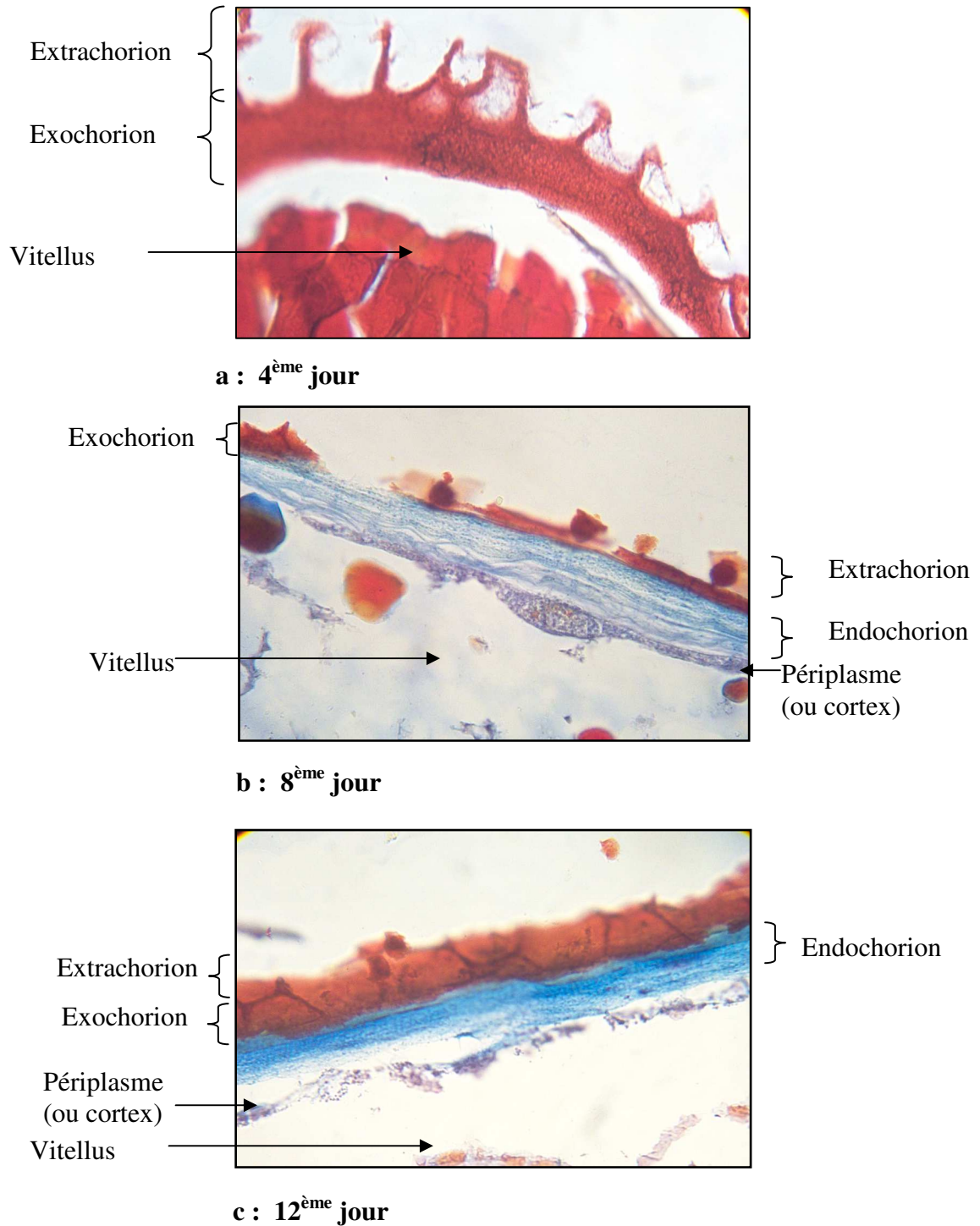


Fig. 54 : Coupes histologiques au niveau du chorion chez les œufs de *Schistocerca gregaria* traités au *Beauveria bassiana* après coloration au Mallory (Gr.:x 40)