

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRACIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEURE ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
المعهد القومي للعلوم الفلاحية – الحراش - الجزائر
INSTITUT NATIONAL AGRONOMIQUE EL HARRACH – ALGER

Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en sciences agronomiques
Spécialité : Protection des végétaux – zoophytatrie
Option : Entomologie appliquée

Thème

Effet de deux entomopathogènes, *Beauveria bassiana* Bals. et *Metarhizium anisopliae* var *acridum* Metch. (Hyphomycètes, Deuteromycotina) sur l'état embryonnaire du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Cyrtacanthacridinae, Acrididae)

Présenté par : M^{elle} *OUTTAR Fahima*

Devant le jury :

Président	: Mr. DOUMANDJI S.	Professeur (I.N.A.)
Promoteur	: Mme DOUMANDJI- MITICHE B.	Professeur (I.N.A.)
Co-promoteur	: Melle BISSAAD F.	C.C. (Université de Boumerdes)
Examineurs	: Mme MOUHOUCHE F.	M.C. (I.N.A.)
	: Mr. LAZAR M.	Magister (I.N.P.V.)
	: Mr. CHAOUCH A.	2 ^{ème} an. Magister (I.N.P.V.)

Année universitaire 2005/2006

بسم الله وكفى والصلاة والسلام على حبيبنا وسيدنا النبي المصطفى
الحمد لله رب العالمين على النعم العديدة التي فضل بها علي، وعلى أنه
أهمني القوة والشجاعة والصبر على متابعة هذا العمل، وعلى أنه فتح
أمامي أبواباً عدة، فأتوجه إليك إلهي رافعة يدي، داعية، متذلة لك، راجية
منك الاستجابة ف :

يا ربي لا تجعلني أصاب بالغرور إذا نجحت، ولا باليأس إذا أخفقت، يا ربي
ذكرني دائماً أن الإخفاق هو التجربة التي تسبق النجاح، يا رب إذا أعطيتني
فلا تأخذ تواضعي، وإذا أعطيتني تواضعاً فلا تأخذ اعتزازي بكرامتي، وإذا
أسأت يا ربي إلي الناس فامنحني شجاعة الاعتذار، وإذا أساء الناس إلي
فامنحني شجاعة العفو. يا ربي علمني أن أحب الناس كما أحب نفسي، و
علمني أن أحاسب نفسي كما أحاسب الناس، وعلمني أن التسامح هو أكبر
مراتب القوة وأن الانتقام هو أول مظاهر الضعف.

اللهم آمين

Dédicace

Dédicace

Je dédie le fruit de ce travail s'il a une récompense chez ALLAH à toutes les personnes qui ont une place particulière pour moi :

✚ Mes très chers parents auxquels je témoigne toute ma reconnaissance pour leurs inquiétudes, leurs sacrifices et leurs encouragements afin de voir leur fille dans une situation considérable et pour qu'ils puissent être satisfaits et fiers d'elle, qu'ALLAH le tout Puissant les protège, les garde pour nous et les considère comme une lumière éclairant notre chemin.

✚ Mes très chers frères Mohamed et Fethi, qu'ALLAH le tout Puissant leur donne du courage et de la force pour vaincre les difficultés de cette vie.

✚ Mes très chers : ma sœur Hadia et son fiancé Hamoudi et mon frère Zaki et sa femme Lamia, qu'ALLAH le tout Puissant les garde ensemble pour toujours.

✚ Ma très chère grand-mère nana Zineb, qu'ALLAH le tout Puissant la protège.

✚ Ma promotion 2006 : Ahlem, Amel, Amina, Ania, Dalila, Fatiha, Ghania, Houda, Kahina, Khedidja, Nardjes, Meriem, Nassima, Rachida, Rokaia, Roumila, Selma, Wafa et Zahia; mes amies: Wassila, Zoulikha, Meriem, Mounia, Samira (Morsli), Amina (Pédologie), Madina, Souad (Machinisme), Souad (Hydraulique), Samira (Amiri), Kahina et Nadjete (Forêt), et Soukina (HAMMANA), qu'ALLAH le tout Puissant donnent à chacune d'elles ce qu'elles veulent dans la vie s'il a de bien pour elles.

✚ Toute la famille : OUTTAR, NAGHMOUCHE, ZOUAGUI et GUERZOU.

✚ Et enfin, à toutes mes collègues de l'INA et toutes les personnes qui me connaissent de près ou de loin.

Fahima

Remerciements

✚ Il m'est très agréable d'exprimer ma profonde gratitude et mes plus vifs remerciements respectueuses à toutes les personnes qui de près ou de loin m'ont témoigné leur aide moralement, matériellement et techniquement tout au long de la réalisation de ce travail :

✚ Ma promotrice Mme. DOUMANDJI-MITICHE B., Professeur et chef de département de Zoologie agricole et forestière à l'INA d'EL-HARRACH, pour son encadrement, ses conseils, ses encouragements, son inquiétude, sa gentillesse et sa modestie.

✚ Ma co-promotrice Melle. BISSAAD F.Z., Chargée de cours à l'institut de biologie de BOUMERDES, pour son encadrement, sa présence, ses orientations et son aide.

✚ Mr. DOUMANDJI S.E., Professeur au département de Zoologie agricole et forestière à l'INA d'EL-HARRACH, pour m'avoir fait honneur de présider mon jury et aussi pour ses conseils et ses encouragements.

✚ Mme. MOUHOUCHE F., Maître de conférence au département de Zoologie agricole et forestière à l'INA d'EL-HARRACH pour avoir accepté d'examiner mon travail.

✚ Mr. LAZAR M., Responsable du Département de Lutte Anti-acridienne à l'INPV d'EL-HARRACH, pour m'avoir ouvert les portes de son département et accepté d'examiner mon travail.

✚ Mr. CHAOUCH A., Magister au Département de Lutte Anti-acridienne à l'INPV d'EL-HARRACH, pour avoir accepté d'examiner mon travail et pour sa serviabilité et ses conseils.

✚ Mr. GUENDEZ E., Directeur Général de l'Institut National de la Protection des Végétaux d'EL-HARRACH, pour m'avoir autorisé à accéder à son institut.

✚ Melle. HAMMANA S., Ingénieur de laboratoire au Département de Biologie de BAB-EZZOUAR, pour m'avoir initié aux techniques histologiques, et aussi pour son aide, sa serviabilité et sa gentillesse.

✚ Mr. BOUFERSSAOUI A., Professeur à l'USTHB de BAB-EZZOUAR, pour m'avoir autorisé à accéder à son laboratoire.

✚ Mr. BENCHAAABANE A., Enseignant au département de Technologie Alimentaire de l'INA d'EL-HARRACH, pour m'avoir fait confiance, ouvert les portes de son laboratoire et

offert tout le matériel et les conditions pour effectuer mes analyses biochimiques et aussi pour ses conseils, ses éclaircissements et sa gentillesse.

✚ Melle. BEL HAMICHE N., Magister au département de Technologie Alimentaire de l'INA d'EL-HARRACH, pour ses explications minutieuses sur la technique de dosage des protéines et pour sa gentillesse.

✚ Mr. KACIMI G., Docteur en Science Pharmaceutiques et Professeur de Biochimie à l'H.C.A. et Mr. BENKARA A., Docteur ingénieur à l'Institut National de la Protection des Végétaux d'EL-HARRACH, pour leur serviabilité, leur gentillesse et leur modestie.

✚ Mr MANSOURI DJ. Et Melle. MORSLI S., respectivement Enseignant au Département de Génie Rural et Magister au département de Zoologie agricole et forestière de l'INA d'EL-HARRACH, pour leur aide dans les analyses statistiques.

✚ Melle. BEZAZE GHANIA, pour son aide, sa serviabilité et sa gentillesse et Melle. HIOUL FATIMA, pour avoir laissé son appareil photo à ma disponibilité pendant toute mon expérimentation.

✚ Mme. KEFIL M., Melle. KHELFA N., Mr. KHITRI M., Mr. BOUTEKKA CH., Mr. BENSSAAD H., Mr. BELAZZOUGUI M., Mr. NEDJARI A. et Mr. DJEBBARI A. du Département de Lutte Anti-acridienne; Melle. DOUZI M., Mme. BOUMAZOUZA A. et Mr. SMAHA DJ. du Département de Nématologie; Mme. HAMDY S., Mme. ZOUAI CH., Melle. OUASSAID Y., Melle. OUALID F. et Melle. BOUAKAZ K. du Département de Mycologie; Mme. KHEFFACHE M. et Melle BOUGUERZI M. du Département d'Entomologie et Melle REGUIG Z. de la direction générale à l'INPV d'EL-HARRACH, pour m'avoir témoigné leur aide moralement et matériellement et pour leur sympathie et leur gentillesse.

✚ Enfin, je ne saurais oublier tous les gens qui ont fait quelque chose pour la réalisation de ce travail, je cite : Mr. BELLAHMAR M., Mr. BENAILA M., Mr. AIT KACI K., Mr. TAIB T., Mr. SIAFA A., Mr. HAMMACHE M., Mr. CHAKALI G., Mr. BAAZIZ B., Mme. SAADA N., Mme. BENZARA F., Melle. BOURMAD S., Melle. BELALOUI DJ., Melle. AOUIJIT R., Mr AMIROUCHE A., Melle. KHERBOUCHE Y., Mr. SEKOUR M., Melle. KAIDI N., Melle. HEMOUR I., Melle. ACHEUK F., Melle. SLIMANOU W., Melle. BENSALIM A., Melle. CHAOUTENE K., Melle. DJEBARA F., Mr. NAGHMOUCHE M., Mr. ABADLIA M., Mr. CHANDRI M., Mr. OUTTAR A., Mr. OUTTAR M. et Melle. OUTTAR H.

Qu'ALLAH le tout Puissant bénisse et récompense toutes ces personnes. AMEN.

Sommaire

Sommaire

	Page
Introduction générale	6
Chapitre I : Synthèse bibliographique.....	8
1- Données bibliographiques sur le criquet pèlerin <i>Schistocerca gregaria</i>	9
1.1- Systématique.....	9
1.2 -Morphologie	9
1.3 -Cycle biologique.....	15
1.3.1 - Développement embryonnaire.....	15
1.3.2 - Développement larvaire.....	18
1.3.3 - Principales étapes de la vie imaginale.....	20
I.3.3.1- La mue imaginale.....	20
I.3.3.2- Durcissement cuticulaire.....	21
I.3.3.3- Accumulation des réserves.....	21
I.3.3.4- Maturation sexuelle.....	21
I.3.3.5- Accouplement.....	21
I.4- Polymorphisme phasaire	22
I.5- Les milieux de vie et les biotopes de criquet pèlerin.....	23
I.6- Aires de répartition du criquet pèlerin.....	24
I.7- Les conditions de déclenchement et d'arrêt des invasions.....	25
I.8- Situation générale du criquet pèlerin	27
I.9-Dégâts et importance économique.....	28
1.10- Les méthodes de lutte anti-acridiennes.....	29
1.10.1- La lutte mécanique.....	29
1.10.2- La lutte écologique	29
1.10.3- La lutte chimique	30
1.10.4- La lutte biologique	30
2-Données bibliographiques sur <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i>	34
2.1-Généralités	34
2.2- Systématique.....	34
2.3- Identification	34
2.4- Morphologie	34

2.5- Mode d'infection	36
2.6- Isolement, Culture et conservation	38
2.7- Formulation	39
Chapitre II : Matériel et méthodes de travail.....	40
1. Matériel biologique.....	41
1.1 - Les oothèques	41
1.2. - Les champignons entomopathogènes.....	43
1.2.1 - <i>Beauveria bassiana</i>	43
1.2.2 - <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acridum</i>	43
1.2.3 - La multiplication des champignons.....	43
1.2.4- Préparation d'inoculum.....	45
1.2.5 - Comptage des spores et détermination des concentrations.....	45
2 - Matériel et produits utilisés.....	47
2.1- Matériel.....	47
2.1.1 - Matériel d'élevage.....	47
2.1.2 - Matériel de laboratoire.....	47
2.2 - Les produits	48
3- Méthodes.....	49
3.1- Etude de l'effet de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur l'éclosion des œufs de <i>S.gregaria</i>	49
3.2 -Effet de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> sur le développement embryonnaire de <i>S. gregaria</i>	52
3.3- Effet de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> sur la teneur en protéines des œufs de <i>S. gregaria</i>	54
3.4- Etude de l'effet de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> sur la structure du chorion des œufs de <i>S.gregaria</i>	59
3.4.1-Récupération et fixation des œufs.....	59
3.4.2- Déshydratation des œufs.....	59
3.4.3- Imprégnation et inclusion des œufs	59
3.4.4-Confection et coulage des coupes	61
3.4.5- Déparaffinage, hydratation, coloration des coupes.....	61
3.4.6-Déshydratation et montage des coupes	62

3.4.7- Observation	62
3.5 - Analyse statistique.....	62
Chapitre III : Résultats et discussions	63
1- Etude de l'effet de <i>B. bassiana</i> et <i>M. anisopliae</i> sur l'éclosion des œufs de <i>S.gregaria</i>	64
1.1- Résultats.....	64
1.2- Discussion.....	68
1.3- Conclusion.....	71
2- Effet de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> sur le développement embryonnaire de <i>S.gregaria</i>	72
2.1- Résultats.....	72
2.2 - Discussion.....	77
2.3- Conclusion.....	79
3- Effet de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> sur la teneur en protéines des œufs de <i>S. gregaria</i>	79
3.1- Résultats.....	80
3.2- Discussion	83
3.3- Conclusion.....	84
4- Etude de l'effet de <i>B. bassiana</i> et de <i>M. anisopliae</i> sur la structure du chorion de <i>S.gregaria</i>	85
4.1- Résultats.....	85
4.2- Discussion	86
4.3- Conclusion.....	86
Conclusion générale.....	91
Références bibliographiques.....	95

Introduction générale

Introduction générale

Les criquets ravageurs constituent une préoccupation majeure de nombreux services de protection des végétaux. L'une des espèces les plus dangereuses est le Criquet pèlerin, la fameuse 8^{ème} plaie d'Égypte.

Le Criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775), est le principal criquet ravageur pour de nombreux pays d'Afrique et du Proche et du Moyen-Orient. Depuis des siècles, les invasions se sont succédées à un rythme élevé. Depuis une quarantaine d'années elles se font plus rares. Cette situation résulte largement d'une meilleure connaissance du problème associée à l'apparition de nouveaux moyens de surveillance et de lutte. La stratégie de prévention actuellement conduite par les pays repose sur la connaissance des foyers de grégarisation. C'est là que se forment les premiers rassemblements (bandes larvaires et essaims) qu'il convient d'éliminer précocement avant qu'ils ne se disséminent et ne soient à l'origine d'une invasion. Une connaissance précise de la localisation et du fonctionnement de ces foyers de grégarisation, pour la plupart situés en zones désertiques, est indispensable (Ould Babah et *al.*, 2005).

En 2004, plusieurs pays d'Afrique de l'Ouest ont été victimes de la plus terrible invasion de criquets pèlerins depuis quinze ans. Des millions d'hectares de terres agricoles et de pâturages ont été infestés et ravagés. Au mois d'octobre, dix pays d'Afrique de l'Ouest et du Nord étaient affectés: l'Algérie, le Burkina Faso, le Cap Vert, le Mali, le Maroc, la Mauritanie, le Niger, le Sahara Occidental, le Sénégal, et le Tchad (ANONYME, 2004a).

Pour combattre le criquet pèlerin, les pays envahis ont mobilisé des moyens importants (avions, armée, véhicules etc...). Des opérations de lutte chimique intensive terrestre et aérienne ont été engagées dans les zones infestées. Des centaines de milliers de litres de pesticides ont été commandés et livrés pour combattre les criquets pèlerins. L'utilisation intensive des produits chimiques dans la lutte anti-acridienne présente des risques réels pour la santé des populations, des animaux et pour l'environnement. En effet, les pesticides sont des substances toxiques utilisées pour tuer des êtres vivants «nuisibles» et donc dangereux aussi pour les êtres vivants que nous sommes et pour les animaux. Même qu'il est difficile d'arrêter une invasion acridienne généralisée une fois déclenchée, même avec des moyens de lutte intensive. Les opérations de lutte curative nécessite des moyens énormes et des coûts

élevés. Par ailleurs, les importantes quantités de pesticides utilisées ne peuvent rester sans effet sur la santé et l'environnement. Il est donc urgent d'explorer d'autres formes de lutte afin de mieux préserver la santé et l'environnement (THIAM A. et *al.*, 2004)

La lutte biologique est une alternative à la lutte chimique pour garantir une meilleure protection de la santé et de l'environnement et ces méthodes ont été testées contre le criquet pèlerin et ont donné des résultats très convaincants, mais leur utilisation est restée à l'état expérimental, sauf les deux biopesticides le «Green Muscle» et le Neem. Le premier, formulé à partir d'un champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae var. acridum*, a été testé à travers un essai de terrain organisé conjointement par l'Institut national de la protection des végétaux de l'Algérie et la FAO, près d'El Oued, dans l'est du pays, où il a été épandu sur plus de 1 400 hectares de terres infestés de larves de criquet pèlerin et a donné des résultats acceptables. Pour le second il est à base de plante *Azadirachta indica* et sa matière active l'azadirachtine utilisé sur le terrain sous forme huileuse.

En Algérie, l'utilisation des champignons entomopathogènes pour lutter contre les acridiens a été testée seulement pour les stades larvaires et adultes, mais l'action ovicide n'a jamais été étudiée. Parmi ces travaux citons ceux de HALOUANE (1997), BISSAAD (1998), BENSSEAD (1999), HADDADJ (2001), KAIDI (2004) et HEMOUR (2005). C'est dans ce sens que nous avons pensé de tester l'effet de deux entomopathogènes, *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae var acridum* sur les œufs de *Schistocerca gregaria* au laboratoire en tenant compte de leur action sur l'éclosion, le développement embryonnaire, la teneur en protéines et la structure du chorion de ces œufs.

Le présent travail comprend trois chapitres. Le premier est consacré aux données bibliographiques sur le criquet pèlerin et sur les deux champignons entomopathogènes testés. Le second portera sur le matériel et les méthodes de travail. Enfin le troisième chapitre comprend les résultats et les discussions des quatre paramètres suivis.

Chapitre I

Synthèse

bibliographique

1 Données bibliographiques sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*

1.1 Systématique

Schistocerca gregaria (Forskål, 1775) est communément appelé criquet pèlerin ou criquet du désert (Desert locust en anglais). Ses ravages s'étendent à la majorité des pays arides et semi-arides de la côte ouest de l'Afrique à l'Inde (DURANTON *et al.*, 1982).

Selon CHOPARD (1943); DIRSH (1975) et LOUVEAUX et BEN-HALIMA (1987) le criquet pèlerin est classé selon la nomenclature suivante :

- Ordre : Orthoptera
- Sous-ordre : Caelifera
- Super-famille : Acridoidea
- Famille : Acrididae
- Sous-famille : Cyrtacanthacridinae
- Genre : *Schistocerca*
- Espèce : *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775)

1.2 Morphologie

Le criquet pèlerin est un acridien de grande taille. Les femelles mesurent de 70 à 90 mm de long (Fig. 1a), les mâles de 60 à 75 mm (Fig. 1b). 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) (Fig. 2). 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) 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.



a : Femelle

Gr. X 1



b : Mâle

Gr. X 1

Fig.1: Adultes grégaires de *Schistocerca gregaria*

Original

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 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 (Fig. 3).

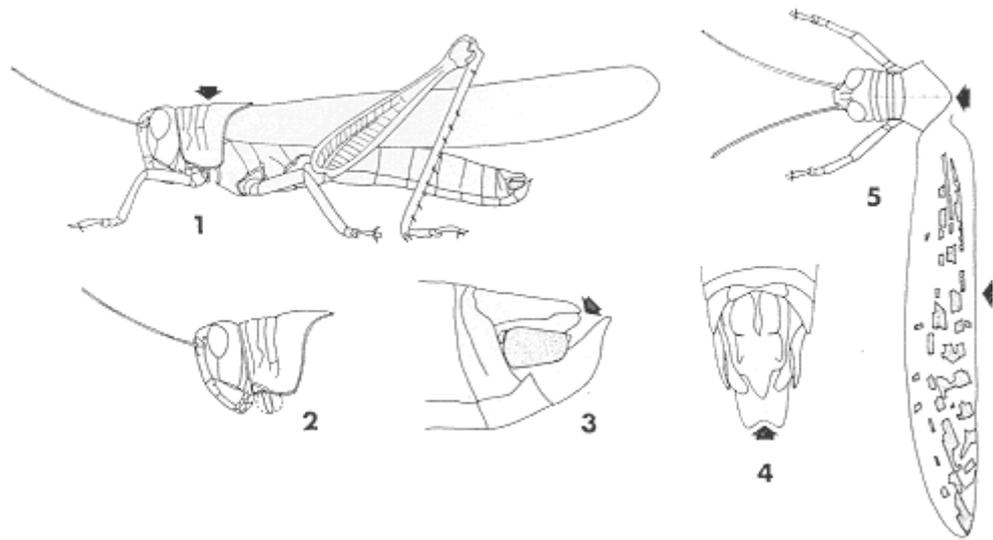
❖ L'oothèque

Les œufs de criquet pèlerin sont déposés dans le sol sous la forme d'une oothèque (DURANTON et LECOQ, 1990).

Selon POPOV et *al.* (1990), l'oothèque de criquet pèlerin est grande, sans paroi consolidée. Les pontes des solitaires et des grégaires ont la même taille et la même forme générale. La principale différence réside dans le nombre et la taille des œufs, ceux produits par les solitaires étant plus petits et plus nombreux que ceux produits par les grégaires. La longueur totale de l'oothèque est de 9 à 10,5 cm, sa largeur est de 7 à 9 mm. Sa paroi est une grappe ovigère nue, sans matière spumeuse.

D'après DE GREGORIO (1996), l'oothèque de Criquet pèlerin est composée :

- D'une partie apicale (ou supérieure) le bouchon spumeux (substance blanchâtre et molle qui assure la protection thermique de l'œuf et facilite la sortie des larves écloses) (Fig. 4a).
- D'une partie basale (ou inférieure) la masse ovigère (ensemble des œufs, noter l'agencement particulier des œufs, en "régime des bananes" (Fig. 4b).



1. Adulte mâle. Profil gauche. x 1.
2. Adulte femelle. Tête et pronotum. Profil gauche. x 1.
3. Adulte mâle. Extrémité abdominale. Côté gauche. x 4.
4. Adulte mâle. Extrémité abdominale. Dessus. x 4.
5. Adulte mâle. Tête, pronotum et élytre gauche. Dessus. x 1.

Fig. 2: Morphologie générale de criquet pèlerin
Schistocerca gregaria (Forskål, 1775)

(ANONYME, 2004b)

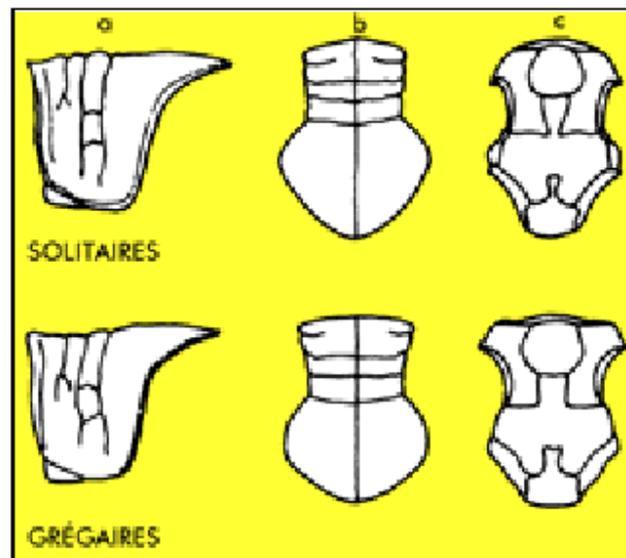


Fig. 3 : Principales différences morphologiques entre les phases solitaire et grégaire chez le criquet pèlerin

(DIRSH, 1953 in DURANTON et LECOQ, 1990)



G : x 6

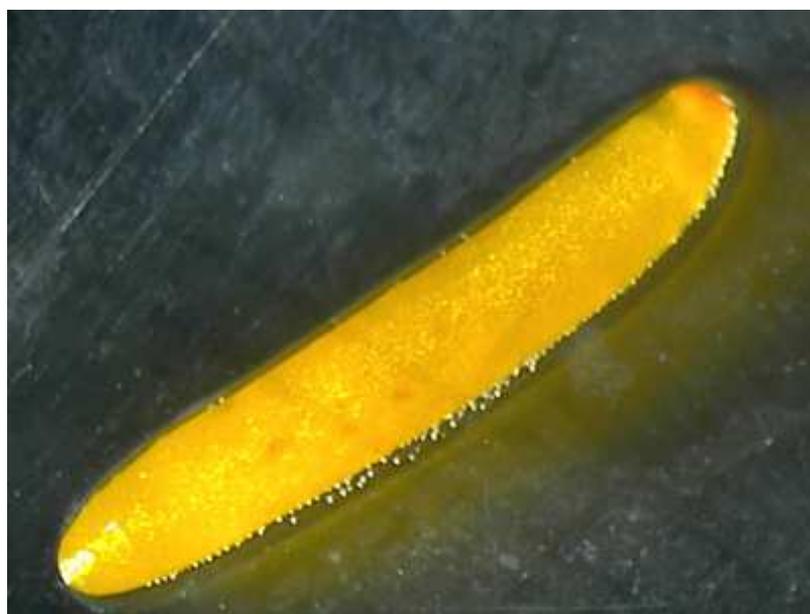
Fig. a : La matière spumeuse



G : x 6

Fig. b : La masse ovigère

Fig.4 : Oothèque de Criquet pèlerin.



G : x 10

Fig. 5 : œuf de Criquet pèlerin

Original

La longueur du bouchon spumeux : 2,5 à 5,5 cm, la couleur : blanchâtre et la structure : fragile, et la longueur de la grappe ovigère est de 4,5 à 6 cm (DURANTON et LECOQ, 1990).

L'œuf de criquet pèlerin a une orientation radiale avec un nombre de 60 à 80 chez les grégaires; 110 à 140 chez les solitaires, la couleur: jaune beige et la taille est de 7 à 8 mm (POPOV *et al.*, 1990) (Fig. 5).

L'enveloppe externe de l'œuf s'appelle le chorion. Au niveau du pôle postérieur se trouve la zone hypopylaire, par où pénètrent l'eau et la zone micropylaire, par où pénètrent les spermatozoïdes. L'intérieur de l'œuf est rempli de vitellus jaune qui constitue des réserves assimilables par l'embryon. (DURANTON et LECOQ, 1990).

➤ **Stratégie de reproduction:** continue mais avec un arrêt facultatif de développement ovarien pouvant durer jusqu'à 6 à 7 mois (quiescence provoquée par de basses températures et/ou un déficit hydrique). Espèce à 2 ou 3 générations par an, exceptionnellement 4.

➤ **Ecologie de ponte:** steppe plus ou moins arborée sur sol sableux complexe, souvent associée à des accidents géomorphologiques comme les pentes de colline, les cordons dunaires, les abords d'oueds etc..... La ponte a lieu dans un sol humide. En conditions de sécheresse relative, le choix de sites humides constitue un facteur important de densation des solitaires (regroupement des individus). Chez les grégaires, les oothèques sont toujours déposées par groupes très denses sur des taches de sol nu incluses dans une végétation steppique (POPOV *et al.*, 1990).

La ponte a lieu généralement le jour et parfois le nuit et dure une heure et plus (POPOV, 1958 in POPOV *et al.*, 1990).

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 (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 tous états biologiques (œufs, larves, ailés) et de tous stades de développement peuvent être observés en même temps au même endroit (DURANTON et LECOQ, 1990) (Fig. 6).

1.3.1. Développement embryonnaire

Au moment de la ponte, la femelle recherche un endroit propice pour déposer ses œufs. Plusieurs essais peuvent être réalisés jusqu'à la découverte du site favorable. La femelle fore alors le trou de pont définitif grâce à son oviscapte situé dans la partie terminale de l'abdomen. Pendant le forage l'abdomen de la femelle peut s'allonger jusqu'au double de sa taille normale (DE GREGORIO, 1996) (Fig. 7).

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

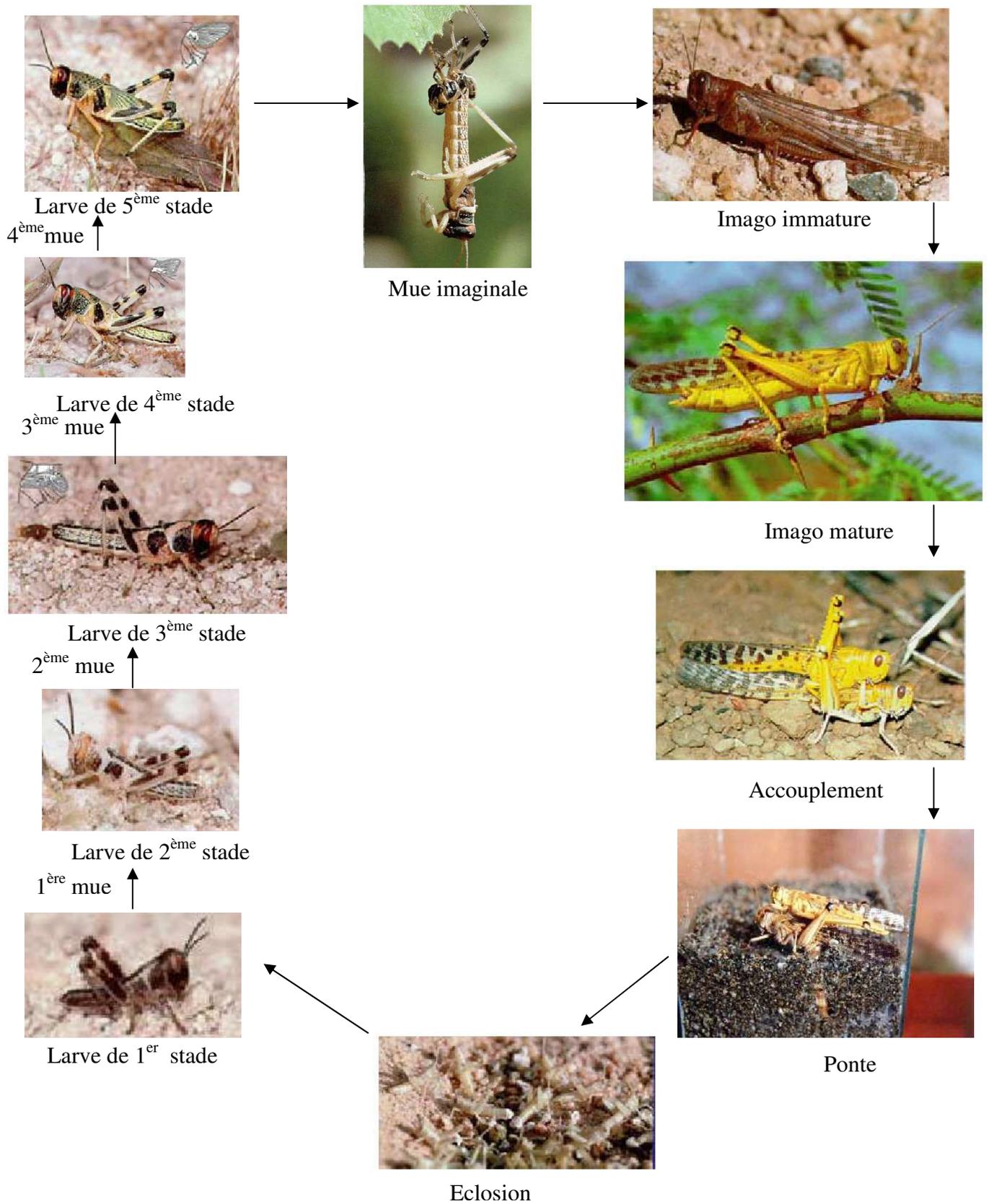


Fig. 6 : Cycle biologique de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775)
 (Selon DURANTON et LECOQ, 1990 ; DE GREGORIO, 1996 ; SYMMONS ET
 CRESSMAN, 2001 modifié)

ovigère appelée oothèque. 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. Les ailés deviennent rares six ou sept semaines après la première ponte bien synchronisée, sauf peut-être quand les températures sont basses. Cela suggère que presque toutes les femelles pondent une oothèque, que 75% environ d'entre elles survivront et en pondront une deuxième, que 25% peut-être pondront une troisième oothèque mais que très peu d'entre elles parviendront à pondre quatre oothèques. Une moyenne de deux oothèques par femelle est la norme. A cause de la mortalité naturelle, les œufs pondus par une femelle n'éclosent pas tous et les larves qui éclosent n'atteignent pas toutes le stade adulte. Dans des conditions de température et d'habitat optimales, les taux de multiplication peuvent atteindre 16 à 20 %. (SYMMONS et CRESSMAN, 2001).

Souvent le mâle, reste agrippé à la femelle pendant cette période. Les œufs sont déposés au fond du trou de ponte qui sera bouché par une substance spumeuse blanchâtre. La femelle se retire alors du trou de ponte. L'ensemble de ces opérations a duré une heure trente à deux heures. Les œufs, déposés au fond du trou de ponte, sont contenus dans une oothèque. Sur l'oviscapte encore agité de la femelle il reste encore de la substance spumeuse. Celle-ci comble le trou de ponte et sert de protection thermique et hydrique. C'est aussi la voie d'accès vers l'air libre pour les larves qui vont éclore (DE GREGORIO, 1996).

Selon DURANTON et LECOQ (1990), les œufs doivent absorber environ leur propre poids d'eau dans les cinq premiers jours après la ponte ; cela est suffisant pour leur permettre de se développer correctement. S'ils ne peuvent absorber cette quantité d'eau, ils n'éclosent pas. Cependant, même s'il n'y a pas assez d'eau dans le sol dans les premiers jours suivant la ponte, ils peuvent attendre quelques temps et terminer leur développement si une pluie survient.

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 de criquet pèlerin est en moyenne de l'ordre de 13 jours (DURANTON et LECOQ, 1990), ou de 10 jours (POPOV c.p. in 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 (PEDGLEY, 1981 in LATCHININSKY et LAUNOIS-LUONG, 1997). Et elle est de 10 à 65 jours (SYMMONS et CRESSMAN, 2001).

Selon GHIDHAOUI (1990) in KHALDI (1996), le développement embryonnaire dépend de :

- La température du sol : la durée diminue à mesure que la température augmente.
- L'espèce acridienne.
- La densité subit par la femelle : c'est le fort groupement qui accélère le développement embryonnaire.
- Le caractère phasaire (grégaire ou solitaire).

L'éclosion se produit en fin de développement embryonnaire. La première forme larvaire, dite larve vermiforme, progresse vers la surface du sol par reptation le long du bouchon spumeux de l'oothèque. Très peu de temps après l'éclosion, dès sa sortie à l'air libre, cette larve vermiforme se débarrasse de sa cuticule post-embryonnaire au cours de la mue intermédiaire et devient alors une larve de premier stade. Les exuvies de la mue intermédiaire se présentent sous la forme de petits amas blanchâtres et sont aisément visibles à la surface du sol, indiquant qu'une éclosion s'est produite récemment. Ces exuvies sont rapidement emportées par le vent. Chez les grégaires, les éclosions au sein d'une même population sont en général très synchrones et s'étalent seulement sur 2 à 3 jours (DURANTON et LECOQ, 1990).

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) (Fig.8).

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.



Fig. 7 : Femelle de *S. gregaria* en train de pondre.



Fig.8: Les larves grégaires de *S. gregaria*

Original

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 monter 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).

1.3.3. Principales étapes de la vie imaginale

1.3.3.1. La mue imaginale

Selon DE GREGORIO (1996), la larve du 5ème 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 adulte. 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) (Fig. 9).



Fig. 9 : Mue imaginale de *S. gregaria*

Original

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).

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).

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 commencé (DURANTON et LECOQ, 1990).

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).

1.4. Polymorphisme phasaire

Parmi les acridiens, le criquet pèlerin est considéré comme l'espèce la plus grégariapte (terminologie 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 phasaires 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).

D'après POPOV et *al.* (1991), 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.

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).

Selon 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), montre que les effets de groupe, les effets de masse et les facteurs abiotiques seraient les causes primaires du polymorphisme phasaire des criquets grégarisables.

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

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 (LAUNOIS-LUONG et LECOQ, 1989).

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 *Shouwia thebaica*.

DURANTON 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 (modérés) 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.

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.

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 (ANONYME, 2001).

L'aire d'invasion du *Schistocerca gregaria* représente au total 57 pays et plus de 20 % des terres émergées (ANONYME, 1998).

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 inclut environ 30 pays. (SYMMONS et CRESSMAN, 2001).

En période de rémission, les populations solitaires se réfugent dans les zones grégarigènes 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 (ANONYME, 2001) (Fig. 10).

C'est essentiellement dans ces zones qu'ont lieu les premières étapes de la transformation phasaire conduisant à une invasion généralisée.

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).

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

Selon, LECOQ (1991), 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.

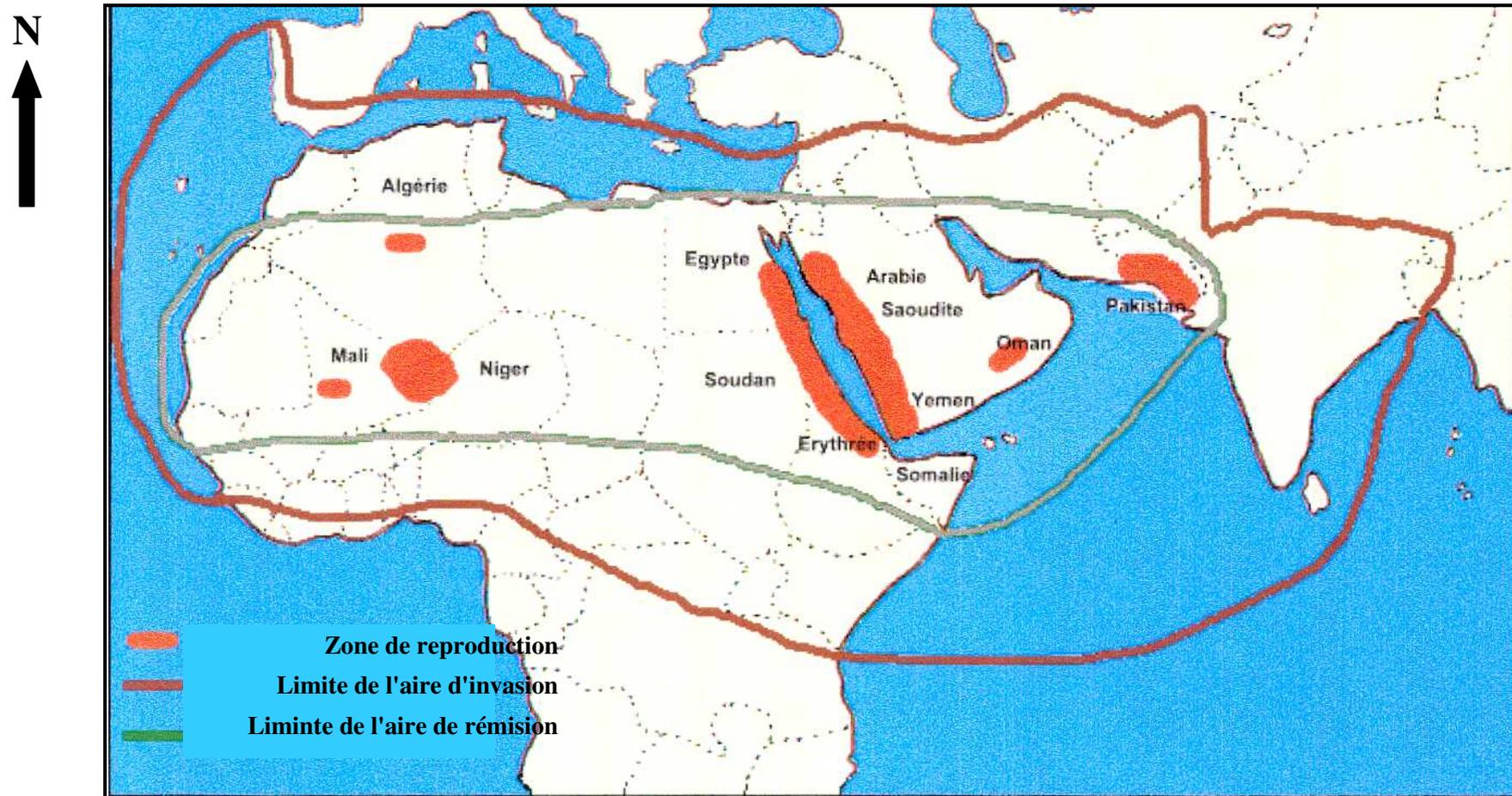


Fig. 10 : Aire de répartition de *Schistocerca gregaria* dans le monde (modifié selon NUREIN,1989)

Echelle : 1/12000

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 en 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 (ANONYME, 1998).

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, 2004).

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).

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 de se multiplier en grand nombre en passant de l'état solitaire à l'état grégaire en l'espace de quelques générations (LAUNOIS-LUONG et LECOQ, 1989).

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. 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 les zones céréalières souffrent particulièrement de leur passage. Quelques chiffres donnent la mesure du fléau qu'ils représentent pour l'agriculture. (ANONYME, 2005b). (Tableau 1)

Tableau 1: Quelques exemples de pertes dues au criquet pèlerin. (ANONYME, 2005b)

Année	Pays	Destructions
1944	Lybie	7 millions de pieds de vignes soit 19% du vignoble
1944	Soudan	35 000 tonnes de céréales
1957	Sénégal	16 000 tonnes de mil
1958	Ethiopie	167 000 tonnes de céréales.

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 (ANONYME, 2005b).

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).

1.10. Les méthodes de lutte anti-acridienne

1.10.1. La lutte mécanique

Les méthodes de lutte mécanique contre les acridiens sont les plus anciennes. Elles diffèrent selon qu'il s'agit 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 allumé 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).

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).

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.

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). 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 (LUONG- SKORMAND et *al.*, 1999).

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 (THIAM A. 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 (GREATHEAD et *al.*, 1994) Tableau I (annexe) et (fig.11,12,13).

❖ 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 (REMBOLD, 1997 in LUONG-SKORMAND et al., 1999). 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 élevés ainsi que les homologations (LUONG-SKORMAND et al., 1999).



Fig. 11: *Stomorhina lunata* (Diptères - Calliphoridae) dans un champ de ponte de Criquet pèlerin.



Fig. 12 : Larves de mylabre (coléoptère) dans une oothèque de Criquet pèlerin.



Fig. 13: Criquet pèlerin attaqué par *Blaesoxipha filipjevi* (Diptères - Sarcophagidae)

(*GREATHEAD et al., 1994*)

❖ 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 in LUONG-SKORMAND et *al.*, 1999). 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 épanchées, de la dose de spores, de la virulence de la souche et de la susceptibilité des acridiens cibles (LUONG-SKORMAND et *al.*, 1999).

Le champignon entomopathogène, *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* est en train d'être développé pour son utilisation éventuelle comme mycopesticide contre les locustes et les sautériaux en Afrique (ARTHUR et THOMAS, 2000 in ALLACHE, 2005).

❖ 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 (ZELAZNY et *al.*, 1997 in ALLACHE, 2005).

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

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 qui infectent les criquets sont *Metarhizium* et *Beauveria* (GREATHEAD et al., 1994).

2.2. Systématique

Selon GREATHEAD et al.(1994), les deux acridopathogènes *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae* se classent selon la nomenclature suivante :

- Groupe : Deuteromycotina
- Classe : Hyphomycètes
- Ordre : Moniliales
- Famille : Monilicaceae
- Genre 1 : *Beauveria*
- Espèce 1 : *Beauveria bassiana*
- Genre 2 : *Metarhizium*
- Espèce 2 : *Metarhizium anisopliae*

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).

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) (fig.14).

Les espèces de *Beauveria* produisent les 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. Les conidies sont produites sur



Fig. 14 : Criquet pèlerin infecté par *Beauveria bassiana*.

Original



Fig. 15: Spores de *Beauveria bassiana* en microscopie à balayage

(FARGUES et al., 2001)

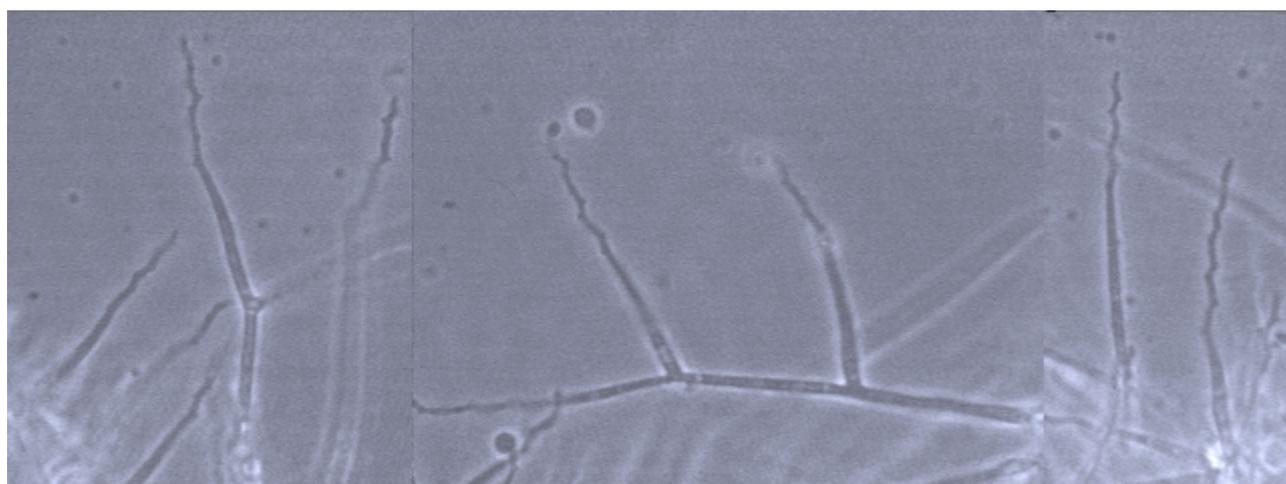


Fig. 16 : Hyphes et mycélium de *Beauveria bassiana*

(KOUASSI, 2001)

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 (WEISER, 1972, LIPA, 1975 in KOUASSI, 2001) (fig.15,16).

Metarhizium infecte une large gamme d'insectes et provoque la maladie de la "muscardine verte"(fig.17). L'espèce la plus souvent mentionnée dans la littérature est *Metarhizium anisopliae* Cependant, les descriptions de *M. anisopliae* infectant les criquets la 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, celles de *M. flavoviride* sont ovales. Elles mesurent 6 μm de longueur pour 2 à 3 μm de diamètre (GREATHEAD et al., 1994) (fig.18).

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 ou l'attachement à la cuticule est réalisée 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.

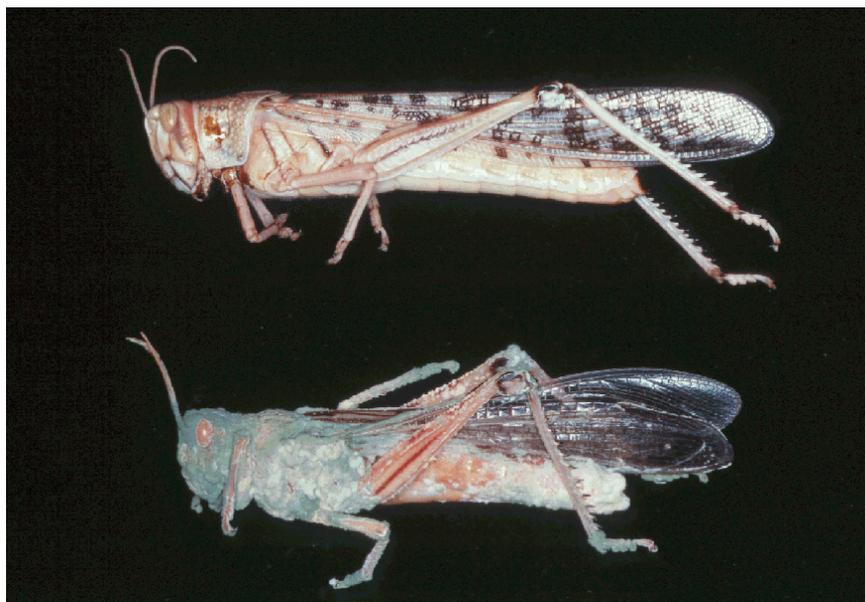
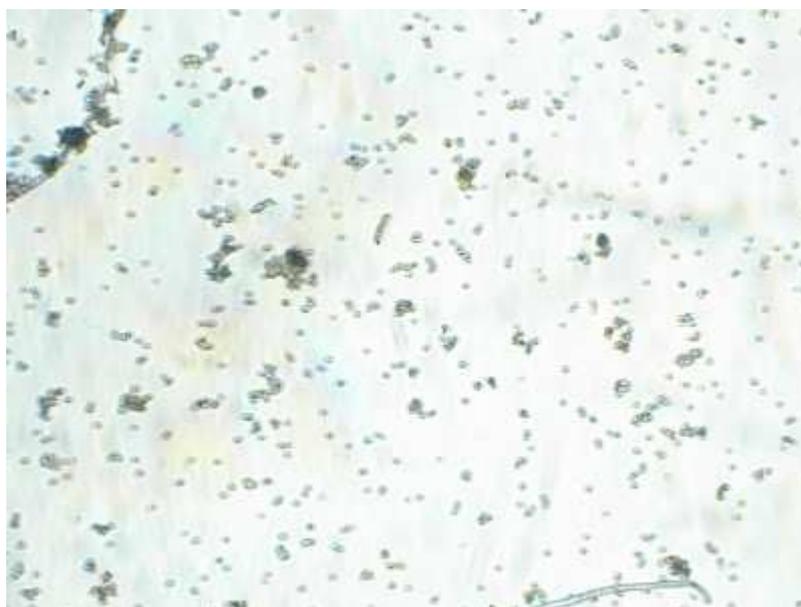


Fig. 17 : Criquet pèlerin infecté par *Metarhizium anisopliae*.

(Keith , 2005)



G : x 125

Fig. 18 : Spores du champignon, *Metarhizium anisopliae* var *acridum*

Original

La colonisation de l'hôte se fait lorsque le champignon parvient à surmonter les mécanismes immunitaires de défense de l'insecte et envahit l'hémolymph. 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 pendant tous les stades, œuf, larve et adulte sensibles (KUCERA et SAMSINAKOVA, 1968; LEOPOLD et SAMSINAKOVA, 1970; PEKRUL et GRULA, 1979; BOMAN ET STEINER, 1981; ROBERTS, 1981 et SODERHALL, 1981; SMITH et GRULA, 1982; VEY *et al.*, 1982; BOUCIAS *et al.*, 1984; FARGUES, 1984; CARRUTHERS et SOPER, 1987; WRAIGHT *et al.*, 1987; ST-LEGER *et al.*, 1988, 1989; CHARNLEY, 1989; BUTT, 1990; FERRON *et al.*, 1993; ST-LEGER 1993; BUTT et BECKET, 1994; HAJECK et ST-LEGER, 1994; BUTT *et al.*, 1995; ST-LEGER, 1995) in (KOUASSI, 2001)

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. Quand on a obtenu une culture pure, on prépare des milieux en pente 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 si on l'utilise pour des expériences. Sinon, on peut prolonger sa survie à 1 an en cultivant la souche sur un milieu peu 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 (GREATHEAD et *al.*, 1994).

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 ultérieurs des hyphes (PRIOR et *al.*, 1988 in BATEMAN, 1991).

Chapitre II

Matériel et méthodes de travail

1. Matériel biologique

1.1. Les oothèques

Nos essais ont porté sur des oothèques de *Schistocerca gregaria* provenant d'un élevage permanent maintenu au niveau de département de lutte antiacridienne de l'Institut National de la Protection des Végétaux (INPV) d'El Harrach.

❖ Elevage des criquets

L'élevage des adultes de criquet pèlerin est réalisé dans une cage parallélépipédique en bois de dimension : 121 x 45 x 77 cm, grillagée sur les deux cotés pour l'aération. Elle est munie de deux vitres coulissantes 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 du sable stérilisé et humidifié pour que les femelles puissent déposer leurs oothèques. L'élevage est soumis à une température de $30 \pm 2^{\circ}\text{C}$, une photopériode de 12 heures de lumière sur 12 heures d'obscurité et une humidité relative de 80%. Quant à l'alimentation, elle est à base de gazon, d'avoine, de chou, de laitue et un complément de son de blé (fig. 19 a).

Les oothèques déposées par les femelles dans les pondoirs sont récupérées et placées dans des bacs contenant du sable humide, stérilisé et recouvert d'une toile moustiquaire pour l'aération. Les bacs sont troués à la base pour permettre l'infiltration de l'eau en cas de surplus afin d'éviter le risque de la pourriture des œufs. Ces bacs portent les indications nécessaires telle que la date de la ponte et le nombre d'œufs. Ces bacs sont mis sur les cages pour l'incubation. Le contrôle de ces bacs 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 une autre cage réservée à l'élevage des larves de tous les stades. Elle est de la même forme que celle des adultes, mais de taille légèrement inférieure avec les dimensions : 121 x 45 x 58 cm. Les conditions d'élevage sont les mêmes que pour les adultes (fig. 19 b).



a- Adultes.



b- Larves.

Fig.19 : Cages utilisées pour l'élevage de criquet pèlerin

Original

1.2. Les champignons entomopathogènes

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. L'isolement et l'identification de la souche ont été effectués au département de mycologie de l'Institut National de la Protection des Végétaux d'EL-Harrach par Melle BISSAAD (KAIDI, 2004).

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 (fig.20).

Le «Green Muscle» est disponible soit sous forme de poudre sèche de spores ou de solution concentrée huileuse et peut être appliqué à l'aide d'un pulvérisateur standard à ultra bas volume muni d'un disque rotatif (THIAM A. et *al.*, 2004).

Il est appliqué sous forme de suspension huileuse diluée par du pétrole, de l'huile d'arachide ou alors du gasoil et l'huile du maïs. (ANONYME, 2002).

1.2.3. La multiplication des champignons

Afin d'obtenir des souches fongiques pures pour nos deux cryptogames (fig.21a, b,), nous avons suivi les étapes suivantes :

- Choisir un milieu de culture approprié pour le développement de ces deux champignons. C'est pourquoi nous avons utilisé le Sabouraud comme milieu de culture en provenance de l'institut Pasteur
- Stériliser le milieu de culture dans un autoclave.
- Écouler les milieux de culture dans des boites de Pétri en plastique stériles remplies à moitié.
- Laisser ces boites pendant 24h pour le refroidissement et la solidification des milieux.
- Ensemencer les deux champignons dans ces boites et fermer ces dernières par un parafilm.
- Incuber les champignons à une température ambiante du laboratoire ($20 \pm 1^\circ\text{C}$)

Toutes ces étapes sont effectuées dans un milieu stérile, à proximité d'un bec benzène sous une hote, pour éviter toute sorte de contamination.



Fig. 20 : Suspension huileuse de spores de *M. anisopliae* var. *acidum* (GREEN MUSCLE)



a: *Metarhizium anisopliae* var. *acidum*



b: *Beauveria bassiana*

Fig. 21: Souches fongiques

Original

❖ Avant de cultiver les champignons, il faut les isoler. Concernant *Beauveria bassiana*, l'isolement a été effectué à partir d'un criquet pèlerin infecté par *B. bassiana*, couvert de spores et placé sur du coton dans une boîte de Pétri, en provenance du laboratoire du département de Zoologie agricole et forestière de l'Institut National Agronomique d'El Harrach. Nous transférons quelques spores sur le milieu de culture, et nous travaillons avec soin suivant les mêmes étapes précédemment citées.

Quant à la souche de *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* elle a été isolée comme suit :

- Centrifugation de la suspension huileuse en spores de *Metarhizium anisopliae* «Green Muscle», afin d'éliminer le gaz oil et les huiles et pour obtenir une précipitation d'une masse en spores à la base des tubes, et aussi dans le but de ne pas avoir des contaminations.
- Prendre les tubes à centrifuger où se trouve la masse en spores et à l'aide d'une pipette Pasteur on prélève quelques portions de cette masse et on l'ensemence sur le substrat nutritif sous une hote à proximité d'un bec benzène (fig.22)

(Le matériel et les produits utilisés pour lors de cette manipulation se trouvent sur la fig.23)

1.2.4. Préparation d'inoculum

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

1.2.5. 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 après avoir déposé une goutte de la solution entomopathogène au centre de cette cellule. On dépose ensuite la lamelle sans faire 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 à partir de la relation suivante :

$$\begin{array}{ccc} 100 \text{ spores} & \longrightarrow & 10^6 \text{ spores/ml.} \\ \text{Nombre des spores comptées} & \longrightarrow & X \end{array}$$

$$X = \frac{\text{Nombre des spores comptées} \times 10^6 \text{ spores/ml}}{100 \text{ spores}}$$



Fig.22 : La hote



Fig. 23 : Matériel et produits utilisés lors des manipulations mycologiques

Original

X : Concentration de la solution mère.

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

$$C1V1 = C2V2$$

C1 : Concentration de la solution mère.

V1 : Volume de la solution mère.

C2 : Concentration choisie.

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

2. Matériel et produits utilisés

2.1. Matériel

2.1.1. Matériel d'élevage

- Des cages ; des ampoules ; des bocaux ; thermomètre ; hygromètre ; des bouteilles coupées en deux (pondeirs) ; des pinces (récupération des fèces) ; spatule (récupération des oothèques) ; boîtes de Pétri (fermeture des trous des pondeirs pendant le nettoyage des cages) ; des éponges, un pinceau, bain d'huile (pour garantir une température adéquate) ; une minuterie (pour assurer la photopériode) ; [des bacs, du tulle moustiquaire, élastique (pour l'incubation des œufs)] ; de sable et une pissette (pour l'arrosage des bacs et des pondeirs).

2.1.2. Matériel de laboratoire

- La hote ; bec benzène ; briquet ; bistouri ; microscope optique ; des béchers ; pipette Pasteur ; cellule de Malassez ; des boîtes de Pétri en plastique stérilisées ; Autoclave ; éprouvette graduée ; - Erlen Meyer ; papier cellophane ; coton ; parafilm ; centrifugeuse ; des tubes à essais ; agitateur magnétique ; une balance de précision ; des ciseaux ; lames et lamelles ; pince ; une loupe binoculaire ; réfrigérateur ; étuve ; des piluliers ; scotch ; spectrophotomètre (analyses biochimiques) ; vortex ; des fiole de 100 ml (préparation des solutions) ; Une cuve de spectrophotomètre ; bain Marie ; microtome (les coupes histologiques) ; papier absorbant ; boîte de lames ; une batterie de la coloration ; microtubes Eppendorf ; Des boîtes et des bacs, tulle moustiquaire et les élastiques ; des sachets en plastique ; scalpel (tailler les blocs) ; plaque chauffante ; barre de Leuckart ; entonnoir ; papier filtre ; chemise cartonnée ; indélébile.

2.2. Les produits

❖ Nettoyage

- Eau de javel
- Alcool

❖ Préparation d'inoculum

- Eau distillée

❖ Développement embryonnaire

- Eau
- Eau de javel

❖ L'histologie

- Acide picrique
 - Formol
 - Acide acétique cristallisable
 - Alcool : 60°, 70°, 95°, 100°
 - Butanol
 - Paraffine
 - Toluène
 - Eau distillée
 - Gélatine
 - Thymol
 - Glycérine
 - Baume de Canada
 - Fuchsine acide
 - Bleu d'aniline
 - Orange G
 - Acide phosphotungstique
- ### ❖ Dosage quantitatif des protéines
- Carbonates de sodium Na_2CO_3 à 2 % (P/V)
 - Na OH à 0.1N et Na OH à 1N
 - $\text{Cu SO}_4 \cdot 5 \text{ H}_2\text{O}$ à 1 %
 - Tartrate double de sodium et de potassium NAK à 1%
 - Réactif de folin-Ciocalteu 1(N)
 - Sérum albumine bovine (BSA)

3. Méthodes

❖ Objectif de l'étude

Ce travail a pour but d'étudier l'effet de deux entomopathogènes, *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae var acridum* sur l'état embryonnaire de *Schistocerca gregaria* prenant en considération les quatre paramètres suivants :

- Effet sur l'éclosion des œufs de *Schistocerca gregaria*.
- Effet sur le développement embryonnaire des œufs de *Schistocerca gregaria*.
- Dosages quantitatifs des protéines des œufs de *Schistocerca gregaria* témoins et traités.
- Etude histologique des œufs de *Schistocerca gregaria* témoins et traités.

❖ Protocole expérimental

Pour réaliser cette étude nous avons pris des oothèques le jour même de leur ponte. Nous avons réparti les œufs dans des bacs contenant du sable humide, stérilisé, recouvert d'une toile moustiquaire pour l'aération. Ces bacs sont percés à la base pour l'infiltration de l'eau en cas d'excès, dans le but d'éviter le risque de la pourriture des œufs, et portant des indications nécessaires telle que la date de la ponte et le nombre des œufs. Ces bacs sont mis dans une étuve réglée à 30°C, avec une humidité de 82% - 87% pour l'incubation des œufs (fig. 24 a, b, c) Pendant toute la durée d'incubation, nous avons contrôlé quotidiennement les bacs, dans le but d'humidifier le sable et de vérifier les éclosions des œufs, pour éviter le risque le dessèchement des œufs, et la mort des larves néonates.

3.1. Etude de l'effet de *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur l'éclosion des œufs de *S. gregaria*

Pour tester l'effet de *Beauveria bassiana* et *Metarhizium 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. 25)

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

Dans ce cas nous avons utilisé 9 bacs. Dans chaque bac 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 :

D1 : 4×10^6 spores/ml,

D2 : 2×10^6 spores/ml,

D3 : 10^6 spores/ml.



a: Témoins



b : Traité au *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*



c : Traité au *Beauveria bassiana*

Fig.24 : Etuves d'incubation des œufs

Original

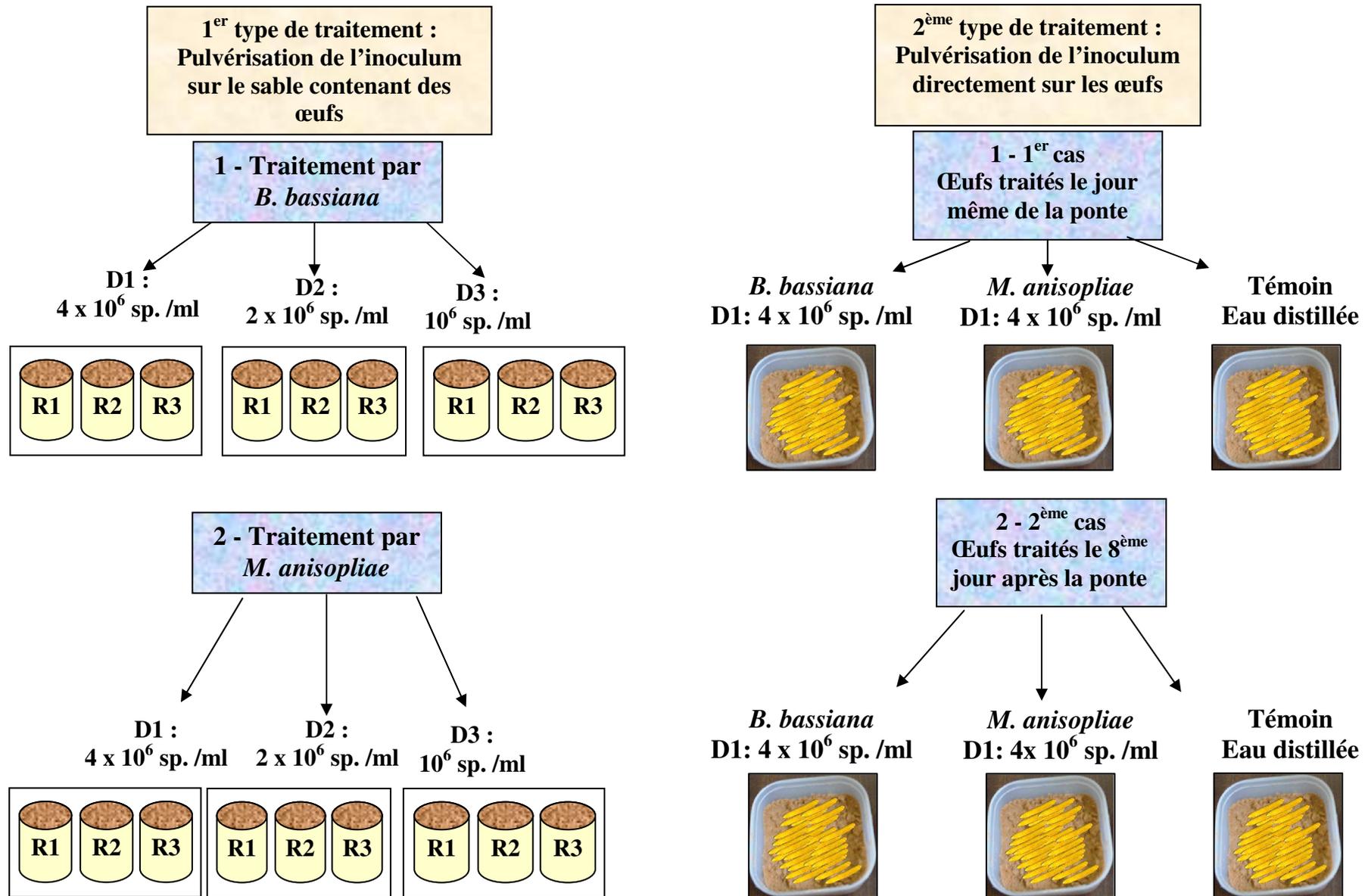


Fig. 25 : Protocole expérimental utilisé dans l'étude de l'effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur l'éclosion des œufs de *S. gregaria*.

➤ **2^{ème} type : Traitement par pulvérisation d'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 cette situation nous avons utilisé 6 bacs, Dans chaque bac 30 œufs prélevés le jour même de la ponte, 3 traités par *B. bassiana*, 3 traités par *M. anisopliae*. Pour les deux champignons nous avons utilisé la forte dose : 4×10^6 spores/ml. Pour cette expérience nous avons utilisés les mêmes témoins de l'expérience précédente.

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

Dans ce cas nous avons utilisé 9 bacs. Dans chaque bac 30 œufs, dont 3 bacs pour le témoin, 3 traité par *B. bassiana* (4×10^6 spores/ml) et 3 traité par *M. anisopliae* (4×10^6 spores/ml).

Pendant la durée d'incubation des œufs, nous avons contrôlé quotidiennement les bacs, pour compter le nombre des larves éclos.

3.2. Effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur le développement embryonnaire de *S. gregaria*

Pour cette étude, nous avons effectué deux essais :

- **1^{er} essai : Pulvérisation de l'inoculum sur le sable.** Dans ce cas on a récupéré 3 oothèques le jour même de la ponte qui sont placés dans trois bacs, dont le 1^{er} pour le témoin, le 2^{ème} traité par *B. bassiana* (4×10^6 spores/ml) et le 3^{ème} traité par *M. anisopliae* (4×10^6 spores/ml).
- **2^{ème} essai : Pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.** Dans cette situation, nous avons utilisé trois oothèques mises dans trois bacs, dont : le 1^{er} pour le témoin, Le 2^{ème} traité par *B. bassiana* (4×10^6 spores/ml) et le 3^{ème} traité par *M. anisopliae* (4×10^6 spores/ml).

Chaque jour pendant la durée d'incubation des œufs, nous avons récupéré 3 œufs de chaque bac, afin de distinguer leur stade de développement embryonnaire (fig. 26).

La technique selon laquelle on s'est basé pour déterminer les stades embryonnaires des œufs de criquet pèlerin est celle de DURANTON et LECOQ (1990). Elle consiste à tremper les œufs dans un mélange eau/eau de javel en proportions égales. Dès que les œufs deviennent clairs (environ 5 minutes), on les observe à l'œil nu ou à la loupe et on note leur stade de développement en se référant aux critères indiqués ci-dessous.

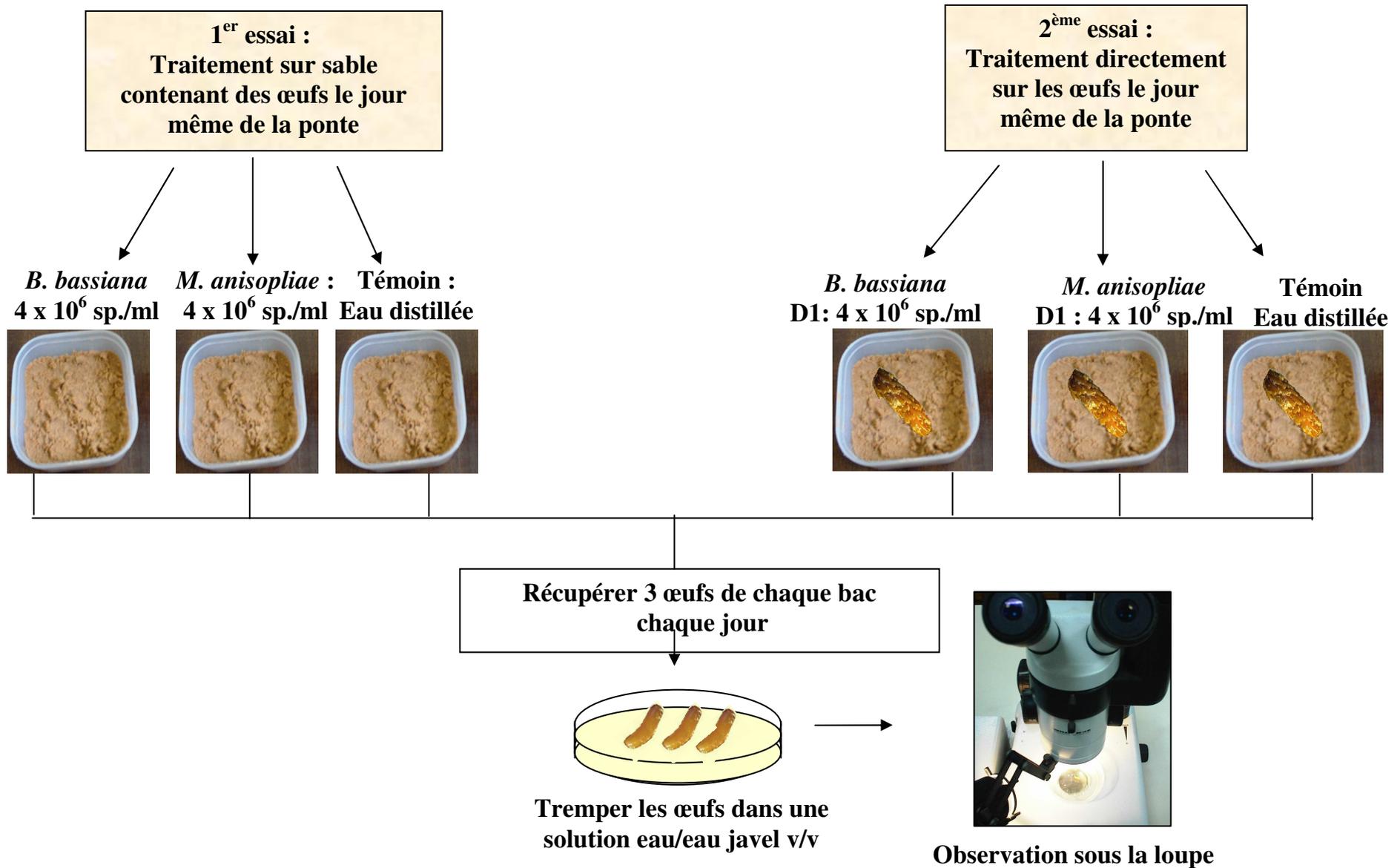


Fig. 26: Protocole expérimental utilisé dans l'étude de l'effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur le développement embryonnaire de *S. gregaria*.

Stades embryonnaires :

Stade 1 : Œuf relativement maigre, venant d'être pondu et n'ayant pas encore absorbé d'eau.

Aucune structure n'est visible, l'intérieur est uniformément jaune. L'embryon ne dépasse pas 1 mm de long à l'intérieur de l'œuf qui en fait 6 ou 7.

Stade 2 : Œuf plus gros, ayant déjà absorbé de l'eau. L'embryon est difficilement visible à une extrémité de l'œuf sous forme d'une petite zone de 1 à 2 mm de long, légèrement plus transparente et plus blanchâtre que le reste de l'œuf.

Stade 3 : L'embryon effectue un retournement dans l'œuf et on l'observe, arqué, au niveau du pôle postérieur qui prend une teinte grisâtre.

Stade 4 : Couleur grisâtre de la partie de l'œuf où se trouve l'embryon ; la longueur de ce dernier est inférieure ou égale à la moitié de celle de l'œuf.

Stade 5 : L'embryon occupe entre la moitié et les deux tiers de la longueur de l'œuf. Les yeux se pigmentent en noir et deviennent visibles par transparence.

Stade 6 : Les yeux sont visibles au quart antérieur de l'œuf.

Stade 7 : L'embryon occupe entièrement l'œuf. On ne trouve plus trace de vitellus. Les yeux composés sont au pôle antérieur et le reste du corps n'est pas encore pigmenté.

Stade 8 : L'embryon occupe entièrement l'œuf et est prêt à éclore. Les différents segments du corps ainsi que les pattes sont bien visibles.

3.3- Effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur la teneur en protéines des œufs de *S. gregaria*

Cette méthode a pour but de mesurer et comparer la teneur en protéines totales des œufs de criquet pèlerin témoins et traités à l'aide des réactions colorimétriques spécifiques (LOWRY et *al.*, 1951 cité par REVERSAT, 1976).

Pour réaliser cette étude nous avons récupéré des oothèques le jour même de la ponte et nous avons effectué deux expériences :

- **La 1^{ère} expérience :** Dans cette disposition le traitement est effectué le jour même de la ponte, par pulvérisation de l'inoculum sur le sable. Nous avons utilisé trois oothèques placées dans trois bacs, dont le 1^{er} pour le témoin, le 2^{ème} traité par *B. bassiana* (4×10^6 spores/ml), et le 3^{ème} traité par *M. anisopliae* (4×10^6 spores/ml).
- **La 2^{ème} expérience :** Dans ce cas le traitement est réalisé par la pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs le jour même de la ponte. Nous avons utilisé trois oothèques réparti dans trois bacs, dont le 1^{ier} pour le témoin, le 2^{ème} traité par *B. bassiana* (4×10^6 spores/ml), et le 3^{ème} traité par *M. anisopliae* (4×10^6 spores/ml).

Chaque quatre jours durant l'incubation des œufs, nous avons récupéré 3 œufs des trois bacs, à partir du 4^{ème} jour jusqu'au 12^{ème} jour (donc jour 4, 8, et 12). Nous mettons dans des microtubes Eppendorf portant des étiquettes, où sont mentionnés l'âge des œufs et leur état, puis on met ces derniers dans le congélateur, pour la conservation des œufs à -6°C , jusqu'à leur utilisation.

Dès la sortie des œufs du congélateur, nous écrasons, œuf par œuf suivant leur état (témoin, traité par *B. bassiana* et traité par *M. anisopliae*), et leur âge (jour 4, 8, et 12), à l'aide d'un mortier pilon, car lorsque nous avons essayé de digérer les œufs à chaud en milieu sodique, nous n'avons obtenu aucun résultat, et les œufs sont restés à leur état initial, sans éclatement, avec une transparence remarquable pour les œufs de jour 8 et 12, sauf pour les œufs du jour 4, qui ont été complètement digérés, ce qui confirme la résistance de chorion des œufs de criquet pèlerin dans la soude (1N).

Après l'écrasement des œufs, nous avons ajouté 2,5 ml de la soude normale plus 2,5 ml d'eau. Les 5 ml de digestat dilué sont versés dans des tubes à essai et placés au bain Marie à 100°C , pendant une $\frac{1}{2}$ heure jusqu'à digestion complète des œufs. Entre temps nous avons préparé les solutions nécessaires pour ce dosage (fig.27)

❖ Solutions à préparer :

- Solution de soude : NaOH (1 N) (4g de la soude dans 100 ml d'eau distillée).
- Solution cuivrique alcaline : 50 ml (A) + 1ml (B) + 1 ml (C).
- ✓ Solution (A) : Na_2CO_3 à 2 % dans NaOH (0,1N), donc nous avons pesé 2 g de Na_2CO_3 , que l'on dissout dans 100ml de NaOH (0,1N), dont ce dernier est préparé comme suit : prélever 10 ml de NaOH (1 N), puis ajuster jusqu'à 100 ml avec de l'eau distillée, et on obtient NaOH (0,1N).
- ✓ Solution (B) : Tartrate double de sodium et de potassium NAK à 2 % \longrightarrow 2g de NAK dans 100 ml d'eau distillée.
- ✓ Solution (C) : CuSO_4 à 1 % \longrightarrow 1g de CuSO_4 dans 100 ml d'eau distillée.
- Réactif de Folin dilué : réactif de Folin-Ciocalteu dilué au 1/2 avec de l'eau distillée (donc 1 volume de réactif de Folin-Ciocalteu dans le double de son volume d'eau distillée).
- Solutions protéiques : Les 5 ml de digestat sodique dilué, déjà préparé auparavant, sont encore dilués deux fois, dont nous avons pris 1 ml de cette solution avec une concentration C1, d'où on ajoute 1ml d'eau distillée, et on obtient une solution de 2 ml avec une concentration C2, de cette dernière solution, nous avons pris 0,25 ml auquel on ajoute 0,25 ml d'eau distillée.

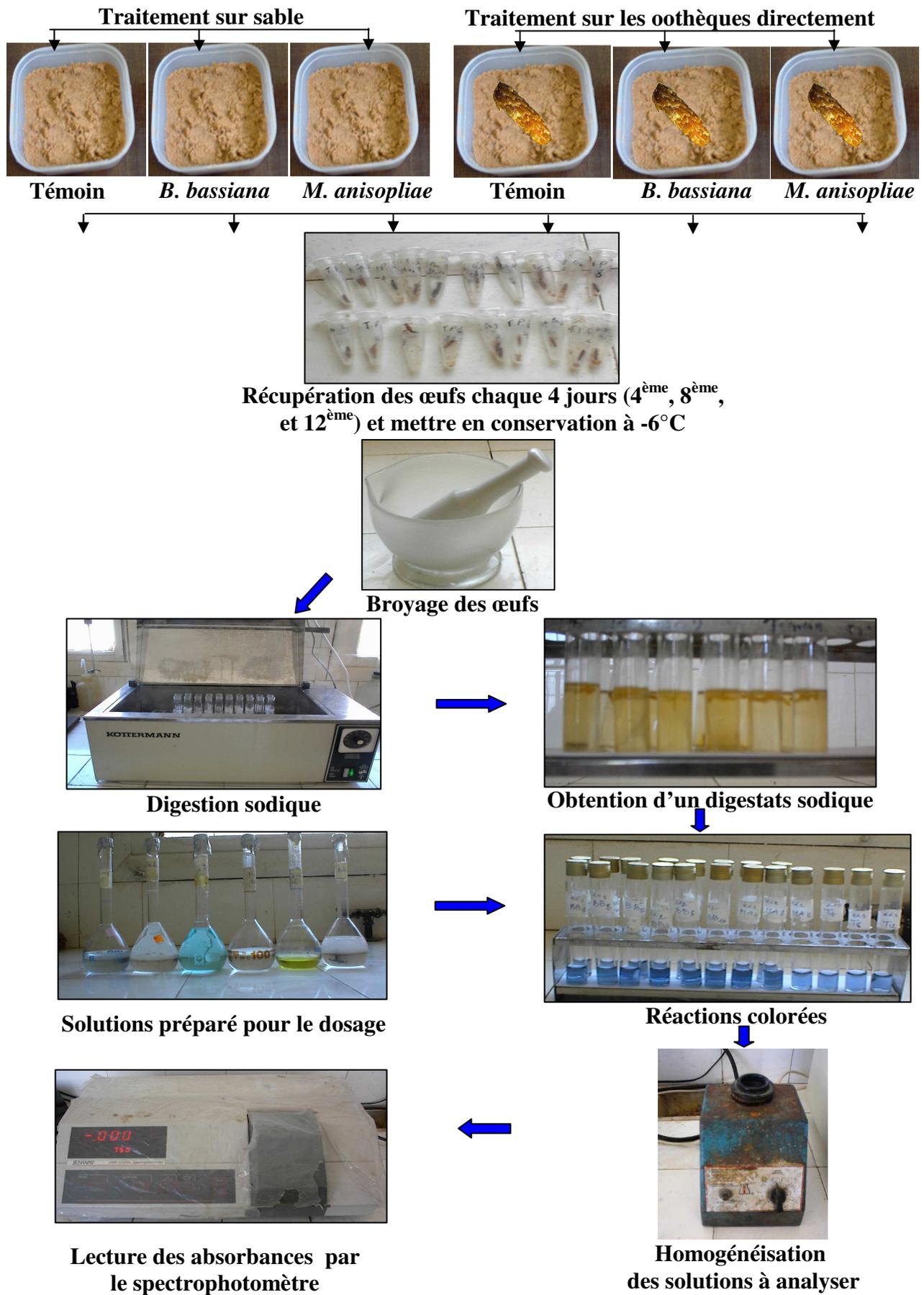


Fig.27 – Technique réalisé pour le dosage des protéines des œufs de *S. gregaria* Témoin et traités par *B. bassiana* et *M. anisopliae*.

Original

➤ Solutions étalons de protéines : préparées à partir d'une solution mère de sérumalbumine bovine (BSA) à 200 µg/ml gardée à 4°C pendant 24 heures. Quatre solutions diluées de concentrations croissantes sont préparées : à 50, 100, 150 et 200 µg/ml.

Donc nous avons dissout 0,02 g de BSA dans 100 ml d'eau distillée, et nous avons préparé les dilutions suivant le tableau ci-dessous et d'après la loi suivante : 200 µg → 10 ml (BSA)

Tableau 2 : Les concentrations de BSA préparés, volumes de BSA nécessaires, et volumes d'eau distillée ajoutées.

[BSA] (µg/ml)	0	50	100	150	200
V (BSA) (ml)	0	2,5	5	7,5	10
V (eau) (ml)	10	7,5	5	2,5	0

❖ Réaction colorée :

Dans des tubes à essais les réactifs sont ajoutés selon les indications du tableau 6. Après l'addition du second réactif (solution cuivrique alcaline), le contenu des tubes est mélangé par agitation et les tubes sont placés à l'étuve à 28°C à l'obscurité pendant ½ heure. On ajoute ensuite le troisième réactif (Folin), le contenu des tubes est homogénéisé par agitation puis les tubes sont à nouveau laissés ½ heure à l'obscurité à 28°C. Une coloration bleue apparaît, d'où on mesure les absorbances dans un spectrophotomètre 6105 U.V. /Vis JENWAY à 750 nm.

Tableau 3 : Addition des réactifs pour le dosage des protéines des œufs de criquet pèlerin

Réactifs dans l'ordre d'addition	Témoin	Gamme étalon	Essai des œufs
Eau distillée	0,5ml	0	0
Solutions étalons de sérumalbumine bovine	0	0,5ml	0
digestat sodique dilué	0	0	0,5ml
Solution cuivrique alcaline	2,5ml	2,5ml	2,5ml
Réactif de Folin dilué au ½	0,5ml	0,5ml	0,5ml

❖ Lecture des absorbances :

La lecture des densités optiques est effectuée à 750 nm après avoir étalonné le spectrophotomètre avec le témoin, en utilisant des cuves de 1 cm d'épaisseur, et on a

commencé par la Gamme étalon (BSA), pour l'établissement de la courbe de référence, donc nous avons suivi les étapes suivantes :

- Prendre la cuve du spectrophotomètre et la remplir avec les solutions de la BSA, une par une, et on commence par la faible concentration à la forte concentration. La cuve doit être remplie au moins au 2/3, puis bien essuyer avec du papier hygiénique avant de la placer dans l'appareil, pour éviter le risque d'avoir des faux résultats, et le risque d'arrêt du spectrophotomètre. Cette cuve possède quatre faces, où on va fixer deux faces, avec lesquelles on va la tenir, et les deux autres faces sont réservées à la trajectoire du faisceau lumineux. Quand la cuve est placée dans le spectrophotomètre, ces deux dernières faces sont dans le même sens de la trajectoire.
- 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 à 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.
- Tracer la courbe de référence, qui exprime les densités optiques en fonction des concentrations du BSA.

Après l'établissement de la courbe de référence, on va passer aux échantillons, suivant les mêmes étapes précédentes, sauf pour les cuves qui vont être obligatoirement rincées avec de l'eau distillée après les avoir vidés de leur contenu, après le passage de chaque échantillon.

Lorsque nous avons obtenu des densités optiques de nos échantillons on va les projeter sur la courbe de référence, afin d'obtenir ses concentrations en protéines.

❖ Suite aux résultats obtenus par l'expérience de la digestion sodique des œufs de criquet pèlerin nous avons pensé à faire une autre expérience, qui consiste à étudier la réaction du chorion des œufs de criquet pèlerin dans la soude

➤ **Principe**

Nous avons pris 16 tubes à essai remplis avec 5ml de la soude (5 N). Dans chaque tube nous avons mis 3 œufs du même jour, à partir du 1^{er} jour au 16^{ème} jour. Ces œufs ont été retirés du congélateur, après les avoir conservés à -6° . Puis, nous avons placé ces tubes dans un bain Marie à 100° C pendant une heure. Ensuite, nous avons fait les observations nécessaires concernant ces œufs pour constater la réaction de leur chorion dans la soude. Après les observations, ces œufs ont été laissés dans la soude pendant 15 jours, puis nous les avons observés, afin de distinguer leur état.

3.4. Etude de l'effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur la structure du chorion des œufs de *S.gregaria*

La technique selon laquelle on s'est basé pour faire nos coupes histologiques est celle de MARTOJA et MARTOJA (1967).

- Pour réaliser cette étude nous avons récupéré trois oothèques le jour même de la ponte. Nous les avons placés dans trois bacs, le 1^{er} pour le témoin, le 2^{ème} traité par *B. bassiana* (4×10^6 spores/ml), et le 3^{ème} traité par *M. anisopliae* (4×10^6 spores/ml).

Le traitement est réalisé par la pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs le jour même de la ponte.

Afin d'établir cette technique histologique, nous avons suivi les étapes suivantes : (fig.28)

3.4.1. Récupération et fixation des œufs

Chaque quatre jours pendant l'incubation des œufs, nous avons récupéré 3 œufs des trois bacs, à partir du jour 4 et jusqu'au le jour 12 (donc jour 4, 8, et 12). Nous mettons dans des piluliers contenus un liquide fixateur (le Bouin Aqueux), pour les fixer, dans le but de les garder dans un état proche de celui du vivant. Ces piluliers portent des étiquettes, où sont mentionnées l'âge des œufs et leur état.

❖ 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 le 12^{ème} jour avant le passage à la 2^{ème} étape, qui est la déshydratation.

3.4.2. Déshydratation des œufs

Cette étape a pour but d'éliminer totalement l'eau, et mettre fin à l'action du liquide fixateur. Elle consiste à passer les œufs par 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 œufs dans l'alcool 70° comme un liquide d'attente, on va passer directement aux bains d'alcool 95°, et 100°. Ensuite les œufs vont passer par les deux bains du butanol pendant 10 mn chacun.

3.4.3. Imprégnation et inclusion des œufs

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

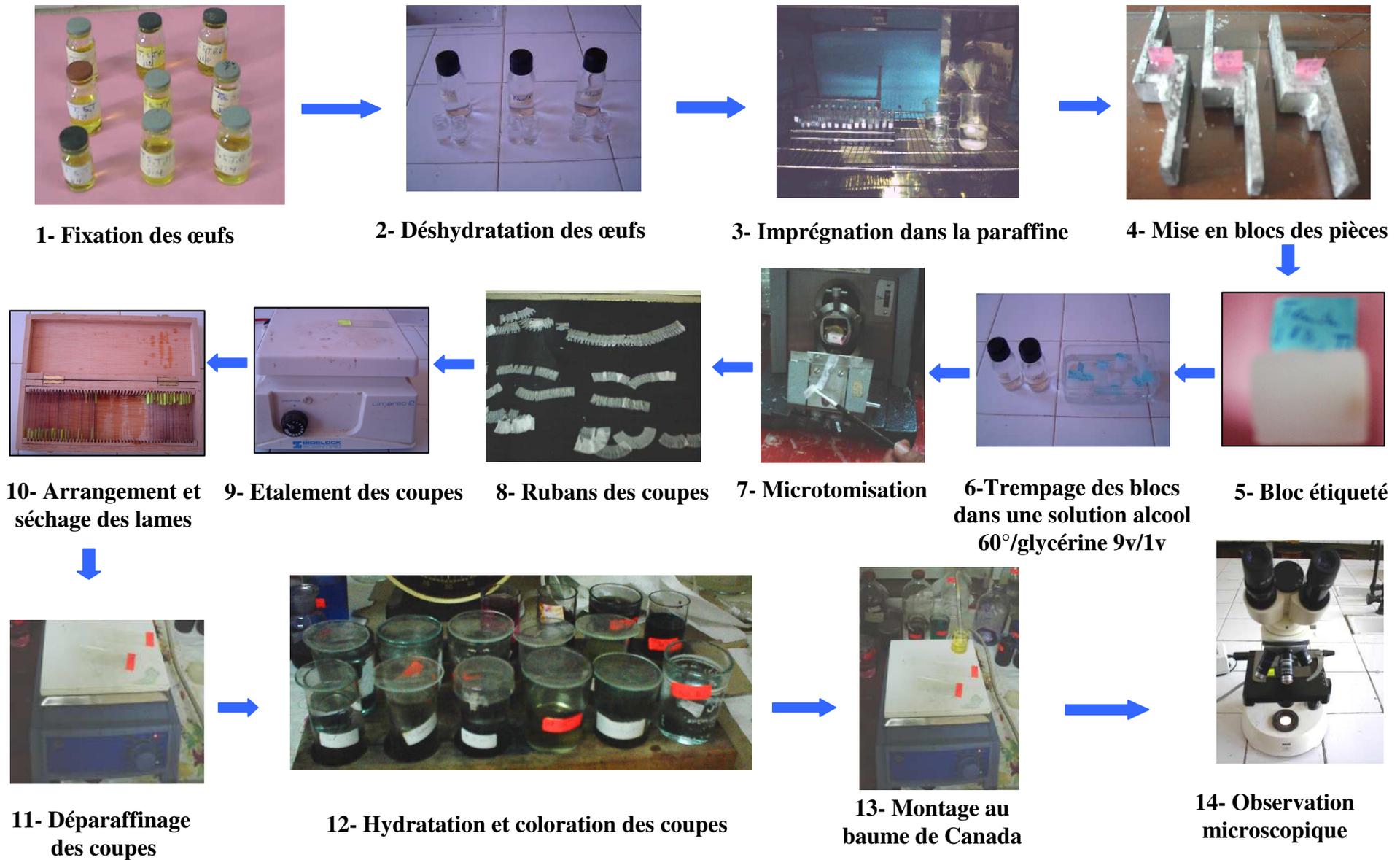


Fig. 28- Les différentes étapes suivies pour la réalisation des coupes histologiques

Original

paraffine à travers les différentes parties de l'œuf, car l'alcool et la paraffine ne constituent pas un mélange homogène. Le solvant le plus couramment utilisé est le butanol.

L'imprégnation des œufs 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 de 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 œuf et paraffine est réalisée après avoir sorti l'œuf 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'œuf 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 l'âge des œufs et leur état. Les blocs obtenus permettent une conservation illimitée des échantillons à la température du laboratoire.

3.4.4. Confection et coulage des coupes

Avant de faire les coupes, BAKER (1941) in MARTOJA et MARTOJA (1967), propose de traiter les blocs entamés par un bain mélange d'alcool 60° (9 vol.), avec la glycérine (1 vol). Ensuite 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 à un appareil ; le microtome (Américain optical corporation 820 SPENCER). L'épaisseur des coupes est de 7µm. Les rubans des coupes obtenus sont déposées sur des lames bien propres, portant des étiquettes, où est mentionné l'âge des œufs et leur état, 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.

3.4.5. 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 fuchsine acide (1g de fuchsine acide et 100ml d'eau distillée),
- Laver à l'eau distillée,
- Coloration pendant 3 minutes par le mélange de Mallory (0,5g de bleu d'aniline, 2g d'orange G, 1g d'acide phosphotungstique et 100ml d'eau distillée),
- Rincer à l'eau distillée.

3.4.6. 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 les 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.

3.4.7. Observation :

Les observations des coupes sont réalisées à l'aide d'un microscope optique, en se basant sur les indications suivantes :

- ✓ Le noyau est coloré en rouge sombre.
- ✓ Le cytoplasme est coloré en rouge.
- ✓ Les fibres collagènes sont colorées en bleu intense.
- ✓ Chorion est coloré en rouge et bleu

3.5 - Analyse statistique

Pour donner une signification statistique à notre étude, le traitement des données est effectué à l'aide du logiciel XL. STAT version 6.0 - ANOVA-, dont on a utilisé l'analyse de la variance et le test LSD (moindre différence significative).

Chapitre III

Résultats et discussions

1. Etude de l'effet de *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur l'éclosion des œufs de *S. gregaria*

1.1. Résultats

Les résultats de traitement par les deux champignons sur le sable ou directement sur les œufs le jour même ou après 8 jours de la ponte, nous montre en premier lieu concernant la durée d'incubation des œufs de *S. gregaria* qu'elle est la même pour les traités comparativement aux témoins. En effet, elle est de 16 à 17 jours à une température de 30°C et une humidité de 82% à 87%. Pour l'effet des deux champignons sur l'éclosion des œufs de *S.gregaria* pour les deux types de traitement et pour les deux ages des œufs, on s'est basé sur les taux des éclosions journalières des œufs témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*.

a. Traitement sur le sable

Les taux moyens des éclosions des œufs de *S. gregaria* incubés dans le sable, traités par les deux champignons entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* sont portés sur les tableaux II et III (annexe) et illustrés par la fig.29

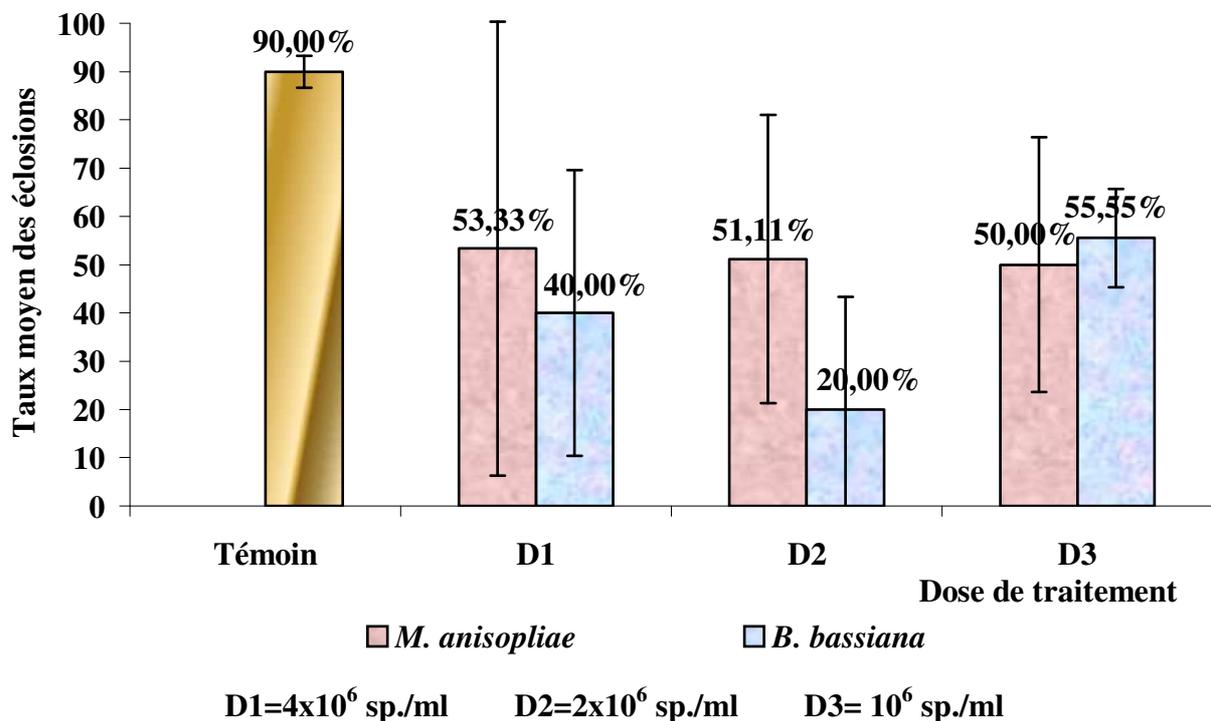


Fig.29 : Taux moyen des éclosions des œufs de *S. gregaria* témoins et traités aux *M. anisopliae* et *B. bassiana* par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.

Nous constatons que les taux d'éclosions les plus élevés sont enregistrés sur le sable témoin avec 90% d'œufs éclos. Pour les doses D1 et D2, le *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 D3 le pourcentage d'éclosion le plus élevé, cette fois-ci, est obtenue sur le sable traité au *B. bassiana* avec 55,55%, pour le *M. anisopliae* il est de 50%.

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 de traitement (témoin, *B. bassiana*, *M. anisopliae*), portée sur les tableaux 4 et 5.

Tableau 4 : Effet de *B. bassiana* sur les éclosions journalières des œufs de *S. gregaria* par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.

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

Le tableau nous montre qu'il y a une différence significative entre les œufs témoins et ceux traités au *B. bassiana* (Probabilité < 0.05).

Tableau 5 : Effet de *M. anisopliae* sur les éclosions journalières des œufs de *S. gregaria* traités par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	Pr. > 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 on remarque que Probabilité > 0,05, ce qui implique qu'il n'y a pas une différence significative entre les œufs témoins et ceux traités au *M. anisopliae*.

b. Traitement directement sur les œufs

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

Les résultats de traitement direct sur les œufs de *S. gregaria* le même jour de la ponte par *B. bassiana* et *M. anisopliae* (4×10^6 spores/ml) sont portés sur les tableaux IV et V (annexe) et illustrés par la fig.30.

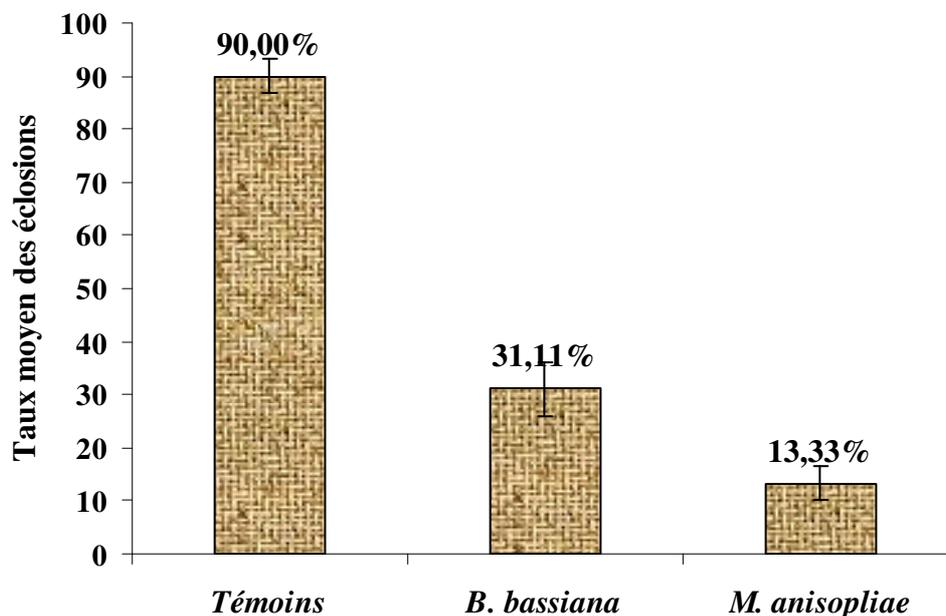


Fig. 30 : Taux moyen des éclosions des œufs de *S. gregaria* témoins et traités au *B. Bassiana* et au *M. anisopliae* (4×10^6 sp./ml) le même jour de la ponte par pulvérisation de l'inoculum sur les œufs directement

D'après les résultats, on remarque que les taux des éclosions les plus élevés sont obtenus chez les témoins avec un pourcentage de 90% d'œufs éclos, suivi par *B. bassiana* 31,11%, puis par *M. anisopliae* 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 de traitement (témoin, *B. bassiana*, *M. anisopliae*) portée sur les tableaux 6 et 7.

Tableau 6 : Effet de *B. bassiana* sur les éclosions journalières des œufs de *S. gregaria* par pulvérisation de l'inoculum sur ces œufs directement.

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

Tableau 7 : Effet de *M. anisopliae* sur les éclosions journalières des œufs de *S. gregaria* par pulvérisation de l'inoculum sur ces œufs directement.

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	Pr > 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 le tableau 6 et 7, que la probabilité dans les deux cas est inférieure à 0,05, ce qui résulte qu'il existe une différence significative entre les œufs témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*.

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

Les résultats de 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 portés sur les tableaux VI et VII (annexe) et illustré par la fig. 31

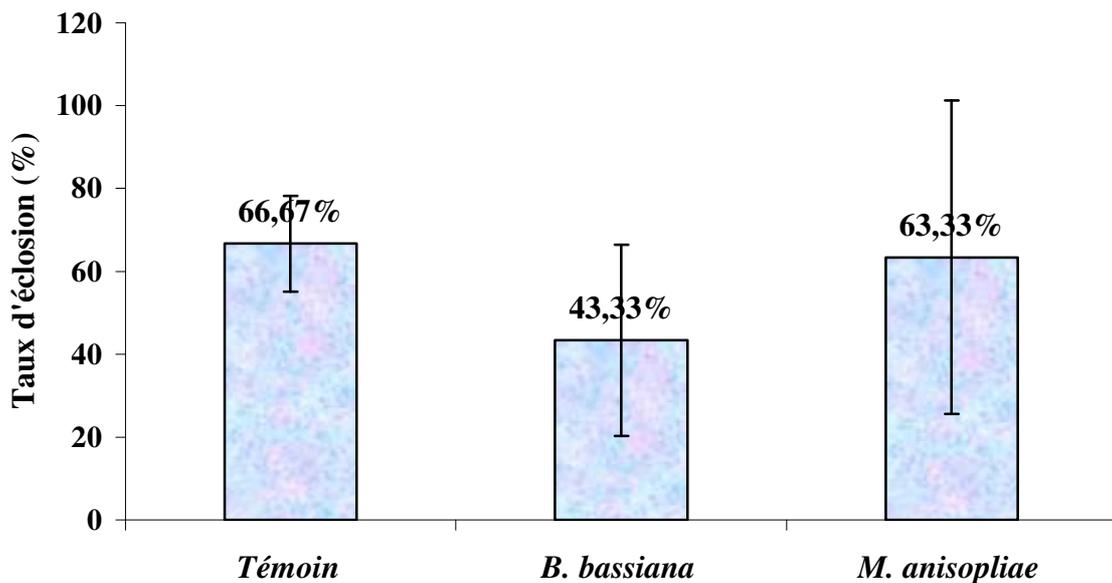


Fig.31 : Taux moyen des éclosions des œufs de *S. gregaria* traités au *B. Bassiana* et au *M. anisopliae* (4×10^6 sp./ml) le 8ème jour après la ponte par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.

On constate que les taux des éclosions des œufs de *S. gregaria* âgés de 8 jours sont plus élevés chez les témoins avec un pourcentage de 66,67%, suivi par les traités au *M. anisopliae*

avec un pourcentage de 63,33%. Le pourcentage d'éclosion le plus faible 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 8 et 9, à un seul critère de classification qui est le facteur nature de traitement (témoin, *B. bassiana*, *M. anisopliae*).

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

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

Tableau 9 : Effet de *M. anisopliae* sur les éclosions journalières des œufs de *S. gregaria* par pulvérisation de l'inoculum sur ces œufs directement le 8^{ème} jours de leur ponte.

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

D'après les tableaux 8 et 9, 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*.

I.2. Discussion

Dans nos résultats, on a montré en premier lieu que la durée d'incubation des œufs est de 16 à 17 jours à une température de 30°C et une humidité entre 82% et 87%, cette durée varie selon la température et l'humidité. Plusieurs auteurs ont montré cette différence. Selon NUREIN (1989), la durée d'incubation des œufs de criquet pèlerin est de 10 à 14 jours dans les régions d'incubation estivale en Afrique occidentale et sur la mer rouge, 25 à 30 jours dans les régions plus fraîches d'incubation printanière en Arabie centrale, dans le sud de l'Iran et au Pakistan, jusqu'à 70 jours dans les régions plus fraîches d'Afrique du nord. Elle est de 17 jours à 28°C contre 12 jours à 32°C (HUNTER-JONES, 1961 in KHALDI, 1996). Elle varie de deux semaines en été, à trois voire quatre mois en hiver (MAGOR, 1993 in KHIDER,

1999). TELENGA en 1930 in LATCHINISKY, et LAUNOIS-LUONG, 1997, démontre, en enterrant une partie des cages, qu'en conditions thermiques identiques, les œufs éclosent en 16-17 jours dans le sable humide, en 37 jours dans le sable sec, ou succombent tous sous l'effet de la dessiccation dans un sol très sec.

Puis, on a parlé de taux d'éclosion et pas de taux de mortalité, malgré que certains auteurs comme BENKARA (1978), considère comme morts les œufs non éclos ou ayant donné des larves mortes ou incomplètement dégagées de leur enveloppe. De notre part, au cours de nos essais, nous nous sommes pas intéressés aux taux de mortalité des oeufs parce qu'elle peut être due à plusieurs facteurs abiotiques et biotiques. Les facteurs abiotiques sont liés à leurs habitats comme la température et l'humidité du sol qui ne sont pas déterminées au terrain. DURANTON et *al.* (1982), indiquent que les œufs ont en particulier besoin d'eau pour se développer et qu'une dessiccation ou une inondation survenant provoque à terme la mort de l'embryon par dessiccation dans la première situation, par asphyxie, dans la seconde. De plus SYMMONS et CRESSMAN (2001), signalent qu'une mortalité élevée peut se produire si les températures du sol sont supérieures à 35°C. De notre côté, nos essais ont été effectués au laboratoire donc la température et l'humidité sont connues d'où la température est de 30°C et l'humidité est de 82% à 87%, donc ces facteurs ne sont pas les causes de mortalité. Concernant les facteurs biotiques, les deux précédents auteurs désignent un pourcentage de moins de 10% pour la non viabilité des œufs et un échec à l'éclosion de 3 à 4%. EWER (1977) in POPOV et *al.* (1990), ajoute que si le bouchon est détruit, la plupart des œufs ne se développent pas normalement, et nous dans nos expériences on a séparé les œufs afin de les compter, donc il y a absence du bouchon spumeux. Donc on peut pas savoir exactement si la mortalité des œufs qui n'ont pas éclos est due aux traitement par *B. bassiana* et *M. anisopliae*. On note aussi que l'effet de ces deux champignons n'est pas significatif pour le traitement sur le sable par *M. anisopliae* (Pr.>0,05), car il n'y a pas une très grande différence pour les taux d'éclosions des témoins comparativement aux traités et même aussi entre les trois doses de traitement qui sont respectivement du forte au faible, D1 : 4×10^6 spores/ml, D2 : 2×10^6 spores/ml et D3 : 10^6 spores/ml, mais il est significativement efficaces pour le traitement sur le sable par *B. bassiana* (Pr. < 0.05).

La non efficacité de nos traitements peut être aussi due aux souches elles-mêmes, car les champignons peuvent être limités par des facteurs biotiques et abiotiques. GOETTEL (1991), annonce comme facteurs biotiques les antagonistes microbiens présents dans le sol ; le comportement alimentaire de l'hôte (son état physiologique et son âge) et la souche de champignons. Concernant le 1^{er} facteur on précise que le sable utilisé au cours de nos

expérimentations est stérilisé, donc le risque d'avoir des antagonistes microbiens est annulé. Quant au dernier facteur nos deux souches sont connues et elles sont utilisées à partir d'une culture monosporique. Pour les facteurs abiotiques il y a la température et l'humidité, dans notre cas ces deux facteurs sont favorables pour ces deux cryptogames. Pour le premier type de traitement par la pulvérisation de l'inoculum sur le sable si on émet l'hypothèse que ces champignons ne peuvent pas atteindre tous les œufs, et pour ne pas avoir un doute sur ce point, on a réalisé un deuxième type de traitement qui consiste à pulvériser les œufs directement par l'inoculum. Ceci nous montre que les taux d'éclosions des œufs sont moins importants que ceux du premier type de traitement. Donc ceci confirme que ces deux champignons ont un effet sur l'éclosion des œufs par une pulvérisation directe sur ces derniers qui sont traités le jour même de la ponte. Cet effet n'est pas très grand mais il est plus important que celui de premier type de traitement. Avec cette démarche on arrive à montrer qu'avec le traitement sur le sable, il y a le facteur temps qui intervient car les mycélium de ces deux champignons pour se développer nécessite une durée et une vitesse pour arriver aux œufs qui se trouvent dans le sable et qui se développent à leur tour et leur chorion devient de plus en plus résistant avec l'âge ce confirme la non efficacité de nos traitement. De plus pour tester les réactions du chorion vers ces deux champignons, considérant que c'est leur voie de pénétration vers l'intérieur de l'œuf, on réalise donc deux tests avec deux âges différents des œufs, où on a effectué un traitement le jour même de la ponte et un autre après 8 jours de la ponte. Nous avons obtenu des taux d'éclosion des œufs plus importants pour le second cas par rapport au premier cas. Donc en déduit que, plus les œufs se développent plus leur chorion devient résistant envers ces deux cryptogames. Avec tous ces concepts on peut aussi supposer que le chorion n'est peut être pas un milieu favorable pour ces deux cryptogames car les champignons ont une spécificité de l'hôte. En effet FERRON *et al.* (1991), montrent que la spécificité de l'hôte est un facteur essentiel dans le choix d'un agent de lutte microbiologique. Ou aussi peut être que nos deux souches ont perdu leur virulence à cause du fait qu'il ont été repiqués dans des milieux de cultures plusieurs fois au cours de notre expérimentation. Ceci confirme l'idée de AIZAWA, (1971), ROBERT et YENDOL (1971), DAOUST et ROBERT (1982) cité par GOETTEL (1991), qui montrent que la virulence des champignons entomopathogènes augmente après passages successifs du champignon dans un hôte et qu'elle diminue après plusieurs repiquages en milieux artificiels. On peut également justifier la négativité de nos résultats qui est dû peut être à la structure du chorion. En effet RACCAUD-SCHOELLER (1980), signale que le chorion assure une protection mécanique au germe et que pour la majorité des œufs, il est épais et peu perméable. L'imperméabilité des enveloppes

peut être accrue par le dépôt d'une couche cireuse à la face interne du chorion et d'une couche de graisse entre l'endochorion et l'exochorion. Comme notre travail est préliminaire on n'a pas trouvé dans la bibliographie un cas similaire au notre, autrement dit un test des champignons entomopathogènes sur les œufs de criquet pèlerin.

BENKARA (1978), a utilisé quelques carbamates (insecticides) sur les œufs de *Locusta migratoria migratorioides* où il a trouvé qu'ils ont une action ovicide nette.

EKESI *et al.* (2001), ont utilisé une concentration de 10^8 spores/ml pour *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur les œufs d'un lepidoptère *Maruca vitrata* et d'un Héteroptère *Clavigralla tomentosicollis*, où ils ont trouvé une mortalité entre 89 et 100% pour les deux champignons sur la première et une mortalité entre 91 et 94% sur la seconde espèce. De même, SAMUELS *et al.* (2001), ont utilisé ces deux cryptogames sur les œufs d'un hémiptère *Blissus antillus*, ils ont montré que *M. anisopliae* infecte ces œufs avec une mortalité de 96,7% pour une dose de 10^4 spores/ml, ils ont ajouté que *B. bassiana* n'a signalé aucune virulence vers ces œufs. D'autres travaux comme ceux de SHI et FENG (2004), ont essayé *B. bassiana* et *M. anisopliae* sur les œufs d'un acarien *Tetranychus cinabarinus*. Ils ont prouvé que les œufs infectés par *B. bassiana* se colorent en orange-brun, alors que ceux infectés par *M. anisopliae* se colorent en gris sombre. La DL50 pour *B. bassiana* est de 548 spores/mm² et celle de *M. anisopliae* est de 1717 spores/mm².

I.3. Conclusion

On arrive donc à conclure que nos deux champignons entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* n'ont pas été significativement efficaces pour arrêter l'éclosion des œufs de *S. gregaria* pour le traitement direct sur les œufs âgés de 8 jours. Mais avec le traitement directement sur les œufs le même jour de la ponte ces deux cryptogames ont marqué une efficacité significative. Le traitement sur le sable par *B. bassiana* a été significativement efficaces. Contrairement au traitement sur le sable par *M. anisopliae* qui n'a pas été significativement efficaces. Ceci est peut être dû à la durée et à la vitesse de développement de mycélium qui va traverser le sable pour arriver jusqu'au œufs qui vont être développés à leur tour et leur chorion va durcir avec l'âge présentant une grande résistance contre ces deux champignons qui n'ont pas pu le traverser et le lyser. Mais pour les œufs des premiers stades leur chorion est très sensible et n'a pas résisté devant ces deux cryptogames.

2. Effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur le développement embryonnaire de *S.gregaria*

Selon RACCAUD-SCHOELLER (1980), l'œuf se développe généralement en dehors de l'organisme maternel et doit renfermer un vitellus très abondant, si bien que l'embryon ne se formera pas à partir de l'ensemble du système ovulaire : la segmentation est partielle et seulement superficielle. L'ébauche embryonnaire, lorsqu'elle apparaît, repose sur le vitellus mais n'en occupe pas toute la surface. Le vitellus renferme tous les éléments nutritifs indispensables à l'embryon. Cependant, un apport d'oxygène et parfois d'eau est nécessaire. Des dispositifs spéciaux : aéropyles, hydroyles existent fréquemment pour assurer les échanges avec le milieu extérieur.

2.1. Résultats

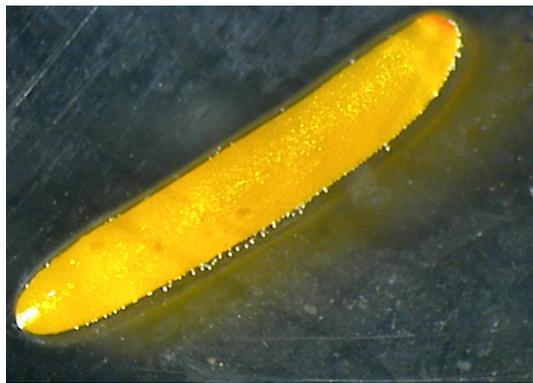
Suite à nos observations faites sur les œufs de *S. gregaria* témoins et traités au *B. bassiana* et au *M.anisopliae* sous la loupe binoculaire chaque jour pendant leur incubation, on arrive à distinguer les différents stades de développement embryonnaire et les résultats sont mentionnés dans le tableau 10 et les figures 32, 33 et 34.

Tableau 10 : Les stades embryonnaires des œufs de *Schistocerca gregaria* témoins et traités au *B. bassiana* et au *M.anisopliae*.

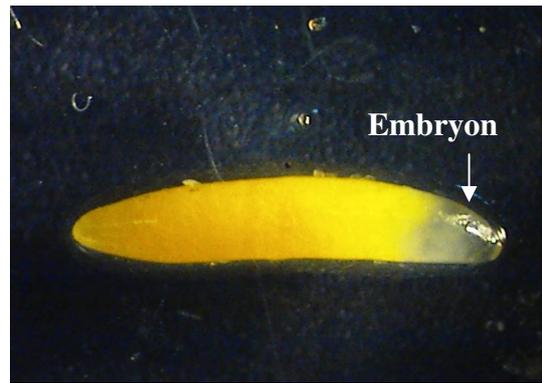
Temps	Traitement sur le sable												Traitement sur les œufs directement															
	Témoins				Traités au <i>B. bassiana</i>				Traités au <i>M.anisopliae</i>				Témoins				Traités au <i>B. bassiana</i>				Traités au <i>M.anisopliae</i>							
	R1	R2	R3	Intervalle	R1	R2	R3	Intervalle	R1	R2	R3	Intervalle	R1	R2	R3	Intervalle	R1	R2	R3	Intervalle	R1	R2	R3	Intervalle	R1	R2	R3	Intervalle
1 ^{er} j	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1	S1
2 ^{ème} j	S2	S1	S2	S1- S2	S1	S1	S1	S1	S1	S2	S2	S1-S2	S2	S2	S1	S1-S2	S2	S1	S2	S1-S2	S2	S2	S1	S1-S2	S2	S2	S1	S1-S2
3 ^{ème} j	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2
4 ^{ème} j	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2
5 ^{ème} j	S3	S2	S3	S2- S3	S2	S2	S3	S2-S3	S3	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S2	S3	S3	S2	S2-S3	S3	S3	S3	S3	S3	S3	S3	S3
6 ^{ème} j	S3	S3	S2	S2- S3	S3	S3	S2	S2-S3	S3	S2	S3	S2-S3	S3	S3	S3	S3	S2	S2	S3	S2-S3	S2	S2	S3	S2-S3	S2	S2	S3	S2-S3
7 ^{ème} j	S4	S4	S4	S4	S4	S3	S3	S3-S4	S4	S4	S3	S3-S4	S4	S3	S4	S3-S4	S4	S4	S3	S3-S4	S4	S3	S4	S3-S4	S4	S3	S4	S3-S4
8 ^{ème} j	S3	S4	S4	S3- S4	S4	S4	S3	S3-S4	S4	S4	S4	S4	S4	S4	S4	S4	S4	S3	S4	S3-S4	S3	S4	S4	S3-S4	S3	S4	S4	S3-S4
9 ^{ème} j	S4	S3	S5	S3-S4-S5	S5	S4	S4	S4-S5	S5	S4	S3	S3-S4-S5	S5	S4	S5	S4-S5	S5	S5	S5	S5	S5	S4	S4	S4-S5	S5	S4	S4	S4-S5
10 ^{ème} j	S4	S5	S6	S4-S5-S6	S5	S5	S5	S5	S4	S5	S5	S4-S5	S5	S5	S5	S5	S5	S5	S5	S5	S4	S5	S5	S4-S5	S4	S5	S5	S4-S5
11 ^{ème} j	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S5	S5-S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6
12 ^{ème} j	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6	S6
13 ^{ème} j	S7	S6	S7	S6- S7	S7	S7	S6	S6-S7	S7	S7	S7	S7	S7	S6	S7	S6-S7	S7	S7	S7	S7	S7	S7	S7	S7	S7	S7	S7	S7
14 ^{ème} j	S8	S7	S7	S7-S8	S7	S8	S7	S7-S8	S7	S8	S7	S7-S8	S7	S8	S8	S7-S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S7	S7-S8	S8	S8	S8	S8
15 ^{ème} j	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S7	S8	S8	S7-S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8	S8
16 ^{ème} j	éclosion des œufs				éclosion des œufs				éclosion des œufs				éclosion des œufs				éclosion des œufs				éclosion des œufs							

S : Stade

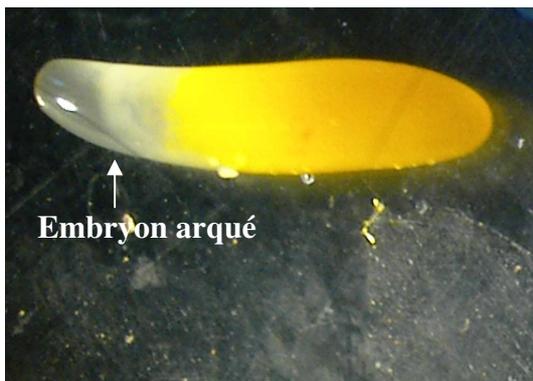
j : jour



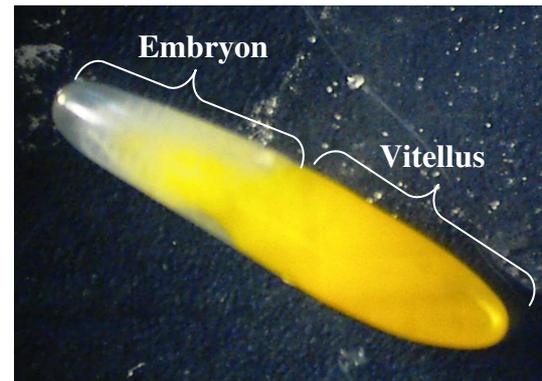
Stade 1 Gr. x 10



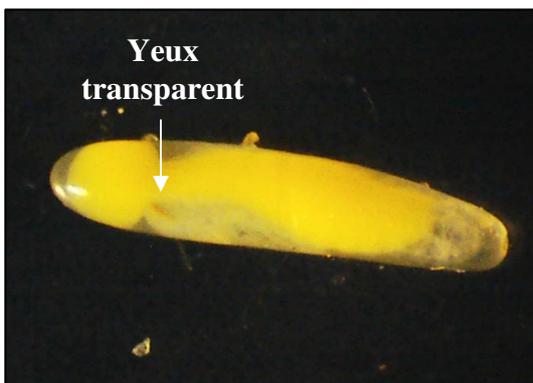
Stade 2 Gr. x 10



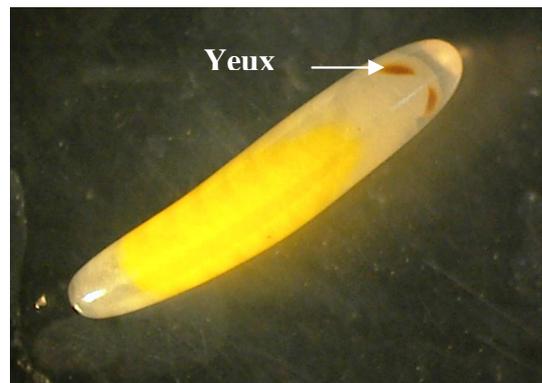
Stade 3 Gr. x 10



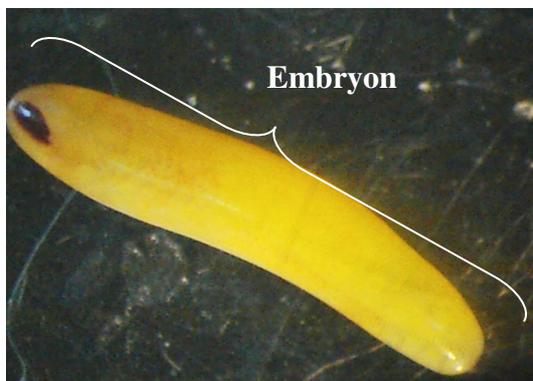
Stade 4 Gr. x 10



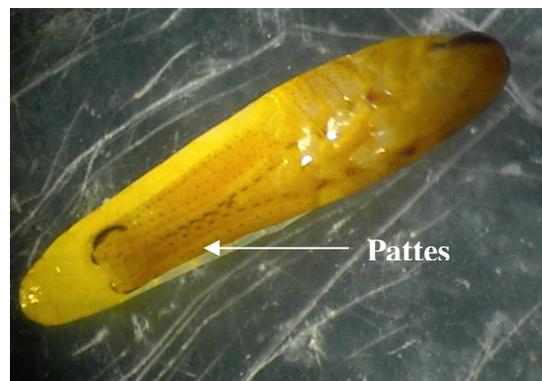
Stade 5 Gr. x 10



Stade 6 Gr. x 10



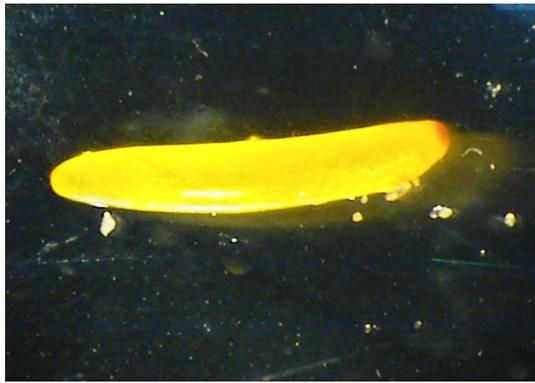
Stade 7 Gr. x 10



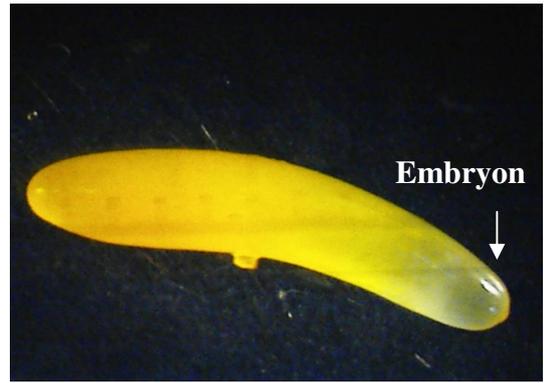
Stade 8 Gr. x 10

Fig.32 – Les différents stades embryonnaires chez les individus témoins de *S. gregaria*

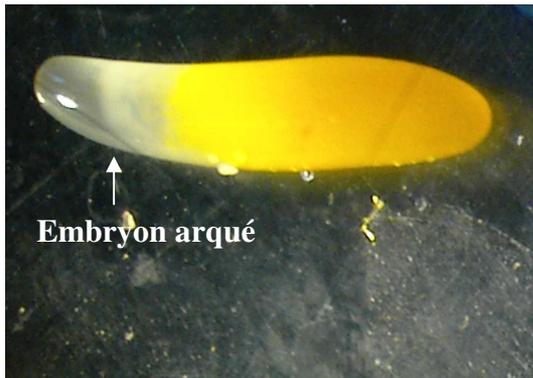
Original



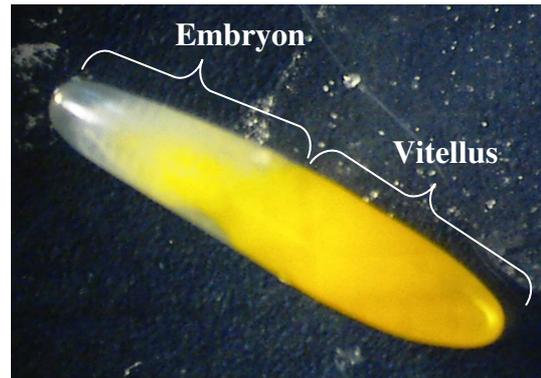
Stade 1 Gr. x 10



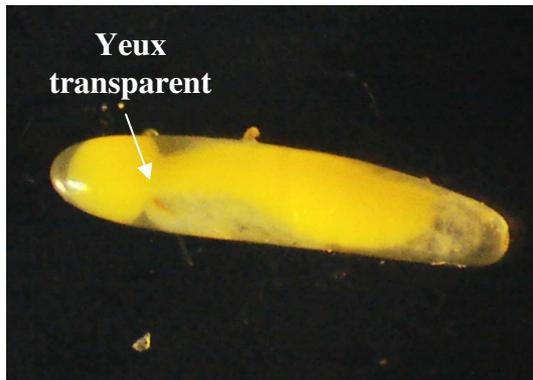
Stade 2 Gr. x 10



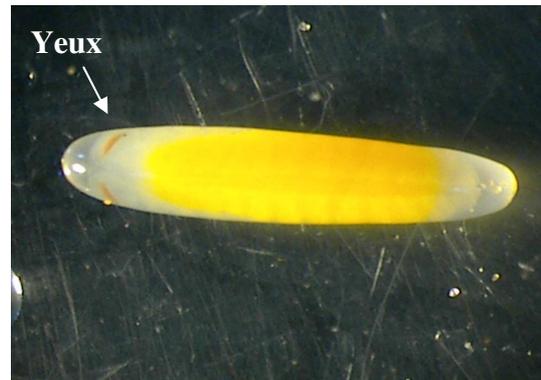
Stade 3 Gr. x 10



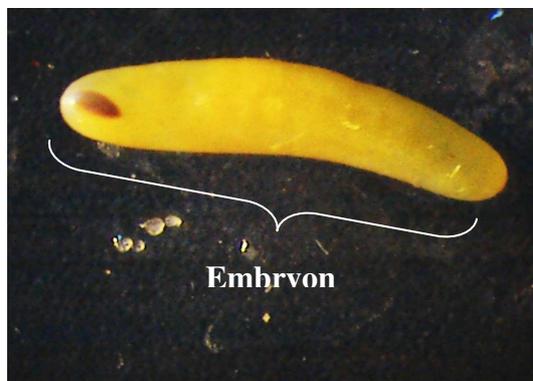
Stade 4 Gr. x 10



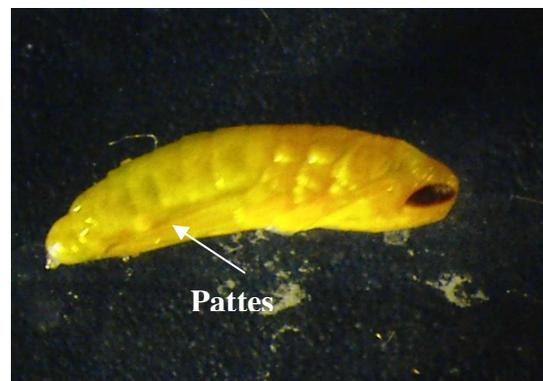
Stade 5 Gr. x 10



Stade 6 Gr. x 10



Stade 7 Gr. x 10



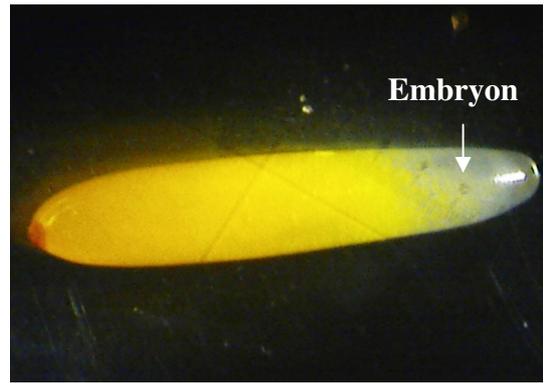
Stade 8 Gr. x 10

Fig.33 – Les différents stades embryonnaires chez les individus de *S. gregaria* traités au *M. anisopliae*

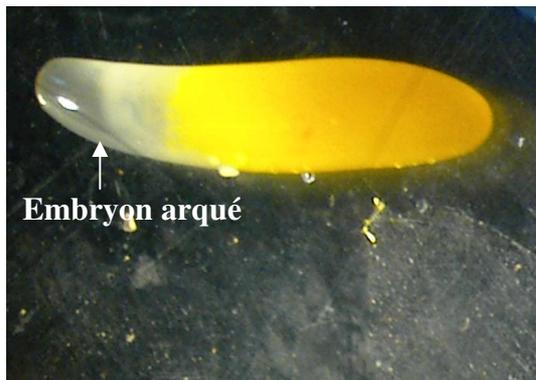
Original



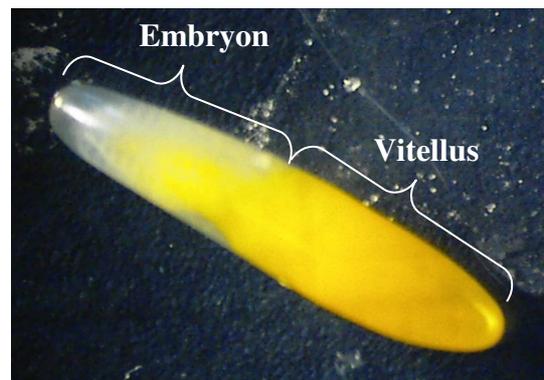
Stade 1 Gr. x 10



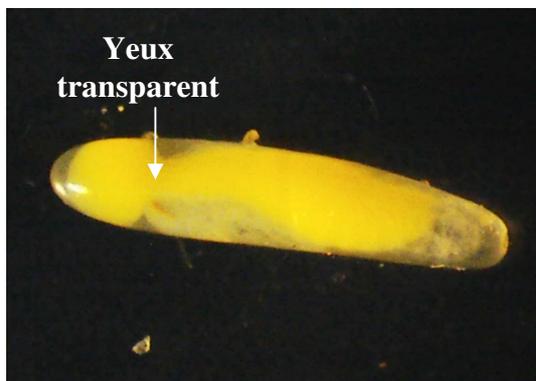
Stade 2 Gr. x 10



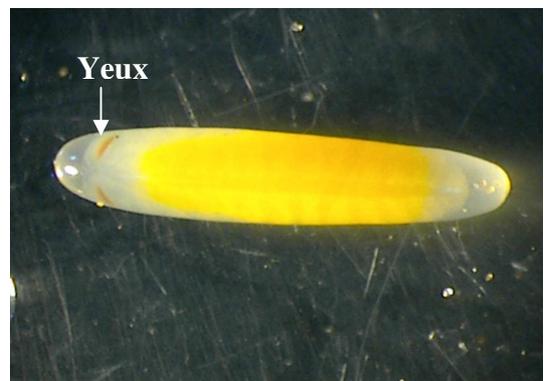
Stade 3 Gr. x 10



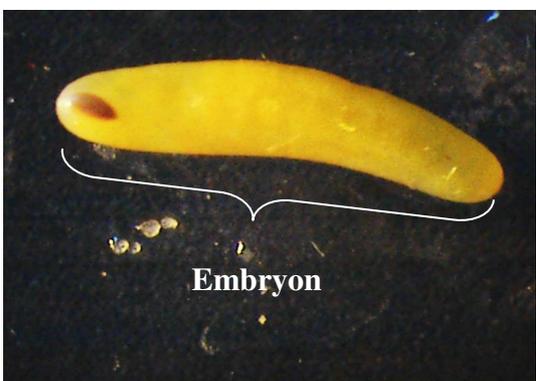
Stade 4 Gr. x 10



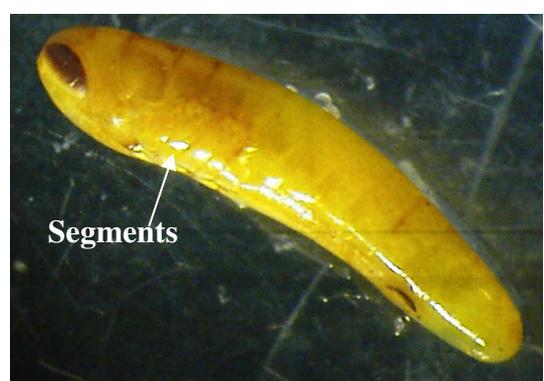
Stade 5 Gr. x 10



Stade 6 Gr. x 10



Stade 7 Gr. x 10



Stade 8 Gr. x 10

Fig.34– Les différents stades embryonnaires de *S. gregaria* chez les individus traités au *B. bassiana*

D'après le tableau 10 et les figures 32, 33 et 34, on remarque qu'il n'y a pas de jours précis et appropriés pour les stades embryonnaires et on note qu'on peut avoir différents stades dans le même jour. On constate aussi qu'il n'y a pas une différence entre les œufs témoins et ceux traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* par les deux types de traitement car on ne distingue aucune attaque de ces deux cryptogames aux différents stades embryonnaires. A une température de 30°C et une humidité de 82% à 87%, nous avons constaté que la durée du développement, de la ponte jusqu'à l'éclosion, pour les trois lots témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* par pulvérisation de l'inoculum sur le sable, ou directement sur les œufs est la même et qui est 16 jours.

❖ Parallèlement, nous avons pris les bacs d'incubations utilisés pour l'étude du premier paramètre après 10 jours d'éclosion des œufs. On a pris ces bacs pour chercher s'il y a des œufs infectés par ces deux cryptogames. Quand on a trouvé des œufs infectés par *B. bassiana* et *M. anisopliae* on les a mis dans un mélange moitié eau/eau de javel afin de les éclaircir, puis on les a observé sous la loupe binoculaire. Les résultats d'infections des œufs de *S. gregaria* par les deux champignons entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* sont portés sur les figures 35 et 36.

2.2. Discussion

Les résultats obtenus par les traitements des œufs de *S. gregaria* au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* avec les deux types de traitement, direct ou sur sable, à travers les différents stades embryonnaires, nous montre qu'il n'y a pas une attaque cryptogamique sur ces stades car peut être lorsque on a utilisé l'oothèque complet, la matière spumeuse reste entouré des œufs. Et comme elle est une matière protectrice d'après DURANTON et al., 1982, les deux champignons n'ont pas pu la traverser pour infecter ces œufs.

Pour les bacs d'incubation qui ont été vérifié après 10 jours d'éclosion des œufs traités par *B. bassiana* et *M. anisopliae* au cours du 1^{er} paramètre, on a constaté que les œufs restés dans le sable ont subi une infection et une attaque par ces deux champignons entomopathogènes, donc il y a la possibilité de destruction de la matière spumeuse qui sert à protéger ces œufs.

Concernant la déférence des stades au cours du même jour elle peut être due à l'emplacement des différentes œufs dans l'oothèque, et à la l'humidité du sol qui est un facteur essentiel pour le développement embryonnaire. LATCHININSKY, et LAUNOIS-LUONG (1997), signalent que l'humidité devrait être suffisante pour permettre le développement embryonnaire car les œufs absorbent presque l'équivalent de leur propre



Fig. 35 : Œufs de *S. gregaria* infectés par *B. bassiana*



Fig. 35 : Œufs de *S. gregaria* infectés par *M. anisopliae*

Original

pois en eau dans les premiers jours qui suivent la ponte. Aussi les reproductrices choisissent-elles des sols humides pour garantir une hydratation convenable des œufs. Selon DOVNAR-ZAPOLSKY in PREDTETCHENSKY (1935) cité par LATCHININSKY, et LAUNOIS-LUONG 1997, si le sol n'est que superficiellement humidifié, seuls les œufs placés dans la partie supérieure de l'oothèque (10 à 25 %) se développent, alors que les autres entrent en quiescence. Pour la durée de développement elle est influencée par la température et l'humidité, car avec une température de 30°C et une humidité de 82% - 87%, certains œufs atteignent leur 8^{ème} stade de développement embryonnaire entre le 14^{ème} et le 16^{ème} jour, et d'autres éclosent au 16^{ème} jour. KOURENTZOV cité par PREDTETCHENSKY, 1935 cité par LATCHININSKY et LAUNOIS-LUONG 1997, démontre que l'excès de l'humidité édaphique est lui aussi néfaste. L'inondation périodique des sites de ponte à la suite d'un arrosage abondant des champs irrigués tue les embryons ou retarde leur développement de 14 à 19 jours par rapport aux pontes déposées dans des parcelles moyennement arrosées.

2.3. Conclusion

Les deux champignons entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* n'ont pas un effet ou une attaque remarquable à travers les différentes stades de développement embryonnaire de *S. gregaria*, même qu'ils ne provoquent pas un retard dans l'éclosion de ces œufs. Donc ils ne sont pas virulents pour l'oothèque entière recouverte d'une matière protectrice qui est la matière spumeuse. Mais pour les œufs séparés l'un de l'autre, où le bouchon spumeux est détruit, on remarque que ces deux cryptogames arrivent à attaquer et à infecter ces œufs, donc on peut dire qu'ils présentent une virulence envers ces œufs. Et aussi à partir de nos résultats concernant les différents stades embryonnaires au cours du même jour on peut arriver donc à justifier l'échelonnement des éclosions.

3. Effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur la teneur en protéines des œufs de *Schistocerca gregaria*

RACCAUD-SCHOELLER (1980), signale que chez la majorité des insectes, l'ovocyte renferme de grandes quantités de vitellus qui se sont accumulées au centre (œuf centrolécithe). Les réserves vitellines se présentent sous forme de « globules vitellins » de nature chimique diverse (protéines, complexe protéines-phospholipides...). Elles sont essentielles pour le développement de l'embryon. De ce fait, nous nous sommes intéressés à étudier la variation de la teneur en protéines (principal constituant de vitellus) chez les œufs traités comparativement aux témoins.

3.1. Résultats

Avant de déterminer le taux des protéines des œufs de *S. gregaria*, nous avons d'abord déterminé les concentrations de BSA (Bovine Serum Albumen) mentionnées sur le tableau 11 afin d'établir une courbe de référence (fig. 37). Puis nous avons déduit les différentes concentrations des protéines en $\mu\text{g/ml}$ des œufs âgés de 4, 8 et 12 jours prélevés à partir des lots témoins ou traités par *B. bassiana* et *M. anisopliae* soit directement sur les œufs ou sur le sable. Les résultats sont mentionnés dans les tableaux VIII, IX (annexe) et illustrés par les figures 38 et 39. Ces résultats nous indiquent que la concentration des protéines des œufs témoins par rapport aux traités par les deux champignons avec les deux types de traitement est presque semblable. En effet elle est de $110 \mu\text{g/ml}$, $107,5 \mu\text{g/ml}$ et $107,5 \mu\text{g/ml}$ au 4^{ème} jour, $110 \mu\text{g/ml}$, $85 \mu\text{g/ml}$ et $116,25 \mu\text{g/ml}$ au 8^{ème} jour, $105 \mu\text{g/ml}$, $110 \mu\text{g/ml}$ et $102,5 \mu\text{g/ml}$ au 12^{ème} jour respectivement pour les témoins, les traités au *B. bassiana* et au traités au *M. anisopliae* dans le cas d'une pulvérisation de l'inoculum sur le sable. Concernant le traitement par la pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs, on note une concentration de $110 \mu\text{g/ml}$, $105 \mu\text{g/ml}$ et $126,25 \mu\text{g/ml}$ au 4^{ème} jour, $110 \mu\text{g/ml}$, $112,5 \mu\text{g/ml}$ et $103,75 \mu\text{g/ml}$ au 8^{ème} jour, $105 \mu\text{g/ml}$, $106,26 \mu\text{g/ml}$, $100 \mu\text{g/ml}$ au 12^{ème} jour respectivement témoins, traités au *B. bassiana* et traités au *M. anisopliae*, ce qui signifie qu'il n'y a pas une grande différence pour la concentration protéique des traités par ces deux champignons par rapport aux témoins au cours de différentes âges des œufs.

Tableau 11 : Concentrations de BSA en $\mu\text{g/ml}$ et les absorbances correspondantes.

Concentration de BSA en $\mu\text{g/ml}$	0	50	100	150	200
Absorbance en nm	0	0.364	0.529	0.624	0.700

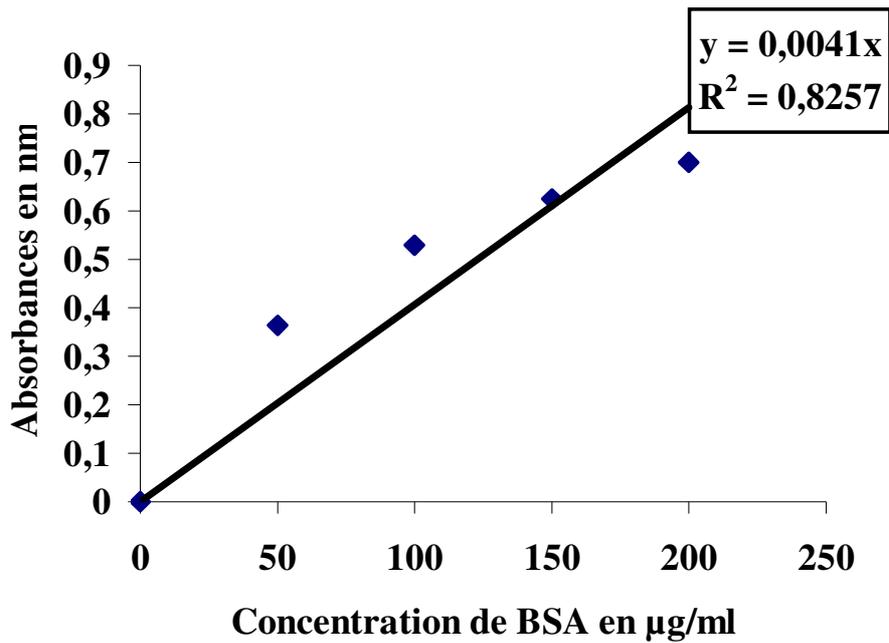


Fig. 37 : Courbe de référence exprimant les absorbances à 750 nm en fonction des Concentration de BSA en µg/ml

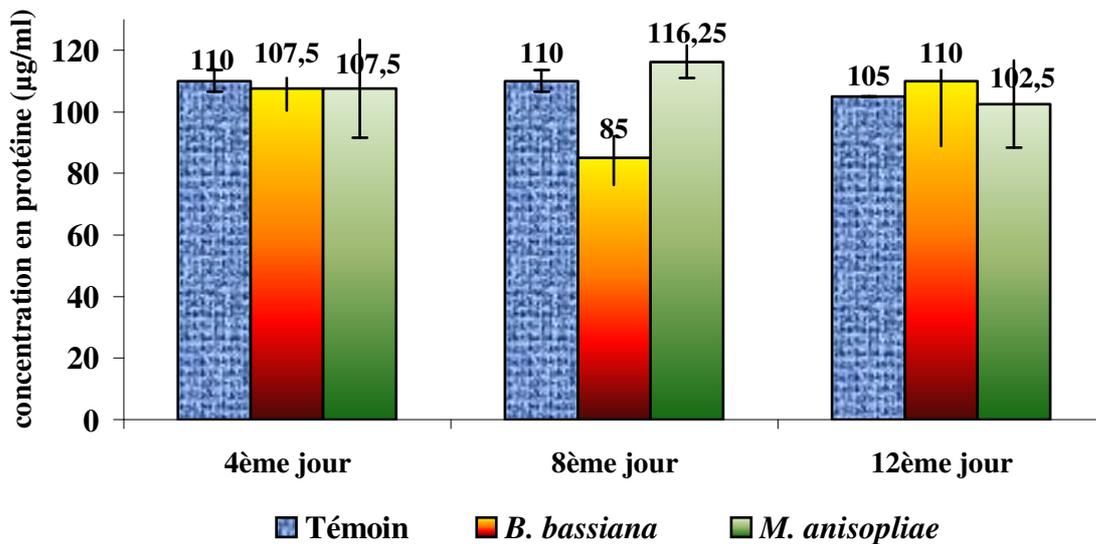


Fig. 38 : Concentrations de proteines des œufs de *S. gregaria* aux 4^{ème}, 8^{ème}, 12^{ème} jours de traitement avec *B. bassiana* et *M. anisopliae* (4×10^6 sp./ml) par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.

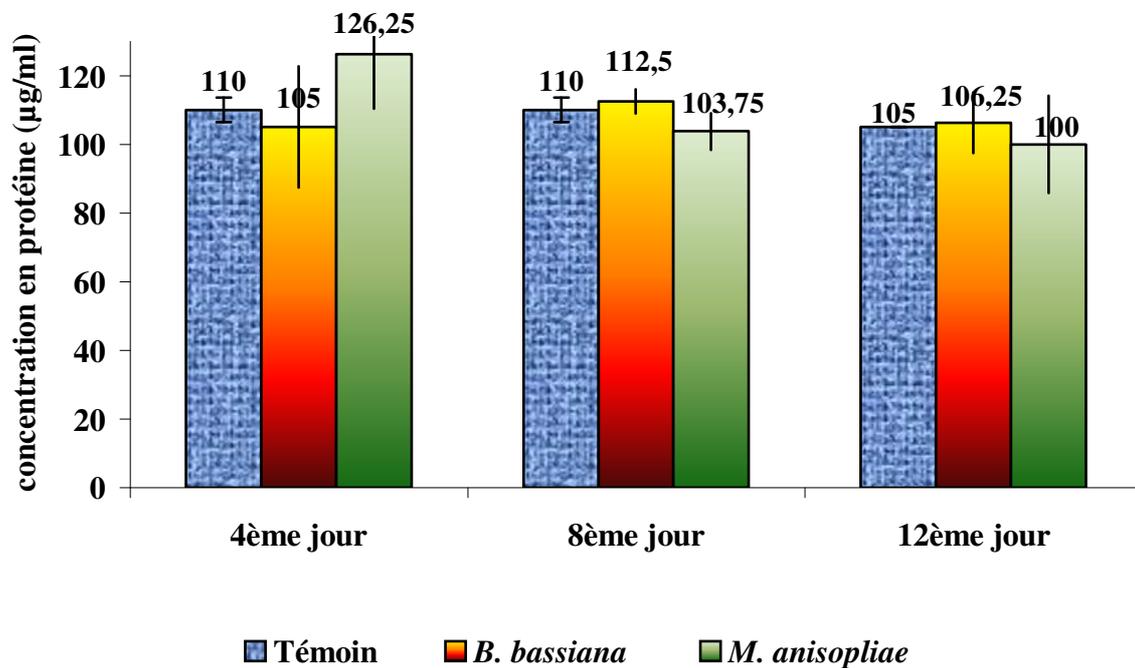


Fig. 39 : Concentrations de proteines des œufs de *S. gregaria* aux 4^{ème}, 8^{ème}, 12^{ème} jours de traitement avec *B. bassiana* et *M. anisopliae* (4×10^6 sp./ml) par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.

Pour bien expliquer nos résultats, nous avons fait appel à l'analyse de la variance à deux critères de classification qui sont facteur 1 : doses avec 3 niveaux : témoin, traités au *B. bassiana* et traités au *M. anisopliae* et facteur 2 : temps avec 3 niveaux : 4^{ème}, 8^{ème} et 12^{ème} jours (tableau 12 et 13).

Tableau 12 : Effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur la teneur en protéine (µg/ml) des œufs de *S. gregaria* au 4^{ème}, 8^{ème} et 12^{ème} jour par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	Pr. > F
Modèle	4	150,694	37,674	0,327	0,848
Résidus	4	461,111	115,278		
Total	8	611,806			

Tableau 13 : Effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur la teneur en protéine ($\mu\text{g/ml}$) des œufs de *S. gregaria* au 4^{ème}, 8^{ème} et 12^{ème} jour par pulvérisation de l'inoculum sur les œufs directement.

Source	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F de Fisher	Pr. > F
Modèle	4	157,292	39,323	0,521	0,729
Résidus	4	302,083	75,521		
Total	8	459,375			

L'analyse de la variance à travers ces deux précédents tableaux, nous montre que la probabilité $\text{Pr.} > 0,05$ dans les deux cas, ce qui implique qu'il n'y a pas une différence significative des concentrations en protéines des œufs de *S. gregaria* traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* par rapport aux témoins à partir du 4^{ème}, 8^{ème} et 12^{ème} jours par les deux types de traitement.

3.2. Discussion

Les analyses des taux de protéines des œufs de *S. gregaria* témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* aux 4^{ème}, 8^{ème} et 12^{ème} jours, nous donnent des résultats presque semblables pour les deux champignons et pour tous les âges. Ce qui confirme que ces deux cryptogames n'ont pas une action sur la teneur en protéines de ces œufs. On remarque aussi que malgré les différents âges utilisés au cours de cette expérimentation il n'y a pas une différence de pourcentage des protéines entre eux. La non efficacité des deux champignons a été déjà discuté dans le paramètre précédent. Les mêmes taux de protéines obtenus pour les différents âges peut être expliqué par le fait que pendant les premiers jours les protéines se localisent dans le vitellus qui est un élément nutritif pour l'embryon qui va l'absorber au cours de son développement, donc les mêmes quantités de protéines peuvent être trouvées au cours des différents stades embryonnaires, mais cette hypothèse reste à confirmer. Comme nous n'avons pas trouvé un travail similaire au notre autrement dit un dosage des protéines des œufs de *S. gregaria* notre hypothèse reste à confirmer par d'autre étude.

Mais concernant le dosage des protéines des autres organes physiologique par l'utilisation soit du champignon ou autre moyen de traitement, il y a les travaux de HALOUANE (1997), sur l'effet de *M. anisopliae* sur les protéines hémolympatiques des L5 et adultes de *S. gregaria* menée in vivo à permis de préciser que le traitement affecte la protéinémie. Même que BOUHACEIN (1999) a noté une diminution des concentrations de protéines après le traitement des L5 et des adultes de *locusta migratoria* avec *B. bassiana* et

M.flavoviride. De plus, COULYBALY (2002), a montré une augmentation de la concentration des protéines hémolympathiques d'*Anacridium aegyptium* chez les traités par *B. bassiana* et *M.flavoviride*. Et MOUSSA (2003), a noté une diminution significative des protéines hémolympathiques et cuticulaires chez *Locusta migratoria migratoria* et *Locusta migratoria migratorioides* traités à l'huile de Neem.

3.3. Conclusion

L'utilisation des deux entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* n'ont marqué aucun effet sur la teneur en protéines des œufs de *S. gregaria*, donc le taux de protéines est presque le même pour les témoins et les traités et entre les différentes âges des œufs.

❖ Interaction des œufs de *S. gregaria* avec la soude (5 N)

Les résultats de cette expérience sont mentionnés dans le tableau 14.

Tableau 14 : Réactions des œufs de criquet pèlerin à la soude (5 N)

Temps	Observations
1 ^{er} – 4 ^{ème} jours	Digestion complète des œufs et aucune trace du chorion
5 ^{ème} jour	Digestion incomplète car il y a quelques traces du chorion
6 ^{ème} à 16 ^{ème} jours	Œufs n'ont pas été digérés, avec une transparence remarquable

D'après le tableau précédent, on remarque qu'à partir de 1^{er} au 4^{ème} jour, la soude a pu traverser, déchirer le chorion, pénétrer dans les œufs et arriver à digérer complètement l'œuf, d'où on ne trouve aucune trace du chorion. Par contre au 5^{ème} jour, elle a pu passer à travers les enveloppes externes des œufs, mais elle n'a pas pu digérer complètement ces œufs car on trouve quelques traces du chorion. Mais à partir du 6^{ème} au 16^{ème} jour, la soude n'a pas pu digérer le chorion des œufs, mais on remarque une transparence à l'intérieur de ces œufs dû à leur interaction avec la soude.

➤ Discussion

D'après nos résultats, on constate que le chorion des œufs du 1^{er} au 4^{ème} jour est sensible devant la soude ce qui explique leur digestion complète. Par contre les œufs du 6^{ème} au 16^{ème} jour leur chorion marque une résistance devant la soude, mais reste le 5^{ème} jour résistent partiellement devant la soude. Par contre, BENKARA (1978), a montré que

cette sensibilité des œufs de *S. gregaria* aux carbamates diminue et atteint son minimum vers les 4-6 jours puis s'accroît d'une manière tranchée jusqu'à l'éclosion.

➤ Conclusion

On peut conclure que le chorion des œufs de criquet pèlerin présente une forme de résistance devant la soude qui augmente avec l'âge.

4. Etude de l'effet de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* sur la structure du chorion de *S. gregaria*

L'œuf est enveloppé par plusieurs couches protectrices et nourricières dont les origines et les fonctions sont bien distinctes. À peine pondu, 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.

Quant à l'exochorion, sa surface est marquée de dessins hexagonaux qui correspondent à l'empreinte des cellules folliculaires comme c'est le cas en général pour tous les œufs d'acridiens (POPOV *et al.*, 1990).

Concernant le périplasme RACCAUD-SCHOELLER (1980), le définit comme étant 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.

4.1. Résultats

D'après nos coupes histologiques faites sur le chorion de *S. gregaria* au 4^{ème}, 8^{ème} et 12^{ème} jour chez les œufs témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*, on constate qu'il n'y a pas une différence entre les œufs témoins et ceux traités aux deux champignons. Mais on remarque que la structure du chorion diffère selon les stades embryonnaires. 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. 40a, 41a, 42a). Concernant les stades embryonnaires les plus développés (8^{ème} et 12^{ème} jour), le chorion est composé de trois

couches : l'extrachorion, l'exochorion et l'endochorion et suivi par le périplasme pour les témoins et les traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* (fig. 40b, 40c, 41b, 41c, 42b, 42c).

4.2. Discussion

Après la réalisation des coupes histologiques, puis les observations microscopiques on se basant sur la partie chorion où on a constaté qu'il n'y a pas des lyses et des déchirure au niveau de cette enveloppe. Ce qui nous confirme que *B. bassiana* et *M. anisopliae* n'ont pas affecté les œufs de *S. gregaria*.

Par contre, d'autres auteurs révèlent l'effet de ces deux champignons sur la structure des larves et des imagos de criquet pèlerin. Notant le travail réalisé par HADDADJ (2001), qui a observé des modifications structurales au niveau de la cuticule chez les individus du *S. gregaria* traité par le *M. anisopliae*. BISSAAD (2002), qui a travaillé sur l'histologie de tube digestif a montré que l'entomopathogène *B. bassiana* a provoqué des lésions au niveau de l'intestin antérieur et de l'intestin postérieur de criquet pèlerin. Même qu'il y a le travail de ALLACHE (2005), qui a étudié l'effet de l'hexaflumuron sur la cuticule des larves L5 de *Locusta migratoria* âgées de 5 jours après la mue, où il a trouvé que l'épaisseur de la cuticule larvaire est affecté par le dérégulateur de croissance des insectes.

4.3. Conclusion

Le traitement des œufs de *S. gregaria* par les deux entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* n'a provoqué aucune lésion au niveau de leur chorion, donc ne présente aucune virulence vers ces œufs.

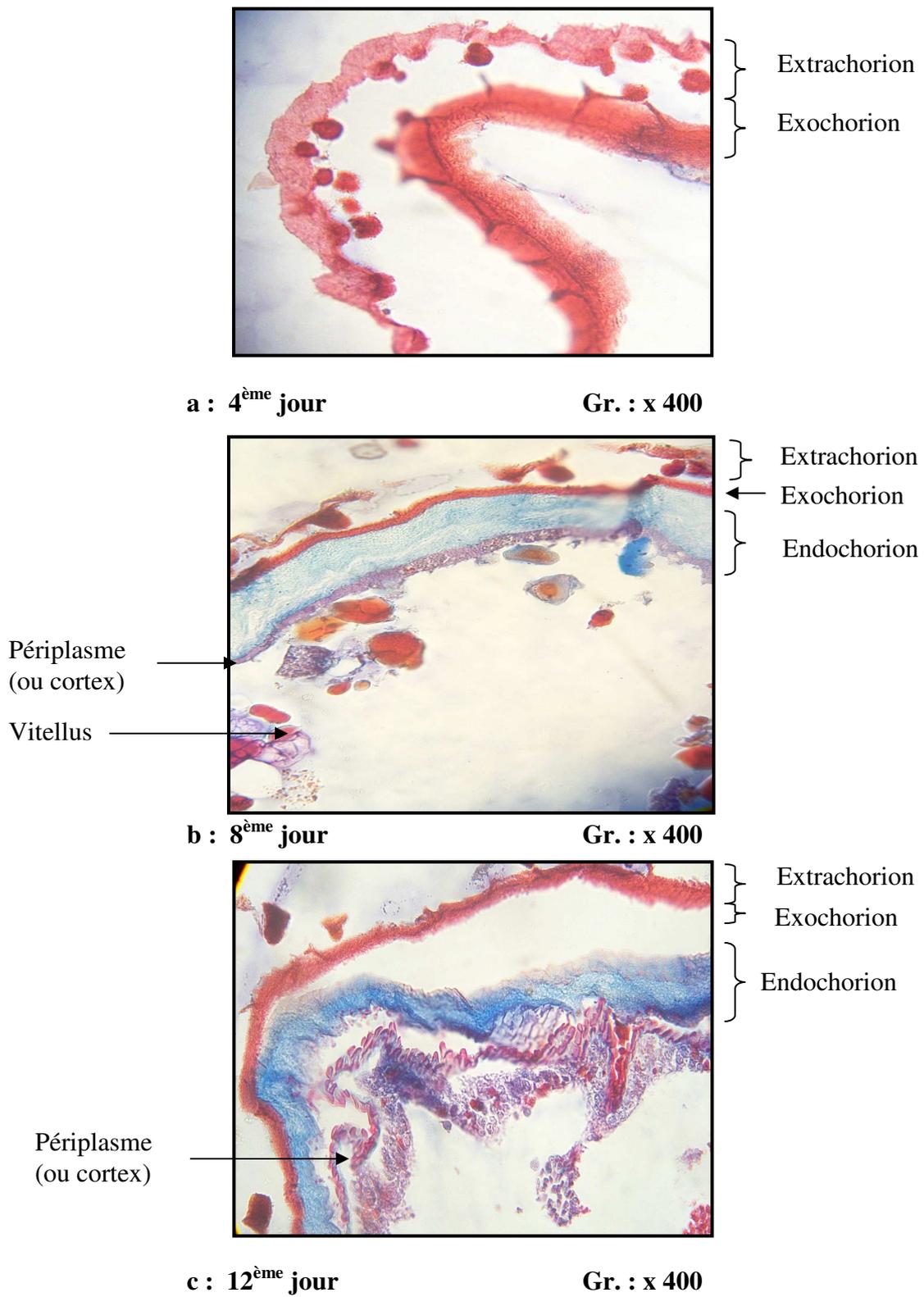


Fig. 40 – Coupes histologiques au niveau du chorion chez les œufs témoins de *Schistocerca gregaria*

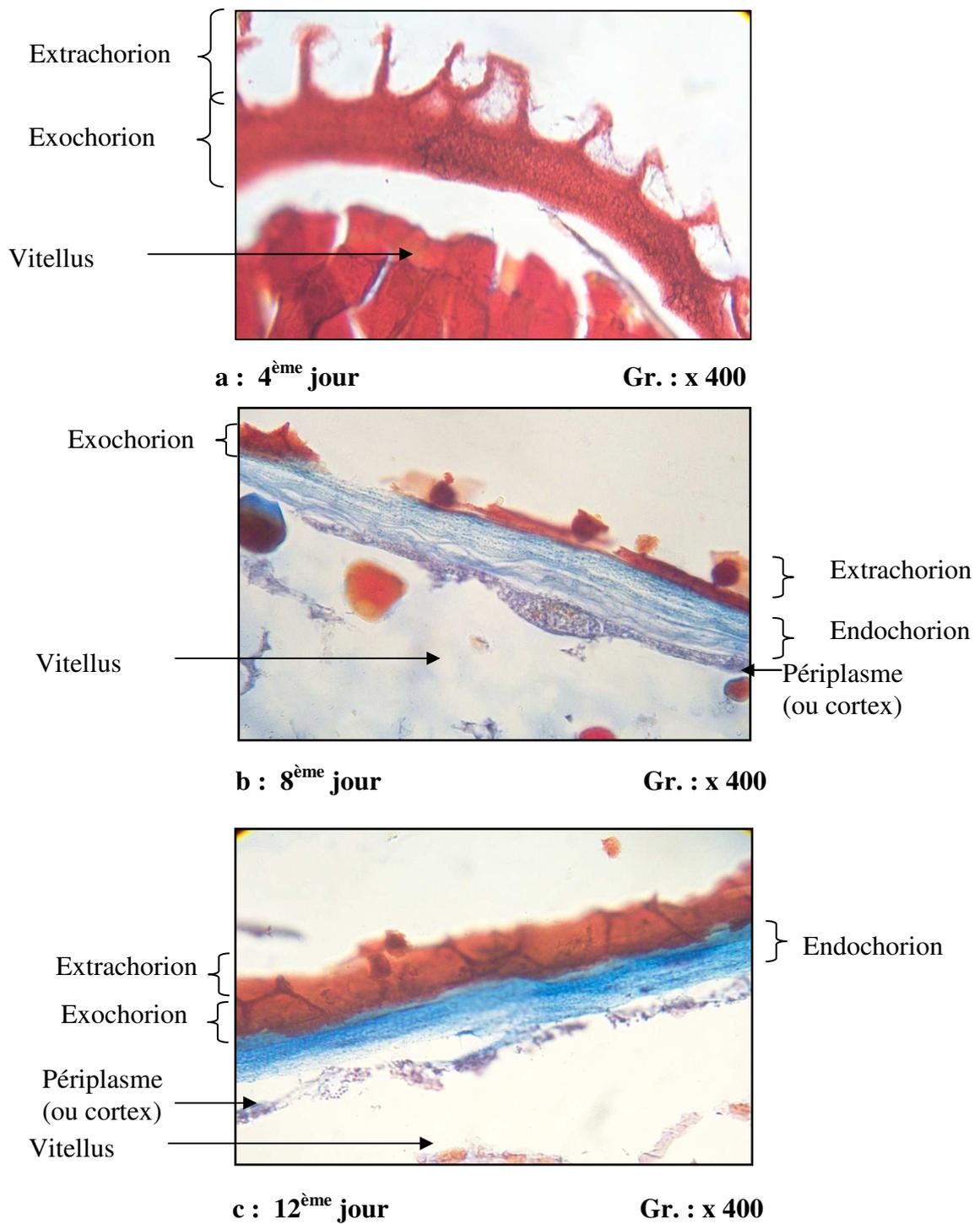


Fig. 41 – Coupes histologiques au niveau du chorion chez les œufs de *Schistocerca gregaria* traités au *Beauveria bassiana*

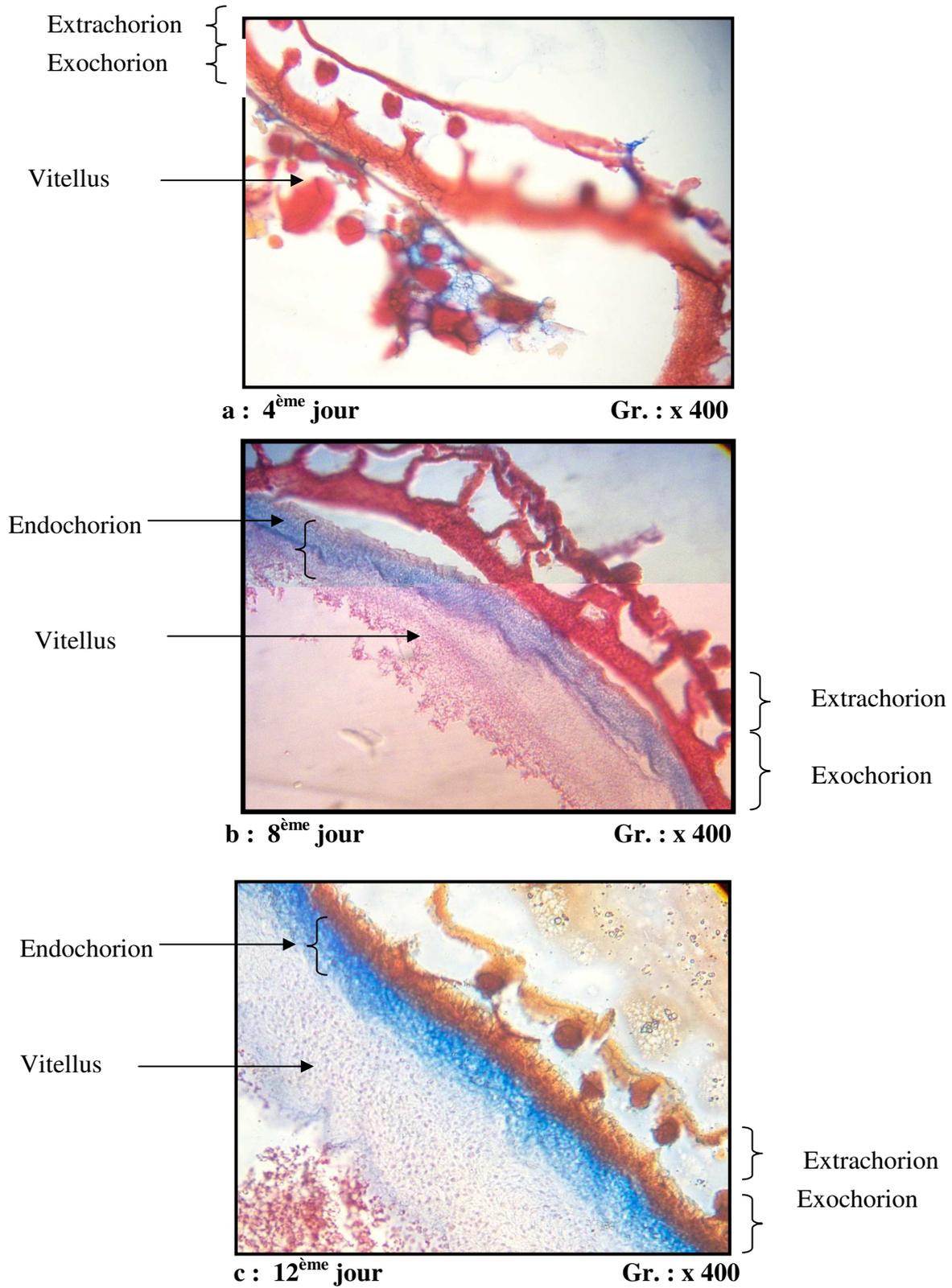


Fig. 42 – Coupes histologiques au niveau du chorion chez les œufs de *Schistocerca gregaria* traités au *Metarhizium anisopliae*.

Conclusion générale

Conclusion générale

Notre étude a consisté à tester l'effet de deux agents de lutte biologique *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae* var *acridum* sur les œufs de criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*, afin de vérifier leur action sur l'éclosion, le développement embryonnaire, leur teneur en protéines et la structure du chorion de ces œufs. Elle nous a permis de ressortir avec plusieurs connaissances sur l'utilisation de ces deux entomopathogènes sur l'état embryonnaire de cet acridien.

L'étude de l'effet de *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae* var *acridum* sur l'éclosion des œufs de *Schistocerca gregaria*, nous montre en premier lieu concernant la durée d'incubation qu'elle est la même pour les traités comparativement aux témoins. En effet, elle est de 16 à 17 jours à une température de 30°C et une humidité de 82% à 87%. Pour le traitement sur le sable le même jour de la ponte par ces deux champignons, nous constatons que ces deux cryptogames n'ont pas été significativement efficaces pour arrêter l'éclosion des œufs de *S. gregaria*. En effet les taux d'éclosions les plus élevés sont enregistrés sur le sable témoin avec 90% d'œufs éclos. Pour les doses D1 = 4×10^6 spores/ml et D2 = 2×10^6 spores/ml, le *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 D3 = 10^6 spores/ml, le pourcentage d'éclosion le plus élevé, cette fois ci, est obtenue sur le sable traité au *B. bassiana* avec 55,55%, contre 50% pour celui traité au *M. anisopliae*. Le traitement directement sur les œufs âgés de 8 jours n'a pas été très efficace, d'où on constate que les taux des éclosions sont plus élevés chez les témoins avec un pourcentage de 66,67%, suivi par les traités au *M. anisopliae* avec un pourcentage de 63,33%. Le pourcentage d'éclosion le plus faible 43,33% est obtenu chez les œufs traités au *B. bassiana*. Contrairement, le traitement sur les œufs directement le même jour de la ponte a marqué une efficacité significative, d'où on remarque que les taux des éclosions les plus élevés sont obtenus chez les témoins avec un pourcentage de 90% d'œufs éclos, suivi par *B. bassiana* avec 31,11%, puis par *M. anisopliae* avec 13,33 %. Ce qui implique que ces deux cryptogames n'affectent que les jeunes œufs des premiers stades où le traitement est effectué directement sur ces derniers le jour même de la ponte. Même que le traitement sur le sable par *B. bassiana* a été significativement efficace. Mais pour le traitement sur le sable par *M. anisopliae* ou directement sur les œufs âgés de 8 jours avec ces deux champignons, l'effet n'a pas été significativement efficace, à cause de l'intervention du sable qui présente une barrière pour le développement normal de mycélium

et aussi à cause de la forte résistance du chorion qui va durcir avec le développement embryonnaire. Ceci a été confirmé par l'expérience de la soude où cette dernière a traversé, déchiré et digéré complètement les œufs du 1^{er} au 4^{ème} jour où on ne trouve aucune trace du chorion, mais il n'y a pas eu de digestion complète par la soude des œufs du 5^{ème} jour car on trouve quelques traces du chorion. Par contre pour les œufs du 6^{ème} au 16^{ème} jour, la soude n'a pas pu digérer le chorion.

On constate aussi que les différents stades de développement embryonnaire observés sur des œufs prélevés à partir des oothèques entières de *S. gregaria* ne présente aucune différence significative pour les témoins comparativement aux traités par *B. bassiana* et *M. anisopliae* avec les deux types de traitement sur le sable ou sur les oothèques directement. Donc ces deux champignons n'affectent pas l'oothèque entière grâce à une matière protectrice qui est la matière spumeuse qui la recouvre. Mais il peut affecter les œufs séparés l'un de l'autre à cause de la destruction du bouchon spumeux. Même qu'on remarque qu'il y a la possibilité d'existence de différents stades dans le même jour ce qui justifie l'échelonnement des éclosions.

D'après les analyses faites sur la teneur en protéines des œufs prélevés à partir des oothèques entières de *S. gregaria* témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*, nous constatons qu'il n'y a pas une différence significative pour la concentration protéique des traités par ces deux champignons comparativement au témoins à travers les différentes âges des œufs et pour les deux types de traitement. Donc elle est presque semblable, d'où elle est de 110 µg/ml, 107,5 µg/ml et 107,5 µg/ml au 4^{ème} jour, 110 µg/ml, 85 µg/ml et 116,25 µg/ml au 8^{ème} jour, 105 µg/ml, 110 µg/ml et 102,5 µg/ml au 12^{ème} jour respectivement pour les témoins et les traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* dans le cas d'une pulvérisation de l'inoculum sur le sable. Concernant le traitement par la pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs, on note une concentration de 110 µg/ml, 105 µg/ml et 126,25 µg/ml au 4^{ème} jour, 110 µg/ml, 112,5 µg/ml et 103,75 µg/ml au 8^{ème} jour, 105 µg/ml, 106,26 µg/ml et 100 µg/ml au 12^{ème} jour respectivement pour les témoins et les traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae*.

L'étude histologique des œufs de *S. gregaria*, nous montre que le traitement par les deux entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* n'a provoqué aucune lésion au niveau de leur chorion, donc ne présente aucune virulence vers ces œufs qui ont été prélevés à partir des oothèques entières. On constate qu'il n'y a pas une différence entre les œufs témoins et ceux traités aux deux champignons au 4^{ème}, 8^{ème} et 12^{ème} jour. Pour la structure du chorion on remarque qu'elle diffère selon les stades embryonnaires, d'où elle est constituée seulement par

l'extrachorion et l'exochorion pour les œufs du 4^{ème} jour témoins et traités par *B. bassiana* et *M. anisopliae*. Pour les stades embryonnaires les plus développés (8^{ème} et 12^{ème} jour), le chorion est composé de trois couches : l'extrachorion, l'exochorion et l'endochorion et suivi par le périplasme pour les témoins et les traités aux deux cryptogames.

En perspective, il serait intéressant de poursuivre cette étude dans le but d'approfondir les recherches sur les deux entomopathogènes *B. bassiana* et *M. anisopliae* en considérant tous toutes les facteurs qui peuvent influencer l'utilisation de ces deux cryptogames comme agents de lutte biologique, avant de les appliquer sur les œufs du criquet pèlerin sachant que ces derniers ont présenté des formes de résistance devant ces deux champignons. Donc il est préférable de ne pas négliger cette démarche suite aux résultats encourageants obtenus, mais de rechercher les causes afin de les améliorer. Il faut commencer par l'étude de la composition chimique, l'aspect morphologique et physiologique de la matière spumeuse qui est une matière protectrice pour l'oothèque, puis passer à la composition chimique et même la morphologie et la physiologie du chorion qui a présenté des formes de résistances à travers les ages avancés des œufs. Parallèlement il faut pincer à une amélioration génétique des entomopathogènes car l'utilisation de ces derniers est limité par plusieurs facteurs biotiques et abiotiques. Donc il faut trouver des souches adaptées à une humidité et à une température qui ne soit pas optimale pour la majorité des souches. Il faut aussi augmenter leur virulence vis à vis des différentes stades embryonnaires de criquet pèlerin afin d'obtenir une meilleure efficacité dans un délai très court suffisant pour que le mycélium arrive aux oothèques mises dans le sable. Donc il faut étudier de plus le rapport qui existe entre la vitesse de développement de mycélium, le temps et la profondeur de l'oothèque.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. ALLACHE F., 2005- *Activité biologique d'un dérégulateur de croissance des insectes: l'hexaflumuron sur la cuticule des larves de Locusta migratoria (linné, 1758) (orthoptera, oedipodinae)*. Thèse Magister Sci. agro., Inst. nati. agro., El Harrach, 186 p.
2. ANONYME, 2002- La fiche technique de Green Muscle.
3. BATEMAN R.P., 1991 – *L'application de mycopesticides antiacridiens en gouttelettes antiacridiens calibrées*, pp : 250- 257 cité par LOMER C.J. et PRIOR C., 1991, *Lutte biologique contre les acridiens. Compte rendu d'un atelier (29 avril – 1^{er} mai), Bénin*. Ed. C.A.B International, Wallingford, 399 p.
4. BENKARA-MOSTEFA A.,1978- *Effets de quelques carbamates insecticides sur l'œuf de Locusta migratoria migratorioïdes (R. et F.) et incidences sur l'ovogénèse*. Thèse Doc.- Ing., Inst. nati. polytech., Nancy, 112 p.
5. BENSAAD H.,1999- *activité biologique de Beauveria bassiana Bals (Hyphomycètes, Deuteromycotina) sur Locusta migratoria (Linné, 1758) (Orthoptera, Acrididae)*. *Etude de l'influence de la température sur la croissance mycélienne, la sporulation et le cycle biologique de cet Hyphomycète*. Mém. Ing. agro., Inst. nati. agro., El-Harrach, 98p.
6. BISSAAD F.Z., 1998 – *Etude de l'activité biologique de Beauveria bassiana sur Schistocerca gregaria (Orthoptera, Acrididae)*. *Efficacité et effet sur la respiration et le rythme cardiaque de cet acridien*. Mém Ing. agro., Inst. nati. agro., El Harrach, 94 p.
7. BISSAAD F.Z., 2002 – *Etude comparative de l'effet du fipronil et d'un entomopathogène Beauveria bassiana Bals. sur le criquet pèlerin Schistocerca gregaria (Forsk., 1775) (Orthoptera, Acrididae)*. Thèse Magister Sci. Agro., Inst. nati. agro., El-Harrach, 112 p.

8. BOUHACEIN M., 1999- *Effet de deux entomopathogènes (Hyphomycètes, Deuteromycotina), Beauveria bassiana (Balasmo) Veuillemin et Metarhizium flavoviride Gams et Rozyspal sur les métabolites hémolympatiques, l'hémogramme et les protéines circulaires chez Locusta migratoria (Linné, 1758)*. Mém. Ing. agro., Inst. nati. agro., El Harrach, 121 p.
9. CHARA B., 1995- *Eléments sur la biologie et l'écologie du criquet pèlerin Schistocerca gregaria (Forsk., 1775)*. Stage de formation de lutte antiacridienne. Ed. I.N.P.V - O.A.D.A., El Harrach, Alger, : 32 - 45.
10. CHOPARD L., 1943 – *Orthoptéroïdes de l'Afrique du Nord*. Ed. Libraire Larose, Paris, 447 p.
11. COULYBALY M., 2002 – *Effet de Beauveria bassiana (B) et Metarhizium flavoviride (G et R) sur l'hémogramme et les protéines de l'hémolymphe d'Anacridium aegyptium (L, 1764) (Orthoptera, Acrididae). Etude de la persistance des spores sur le support végétal*. Mém. Ing. agro., Inst. nati. agro., El Harrach, 99 p.
12. DE GREGORIO R., 1996 – *Le criquet pèlerin Schistocerca gregaria, biologie et élevage : Durée de développement et rythme de ponte dans les conditions de laboratoire*. Ed. C.A.U.P.P.A., Serv. Film Rech. Scien., Pau (Paris).
13. DIRSH V.M., 1975 – *Classification of the acridomorphoid insects*. Ed. Clarsey, Oscon, 171 p.
14. DOUMANDJI-MITICHE B., HALOUANE F., CHAHBAR N., AGRANE S., MERABTI N., SEDDIK A. et DOUMANDJI S., 1997 – *Note sur la présence de l'entomopathogène Beauveria bassiana (Hyphomycètes, Deuteromycotina) sur Schistocerca gregaria sur terrain à Adrar. Effet sur le rythme cardiaque et la respiration de cet acridien*. Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent., 62 / 2b, 499 – 506.
15. DOUMANDJI S. et DOUMANDJI-MITICHE B., 1994 – *Criquets et sauterelles (Acridologie)*. Ed. Office Publ. Univ., Alger, 99 p.

16. DURANTON J.F. et LECOQ M., 1990 – *Criquet pèlerin au Sahel*. Ed. Cirad/Prifas, 'Collection Acridologie Opérationnelle n°6', Montpellier, 183 p.
17. DURANTON J.F., LAUNOIS M., LAUNOIS-LUONG M.H. et LECOQ M., 1982 – *Manuel de prospection acridienne en zone tropicale sèche*. Ed. Cirad / Prifas, Départ. G.E.R.D.A.T, Paris, T. I, 695 p.
18. DURANTON J.F., LAUNOIS M., LAUNOIS-LUONG M.H. et LECOQ M. et RACHADI T., 1987 – *Guide antiacridien du Sahel*. Ed. Cirad / Prifas, Départ. G.E.R.D.A.T, Montpellier, 343 p.
19. EKESI S., ADAMU R.S. and MANIANIA N.K., 2001- *Ovicidal activity of entomopathogenic hyphomycetes to the legume pod borer, Maruca vitrata and the pod sucking bug, Clavigralla tomentosicollis*. Crop Protection, Nairobi, (21), 2002, : 589–595.
20. FERRON P., FARGUES J. et RIBA G., 1991- Des champignons agent de lutte biologique contre les ravageurs. *Dos. cell. env.*, (5) : 55-76.
21. GIRARDIE J., 1991- *Structure des glandes endocrines et chimie des hormones des criquets grégaires. La lutte anti-acridienne*. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris. pp. 101-117.
22. GOETTEL M.S., 1991 – *Des champignons comme agents de lutte biologique*, pp. :122 – 132 cité par LOMER C.J. et PRIOR C., 1991, *Lutte biologique contre les acridiens. Compte rendu d'un atelier (29 avril – 1^{er} mai), Bénin*. Ed. C.A.B. International, Wallingford, 399 p.
23. GREATHEAD D.J., KOOYMAN C., LAUNOIS-LUONG M.H.& POPOV G.B., 1994 – *Les ennemis naturels des criquets du Sahel*. Ed. Cirad / Prifas, 'Collection Acridologie Opérationnelle n°8', Montpellier, 147 p.
24. HADDADJ F, 2001 – *Evaluation de l'activité biologique de l'entomopathogène Beauveria bassiana Bals (Hyphomycètes, Deuteromycotina) : efficacité sur la cuticule des L5 de Schistocerca gregaria (Forsk., 1775)*

- (*Acrididae*, *Cyrtacanthacridinae*). Thèse Magister Sci. agro., Inst. nati. agro., El Harrach, 96 p.
25. HALOUANE F., 1997 – *Cycle biologique Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) et de *Locusta migratoria* (Linné, 1768) (*Orthoptera*, *Acrididae*). *Efficacité de Metarhizium anisopliae* (Metch) (*Hyphomycètes*, *Deuteromycotina*) et effet sur quelques paramètres physiologiques de *Schistocerca gregaria*. Thèse Magister sci. agro., Inst. nat. agro., El Harrach, 235 p.
26. HASKELL M., 1982 - Pest species. *Acrida*, T.2, : 300 - 313.
27. HEMOUR S., 2005- *Etude morphométrique et effet de deux champignons entomopathogènes Beauveria bassiana Bals. et Metarhizium anisopliae* (*Deuteromycotina*, *Hyphomycètes*) sur quelques paramètres physiologiques de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (*Cyrtacanthacridinae*, *Acrididae*). Mém. Ing. Agro., Int. nati. agro., El-Harrach, 103p.
28. KAIDI N., 2004 – *Effet de la température et des milieux de culture sur Beauveria bassiana Bals. (Hyphomycètes, Deuteromycotina). Activité biologique de cet entomopathogène vis-à-vis des imagos de Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (*Cyrtacanthacridinae*, *Acrididae*) et de *Locusta migratoria* (Linné, 1758) (*Oedipodinae*, *Acrididae*). Mém. Ing. agro., Inst. nati. agro., El-Harrach, 115 p.
29. KEITH D. et KEVAN M.E., 1992 – *Les agents de la lutte biologique existant en potentiels contre les orthoptéroïdes nuisibles*, pp. : 107 – 150 cités par VINCENT C. et CODERRED D., 1992 : *La lutte biologique*. Ed. Gaëtan Morin, Québec, 67 p.
30. KHALDI M., 1996- *Cycle biologique, respiration et biométrie chez Schistocerca gregaria* Forskål (1775) et *Locusta migratoria cinerascens* Bonnet et Finot (1885) (*Orthoptera*, *Acrididae*). Mem. Ing. agro., Inst. nati. agro., El Harrach, 160 p.

31. KHIDER B., 1999 - *Biométrie, régime alimentaire et répartition des zones de reproduction du Criquet pèlerin Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (*Acrididae, Cyrtacanthacridinae*) au sud algérien. Thèse Magister, Inst. nati. agro., El Harrach, 142 p.
32. KOUASSI M., 2001 – Les possibilités de lutte biologique : emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*. *Sci. Environ.*, Vol. 2, (2).
33. LATCHININSKY A. V. et LAUNOIS-LUONG M. H., 1997 – *Le criquet pèlerin Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) dans la partie Nord-orientale de son aire d'invasion. Ed. Cirad / Prifas, Montpellier, 192 p.
34. LAUNOIS-LUONG M.H. et LECOQ M., 1989 – *Vade Mecum des criquets du Sahel*. Ed. CIRAD / PRIFAS, 'Collection Acridologie Opérationnelle n°5', Montpellier, 125 p.
35. LAUNOIS-LUONG M.H. et LECOQ M., 1993 – *Manuel explicatif du code OMM de transmission des informations sur les criquets ravageurs*. Ed. Org. Météo. Mond. et Org. Islam. Educ. Scie. Cult., Genève, 30 p.
36. LECOQ M., 1988- *les criquets du sahel*. Ed. Cirad/Prifas, 'Collection Acridologie Opérationnelle n°1', Montpellier, 125p.
37. LECOQ M., 1991- *Le Criquet pèlerin : enseignements de la dernière invasion et perspectives offertes par la biomodélisation. La lutte anti-acridienne*. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris, pp. 71-98.
38. LOUVEAUX A. et BENHALIMA T., 1987 – Catalogue des orthoptères *Acridoidea* d'Afrique du Nord. Ouest. *Bull. Soc. Ent., France*, T. 91, (3 – 4), : 73 – 87.
39. MARTOJA R. et MARTOJA M., 1967- *Initiation aux techniques de l'histologie animale*. Ed. Masson et Cie, Paris Vol.V, 331p.
40. MOUSSA A., 2003- *Effet de l'huile de neem (Azadirachta indica) sur quelques paramètres biologiques et physiologiques de Locusta migratoria migratoria* (Linné, 1758) et *Locusta migratoria migratorioides* (R et F,

- 1850) (*Orthoptera, Acrididae*). Thèse Magister Sci. agro., Inst. nati. agro., El Harrach, 123 p.
41. NUREIN H.O.M., 1989- *Le criquet pèlerin. Révision des locustes et sautériaux* . Ed. Bayer, Levertusen, 39 p.
42. PASQUIER R., 1952- Terminologie concernant le comportement et l'aspect des acrididae gregariaptes. *Ann. Inst. Agri. et Serv. rech. et expér. agri.* Algérie, T. VI. fasc. 6, pp.1-16.
43. POPOV G.B., LAUNOIS-LUONG M.H. et VAN DER VEEL J.J., 1990- *Les oothèques des criquets du Sahel*. Ed. Cirad/Prifas, 'Collection Acridologie Opérationnelle n°7', Montpellier, 153p.
44. POPOV G.B., DURANTON J. F. et GIGAULT J., 1991 - *Etude écologique des biotopes du criquet pèlerin Schistocerca gregaria (Forskal, 1775) en Afrique du Nord Occidentale*. Ed. Cirad/ Prifas, Minist. Coop. Dév. ONU, Cent. Coop. Inter. Rech. Agro. Dév., 743 p.
45. RACCAUD-SCHOELLER J., 1980 – *Les insectes : physiologie et développement*. Ed. Masson, Paris, 296 p.
46. REVERSAT G., 1976- Etude de la composition biochimique globale des juvéniles des nématodes *Meloidogyne javanica* et *Heterodera oryzae*. Cah. ORSTOM, sér. Biol., vol.11, n° 3, : 225 – 234.
47. SAMUELS R. I., CORACINI D. L. A., MARTINS DOS SANTOS C. A. and GAVA C. A. T., 2001- *Infection of blissus antillus (Hemiptera: Lygaeidae) eggs by the entomopathogenic fungi metarhizium anisopliae and beauveria bassiana*. Biological Control, (23), 2002, : 269–273.
48. SHI W.B. and FENG M.G., 2004- *Lethal effect of Beauveria bassiana, Metarhizium anisopliae, and Paecilomyces fumosoroseus on the eggs of Tetranychus cinnabarinus (Acari: Tetranychidae) with a description of a mite egg bioassay system*. Biological Control, China, (30), 2004, : 165–173.

49. SYMMONS et CRESSMAN, 2001 – *Directives sur le criquet pèlerin : Le criquet pèlerin, biologie et comportement*. Ed. Food Alimentation Organisation (F.A.O.), Rome, 43 p.
50. THIAM A., DIOUF H.R., KUISEUAL J., SARR A., THIAM M., 2004 - Pesticides et Alternatives. Lutte antiacridienne : Guérir c'est bien, mais prévenir c'est mieux. N ° 23. Ed. Pesticide Action Network (PAN) Africa, Dakar, n°23, 23p.
51. ZAKARIA O., SAGNIA S.B., 2003- *Lutte intégrée contre les sautériaux et les locustes: importance du biopesticide Green Muscle*. Vol. 5 - No. 3. Ed. Centre Régional Agrhymet, 15p.

Références sur le Web

1. ANONYME, 1998- Le criquet pèlerin, un fléau pour l'humanité (Disponible sur <http://locust.cirad.fr>).
2. ANONYME, 2001- Criquets ravageurs *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Disponible sur <http://locust.cirad.fr>).
3. ANONYME, 2004a- Le Grand Festin. Un dossier spécial IRIN sur l'invasion des criquets pèlerins. Ed. IRIN. 14p. (Disponible sur <http://w.w.w.ininnews.org>).
4. ANONYME, 2004b- Les acridiens. *Cyrtacanthacridinae*. 1p. (Disponible sur locust.cirad.fr/images-locust/planches/sgr-p1.jpg).
5. ANONYME, 2005a- L'observatoire acridien. Question fréquemment posés. (Disponible sur http://www.fao.org/index_fr.htm).
6. ANONYME, 2005b- Un insecte mutant et ravageur. (Disponible sur <http://www.sylviescope.com/locust>).
7. CISSE S., 2005- Le criquet pèlerin, ennemi d'aujourd'hui et de demain. (Disponible sur <http://fr.allafrica.com>).

8. FARGUES J., ROUGIER M. et SMITS N., 2001- Ecopathologie des mycoses d'insectes. Programmes de recherche équipe " Relation Population-environnement et lutte biologique". Déterminisme climatique du fonctionnement de pathosystèmes "Hyphomycète-Insecte-Milieu" (Disponible sur <http://www.montpellier.inra.fr/CBGP/progreq5.htm>).
9. GBADAMASSI F., 2004- Le retour du criquet pèlerin. La FAO craint une invasion de l'insecte en Afrique du Nord. (Disponible sur <http://www.afrik.com/article7248.html#dossier>).
10. KEITH C., 2005- Fungal pathogens of insects: from mechanisms of pathogenicity to host defense. University of Bath. Department of Biology and Biochemistry (Disponible sur <http://www.bath.ac.uk/bio-sci>).
11. LECOQ M., 2004- *La crise du Criquet pèlerin en Afrique : bilan et enseignements*. Ed. Cirad-Amis-Programme Protection des cultures, Paris, 2p. (Disponible sur <http://locust.cirad.fr/acridiens.shtml>).
12. LUONG-SKORMAND M.H., RACHADI T. et LECOQ M., 1999- *La lutte contre les criquets ravageurs : l'intérêt des mycopesticides*. Ed. Cirad-Amis-Programme Protection des cultures, n°19, Paris. (Disponible sur <http://www.inra.fr/dpenv/do.htm#d19>)
13. OULD BABAH M.A., GUENDOOUZ A., DURANTON J.F. et COUREL M.F., 2005- *Ecologie et maîtrise des populations d'acridiens. Caractérisation et dynamique des biotopes du Criquet pèlerin*. Ed. Cirad/Prifas, Montpellier. (Disponible sur <http://www.cirad.fr/ur/index.php/acridologie>).

Annexes

Tableau I : Liste des ennemis naturels du Criquet pèlerin

Appartenance taxonomique	Espèce	Stade	Références bibliographiques
Insectes diptères : Bombyliidae	<i>Systoechus somali</i>	Œ	POPOV et al., 1990. GREATHEAD. et al., 1994. STCHERBINOVSKY, 1952 (in LATCHININSKY, et LAUNOIS-LUONG, 1997)
Insectes diptères : Bombyliidae	<i>Systoechus aurifacies</i>	Œ	GREATHEAD et al., 1994.
Insectes diptères : Calliphoridae	<i>Stomorhina lunata</i>	Œ	DURANTON et LECOQ, 1982. POPOV et al., 1990. GREATHEAD et al., 1994,
Insectes diptères : Curtonotidae	<i>Curtonotum cuthbertsoni</i>	Œ	GREATHEAD et al., 1994.
Insectes diptères : Sarcophagidae	<i>Blaesoxipha filipjevi</i> <i>Blaesoxipha agrestis</i> (= <i>B. lineata</i>)	L, I	GREATHEAD et al., 1994.
Insectes hyménoptères : Sphecidae	<i>Prionyx crudelis</i> (= <i>Sphex aegyptius</i>)	L, I	HASKELL, 1955 (in GREATHEAD et al., 1994).
Insectes hyménoptères : Sphecidae	<i>Prionyx nigropectinatus</i>	L, I	DURANTON, 1989 (in GREATHEAD et al., 1994).
Insectes hyménoptères : Sphecidae	<i>Prionyx subfuscatus</i>	L, I	GREATHEAD et al., 1994.
Insectes hyménoptères : Scéliionides	<i>Scelio sudanensis</i>	Œ	GREATHEAD et al., 1994.
Insectes coléoptères : Trogidae	<i>Trox procerus</i>	Œ	ROFFEY, 1958 et POPOV, 1965 (in GREATHEAD et al., 1994).

Insectes coléoptères : Trogidae	<i>Trox squalidus</i>	I	RISBEC, 1946 (in GREATHEAD et <i>al.</i> , 1994).
Insectes coléoptères : Histeridae	<i>Saprinus ornatus</i>	Æ	POPOV, 1965 (in GREATHEAD et <i>al.</i> , 1994).
Insectes coléoptères : Carabidae	<i>Chlaenius transversalis</i>	Æ	POPOV, 1965 (in GREATHEAD et <i>al.</i> , 1994).
Artropodes arachnides : Scorpionides	<i>Androctonus australis</i> <i>Androctonus amoreuxi</i>	L, I	DOUMANDJI et DOUMANDJI- MITICHE, 1994.
Arthropodes acariens : Trombidiidae	<i>Eutrombidium spp.</i> <i>Trombidium parasitica</i>	L, I	DURANTON et al. 1982 et GREATHEAD D. J. et <i>al.</i> , 1994.
Nematodes Adenophorea : Mermithidae	<i>Mermis nigrescens</i>	L, I	CRAIG et WEBSTER, 1974 (in GREATHEAD et <i>al.</i> , 1994).
Oiseaux Passeriforme : Sturnidae	<i>Pastor roseus L.</i>	L, I	PREDTETCHENSKY, 1935a (in LATCHININSKY, et LAUNOIS-LUONG, 1997). RACKHAM, 1940 (in KEITH et KEVAN, 1992).
Oiseaux Passeriforme : Ploceidae	<i>Passer spp.</i>	L	MONTCHADSKY (in PREDTETCHENSKY, 1935a) (in LATCHININSKY, et LAUNOIS-LUONG, 1997).
Oiseaux Gruiformes:	<i>Chlamydotis undulata</i>	I	SYMENS, 1989 (in GREATHEAD et <i>al.</i> , 1994).
Oiseaux Ciconiformes : Ciconiidae	<i>Ciconia ciconia L.</i>	I	UVAROV, 1929 (in LATCHININSKY, et LAUNOIS-LUONG, 1997).
Reptiles sauriens : <i>Lacertidae</i>	<i>Lacerta viridis</i>	L	DOUMANDJI et DOUMANDJI- MITICHE, 1994.
Reptiles sauriens : Agamidae	<i>Agama mutabilis</i>	L	DOUMANDJI et DOUMANDJI- MITICHE, 1994.

Reptiles sauriens :	<i>Acanthodactylus paradalis</i>	L	DOUMANDJI et DOUMANDJI-MITICHE, 1994.
Reptiles sauriens : <i>Lacertidae</i>	<i>Eremias velox</i>	L	PREDTETCHENSKY, 1935a (in LATCHINISKY, et LAUNOIS-LUONG, 1997).
Champignon : <i>Deuteromycotina</i>	<i>Metarhizium anisopliae</i> <i>Metarhizium flavoviride</i> <i>Beauveria bassiana</i>	L, I,	DOUMANDJI-MITICHE et al,1997. GREATHEAD et al., 1994.
Bactéries gracilicutes : <i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Serratia marcescens</i>	I	STCHERBINOVSKY, 1952 et DELASSUS et al., 1945.
Virus : <i>Poxviridae</i>	<i>Virus entomopox (SEV)</i>	L	PURRINI & RHODE, 1988 (in GREATHEAD et al., 1994).
Protozoaires : Amoebidae	<i>Melameba locustae</i>	I	KEITH et KEVAN, 1992
Protozoaires : Eugregarinidae	<i>Gregarina garnhami</i>	I	HARRY, 1970 (in KOUASSI, 2001).
Protozoaires : Eugregarinidae	<i>Gregaria acridiorum</i>	I	LEPESME, 1938 c (in HALOUANE, 1997)

œuf

larve

imago

Tableau II : Pourcentage des éclosions journalières des œufs de *S. gregaria* témoins et traités au *B. bassiana* par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.

Temps Doses	1er jour	2ème jour	3ème jour	4ème jour	5ème jour	6ème jour	7ème jour	8ème jour	9ème jour	10ème jour	11ème jour	12ème jour	13ème jour	14ème jour	15ème jour	16ème jour	17ème jour	18ème jour	19ème jour	20ème jour	Total (%)
D1 = 4 x 106 sp./ml	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6,67	0	0	6,67
	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13,33	33,33	0	3,33	49,99
	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	43,33	20	0	0	63,33
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	18,89	20	0	1,11	40,00
	ET	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	22,19	13,33	0	1,92	29,62
D2 = 2 x 106 sp./ml	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,33	0	0	0	3,33
	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	0	0	10,00
	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,33	43,33	0	0	46,66
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2,22	17,78	0	0	20,00
	ET	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1,92	22,69	0	0	23,33
D3 = 106 sp./ml	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	46,67	20	0	0	66,67
	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	13,33	0	0	53,33
	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20	26,67	0	0	46,67
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	35,55	20	0	0	55,55
	ET	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	13,88	6,67	0	0	10,18
Témoins	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	56,66	13,33	3,33	20	0	93,32
	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	30	16,67	30	0	86,67
	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	56,66	16,67	6,67	10	0	90,00
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	41,10667	20	8,89	20	0	90,00
	ET	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26,94	8,82	6,94	10	0	3,33

M : Moyenne

ET : Ecart type

R : Répétition

Tableau III : Pourcentage des éclosions journalières des œufs de *S. gregaria* témoins et traités au *M. anisopliae* par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.

Temps Doses	1er jour	2ème jour	3ème jour	4ème jour	5ème jour	6ème jour	7ème jour	8ème jour	9ème jour	10ème jour	11ème jour	12ème jour	13ème jour	14ème jour	15ème jour	16ème jour	17ème jour	18ème jour	19ème jour	Total (%)
D1= 4 x 10 ⁶ sp./ml	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	23,33	36,67	0	0	60,00
	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3,33	0	0	0	3,33
	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	73,33	23,33	0	0	96,66
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33,33	20	0	0	53,33
	ET	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	36,05551	18,5604	0	0	47,02
D2= 2 x 10 ⁶ sp./ml	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	56,67	13,33	0	0	70,00
	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	6,67	0	0	16,67
	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	50	16,67	0	0	66,67
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	38,89	12,2233	0	0	51,11
	ET	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	25,24077	5,09	0	0	29,88
D3= 10 ⁶ sp./ml	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26,67	3,33	0	0	30,00
	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33,33	6,67	0	0	40,00
	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	40	36,67	3,33	0	80,00
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	33,33333	15,5567	1,11	0	50,00
	ET	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	6,67	18,3608	1,92258	0	26,46
Témoins	R1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	56,66	13,33	3,33	20	93,32
	R2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	10	30	16,67	30	86,67
	R3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	56,66	16,67	6,67	10	90,00
	M	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	41,10667	20	8,89	20	90,00
	ET	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	26,93916	8,8198	6,94	10	3,33

M : Moyenne

ET : Ecart type

R : Répétition

Tableau IV :Pourcentage des éclosions journalières des œufs de *S. gregaria* témoins et traités au *B. bassiana* le jour même de la ponte par pulvérisation de l'inoculum sur les œufs directement.

Temps	Traité par <i>B. Bassiana</i>					Temoins				
	R1	R2	R3	M	ET	R1	R2	R3	M	ET
1 ^{er} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17 ^{ème} jour	16,67	20	13,33	16,67	3,335	56,66	10	56,66	41,11	26,94
18 ^{ème} jour	10	10	23,33	14,44	7,696	13,33	30	16,67	20	8,82
19 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	3,33	16,67	6,67	8,89	6,94
20 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	20	30	10	20	10
Total (%)	26,67	30,00	36,66	31,11	5,087	93,32	86,67	90,00	90,00	3,33

M : Moyenne

ET : Ecart type

R : Répétition

Tableau V : Pourcentage des éclosions journalières des œufs de *S. gregaria* témoins et traités au *M. anisopliae* le jour même de la ponte par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.

M : Moyenne **ET** : Ecart type **R** : Répétition

Temps	Traité par <i>M.anisopliae</i>					Témoins				
	R1	R2	R3	M	ET	R1	R2	R3	M	ET
1 ^{er} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
3 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
17 ^{ème} jour	10	6,67	3,33	6,67	3,34	56,66	10	56,66	41,11	26,94
18 ^{ème} jour	6,67	3,33	10	6,67	3,34	13,33	30	16,67	20	8,82
19 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	3,33	16,67	6,67	8,89	6,94
20 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	20	30	10	20	10
Total (%)	16,67	10,00	13,33	13,33	3,34	93,32	86,67	90,00	90,00	3,33

Tableau VI : Pourcentage des éclosion journalière des œufs de *S. gregaria* témoins et traités au *B. bassiana* le 8ème jour après la ponte par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.

Temps	Témoins					Traité par <i>B. Bassiana</i>				
	R1	R2	R3	M	ET	R1	R2	R3	M	ET
1 ^{er} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
2 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
3 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
4 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
5 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
6 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
7 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
8 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16 ^{ème} jour	70	30	40	46,7	20,82	0	10	30	13,333	15,28
17 ^{ème} jour	10	20	10	13,3	5,77	0	60	0	20	34,64
18 ^{ème} jour	0	10	10	6,67	5,77	30	0	0	10	17,32
Total (%)	80,00	60,00	60,00	66,67	11,55	30,00	70,00	30,00	43,33	23,09

M : Moyenne

ET : Ecart type

R : Répétition

Tableau VII : Pourcentage des éclosions journalières des œufs de *S. gregaria* témoins et traités au *M. anisopliae* le 8ème jours de la ponte par pulvérisation de l'inoculum directement sur les œufs.

Temps	Témoins					Traités par <i>M.anisopliae</i>				
	R1	R2	R3	M	ET	R1	R2	R3	M	ET
1 ^{er} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
2 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
3 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
4 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
5 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
6 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
7 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	-	-	-	-	-
8 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
9 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
12 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15 ^{ème} jour	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
16 ^{ème} jour	70	30	40	46,67	20,82	40	60	50	50	10
17 ^{ème} jour	10	20	10	13,33	5,77	20	0	10	10	10
18 ^{ème} jour	0	10	10	6,67	5,77	10	0	0	3,33	5,77
Total (%)	80,00	60,00	60,00	66,67	11,55	70,00	60,00	60,00	63,33	5,774

M : Moyenne

ET : Ecart type

R : Répétition

Tableau VIII : Concentrations en protéines en ($\mu\text{g/ml}$) des œufs de *S. gregaria* au 4^{ème}, 8^{ème}, 12^{ème} jour témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* par pulvérisation de l'inoculum sur le sable.

Temps	Témoins				Traités par <i>B.bassiana</i>				Traités par <i>M.anisopliae</i>			
	R1	R2	M	ET	R1	R2	M	ET	R1	R2	M	ET
4 ^{ème} jour	112,5	107,5	110	3,54	110	105	107,5	3,54	102,5	112,5	107,5	7,07
8 ^{ème} jour	107,5	112,5	110	3,54	80	90	85	7,07	122,5	110	116,3	8,84
12 ^{ème} jour	105	105	105	0,00	107,5	112,5	110	3,54	87,5	117,5	102,5	21,21

M : Moyenne ET : Ecart type R : Répétition

Tableau IX : Concentrations de protéines en ($\mu\text{g/ml}$) des œufs de *S. gregaria* au 4^{ème}, 8^{ème}, 12^{ème} jour témoins et traités au *B. bassiana* et au *M. anisopliae* par pulvérisation de l'inoculum sur les œufs.

Temps	Témoins				Traités par <i>B.bassiana</i>				Traités par <i>M.anisopliae</i>			
	R1	R2	M	ET	R1	R2	M	ET	R1	R2	M	ET
4 ^{ème} jour	112,5	107,5	110	3,54	92,5	117,5	105	17,7	115	137,5	126,3	15,91
8 ^{ème} jour	107,5	112,5	110	3,54	115	110	112,5	3,54	107,5	100	103,8	5,30
12 ^{ème} jour	105	105	105	0	100	112,5	106,3	8,84	90	110	100	14,14

M : Moyenne ET : Ecart type R : Répétition

العنوان: تأثير الفطرين المضادين للحشرات، *Beauveria bassiana* و *Metarhizium anisopliae* على الحالة الجنينية للجراد الصحراوي (*Hyphomycètes, Deuteromycotina*) var *acridum* (*Schistocerca gregaria*) (Forskål, 1775) (*Cyrtacanthacridinae, Acrididae*).

الملخص:

تمحورت دراستنا هذه على استخدام فطرين مضادين للحشرات، *Beauveria bassiana* وجد في مستنقع الرغاية و *Metarhizium anisopliae* var *acridum* عزل من مضاد حشري بيولوجي مصنع تحت اسم (العضلات الخضراء) على بيض الجراد الصحراوي (*Schistocerca gregaria*) (Forskål, 1775). لهذا الغرض، تم اختبار مدى تأثيريهما على أربع عوامل فيزيولوجية. أولاً قمنا بدراسة مدى فعاليتهم على نسبة تفقيص البيض عند الأفراد المعالجة و الشواهد. ثم قمنا بتمييز مختلف المراحل الجنينية للجراد الصحراوي قبل و بعد المعالجة. بعدها تمت معايرة كمية البروتينات للبيض المعالج لكي تقارن بالشواهد. و أخيراً درسنا بنية الغشاء الخارجي للبيض عند الأفراد المعالجة و الشواهد.

كلمات المفتاح: *Schistocerca gregaria* ، البيض، الغشا □ الخارجي، *Beauveria bassiana* ، *Metarhizium anisopliae* var *acridum* ، التفقيص، التطور الجنيني، التركيز البروتيني، البنية النسيجية.

Le titre : Effet de deux entomopathogènes, *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae* var *acridum* (*Hyphomycètes, Deuteromycotina*) sur l'état embryonnaires de criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (*Cyrtacanthacridinae, Acrididae*)

Résumé :

Notre travail est basé sur l'utilisation de deux entomopathogènes, *Beauveria bassiana* souche locale en provenance du marais de Réghaia et *Metarhizium anisopliae* var *acridum* prélevé à partir d'un biopesticide commercialisé sous le nom de « Green Muscle », sur les œufs de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). Pour cela, nous avons testé l'effet de ces deux champignons sur les quatre paramètres suivants : Premièrement nous avons étudié leur action sur les taux d'éclosions chez les témoins et traités. Puis, nous avons distingué les différents stades de développement embryonnaire de criquet pèlerin avant et après traitement. Ensuite, nous avons calculé la teneur en protéines des oeufs traités afin de les comparer avec les témoins. Enfin, nous avons étudié la structure du chorion des oeufs témoins et traités.

Mots clés : *Schistocerca gregaria*, œufs, chorion, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* var *acridum*, éclosions, développement embryonnaire, concentration protéique, histologie.

The title: Effect of two entomopathogenes, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* var *acridum* (*Hyphomycètes, Deuteromycotina*) on the state embryonic of desert locust *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (*Cyrtacanthacridinae, Acrididae*)

Summary:

Our work is based on the use of two entomopathogenes, *Beauveria bassiana* local stock coming from the marsh of Réghaia and *Metarhizium anisopliae* var *acridum* taken starting from a biopesticide marketed under the name of "Green Muscle", on the eggs of *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775). For that, we tested the effect of these two mushrooms out of the four following parameters: Firstly we studied their action on the rates of blossomings at the witnesses and treaties. Then, we distinguished the various stages from embryonic development of desert locust before and after treatment. Then, we have to calculate the content of proteins of treated eggs in order to them compared with the witnesses. Lastly, we studied the structure of the chorion pilot eggs and treaties.

Key words: *Schistocerca gregaria*, eggs, chorion, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium anisopliae* var *acridum*, blossomings, embryonic development, proteins, histology.