

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

UNIVERSITE SAAD DAHLAB DE BLIDA

Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires
Département des Sciences Agronomiques

MEMOIRE DE MAGISTER

en Sciences Agronomiques

Spécialité: Protection des plantes et environnement

**ESSAI DE LUTTE BIOLOGIQUE CONTRE LES LOCUSTES
DANS DES CONDITIONS CONTROLEES**

Par

Fatma RABIE

Devant le jury composé de:

A. GUENDOUZ – BENRIMA	Professeur, U.S.D.BLIDA	Présidente
Z.E. DJAZOULI	M.C.A, U.S.D.BLIDA	Examinateur
S. KEBBOUCHE-GANA	M.C.A, U.M.B.BOUMERDES	Examinatrice
F. SAHIR-HALOUANE	M.C.A, U.M.B.BOUMERDES	Promotrice
F. Z. MILAT-BISSAAD	M.C.B, U.M.B.BOUMERDES	Co-promotrice

Blida, Juin 2012

RESUME

Notre essai a porté sur l'étude de l'effet du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae var.acridum* (Metschnikoff,1879) sur la composition biochimique de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskal,1775); élevées en conditions contrôlées, au plan quantitatif et qualitatif.

Sur le plan quantitatif, les paramètres étudiés sont: l'effet de champignon entomopathogène sur le poids sec de la cuticule abdominale et sur la quantité et la teneur en chitine et en protéines cuticulaires. Sur le plan qualitatif, on a étudié son effet sur la qualité des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de point de vue poids moléculaire par le biais de l'analyse électrophorétique.

On a constaté que le *M.anisopliae var.acridum* a diminué d'une façon hautement significative ($p < 0,05$) le poids sec de la cuticule abdominale des larves L4 et L5, ainsi que la quantité et le taux de chitine et la quantité de protéines cuticulaires et il a augmenté significativement le taux de protéines cuticulaires.

De point de vue moléculaire, les électrophorégrammes montrent que le traitement par le *M.anisopliae* a entraîné une variation dans le nombre et l'intensité des bandes protéiques chez les larves L4 traitées par rapport aux larves normaux du même âge. Au 3^{ème} jour de traitement apparaît une bande protéique chez les larves traitées par rapport aux témoins, au 6^{ème} jour apparaissent deux bandes et au 9^{ème} jour de traitement on a noté l'apparition d'une nouvelle bande et la disparition d'une autre. En parallèle, le traitement a engendré une diminution dans l'intensité de certaines bandes par rapport à celles des témoins du même âge.

Mots clés: *Schistocerca gregaria* (Forskal,1775)- *Metarhizium anisopliae var.acridum* (Metschnikoff,1879)- Chitine– Protéines cuticulaires– Electrophorèse des protéines.

ABSTRACT

Biological bioassay against the locust under controlled conditions

Our test was carried out to study the effect of the fungus *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (Metschnikoff, 1879) on the biochemical composition of the abdominal cuticle of the 4th and 5th nymphal instars of the desert locust *Schistocerca gregaria* (Forsk., 1775) in laboratory, on quantity and quality level.

For the quantity study, the parameters studied are: the cuticle dry weight, cuticular chitin and cuticular proteins weight and content. For the quality terms, the parameter retained namely is the quality of cuticular proteins of the abdomen on the 4th nymphal instar at the point of view the molecular weight by the electrophoresis analysis.

Metarhizium anisopliae var. *acridum* reduces significantly ($p < 0.05$) the cuticle dry weight on the two nymphal instars, and the quantity and the rate of the chitin and the quantity of the cuticular proteins, and it increases significantly the rate of cuticular proteins.

At the point of view the molecular weight on the 4th nymphal instar, the same treatment increases the number of bands proteins of the of the treatment nymphal. On the 3^d day of treatment appear one band, on the 6th day appear 2 bands and on the 9th day appear one band and disappear another. On the other hand, the treatment decreases the intensity of other cuticular bands proteins of the treatment nymphal.

Key words: *Schistocerca gregaria* (Forsk., 1775) - *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (Metschnikoff, 1879)- Chitin- Cuticular proteins- Proteins electrophoresis.

ملخص

تجربة محاربة بيولوجية ضد الجراد في ظروف مراقبة

تناولت دراستنا مدى تأثير الفطر *Metarhizium anisopliae var.acridum* (Metschnikoff, 1879) على الخصائص البيوكيميائية لجلد بطن حوريات الطور الرابع و الخامس للجراد الصحراوي (*Schistocerca gregaria* (Forskal,1775) كما و نوعاً.

لدراسة التأثير الكمي العوامل التي أخذناها بعين الإعتبار هي: الوزن الجاف لجلد البطن، كمية و نسبة الكيتين و البروتينات القشرية. لدراسة التأثير النوعي، قمنا بتحليل نوعية البروتينات من حيث الوزن الجزيئي بواسطة التحليل الإلكتروفوري لبروتينات جلد بطن يرقات الطور الرابع.

الفطر *Metarhizium anisopliae* قام بتقليص الوزن الجاف لجلد حوريات الطور الخامس و الرابع، كما سبب انخفاضاً في كمية و نسبة الكيتين و كمية البروتينات القشرية، و قام كذلك برفع نسبة البروتينات القشرية.

لدى يرقات الطور الرابع، نفس المعالجة سببت ارتفاعاً في عدد البروتينات في الجلد أين سجلنا ظهور بروتين جديد بعد اليوم الثالث من المعالجة لدى الحوريات المعالجة مقارنة بالشاهدة، و بعد اليوم السادس من المعالجة ظهر بروتينان جديان و بعد اليوم التاسع ظهر بروتين جديد واختفى آخر. سجلنا إضافة إلى ذلك انخفاضاً في كثافة بعض البروتينات بالنسبة للحوريات المعالجة مقارنة بالشاهدة.

الكلمات المفتاحية: (*Metarhizium anisopliae var.acridum* – *Schistocerca gregaria*(Forskal,1775)

(Metschnikoff,1879)- الكيتين- البروتينات القشرية- التحليل الإلكتروفوري للبروتينات.

REMERCIEMENTS

Avant tout, je remercie **Dieu**, le tout puissant de m'avoir donné la force et le courage pour réaliser ce travail.

Je tiens tout particulièrement à remercier les membres du jury de thèse; Madame A.GUENDOZ–BENRIMA; Professeur au département des Sciences Agronomiques à l'Université de Blida pour m'avoir fait honneur de présider mon jury, Monsieur Z.E. DJAZOULI; Maître de conférence au département des Sciences Agronomiques à l'Université de Blida et Madame S.KEBBOUCHE-GANA; Maître de conférence au département des Sciences Biologiques Faculté des Sciences à l'Université de Boumerdes pour avoir accepté d'examiner mon travail. Pour cela, Je leurs rends hommage et je leurs exprime ma profonde reconnaissance.

Mes sincères remerciements vont également à Madame F.SAHIR-HALOUANE et Madame F.Z. MILAT-BISSAAD; Maîtres de conférence au département des Sciences Biologiques Faculté des Sciences à l'Université de Boumerdes, pour leur encadrement, leurs enseignements, leurs précieux conseils, leurs soutien, pour leurs patience et aides, ainsi que leurs disponibilité à tout moment.

Qu'il me soit permis d'exprimer ma profonde gratitude à Monsieur M.LAZAR, Chef de département de lutte anti-acridienne à l'institut National de la Protection des Végétaux d'El Harrach à Alger de m'a permis avec beaucoup de confiance d'avoir accès au laboratoire de lutte anti-acridienne et me donner l'opportunité de réaliser l'élevage de criquet pèlerin et une partie de mes tests. Je tiens à remercier aussi très chaleureusement tout le personnel du département de lutte anti-acridienne, Messieurs: CHAOUECH A; HAMID; RACHID pour ses précieux aides, ses conseils et sa gentillesse.

Je tiens à remercier aussi très chaleureusement tout le personnel du laboratoire d'Entomologie à l'Institut National de la Protection des Végétaux d'El Harrach à Alger, pour m'avoir facilité l'accès à leur laboratoire, pour leur serviabilité, leur accueil, leur aide, leur conseil, leur encouragement et modestie.

Mes plus vifs remerciements et un grand respect vont également à Madame DJ. MENAOUIL Ingénieur au laboratoire des Techniques d'Analyses Biologiques au département des Sciences Biologiques Faculté des Sciences à l'Université de Boumerdes et Madame F.RAAF Chargé de cours au département des Sciences Biologiques Faculté des Sciences à l'Université de Boumerdes, pour m'avoir donné l'aide pour réaliser mes analyses électrophorétiques et m'offrir tout le matériel et les conditions nécessaires, pour leurs gentillesse, leurs serviabilité leurs encouragements et modestie.

Toute ma gratitude à Mr. Z. E .DJAZOULI, pour leur conseils et aide.

J'exprime mes profonds respects et toute ma gratitude à tout le personnel administratif de la Faculté des Sciences Agronomiques à l'Université de Blida pour son service précieux.

J'aimerais aussi à remercier tous mes amis qui m'ont accompagné et soutenu jusqu'à la dernière minute.

DEDICACES

Je dédie ce modeste travail, à mes très chers parents en témoignage de l'amour, du respect et de ma profonde et éternelle gratitude que je leur porte et ma reconnaissance pour leur soutien, je ne les remercierai jamais assez, pour tout ce qu'ils m'ont fait.

A ma grande mère.

A mes très chers frères: Chafik; Noureddine; Mohamed; et sœurs; Nora, Bakhta; Houria, Samiha et la petite Nadhar ; qui m'ont donné l'aide et le courage à surmonter les situations pénibles.

A mon oncle Mohamed; son épouse et ses enfants: Mohamed; Kheira; Abdelkader; Houria; Fadoua; Safia et Miloud.

A mon oncle Abdelkader; son épouse et ses enfants: Salma; Houria; Bouchra; Imad; Marwane; Ahmed; Yassine et la petite Merièm.

A mes neveux: Alaa; Nourelhouda; Houssam; Khadija; Aya; Mohamed; Amina.

A mon oncle Bouziane, son épouse et ses enfants: Mounir, Rania et Rima.

A mon oncle Miloud, son épouse et ses enfants: Imad; Asmaa et Chaïma.

A mes très chers amis: Abd el malek; Malik; Safia; Khadija et Fatima.

A toutes mes collègues.

RABIE Fatma

TABLE DE MATIERES

RESUME

ABSTRACT

ملخص

REMERCIEMENTS

DEDICACES

SOMMAIRE

LISTE DES ILLUSTRATIONS ET GRAPHIQUES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION 17

CHAPITRE 1: SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE..... 20

1.1.	Données bibliographiques sur le criquet pèlerin " <i>Schistocerca gregaria</i> ".....	20
1.1.1.	Identification.....	20
1.1.2.	Notes sur la taxonomie.....	20
1.1.3.	Le polymorphisme phasaire chez le criquet pèlerin.....	21
1.1.4.	Biotopes et plantes nourricières	24
1.1.5.	Biogéographie du criquet pèlerin	24
1.1.6.	Dégâts et pertes économiques	26
1.1.7	La reconnaissance du criquet pèlerin	27
1.1.7.1.	L'œuf	27
1.1.7.2.	Les larves	28
1.1.7.3.	L'imago	28
1.1.8.	Evolution saisonnière du criquet pèlerin	28
1.1.8.1.	Le développement embryonnaire.....	29
1.1.8.2.	Le développement larvaire	30
1.1.8.3.	La vie imaginale	30

1.1.9.	Les ennemis naturels du criquet pèlerin	32
1.1.10	La lutte antiacridienne	34
1.1.10.1.	La lutte chimique	34
1.1.10.2.	La lutte mécanique	35
1.1.10.3.	La lutte thermique	35
1.1.10.4.	La lutte biologique	35
1.1.10.4.1.	L'utilisation des prédateurs et des parasitoïdes	35
1.1.10.4.2.	L'utilisation des produits sémiochimiques.....	36
1.1.10.4.3.	La stérilisation des mâles.....	36
1.1.10.4.4.	Les extraits végétaux	36
1.1.10.4.5.	Les biopesticides	37
1.2.	Anatomie et physiologie du tégument des insectes.....	39
1.2.1.	Rôle du tégument.....	39
1.2.2.	Structure et composition chimique du tégument.....	40
1.2.2.1.	Membrane basale.....	40
1.2.2.2.	Les pores canaux	40
1.2.2.3.	L'épiderme.....	41
1.2.2.4.	La procuticule.....	41
1.2.2.5.	L'épicuticule.....	44
1.3.	Données bibliographiques sur <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acridum</i> (Metschnikoff, 1879).....	44
1.3.1.	Taxonomie	44
1.3.2.	Description	45
1.3.3.	Spectre de virulence	46
1.3.4.	Symptomatologie de l'infection	47
1.3.5.	Mode d'infection	47
1.3.6.	Utilisation de <i>Metarhizium anisopliae</i> en tant qu'agent de contrôle biologique	49
1.3.7.	Multiplication in-vitro des champignons entomopathogènes.....	51
1.3.7.1.	Isolement.....	51

1.3.7.2.	Culture	52
1.3.7.3.	Conservation	52
1.3.8.	Formulation des champignons entomopathogènes.....	52
CHAPITRE 2: MATERIEL ET METHODES.....		53
2.1.	Objectifs.....	53
2.2.	Matériel biologique.....	53
2.2.1.	Le champignon <i>Metarhizium anisopliae var.acridum</i>	53
2.2.2.	L'insecte: <i>Schistocerca gregaria</i>	54
2.3.	Conduite de l'essai.....	56
2.3.1.	Mode, dose et moment d'application du traitement sur les larves de <i>S.gregaria</i>	56
2.3.2.	Prélèvement de la cuticule.....	57
2.3.3.	Détermination de la quantité et de taux de chitine et des protéines cuticulaires.....	57
2.3.4.	Profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i>	58
2.3.4.1.	Préparation de la poudre de cuticule.....	58
2.3.4.2.	Séparation des protéines cuticulaires.....	59
2.3.4.3.	Méthodologie de travail.....	60
2.3.4.3.1.	Préparation et montage du gel de polyacrylamide.....	60
2.3.4.3.2.	Préparation des échantillons.....	61
2.3.4.3.3.	Séparation des protéines.....	61
2.3.4.3.4.	Fixation et coloration des protéines.....	62
2.3.4.3.5.	Analyse de profil électrophorétique et estimation de la masse moléculaire (PM) des protéines.....	63
2.4.	Analyse statistique des résultats.....	64
CHAPITRE 3: RESULTATS		65

3.1.	Effet de <i>M.anisopliae var.acridum</i> sur la cuticule abdominale des larves de <i>S.gregaria</i>	65
3.1.1.	Effet de <i>M.anisopliae var.acridum</i> sur le poids sec de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i>	65
3.1.2.	Effet de <i>M.anisopliae var.acridum</i> sur la quantité de chitine de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i>	67
3.1.3.	Effet de <i>M. anisopliae var.acridum</i> sur le taux de chitine de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i>	70
3.1.4.	Effet de <i>M.anisopliae var.acridum</i> sur la quantité des protéines de la cuticule abdominale des larves de <i>S.gregaria</i>	73
3.1.5.	Effet de <i>M.anisopliae var.acridum</i> sur le taux de protéines de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i>	75
3.2.	Effet de <i>M.anisopliae var.acridum</i> sur le profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i>	78
3.2.1.	Effet de <i>M.anisopliae var.acridum</i> sur le profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i> au 3 ^{ème} jour après traitement.....	80
3.2.2.	Effet de <i>M.anisopliae var.acridum</i> sur le profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominal des larves L4 de <i>S.gregaria</i> 6 ^{ème} jour après traitement.....	82
3.2.3.	Effet de <i>M.anisopliae var.acridum</i> sur le profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i> au 9 ^{ème} jour après traitement.....	84
CHAPITRE 4: DISCUSSION		86
4.1.	Effet de <i>Metarhizium anisopliae var. acridum</i> sur la cuticule abdominale des larves de <i>S.gregaria</i>	86

4.1.1.	Effet de <i>M.anisopliae var.acridum</i> sur le poids sec de la cuticule abdominale des larves de <i>S.gregaria</i>	86
4.1.2.	4.1.1. Effet de <i>M.anisopliae var.acridum</i> sur la quantité et le taux de chitine dans la cuticule abdominale des larves de <i>S.gregaria</i>	87
4.1.3.	Effet de <i>M.anisopliae var.acridum</i> sur la quantité et le taux de protéines dans la cuticule abdominale des larves de <i>S.gregaria</i>	89
4.2.	Effet de <i>M.anisopliae var.acridum</i> sur le profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i>	92
CONCLUSION GENERALE.....		96
APPENDICES.....		99
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES		104

LISTE DES ILLUSTRATIONS, GRAPHIQUES ET TABLEAUX

Figure 1.1	: Résumé de la dynamique de criquet pèlerin , indiquant l'influence de l'environnement sur son comportement et son développement phasaire	23
Figure 1.2	: Répartition géographique du criquet pèlerin dans le monde.....	26
Figure 1.3	: Cycle de développement du criquet pèlerin	31
Figure 1.4	: Représentation schématique de tégument des insectes.....	40
Figure 1.5	: Structure moléculaire de la chitine	41
Figure 1.6	: La synthèse de la chitine	42
Figure 1.7	: Model proposant l'arrangement moléculaire de la chitine et des protéines dans la cuticule rigide des arthropodes.....	43
Figure 1.8	: Conidiophores et chaînes de conidie de <i>Metarhizium anisopliae</i> sous microscope électronique.....	46
Figure 1.9	: Emergence des spores de <i>Metarhizium</i> ayant tué un criquet.....	47
Figure 1.10	: Mode de pénétration du champignon à travers la cuticule	48
Figure 1.11	: Processus d'infection de <i>Metarhizium</i> sur une tique.....	49
Figure 2.1	: Poudre de <i>M.anisopliae</i>	54
Figure 2.2	: Cage d'élevage des adultes de <i>Schistocerca gregaria</i>	55
Figure 2.3	: Etapes de préparation de la poudre cuticulaire des larves L4 de <i>S. gregaria</i>	58
Figure 2.4	: Etapes de l'électrophorèse des protéines cuticulaires	62
Figure 2.5	: Courbe de référence exprimant le logarithme décimal du poids moléculaire (PM) en fonction de la mobilité relative (R_f) des protéines marqueurs.....	64
Figure 3.1	: Evolution du poids sec de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	66
Figure 3.2	: Evolution de la quantité de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	68

Figure 3.3	: Evolution de taux de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	71
Figure 3.4	: Evolution de la quantité de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	74
Figure 3.5	: Evolution de Taux de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	76
Figure 3.6	: Photo de profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i> au 3 ^{ème} , au 6 ^{ème} et au 9 ^{ème} jour après traitement.....	78
Figure 3.7	: Schéma de la séparation électrophorétique sur SDS-PAGE des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i> au 3 ^{ème} jour de traitement.....	79
Figure 3.8	: Schéma de la séparation électrophorétique sur SDS-PAGE des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i> au 6 ^{ème} jour de traitement.....	79
Figure 3.9	: Schéma de la séparation électrophorétique sur SDS-PAGE des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i> au 9 ^{ème} jour de traitement.....	80
Tableau 1.1	: Quelques ennemis naturels du criquet pèlerin.....	33
Tableau 1.2	: Différentes types d'effets de certaines plantes toxiques sur le criquet pèlerin.....	37
Tableau 1.3	: Exemples d'utilisation de <i>Metarhizium anisopliae</i> pour le contrôle des attaques des ravageurs	50
Tableau 2.1.	: La composition du gel de migration et du gel de concentration.....	60
Tableau 2.2.	Poids moléculaires (PM) et mobilités relatives (R_f) des marqueurs Promega.....	63

Tableau 3.1	: Evolution du poids sec moyen (mg) de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	65
Tableau 3.2	: Analyse de la variance concernant l'évolution du poids sec de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	67
Tableau 3.3	: Evolution de la quantité moyenne (mg) de la chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	68
Tableau 3.4	: Analyse de la variance concernant l'évolution de la quantité de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	70
Tableau 3.5	: Evolution de taux moyen (%) de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	71
Tableau 3.6	: Analyse de la variance concernant l'évolution de taux moyen de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	72
Tableau 3.7	: Evolution de la quantité moyenne (mg) de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	73
Tableau 3.8	: Analyse de la variance concernant l'évolution de la quantité moyenne de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	75
Tableau 3.9	: Evolution de taux moyen (%) des protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	76
Tableau 3.10	: Analyse de la variance concernant l'évolution de taux moyen des protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de <i>S.gregaria</i> , témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i>	77
Tableau 3.11	: Poids moléculaires (PM) et mobilités relatives (R_f) des protéines du surnageant de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i> au 3 ^{ème} jour après traitement.....	81

Tableau 3.12 : Poids moléculaires (PM) et mobilités relatives (R_f) des protéines du culot de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i> au 3 ^{ème} jour après traitement.....	81
Tableau 3.13 : Poids moléculaires (PM) et mobilités relatives (R_f) des protéines du surnageant de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i> au 6 ^{ème} jour après traitement.....	83
Tableau 3.14 : Poids moléculaires (PM) et mobilités relatives (R_f) des protéines du culot de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i> au 6 ^{ème} jour après traitement.....	83
Tableau 3.15 : Poids moléculaires (PM) et mobilités relatives (R_f) des protéines du surnageant de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i> au 9 ^{ème} jour après traitement.....	85
Tableau 3.16 : Poids moléculaires (PM) et mobilités relatives (R_f) des protéines du culot de la cuticule abdominale des larves L4 de <i>S.gregaria</i> témoins et traitées au <i>M.anisopliae</i> au 9 ^{ème} jour après traitement.....	85

INTRODUCTION

Il y a 3500 ans, on connaissait déjà les destructions que causait le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* [1]. En effet, en 1871 les nuées de criquet ont envahi l'Afrique du Nord et ont fait en Algérie plus de 500 000 morts suite à la famine. En plus, certains scientifiques évoquent la possibilité que des civilisations des temps protohistoriques aient été anéanties et effacées suite à des invasions acridiennes [2].

Le criquet est considéré parmi les ravageurs transfrontières qui endommagent et réduisent les récoltes, menacent la sécurité alimentaire, bouleversent l'économie rurale et perturbent les relations commerciales [1].

En période d'invasion des acridiens, une large gamme de société était mobilisée pour tenter de contenir les dommages et la propagation ultérieure des insectes. Au début, on creusait des tranches pour entraver l'avancé des criquets et les ensevelir, et plus tard, on a utilisé des appâts empoisonnées à l'arsenic, méthode qui s'est révélée efficace [1]. Depuis les années 1960 à nos jours, la réponse apportée aux pullulations de criquets fut essentiellement chimique par l'utilisation massive des insecticides, en particulier des organochlorés (DDT, dieldrine...). Au cours de la dernière invasion du Criquet pèlerin de 2003-2005 en Afrique, plus de 14 millions d'hectares furent ainsi traités à l'aide d'insecticides chimiques de synthèse: les pyréthriinoïdes et les organophosporés [3].

Ces traitements à grande échelle, exposent inévitablement aux traitements des organismes non cibles - dont l'homme -, des effets secondaires indésirables se manifestent sur des espèces, des communautés ou des écosystèmes entiers [4].

Ces derniers ont un effet dangereux sur la santé humaine [5]. TINGLE (1996) [4], BALANÇA et DE VISSCHER (1997) [6]; annoncent qu'ils ne sont pas spécifiques aux seuls acridiens. MAMADOU et *al.*(2005) [7] ont montré l'effet réducteur des pesticides antiacridiens de type organophosphoré, le Fénithrion et le Chlorpyrifos Ethyle, utilisés régulièrement en Niger sur les insectes prédateurs du criquet pèlerin du genre *Pimelia* (*Coleoptera: Tenebrionidae*).

Cette situation a abouti au lancement de travaux de recherche destinés à maître en œuvre des nouveaux produits et méthodes de substitution aux insecticides chimiques, parmi eux ceux consacrés à l'utilisation des pesticides à base d'agents biologiques de contrôle.

La lutte ou le contrôle biologique est défini comme étant l'utilisation d'un organisme pour combattre un autre organisme vivant. En d'autres termes c'est l'utilisation d'un ennemi naturel pour pouvoir contrôler la population des ravageurs [8].

Parmi ces agents de contrôle biologique les plus efficaces contre les locustes, on retrouve le champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* commercialisé sous la marque déposée «Green Muscle» [9]. Et qui a fait l'objet d'études de plus en plus poussées pour mettre en évidence les interactions qu'existent entre ce champignon entomopathogène et l'insecte à contrôler.

Dans ce sens plusieurs travaux ont été réalisés en Algérie, parmi eux nous citons ceux de HALOUANE (1997) [10], YOUCEF (2007) [11], et OUBATA et LAIDANI (2007) [12].

Et c'est dans le sens de compléter les travaux précités et d'autres non cités que nous avons pensé à étudier l'effet de *Metarhizium anisopliae* var *acridum* sur la quantité et le taux de chitine et protéines dans la cuticule abdominale des larves de quatrième et de cinquième stade de *Schistocerca gregaria* élevées en conditions contrôlées. Aussi, une étude moléculaire a été

effectuée sur les protéines de la cuticule abdominale des larves de 4^{ème} stade de *S.gregaria*.

Pour cela, notre travail a été effectué en quatre chapitre ; dans le premier chapitre nous avons élaboré une étude bibliographique sur l'insecte *Schistocerca gregaria*, sur la cuticule des insectes et sur le champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae var acridum*.

Nous avons consacré le deuxième chapitre pour expliquer les méthodes optées pour la réalisation de l'étude ainsi que le matériel utilisé au laboratoire.

Dans le troisième chapitre, nous avons présenté les résultats trouvés. Le quatrième chapitre est consacré à la discussion suivie d'une conclusion générale.

CHAPITRE 1

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1.1. Données bibliographiques sur le criquet pèlerin " *Schistocerca gregaria*"

1.1.1. Identification

Le criquet pèlerin " *Schistocerca gregaria* (Forskal,1775) ", insecte considéré depuis l'antiquité, comme l'un des principaux fléaux de l'humanité dans l'ancien monde, c'est l'une des espèces acridiennes les plus dangereuses en raison de sa grande mobilité; de son aire d'invasion très vaste; de son grand potentiel reproducteur et de sa grande polyphagie [13].

1.1.2. Notes sur la taxonomie

DIRSH (1965; 1974) [14; 15], a fait l'étude globale de la position taxonomique du *Schistocerca gregaria*, et selon cet auteur, le criquet pèlerin est une sous espèce du *Schistocerca americana* qui est largement répandu sur le continent américain mais selon PEDGLEY (1981) [16]; COPR (1982) [17] et DURANTON et LECOQ (1990) [13], ces deux espèces sont génétiquement distinctes. Ainsi, le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* est considéré comme étant la seule espèce du genre *Schistocerca* habitant l'ancien monde [18].

D'après MICHAEL (2009) [19], la position taxonomique du criquet pèlerin est la suivante.

-Domaine	: Eucaryota	(Whittaker& Margulis, 1978)
-Règne	: Animalia	(Linnaeus, 1758)
-Embranchement	: Arthropoda	(Latreille ,1829)
-Classe	: Insecta	(Linnaeus, 1758)
-Ordre	: Orthoptera	(Latreille, 1793)
-Sous-ordre	: Caelifera	(Ander ,1939)
-Super –famille	: Acrodoidea	(Macleay, 1819), (Burmeister, 1839)
-Famille	: Acrididae	(Macleay, 1819)
-Sous-famille	: Cyrtacanthacridinae	
-Genre	: Schistoceca	(Stal ,1873)
-Espèce	: <i>Schistoceca gregaria</i>	(Forsk. , 1775)
-Noms communs		

Français : Criquet pèlerin

Anglais : Desert locust

1.1.3. Le polymorphisme phasaire chez le criquet pèlerin

Le criquet pèlerin appartient à la catégorie des acridiens de type locuste, présentant un phénomène de polymorphisme phasaire ce qui signifie la possibilité de développer des aspects variés et réversibles, il peut se présenter sous deux phases extrêmes, solitaire; lorsqu'il vit disperser; ou grégaire; s'il vit grouper, la phase transiens présente l'intermédiaire entre les deux [13].

Le facteur déclenchant la transformation phasaire est la densité. Selon PASQUIER (1950) [20], le criquet pèlerin est l'espèce la plus gregariapte parmi les locustes du fait de son seuil de grégarisation très bas qui est estimé à 50000 larves/hectare pour les petits larves, 5000 larves/hectare pour les grandes larves et 250-500 imagos/hectare au stade imaginale [13].

Le polymorphisme phasaire chez le criquet pèlerin passe par trois phénomènes importants:

- La multiplication: Permet l'augmentation des effectifs en conditions écologiques optimales;

- La concentration: Sur des superficies réduites offrant les conditions favorables au criquet pèlerin, elle peut se réaliser d'une part à l'échelle synoptique grâce au regroupement des imagos solitaires par les systèmes de vents et/au, d'autre part, à la méso-échelle par réduction des surfaces habitables;
- La grégarisation: Si la densité critique est atteinte, au moins le temps d'une génération, et en réalité, le passage de la phase solitaire-type à la phase grégaire-type nécessitera le maintien des conditions optimales pendant au moins quatre générations successives [13].

Le passage de l'état grégaire vers l'état solitaire, ou vice versa, est caractérisé par des changements de comportement, de morphométrie et de couleur de corps [21; 22].

La figure 1.1 résume le mécanisme de polymorphisme phasaire chez le criquet pèlerin.

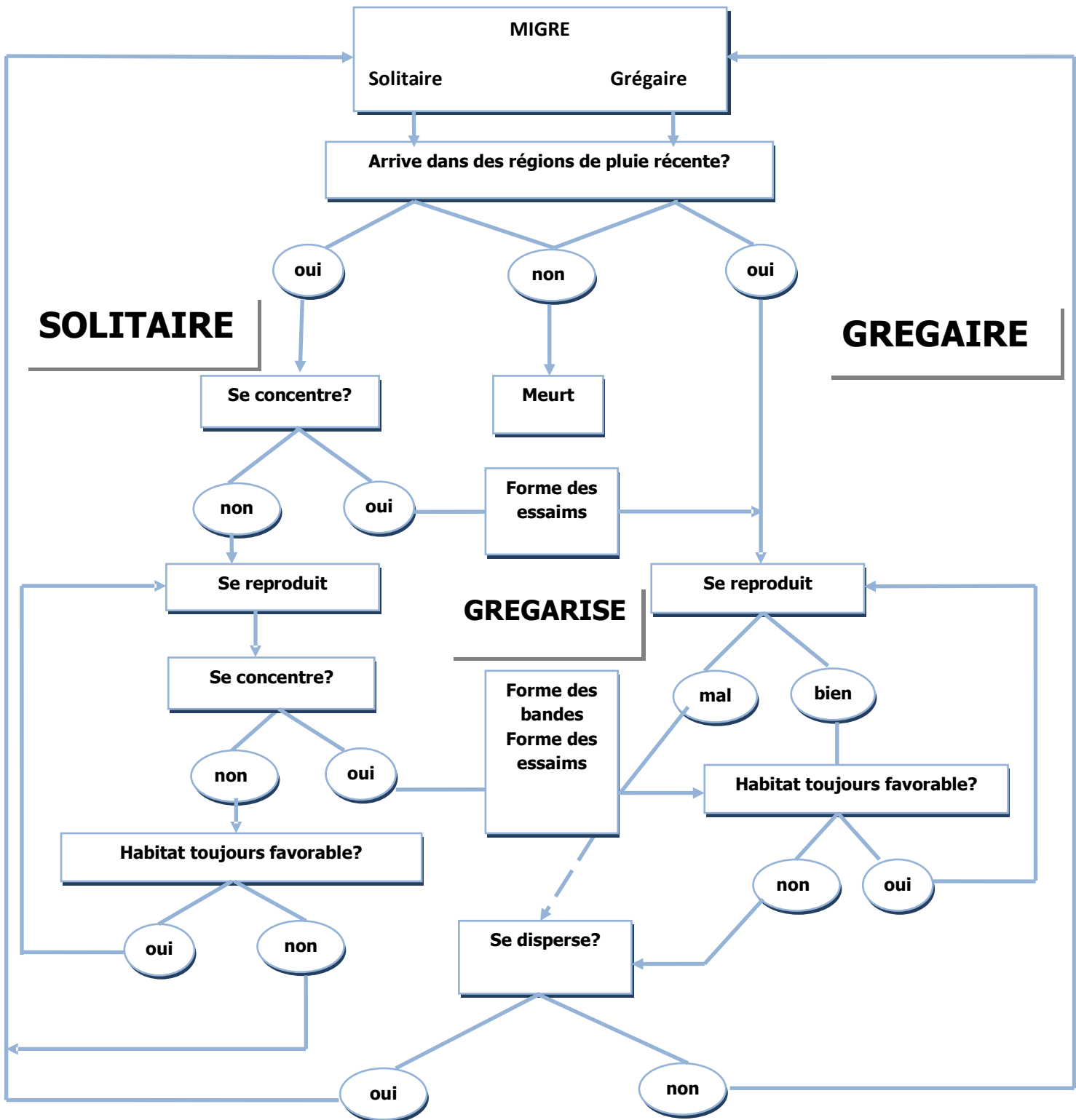


Figure 1.1: Résumé de la dynamique du criquet pèlerin , indiquant l'influence de l'environnement sur son comportement et son développement phasaire [23].

1.1.4. Biotopes et plantes nourricières

Selon LAUNOIS-LUONG et LECOQ (1989) [24], le criquet pèlerin est une espèce xérophile des régions désertiques à régime alimentaire mixte, on le retrouve dans les formations steppiques aux sols sableux ou sablo-argileux à végétation constituée de quelques bouissants d'herbes pérennes ayant moins de un mètre d'hauteur et de plantes annuelles apparaissent après les pluies. Il s'agit des régions où la pluviométrie moyenne annuelle est en générale inférieure à 200 mm [13].

Son régime alimentaire est constitué de feuilles et de chaumes de graminées voire même les feuilles de toutes les espèces arbustives rencontrées (Acacia, Schouwia, Capparis, Combretum, Baobabs, Fromagers, Manguier, Palmier ...etc.). Il dévore tous ce qu'il rencontre [25].

Pour les plantes cultivées, toutes les graminées céréalières sont dévorées, et après le passage des essaims, il ne reste que les chaumes à moitié dévorés. Les légumineuses cultivées (arachide, niébés), les Cucurbitacées, Malvacées, Solanacées cultivées subissent le même sort, ainsi que toutes les cultures maraichères [25].

1.1.5. Biogéographie du criquet pèlerin

Entre les vagues d'invasion, les criquets se replient à l'état solitaire dans les zones les plus arides de leurs territoires habituelles, où ils passent inaperçues pendant plusieurs années s'étendant de l'océan Atlantique au Nord-est de l'Inde [26].

D'après MOUMEN et *al.*(2005) [27], trois principales régions réparties à travers l'aire d'habitat du criquet pèlerin sont signalées comme les plus favorables à la multiplication intensive des populations solitaires (foyers de grégarisation), il s'agit de:

- La région occidentale: Zones frontalières Algéro-Nigéro-Maliennes et le centre, le Sud-est et le Centre-ouest de la Mauritanie;
- La région centrale: Zones côtières de la mer rouge et du Golf d'Aden;
- La région orientale: Zones frontalières Indo-Pakistanaises.

Cependant durant les années d'invasion, la limite septentrionale d'expansion du criquet pèlerin passe par l'Europe du sud, la Turquie, la Transcaucasie en se prolongeant vers l'Est en Iran, en Afghanistan et dans les républiques d'Asie centrale. Et quant à la limite méridionale, elle longe du cinquième parallèle nord en Afrique de l'Ouest et redescend jusqu'au dixième Sud en Afrique de l'Est [18]. Cette superficie présente 20% de la surface du globe, soit 28 millions de kilomètres carrés habités par le dixième de la population mondiale [26].

Les essaims d'invasion peuvent être composées de milliards d'acridiens adultes qui volent à une vitesse de cent kilomètres par jour dans la direction du vent, et des nymphes grégaires qui marchent et couvrent une distance de 1,5 Km par jour [28].

Des individus isolés du criquet pèlerin sont parfois signalés loin de ces limites, comme la Grande-Bretagne [29], Madagascar [30] et il existe même une ancienne indication mentionnant le criquet pèlerin en Australie [31] apparemment transporté par les bateaux [15; 32].

La figure 1.2 représente la répartition géographique du criquet pèlerin dans le monde.

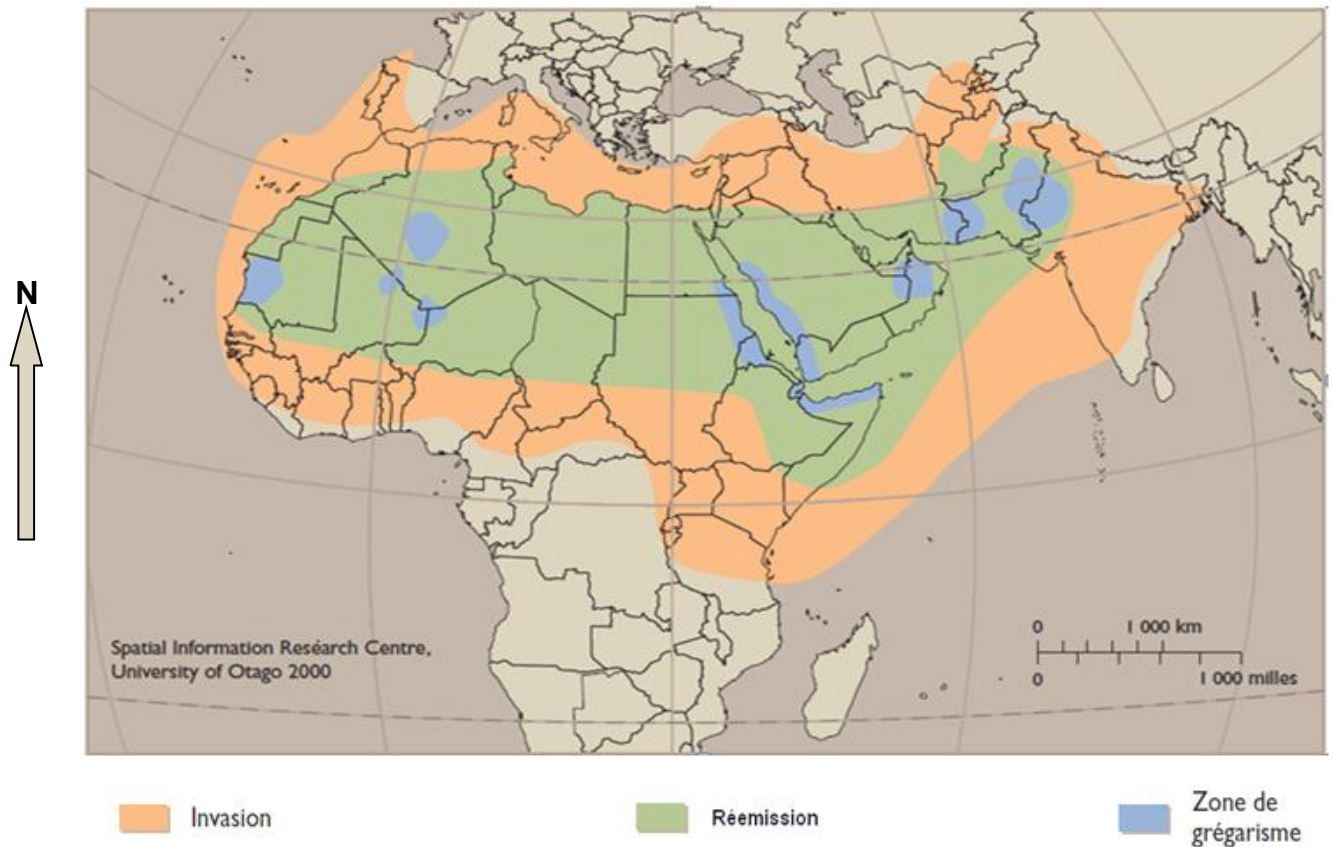


Figure 1.2: Répartition géographique du criquet pèlerin dans le monde [1].

1.1.6. Dégâts et pertes économiques

Le criquet pèlerin constitue une menace permanente pour la sécurité alimentaire dans les zones arides et semi-arides d'Afrique, du Moyen-Orient et d'Asie [33] et pour l'économie [34; 35].

Ces dégâts sont très vigoureux puisque ce ravageur est trop vorace. En effet, chaque adulte consomme l'équivalent de son propre poids de nourriture chaque jour, c'est-à-dire deux grammes, donc, un vol moyen de dix kilomètre carrés assez dense de 200 insectes au mètre carré peut dévorer en 100 jours 40000 tonnes de matière végétale verte [25].

Il endommage gravement la végétation naturelle, ce qui est lourd de conséquence pour l'élevage puisque le bétail ne trouvera plus de quoi s'alimenter,

et il peut faire en péril toutes les cultures vivrières d'une communauté (blé, orge, vigne, agrumes, palmier dattier, mil, sorgho, légumes, maïs, riz...etc. [25].

Ces pertes dévastatrices de récolte contraignent des familles et même des communautés à abandonner les exploitations et à migrer vers les villes du Sahel, cela nuit au tissu social des zones rurales et crée des conditions propices à des conflits à propos des ressources [36].

Selon les statistiques, au cours de sa dernière invasion en Afrique, 2003-2005, le criquet pèlerin a dévoré la végétation d'une superficie de 65000 km² touchant neuf pays: au Sahel (Mali, Mauritanie, Niger, Sénégal, Tchad) et au Maghreb (Algérie, Libye, Maroc, Tunisie) et selon les experts ces dégâts ont été évalués à 200 millions d'euros [37].

En 1986, 35 millions de dollars ont été consacrés à la lutte contre les criquets dans les différents états du CILSS [38], et près d'un milliard d'euro a été dépensé par la communauté internationale pour la maîtrise des deux invasions en 1987-1989 et 2003-2005 [39].

1.1.7. La reconnaissance du criquet pèlerin

1.1.7.1. L'œuf

Les œufs du criquet pèlerin sont disposés dans le sol sous la forme d'une oothèque, celle-ci comporte l'ensemble des œufs, constituant la masse ovigère, surmontée d'un bouchon de matière spumeuse, de couleur blanchâtre, atteignant presque la surface du sol. Ce bouchon sert à empêcher le dessèchement des œufs et forme une voie par laquelle les jeunes larves peuvent facilement atteindre la surface du sol après l'éclosion [13].

L'oothèque a une longueur totale de 09 à 10,5cm [40], où le nombre d'œufs par oothèque varie d'une vingtaine à plus de 140 [13]. Les pontes des solitaires et des grégaires ont la même taille et la même forme générale [40].

D'après TZYPLIONSKY (1970) [41] et TCHERNIAKHOVSKY (1986) [42], l'œuf du criquet pèlerin mesure 7 à 10,1mm de long et 1 à 2,2mm de diamètre. Ils sont disposés suivant une orientation radiale autour d'un axe central. Sa couleur est de jaune ou jaune orange pour devenir jaune brunâtre ou brun avant l'éclosion [19; 43].

1.1.7.2. Les larves

Les larves du criquet pèlerin passent, de l'éclosion à l'état imaginaire, par plusieurs stades larvaires. Leur nombre est variable en fonction de la phase, il est de 5 stades chez les grégaires et de 6 chez les solitaires [13].

Dès le premier stade, les mâles et les femelles se reconnaissent à l'examen de génitalia [44]. Morphologiquement, les larves des différents stades se reconnaissent par la taille de différentes parties du corps et par la taille et la position des ébauches alaires [18].

1.1.7.3. L'imago

L'adulte du criquet pèlerin est un acridien de grande taille, les femelles mesurent de 7 à 9cm et les mâles de 6 à 7,5cm de long.

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 long dépassant nettement l'extrémité abdominale et les genoux postérieurs. Les cerques des mâles sont courts, rectangulaires et la plaque sous-génitale est incisée. Les yeux sont striés et les élytres sont maculés de tâches brunes [13].

1.1.8. Evolution saisonnière du criquet pèlerin

Au cours de l'année, le criquet pèlerin peut développer 2 à 3 générations où chacune dure 50 à 60 jours dans les conditions écologiques optimales [45]. Il

passer par trois états biologiques successifs: l'état embryonnaire (œuf), l'état larvaire (larve) et l'état imaginal (imago).

Au moment de l'accouplement, le mâle s'agrippe à la femelle et introduit le pénis dans le vagin. Le sperme sécrété est conservé par la femelle dans le réceptacle séminal et ce n'est qu'à l'époque de la ponte qui peut suivre l'accouplement de quelques jours à plusieurs semaines si les conditions ne sont pas favorables, que chaque œuf est fécondé par un spermatozoïde qui pénètre son pore [25].

1.1.8.1. Le développement embryonnaire

Après l'accouplement, la femelle cherche un endroit propice à la ponte dont elle préfère les steppes plus en moins arborées sur sols sableux complexe [40]. En zones cultivées, les pontes étaient relevées dans les cultures de coton, de blé, d'orge, de melon, de pastèque, de sorgho, de luzerne et de sésame [18].

La ponte a lieu dans un sol suffisamment humide et à n'importe quel moment du jour ou de nuit. La femelle creuse le sol avec son oviscapte qu'elle enfonce à la manière d'un taraude; son abdomen rendu turgescent et peut s'enfoncer jusqu'à une profondeur de 7cm [25].

La période d'incubation qui peut aller d'une dizaine de jours à 80 jours, dépend de la température et de l'humidité du sol. L'éclosion aura lieu en général pendant les heures chaudes de la matinée [24].

La première forme larvaire dite vermiforme, progresse vers la surface du sol par reptation le long du bouchon spumeux et dès sa sortie à l'aire libre se débarrasse de sa cuticule (la mue intermédiaire) et devient alors une larve de premier stade [13].

1.1.8.2. Le développement larvaire

Pendant la nuit, les larves grimpent sur les plantes pour se reposer, et au matin, elles descendent de leurs perchoirs et se regroupent au sol tant que la température au sol ne dépassent pas 33°C, au delà, les larves commencent à se déplacer [44], et cherchent alors des abris pour y passer les heures les plus chaudes.

Au moment de la mue, le criquet cesse de s'alimenter et demeurent en générale plus en moins immobile, accroché aux chaumes ou rameaux près du sol. La mue se produit lorsque la larve a atteint le double de son poids initial [25].

Le développement larvaire dure 25 à 52 jours chez les grégaires et 30 à 90 jours chez les solitaires [13].

1.1.8.3. La vie imaginale

Avec la mue imaginale, s'achève l'état larvaire et commence l'état imaginal. Le jeune imago possède des téguments mous qui durcissent progressivement en une dizaine de jours au maximum. Les criquets mâles commencent leur maturation sexuelle les premiers et ils dégagent des substances chimiques qui déclenchent la maturation des femelles et aussi celles des mâles dont la maturation n'a pas encore commencé, avec le début de la maturation sexuelle, on note également les premiers accouplements [13].

Les imagos peuvent vivre de 34 à 230 jours, en fonction de l'existence ou non d'une période de quiescence imaginale, les femelles pondent 4 fois à la moyenne et meurent rapidement [13]. Le cycle évolutif du *S.gregaria* est représenté par la figure 1.3.

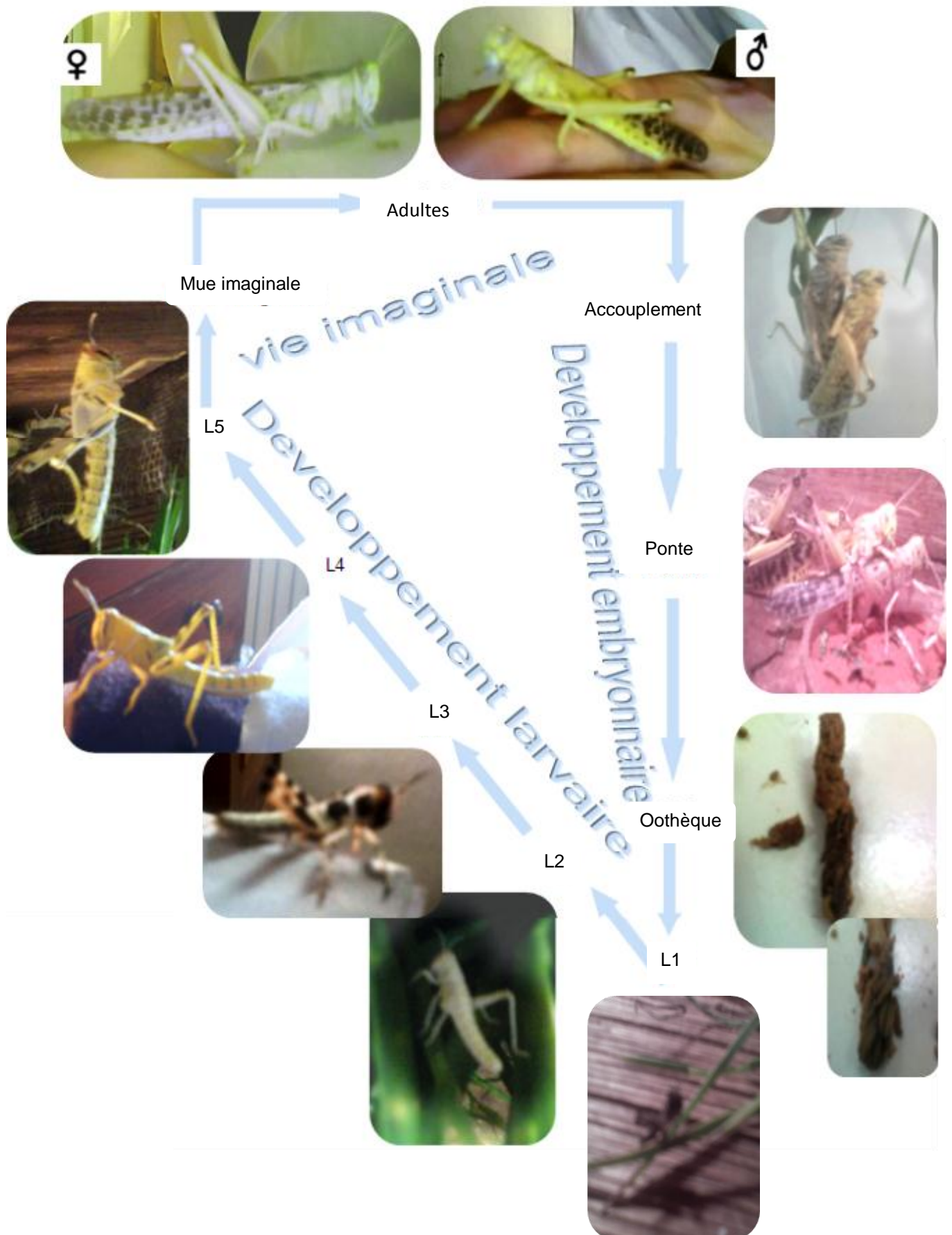


Figure 1.3: Cycle de développement du criquet pèlerin (Originale).

1.1.9. Les ennemis naturels du criquet pèlerin

Les acridiens sont les proies d'un grand nombre d'ennemis naturels vertébrés et invertébrés, prédateurs, parasitoïdes, parasites et agents pathogènes [46].

Le tableau 1.1 et les figures d'appendice B représentent quelques ennemis naturels affectant les différents stades du criquet pèlerin.

Tableau 1.1: Quelques ennemis naturels du criquet pèlerin

Stades	Ennemis naturels			Bibliographie	
Œufs	Parasitoïdes	Insectes	<i>Scelio somali</i> (Hymenoptera:Scelionidae)	[46]	
			<i>Stomorphina lunata</i> (Diptera:Calliphoridae)		
			<i>Oophagomyia plonikovi</i> (Diptera:Calliphoridae)	[43]	
	Prédateurs	Insectes	<i>Systoechus somali</i> (Diptera:Bombyliidae)		
			<i>Curtonotum cuthbertsoni</i> (Diptera:Curthonotidae)		
			<i>Saprinus ornatus</i> (Coleoptera:Histeridae)		
Larves et imagos	Parasitoïdes	Insectes	<i>Thricopsidea costata</i> (Diptera:Nemestrinidae)	[46]	
			<i>Blaesoxipha lineata</i> (Diptera:Sacrophagidae)		
	Prédateurs	Arachnides	<i>Araneoides pall</i> (Galeodidae)		
			<i>Eutrombidium spp.</i> (Trombidiidae)		
		Insectes	<i>Scylaticus</i> (Diptera:Asilidae)		[47]
			<i>Prionyx nigro pectinatus</i> (Hemiptera:Sphecidae)		
		Oiseaux	<i>Outarde houbara</i> (<i>Chlamydotis undulata</i>)		[48]
			<i>Aigle ravisser</i> (<i>Aquila rapax</i>)		[49]
	<i>Huppe fasciée</i> (<i>Upupa epops</i>)				
	Parasites	Nématodes	<i>Mermithidae nigrescens</i> (Mermithidae)		
	Agents pathogènes	Bactéries	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Pseudomonadaceae)	[46]	
		Champignons	<i>Metarhizium anisopliae</i> (Ascomycota)		
<i>Beauveria bassiana</i> (Ascomycota)					
<i>Aspergillus flavus</i> (Deuteromycotina)					
Protozoaires		<i>Malamoeba locusta</i> (Amoebidae)			
		<i>Nosema locustae</i> (Nosmatidae)			

1.1.10. La lutte antiacridienne

Pour se prémunir durablement contre les invasions acridiennes, il faut privilégier la lutte préventive, qui consiste à intervenir le plus tôt possible dans la genèse des pullulations en empêchant le criquet de déclencher le processus de grégarisation par le traitement des foyers de grégarisation [50], une fois le fléau est déclaré, il n'y a pas d'autres alternatives que la lutte curative, le combat doit être organisé en situation d'urgence soit sur des sites précis, soit généralement sur des aires vastes et discontinues [51].

Les méthodes de contrôle des pullulations du criquet connues jusqu'à présent sont les suivantes:

1.1.10.1. La lutte chimique

La plupart des opérations antiacridiennes ont été effectuées à l'aide des insecticides chimiques conventionnels (organo-chlorés, organo-phosphorés, carbamates et pyréthrinoides). Ces insecticides généralement neurotoxiques, agissent par contact direct, les gouttelettes tombant sur les criquets, par contact secondaire, les criquets entrant en contact avec les gouttelettes disposées sur la végétation, ou par ingestion, les criquets ingérant la végétation traitée [9].

Un autre type d'insecticides chimiques est utilisé, ce sont les dérégulateurs de croissance qui ne tuent pas leur cible directement, mais interfèrent avec leur développement. Ils sont de deux types, soit des analogues d'hormone juvénile, qui empêchent le déclenchement de la métamorphose, soit des inhibiteurs de synthèse de chitine, qui bloquent la synthèse de la chitine en rendant la mue imparfaite et conduisant à la formation des adultes anormaux [52].

D'après DOBSON (2001) [9], ces produits ne sont pas efficaces sur les ailés puisque leur mue est achevée et y sont utilisés pour le traitement en barrière, ils ne présentent pas de danger pour les mammifères avec un impact relativement faible sur l'environnement.

1.1.10.2. La lutte mécanique

Consiste à creuser des tranchées devant la ligne de front des larves des criquets, celles-ci et par l'instinct grégaire avançaient directement vers les tranchées où elles étaient recouvertes de terre.

Il peut y faire recours à la technique culturale telle le labour profond avec retournement de la surface de terre, pour détruire les œufs soit par dessiccation soit par insolation [53].

1.1.10.3. La lutte thermique

Consiste à éliminer les larves par incinération, certains paysans délibérément brûlent une partie du champ pour sauver le reste de leur exploitation. Cette méthode comporte des inconvénients dans la lutte à grande échelle car elle peut conduire à des feux de brousse [53].

1.1.10.4. La lutte biologique

La lutte biologique est considérée comme une alternative parce qu'elle assure le contrôle des populations du ravageur sans faire nuire la santé humaine et l'environnement. Parmi les moyens utilisés en lutte antiacridienne on cite :

1.1.10.4.1. L'utilisation des prédateurs et des parasitoïdes

L'idée d'utiliser les oiseaux pour lutter contre les acridiens est très ancienne. Les chinois utilisent depuis les millénaires des canards pour détruire les larves du criquet [54]. LOCKWOOD et EWEN (1997) [55], ont opté pour l'introduction des parasitoïdes des œufs *Oophagomyia plonikovi* comme moyen de lutte.

1.1.1.1.1. L'utilisation des produits sémiachimiques

Les acridiens produisent des phéromones qui provoquent des réactions chez les individus de la même espèce, il peut donc être possible de les utiliser pour inverser le processus de grégarisation ou pour disperser les bandes et les essaims [9]. Ces produits ont induit chez les criquets, lors des traitements expérimentaux, la réduction de la mobilité et l'augmentation de niveau de cannibalisme et de sensibilité aux insecticides et aux pathogènes [9].

1.1.1.1.2. La stérilisation des mâles

Cette technique consiste à lâcher en grande quantité des mâles stériles de l'espèce à combattre, mais ayant conservé leur potentiel d'activité sexuelle en vue de réduire la fertilité de la population sauvage de cette même espèce [56].

La méthode de stérilisation des mâles par l'irradiation est testée pour la première fois par DUSHIMIRIMANA dont cette méthode n'a jamais été tentée dans la lutte contre le criquet pèlerin. En effet, une dose d'irradiation de 04 Gy entraîne la stérilité chez les mâles du *Schistocerca gregaria* tout en maintenant ses capacités comportementales. Les femelles fécondées par ces mâles vont produire des œufs stériles [57].

1.1.1.1.3. Les extraits végétaux

L'utilisation des extraits végétaux en tant qu'un insecticide naturel présente un intérêt purement écologique puisqu'ils sont peu nocifs à l'égard de l'environnement. Par ailleurs, de nombreux travaux concernant l'effet des plantes sur le criquet pèlerin ont été réalisés [58], comme le montre le tableau 1.2.

Tableau 1.2: Différents types d'effets de certaines plantes toxiques sur le criquet pèlerin.

Espèce végétale	Famille	Effets	Bibliographie
<i>Olea europea</i>	<i>Oleaceae</i>	Anti-appétant	[59]
<i>Citrillus cotocynthis</i>	<i>Cucurbitaceae</i>	Répulsif/Toxique	[60]
<i>Cestrum parqui L'Herit</i>	<i>Solanaceae</i>	Toxique	[61; 62]
<i>Glinus lotoides</i>	<i>Aizoaceae</i>	Répulsif / Toxique	[58]
<i>Calotropis procera</i>	<i>Asclepiadaceae</i>	Anti-appétant/ Toxique	[63]
<i>Peganum harmala</i>	<i>Zygophylaceae</i>	Anti-appétant/ Toxique/ Réduit la fertilité et la fécondité des femelles	[64]
		Toxique	[65;66]
<i>Azadirachta indica</i>	<i>Meliaceae</i>	Toxique	[67 ; 68]
<i>Melia azedarach</i>	<i>Meliaceae</i>		
<i>Eucalyptus globulus</i>	<i>Myrtaceae</i>		

1.1.10.4.5. Les biopesticides

Il est possible d'utiliser l'un des micro-organismes infectant naturellement les acridiens ou d'une autre provenance pour infecter et tuer les criquets [9; 69].

L'intégration du biopesticide dans la stratégie de lutte contre les acridiens permet de réduire considérablement l'utilisation des pesticides chimiques. Son utilisation est préventive et non curative compte tenu de la nature de son action [70].

Les biopesticides possibles sont à la base de:

- Protozoaires: tel que *Nosema locustae* et *Johenrea locustae* testés abondamment sur les criquets en Argentine et en Chine [71; 72].
- Bactéries entomopathogènes: *Xenorhaobdus nematophela* [73].
- Virus: *virus Entomopox* [74].

- Champignons: Nommés les mycopesticides. Les deux champignons entomopathogènes *Beauveria* et *Metarhizium* ont été les biopesticides testés jusqu'à présent avec le plus de succès [9]. La contamination se fait par contact ou par ingestion de la plante traitée par le mycopesticide [75].

Les champignons peuvent tuer très rapidement par l'intermédiaire des toxines, ou plus lentement par épuisement de l'hôte dont ils prélèvent l'eau et les nutriments pour se développer.

Le taux de mortalité peut atteindre 70 à 90% et les criquets meurent au bout d'une à deux semaines après traitement, selon l'importance de la biomasse végétale qui influe sur le taux de dilution des spores épandues, de la dose de spores, de la virulence de la souche et de la susceptibilité des acridiens cibles [76; 77].

Le *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (Metschnikoff, 1879) Sorokin, est commercialisé en Afrique sous la marque déposée «Green muscle» IMI 330185, et en Australie sous la marque «Green Guard» FI-985 [78].

Le « Green muscle » fût homologué en mars 1999 en Afrique du Sud qui l'utilise contre *Locustana pardalina* (le criquet brun) et *Nomadacris septemfasciata* (le criquet nomade), la FAO l'a recommandé pour toutes les opérations de lutte antiacridienne et enfin, une autorisation provisoire de vente fut accordée en juin 2001 par le Comité Sahélien des Pesticides pour la zone CILSS [70].

Il peut être facilement produit en masse. Il est disponible sous forme de poudre sèche et d'un concentré huileux. Les partenaires industriels chargés de sa production et commercialisation sont: Natural Plant Protection en France et Biological Control Products en Afrique du Sud [70; 79]. Cette formulation est appliquée en utilisant les techniques des appareils conventionnels UBV [80].

Ce champignon est utilisé avec succès pour la première fois en Algérie au cours de l'année 2005, sur le criquet pèlerin sous les conditions réelles du terrain.

L'opération était réalisée sous le patronage de la FAO en collaboration avec l'Institut National de la Protection des Végétaux d'Elharrach à Alger, l'INPV [81].

THOMAS *et al.* (1997) [82], reportent que ce mycopesticide persiste dans l'environnement, où les criquets et au cours de son trajet migratoire, peuvent avoir l'infection par ce champignon après son passage sur des champs déjà traités avant 03 semaines. Du fait de sa persistance, son usage aura l'avantage de faire des économies substantielles, car on n'aura plus besoin de faire des traitements répétitifs. Il ne présente aucun risque pour l'homme et les animaux non cibles [70].

La combinaison d'une façon harmonieuse de ces différentes méthodes de lutte (lutte chimique, techniques, culturales, lutte biologique...etc.), permis de minimiser les conséquences indésirables de la lutte chimique vis-à-vis de l'environnement, ce qui tombe dans le sens de la lutte intégrée (Integrated Pest Management I.P.M.)[83].

1.2. Anatomie et physiologie du tégument des insectes

Le tégument des insectes constitue un exosquelette, qui est renouvelé à chaque mue pour permettre la croissance de ces derniers [84].

1.2.1. Rôles du tégument

Le tégument joue le rôle de:

- Peau (barrière physique);
- Point d'attache des muscles;
- Tissus de réserve : un insecte peut récupérer jusqu'à 90% du tégument lors de chaque mue;
- Limite les pertes en eau : l'eau peut pénétrer mais ne peut sortir;
- Barrière contre les agressions du milieu (pathogènes, insecticides, etc.);
- Base du système respiratoire;
- Base du système sensoriel;

- Base du système digestif [84].

1.2.2. Structure et composition chimique du tégument

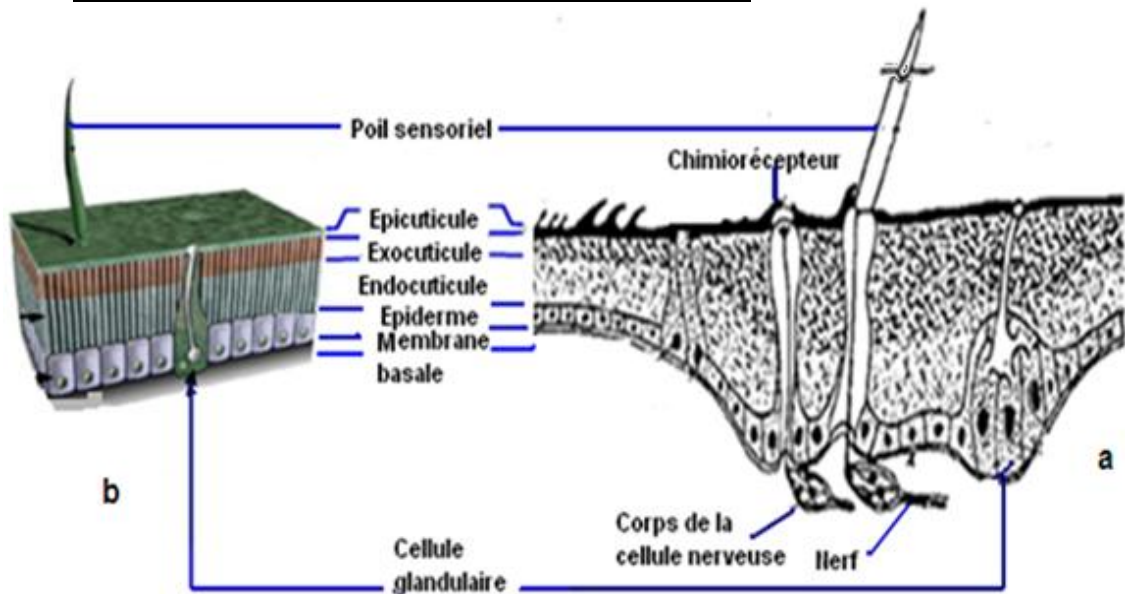


Figure 1.4: Représentation schématique de tégument des insectes.

a: Coupe longitudinale [84]. b: Coupe à trois dimensions [85]

Le tégument est composé de l'intérieur vers l'extérieur de:

1.2.2.1. La membrane basale

C'est une couche non vivante d'environ 0,5 micron d'épaisseur formée de polysaccharides et qui sert de point d'attache aux diverses cellules, telles que les oenocytes (cellules de l'hémolymphe), qui interagissent avec les cellules de l'épiderme [84] (Figure 1.4).

1.2.2.2. Les pores canaux

Ce sont des prolongements cytoplasmiques des cellules glandulaires permettant le transport des sécrétions cuticulaires. On pense que ces pores pourraient aussi intervenir pour réparer l'épicuticule lorsque celle-ci est, pour une raison quelconque, endommagée (égratignure) [84] (Figure 1.4).

1.2.2.3. L'épiderme

C'est une couche de cellules polyplôïdes. Bien que chez certains insectes la division cellulaire puisse se poursuivre lors de la mue, celle-ci cesse en général après l'éclosion. On retrouve plusieurs types de cellules dans l'épiderme, des cellules glandulaires (sécrétions), des cellules sensorielles [84] (Figure 1.4).

1.2.2.4. La procuticule

Elle regroupe au moins trois couches fortement chitinisées (exo, méso et endocuticule). Elle intervient, entre autres, dans la couleur et la rigidité des unités tégumentaires (sclérites). Elle est composée de chitine, protéines et lipides [84] (Figure 1.4).

- La chitine

La chitine est une substance souple, molle, perméable et incolore, représente 10% à 60% du poids sec de l'insecte. C'est un polysaccharide azoté de poids moléculaire élevé, dont l'unité est le N-acétyl-glucosamine. La chitine est donc une molécule linéaire non ramifiée, les chaînes sont liées entre elles par de multiples ponts H [86] (Figure 1.5). Elle fut identifiée en 1811 à partir du champignon d'où son nom original de fungicine, en 1823, ODIER l'a retrouvée dans les élytres des scolytes et lui donna le nom de chitine [84].

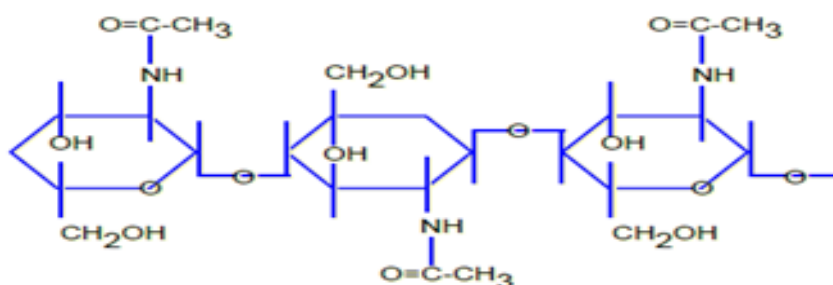


Figure 1.5 Structure moléculaire de la chitine [87].

Elle est insoluble dans l'eau, l'éther, les acides organiques et l'alcool. Toutefois, elle est soluble dans les acides minéraux portés à ébullition (le produit noir et mou obtenu porte le nom de chitosan). On la retrouve associée aux acides

aminés et aux quinones qui interviennent lors du processus de durcissement du tégument [84].

La figure 1.6 intitulée «La synthèse de la chitine»; mentionne que le produit de départ de cette synthèse est le tréhalose. Le tréhalose est un disaccharide qui contrairement au glucose n'influence pas le pH interne de l'organisme, c'est pourquoi les insectes l'utilisent au lieu du glucose comme sucre circulatoire. C'est au niveau de cette synthèse que certains insecticides comme le Dimilin (benzophényl d'urée) agissent [84].

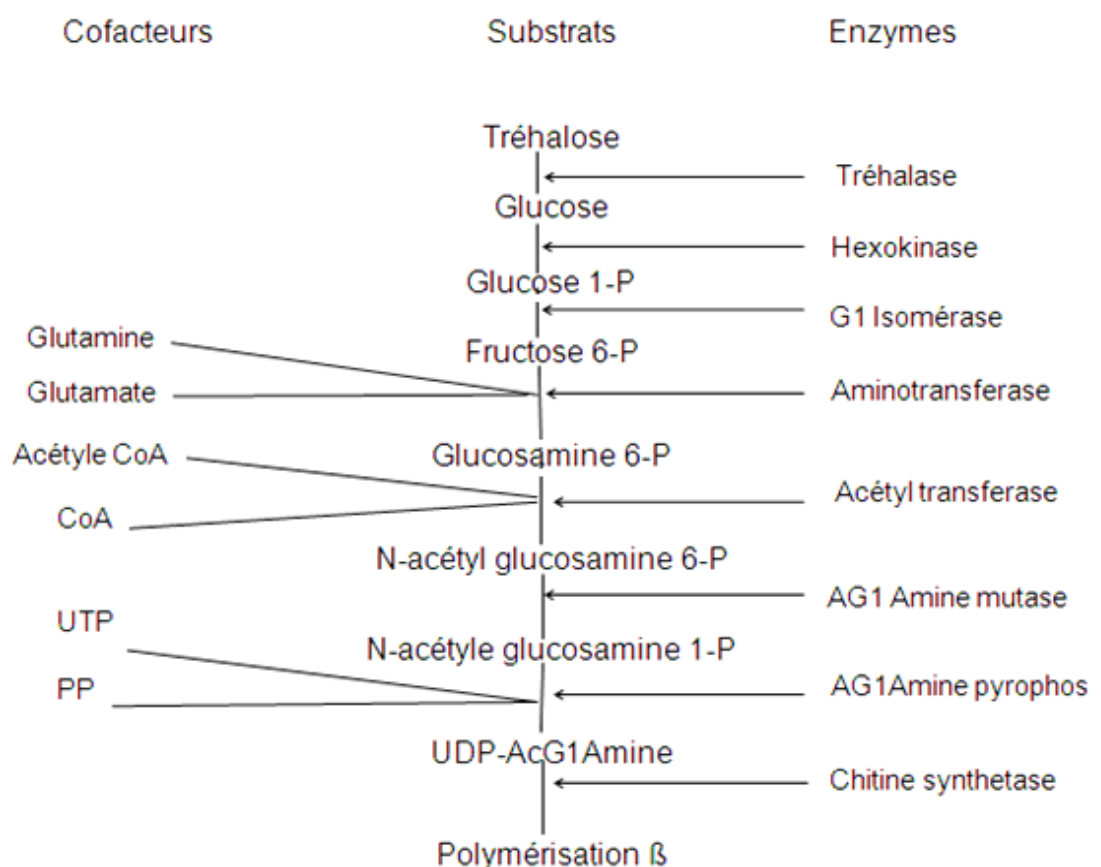


Figure 1.6 : La synthèse de la chitine [84].

- Les protéines

Les protéines sont l'autre majeur et important composant de la cuticule. Elles sont synthétisées dans les cellules épidermiques et secrétées à la surface de cuticule [88]. Elles sont en générale classées en : protéines non structurales;

représentées par les pigments, les enzymes et les protéines de défense tel que cecropine [89] et scolexine [90] intervenant dans la réponse immunitaire, et protéines structurales dont approximativement la moitié est connue par une séquence commune de 35 acides aminés [91]. Cette séquence est identifiée dans les protéines cuticulaires de cinq ordres d'insectes [92; 93], des crustacés et des arachnides [93; 94; 95]. Elle a le rôle d'attacher ou coller les protéines aux fibres de chitine [96].

Andersen (1999) [94] a établi le model de l'organisation de la cuticule des arthropodes. Selon ce model, dans la cuticule rigide, les protéines cuticulaires sont attachées aux filaments de chitine et localisées en plus dans l'espace interfilamental, et des molécules d'eau sont présentes dans l'espace qui confert une certaine mobilité et flexibilité aux chaînes de protéines (Figure 1.7).

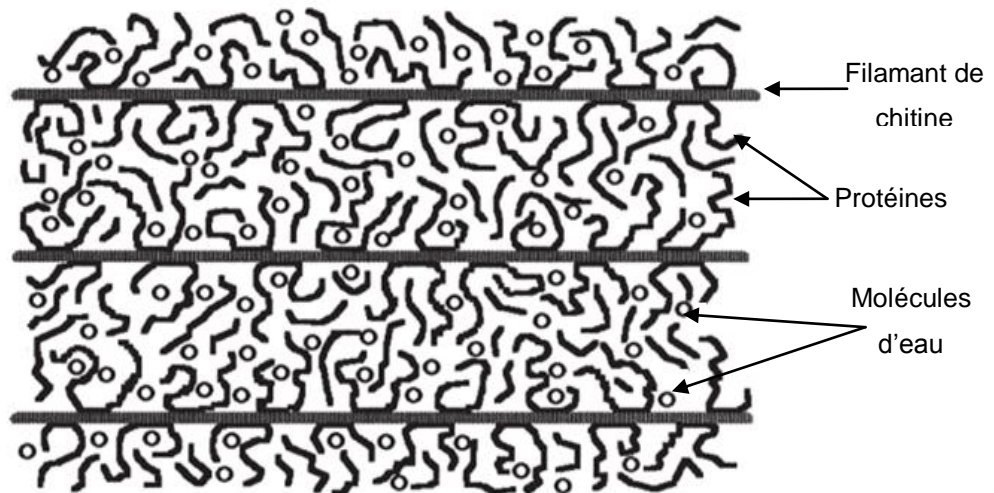


Figure 1.7: Model proposant l'arrangement moléculaire de la chitine et des protéines dans la cuticule rigide des arthropodes [94].

- Les lipides

Ils sont peu abondants mais de nature très variée (saturés, insaturés, avec des groupes alcools, acides ... etc.) [84].

1.2.2.5 L'épicuticule

D'une épaisseur d'environ un micron, elle est composée d'une à cinq couches dans lesquelles on ne retrouve pas de chitine. L'épicuticule sert de barrière contre les pertes d'eau et détermine les patrons structuraux et de couleur des insectes. Elle est composée de couche de ciment, couche de cire et couche de polyphénole [84] (Figure 1.4).

1.3. Données bibliographiques sur *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (Metschnikoff, 1879)

Le genre *Metarhizium* (*Ascomycota:Hypocreales*) [97] est un champignon entomopathogène, utilisé comme insecticide biologique pour lutter contre un certain nombre d'insectes nuisibles comme les termites, les sautériaux, les thrips, les moustiques...etc. [98]. Il comprend comme espèces: *M. anisopliae* (Metsch.) Sorokin, *M. flavoviride*, *M. album* [99; 100] et *M. brunneum* [101].

Le *Metarhizium* est un genre des champignons anamorphes mitosporiques, ce groupe de champignons se reproduisent presque toujours asexuellement [102].

1.3.1. Taxonomie

Le *M. anisopliae* a été isolé pour la première fois à partir d'*Anisoplia austriaca*; insecte coléoptère; par METSCHNIKOFF en 1879, et auquel il donna le nom d'*Entomophthora anisopliae* [103].

Récemment cet espèce a connu un certain nombre de variétés [104], mais on les a maintenant attribué le rang d'espèce, les nouvelles espèces sont *Metarhizium majus*, *M. lepidiotae* et *M. acridum* (*M. anisopliae* var. *acridum* y inclus les isolats utilisés dans la lutte antiacridienne) [97].

La position taxonomique de *M. anisopliae* selon BISCHOFF et *al.* (2009) [97] et ANONYME (2010) [105] est la suivante:

Règne : Fungi
 Division : Ascomycota
 Classe : Sordariomycetes
 Sous-classe : Hypocreomycetidae
 Ordre : Hypocreales
 Famille : Clavicipitaceae
 Genre : *Metarhizium*
 Espèce : *Metarhizium. anisopliae* (Metschnikoff) Sorokin (1883)
 Basionyme : *Entomophthora anisopliae* Metschnikoff (1879)
 Synonymes : *Isaria destructor* Metschnikoff (1880)
 : *Oospora destructor* Delacroix (1893)
 : *Penicillium anisopliae* (Metschnikoff) Vuillemin (1904)
 : *Metarhizium album* Petch (1931)
 : *Metarhizium brunneum* Petch (1934)

1.3.2. Description

Metarhizium anisopliae est trouvé communément à travers le monde entier dans les zones tropicales , subtropicales, tempérées , et proche arctiques [106] , il a la capacité de survivre et persiste dans le sol ,où il vie en saprophyte [107; 108; 109;110; 111]. Il peut agir comme un parasite facultatif d'une large gamme d'insectes [112].

Les filaments mycéliens sont hyalins, cloisonnés et ramifiés. Les conidiophores se forment sur le mycélium et portent à leur extrémité, une couche palissadique de phialides, ils sont relativement courts irrégulièrement ramifiée ou non et arrangé en groupes compacts. Les conidiospores cylindriques, arrondies aux extrémités sont formées en chaînes basipètes de couleur verte ils sont classées suivant leur longueur, en deux formes : forma minor 6 à 8 μ , forma major 9 à 14 μ [103] (Figures 1.8).

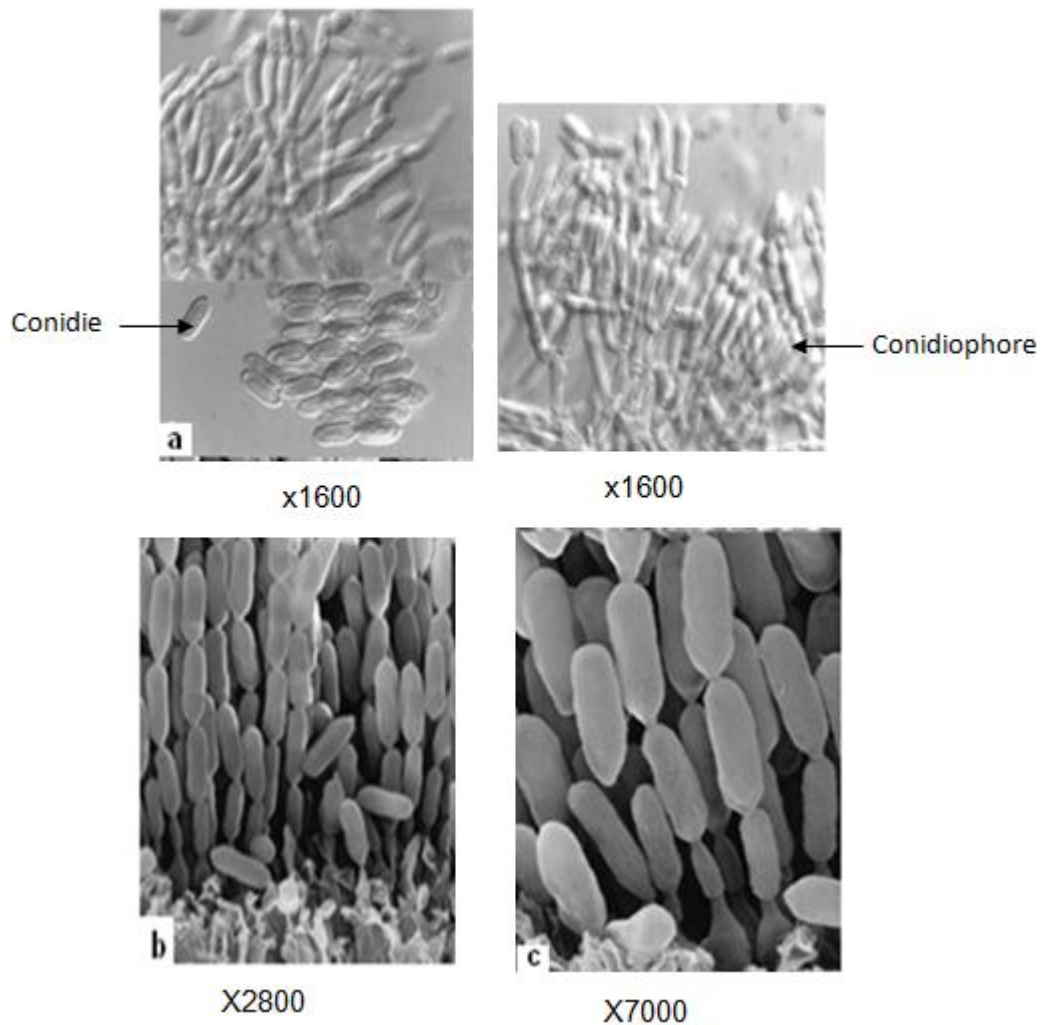


Figure 1.8 : Conidiophores et chaînes de conidies de *Metarhizium anisopliae* sous microscope électronique. [113]

1.3.3. Spectre de virulence

Nombreux sont les insectes, dans la nature, sont sensibles à la mycose à *Metarhizium anisopliae*. VEEN (1968) [114] a donné une liste de 204 espèces sensibles à ce champignon. Il est virulent sur l'agrile du frêne: *Agrilus planipennis* [115], sur la blatte germanique: *Blattella germanica* [116; 117], sur le termite: *Coptotermes heimi* [118] et sur la tique: *Rhipicephalus annulatus* [119; 120; 121; 122; 123].

Il infecte quasiment toutes les espèces acridiennes des familles *Acrididae* et *Pyrgomorphidae*, notamment *Schistocerca gregaria*, *Locusta migratoria*, *Locustana pardalina*, *Nomadacris septemfasciata*, *Oedaleus senegalensis* et d'autres espèces du complexe des criquets sahéliens [107].

1.3.4. Symptomatologie de l'infection

La maladie causée par ce champignon est appelée la muscardine verte à cause de la couleur verte de ses spores. Quand les spores (proprement appelés conidies) du champignon sont en contact avec le corps d'un insecte hôte, ils germent et les hyphes qui émergent pénètrent la cuticule. Le champignon se développe alors à l'intérieur du corps tuant l'insecte [124; 125]. La cuticule du cadavre devient souvent rouge. Si l'humidité ambiante est assez élevée, une moisissure blanche pousse sur le cadavre qui très tôt change en une couleur verte comme les spores produites [126] (Figure 1.9).



Figure 1.9: Emergence des spores de *Metharhizium anisopliae* ayant tué un cricquet [70].

1.3.5. Mode d'infection

Les spores adhèrent à la cuticule et elles germent [127; 128] (Figures 1.10 et 1.11). Généralement les insectes s'infectent par le tégument. Le filament mycélien traverse la cuticule et l'épiderme [129]. D'autres voies de pénétration peuvent être empruntées ce sont : les stigmates [130], le tube digestif [131], les voies génitales [132] et les pièces buccales [133].

La traversée tégumentaire se ferait selon deux modalités, la première phase est mécanique, elle serait due à la pression mécanique de structures analogues aux "apressoria" et la seconde phase est de nature enzymatique [134; 135; 136; 137; 138; 139; 140; 141; 142] (Figures 1.10 et 1.11). Ces enzymes

incluant: les protéases, chitinases et lipases [125; 143; 144; 145; 146; 147; 148; 149; 150; 151; 152].

La pénétration intrahémocoelienne du champignon est suivie d'une prolifération de blastospores produites par le bourgeonnement et la fragmentation du mycélium [153]. Ces formes de croissance circulent dans l'hémolymphe et éludent le système immunitaire, ils sont conçus pour généraliser l'infection du corps [154] (Figures 1.10 et 1.11).

La mortalité causée par les infections du *Metarhizium* est provoquée donc par la destruction mécanique des tissus, par épuisement de sucre circulatoire utilisé pour la nutrition et par l'élimination de l'eau et l'activité des mycotoxines telles que les destruxines A, B et E [155; 156; 157; 158], cytochalasines C et D [159], myroridines [160], viridoxines [161], swainsonines [162], et aurovertines [163].

Les cadavres sont souvent momifiés: transformés en sclérotes, tandis que le mycelium réapparaît sur le tégument et le recouvre d'un feutrage de filaments portant des fructifications [103] (Figure 1.11)

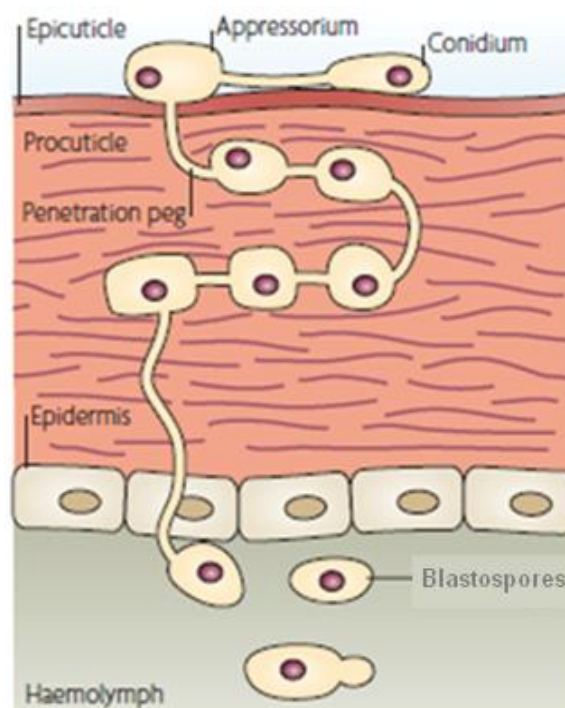


Figure 1.10: Mode de pénétration du champignon à travers la cuticule [155].

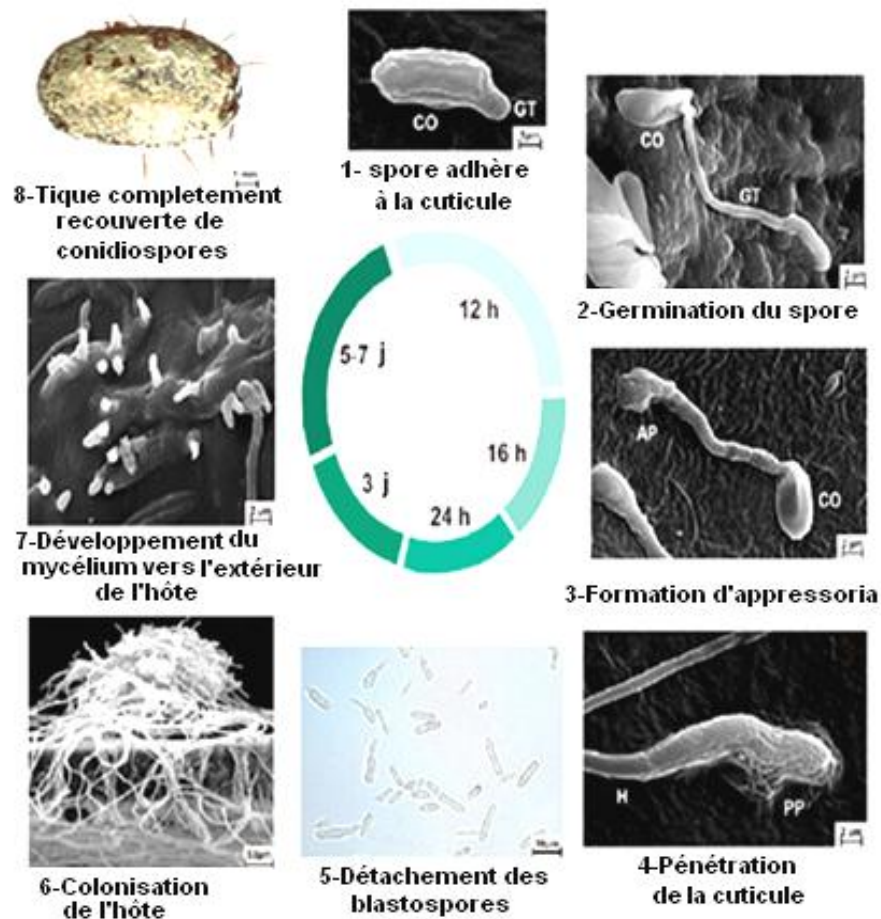


Figure 1.11: Processus d'infection de *Metarhizium anisopliae* sur une tique [164].

CO: Conidie ou spore ; GT: Tube germinatif ; AP: Appressoria; H: Hyphe ; h: heures; j: jours.

1.3.6. Utilisation de *Metarhizium anisopliae* en tant qu'agent de contrôle biologique

Puisque *M. anisopliae* infecte une large gamme d'insectes y inclus des insectes nuisibles, des entreprises partout dans le monde ont développé des biopesticides contenant les spores de ce champignon et l'intègre comme un élément de contrôle biologique des attaques des insectes nuisibles notamment le criquet pèlerin [140; 144; 165, 166; 167; 168; 169; 170; 171; 172; 173; 174; 175] (Tableau 1.3).

Tableau 1.3: Exemples d'utilisation de *Metarhizium anisopliae* pour le contrôle des attaques des ravageurs

Domaine d'application	Ravageur	Pays	Bibliographie
	Acridiens (<i>Orthoptera: Acrididae</i>)	Afrique, Brésil, Chine	[76; 170; 176]
Canne à sucre	<i>Spittlebug mahanarva spp. (Homoptera: Cercopidae)</i>	Brésil	[177; 178]
	<i>Dermolepida albohirtum (Coleoptera: Scarabaeidae)</i>	Australie	[179]
Betterave sucrière	<i>Tetanops myopaeformis (Diptera: Otitidae)</i>	Etats Unies d'Amérique	[180]
Palmier à huile	<i>Oryctes rhinoceros (Coleoptera: Scarabaeidae)</i>	Malaisie	[181]
	<i>Coptotermes curvignathus (Isoptera: Rhinotermitidae)</i>	Malaisie	[182]
Maïs	<i>Diabrotica virgifera (Coleoptera: Chrysomelidae)</i>	Union Européenne	[183]
Vigne	<i>Otiorhynchus sulcatus (Coleoptera: Curculionidae)</i>	Canada	[184]
		Union Européenne	[183]
Fraisier	<i>Otiorhynchus ovatus (Coleoptera: Curculionidae)</i>	Canada	[184]
Arbre fruitier	<i>Ceratitis capitata (Diptera: Tephritidae)</i>	Afrique	[185]
		Grec	[186]
Frêne	<i>Agrilus planipennis (Coleoptera: Buprestidae)</i>	Amérique du Nord	[187]
Terrains sportifs (stades, golfs)	<i>Phyllopertha horticola (Coleoptera: Scarabaeidae)</i>	Union Européenne	[183]
Poulet (volaille)	<i>Argas persicus (Acari: Argasidae)</i>	Iran	[188]
Chat	<i>Boophilus microplus (Acari: Ixodidae)</i>	Mexique	[189]
	<i>Rhipicephalus microplus (Acari: Ixodidae)</i>		[190]

Les métabolismes secondaires de *Metarhizium* sont aussi bénéfiques pour l'humanité, ils sont le plus souvent toxiques pour les insectes [141; 191; 192; 193], pour les champignons, les bactéries et les virus [160; 194].

Parmi ces composées bioactives les destruxines qui sont suggérés comme une nouvelle génération de pesticides [195; 196; 197; 198; 199]. Ils agissent par ingestion [200], et bloquent l'activité de tube de malpighie, des hémocytes et des tissus musculaires [201], la prise de nourriture et la mobilité diminue, l'insecte se paralyse et mort finalement [193; 176].

1.3.7. Multiplication in-vitro des champignons entomopathogènes

1.3.7.1. Isolement

L'isolement peut être effectué soit à partir du sol, soit à partir de l'insecte infecté.

La première méthode a l'avantage que le pathogène est disponible à tout moment et saison de l'année sans avoir recours à la recherche des insectes infectés [202]. TAJICK et *al.* (2009) [202], ont pu isoler neufs souches de *Metarhizium anisopliae* à partir du sol, et ils ont confirmé que toutes les souches obtenues secrètent des destruxines.

Dans le cas où la source du champignon est les cadavres d'insectes, on distingue deux cas:

Quant le cadavre est couvert de spores, on transférera quelques spores sur le milieu de culture qui sera mis à incuber à une température de 25 à 30 °C. Pour empêcher la prolifération des bactéries et des champignons saprophytes, il faudrait utiliser des milieux sélectifs aux champignons entomopathogènes [46].

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 dans l'eau distillée et stérilisée, après sa dissection, un peu du contenu du corps est étalé avec une boucle métallique sur un milieu sélectif et mis à incuber entre 25 à 30 °C [46].

1.3.7.2. Culture

Les colonies individuelles sont transférées sur un milieu nutritif comme le milieu de Molisch. Cette procédure doit être répétée en cas de contamination de boîte de Pétri par les colonies de saprophytes (*Penicillium*, *Aspergillus*...). Quand on obtient 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 [46].

La plupart des champignons 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 [46].

1.3.7.3. Conservation

On cultive la souche sur un milieu peu nutritif (agar avec pomme de terre et carotte ou agar avec pomme de terre et dextrose) dans des bouteilles fermées hermétiquement. Avec cette méthode la durée de la conservation peut aller à une année. Une submersion dans l'huile de paraffine prolonge même la survie à 5 ans [46].

1.3.8. Formulation des champignons entomopathogènes

La formulation à base d'huile tue les insectes plus rapidement qu'une formulation à base d'eau, elle est efficace même à basse humidité [178]. 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 à la pénétration ultérieure des hyphes [203].

CHAPITRE 2

MATERIEL ET METHODES

2.1. Objectifs

Au cours de l'infection des insectes par les champignons entomopathogènes, l'hyphe pénètre à travers le tégument par voie mécanique et enzymatique et engendre des perturbations au niveau de la cuticule [204]. La chitine et les protéines sont les principaux constituants de cette cuticule et les premiers affectés par l'attaque des maladies chitinolitiques [147].

Ce présent travail vise à montrer les perturbations causées par un traitement à base de l'entomopathogène *M.anisopliae var.acridum* au niveau de ces deux métabolites majeurs (protéine et chitine) de la cuticule des larves du 4^{ème} et du 5^{ème} stade de *S.gregaria*.

2.2. Matériel biologique

2.2.1. Le champignon *Metarhizium anisopliae var.acridum*

La souche de *Metarhizium anisopliae var.acridum* (code IMI: 330189) utilisée dans le présent essai nous a été fournie au cours de l'année 2010 par le département de lutte anti-acridienne de l'Institut National de la Protection des Végétaux d'El Harrach (INPV), sous forme du biopesticide nommé «Green Muscle», et qui l'utilise couramment dans les opérations de lutte contre les locustes.

Il est formulé en poudre sèche de couleur verte (Figure 2.1), correspondant à la couleur ordinaire de la souche. Sa concentration est de 5×10^{10} spores/g.



Figure 2.1: Poudre de *M.anisopliae*.

2.2.2. L'insecte: *Schistocerca gregaria*

La souche de *Schistocerca gregaria*, est une souche locale, originaire de la région OUED AMDED, wilaya de Tamanrasset. Les individus issus de cette zone ont été mis dans un élevage semi naturel au niveau de la base de lutte antiacridienne de Silet, à 80 Km Sud –ouest de la wilaya de Tamanrasset afin de servir de matériel pour des essais expérimentaux menés au laboratoire d'acridologie.

Les adultes issus de cet élevage sont collectés et transportés au niveau de département de lutte antiacridienne à l'Institut National de la Protection des Végétaux d'El harrach où un autre élevage est effectué à ce niveau. Ce dernier est réalisé dans une cage parallélépipédique en bois de dimension 120x60x45cm grillagée sur les deux côtés pour l'aération. Elle est munie de deux vitres coulissantes pour faciliter le nettoyage, le renouvellement de la nourriture et la vérification des pondoirs. Une lampe fixée en haut de cette cage qui en plus d'instaurer à l'intérieur une photopériode de 12 heures de lumière sur 12 heures

d'obscurité permet également le maintien d'une température d'élevage adéquate de $30 \pm 2^\circ\text{C}$ et une humidité relative de 80% (Figure 2.2).



Figure 2.2: Cage d'élevage des adultes de *Schistocerca gregaria* (Originale).

Quant à l'alimentation, elle est constituée principalement de nourriture fraîche à base de graminées telles que le gazon, de feuilles de laitue et un complément de son de blé.

Les femelles déposent leurs oothèques dans des pondoirs remplis du sable stérilisé et humidifié et qui sont placés dans les ouvertures à la base de la cage.

Les oothèques déposées dans les pondoirs sont récupérées et placées dans des pots contenant du sable humide désinfecté et recouvert d'une toile moustiquaire pour l'aération et sont mis sur les cages pour l'incubation. Le contrôle quotidien de l'humidité du sable et des éclosions des œufs est nécessaire, afin d'éviter le dessèchement des œufs et la mort des larves néonates.

Les larves néonates sont récupérées aussitôt après l'éclosion et sont mises dans une autre cage sans pondoirs de la même forme que celle des adultes

mais de taille légèrement inférieure. Les conditions d'élevage sont les mêmes que pour les adultes.

Le nettoyage et le renouvellement quotidien de l'aliment sont nécessaires pour préserver l'élevage de toute sorte d'infection.

2.3. Conduite de l'essai

2.3.1. Mode, dose et moment d'application du traitement sur les larves de *S.gregaria*

Le *Metarhizium* est appliqué sur les larves du 4^{ème} et du 5^{ème} stade de *S.gregaria* âgées de 2 jours, par une application topique de quantité 2,5 µl de suspension fongique à l'aide d'une micro-seringue au dessous du pronotum.

Les doses retenues correspondent aux DL50 déterminées par YOUCEF (2007) [11] chez les larves de 4^{ème} et de 5^{ème} stade de *S.gregaria* et qui sont respectivement $23,51 \times 10^6$ spores/ml et $31,74 \times 10^6$ spores/ml.

Les larves témoins ont été traitées par l'eau distillée stérile et sont soumis aux mêmes conditions d'expérimentation que les larves traitées.

Pour la détermination de la quantité de chitine et des protéines cuticulaires nous avons retenu 12 individus pour chaque stade (L4 et L5) aussi bien pour le lot témoin que pour le lot traité. Chaque individu correspond à une répétition. Le sacrifice est réalisé chaque trois jours.

L'étude électrophorétique des protéines a été menée sur le 4^{ème} stade larvaire où six individus ont été retenus aussi bien pour le lot témoin que le lot traité. Le sacrifice des individus est réalisé chaque trois jour.

2.3.2. Prélèvement de la cuticule

Le prélèvement de la cuticule a été réalisé selon la méthode citée par BORDEREAU et ANDERSON (1978) [205].

L'abdomen des individus témoins et traités est sectionné du reste du corps, ainsi que son extrémité postérieure. A l'aide de pinces fines, on enlève tout ce qui est viscères, muscle et tissus adipeux. Il est ensuite déposé entre deux feuilles de papier filtre pour enlever le reste de tissus pouvant adhérer à la cuticule. Par la suite, on le désinfecte avec de l'alcool dilué.

2.3.3. Détermination de la quantité et de taux de chitine et des protéines cuticulaires

La technique selon laquelle on s'est basé pour déterminer la quantité et le taux de chitine et de protéines cuticulaires est celle de BORDEREAU et ANDERSON (1978) [205].

Cette technique consiste à mettre la paroi abdominale dans un mélange éther-chloroforme (Volume/Volume:1/1) à température ambiante pendant 24 h, afin d'éliminer toutes traces lipidiques. Par la suite, la rincer à l'alcool 96°, et la sécher dans l'étuve à 60°C pendant une heure jusqu'à l'obtention d'un poids sec P1, constant.

Après le traitement par le NaOH (2N) à 100°C, pendant une durée de deux heures, pour hydrolyser les protéines, on obtient un résidu correspondant à la chitine. Celui-ci est récupéré et lavé à l'éthanol absolu, puis séché une 2^{ème} fois à 60°C jusqu'à l'obtention d'un second poids sec constant P2.

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

- P1: Poids sec de la cuticule (mg) sans lipide.
- P2: Quantité de la chitine (mg).

- P1-P2: Correspond à la teneur en protéines totales cuticulaires.
- Taux de protéines= $[(P1-P2)/P1] \times 100$.
- Taux de chitine= $(P2/P1) \times 100$.

2.3.4. Profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria*

2.3.4.1. Préparation de la poudre de cuticule

Selon TANG et *al.* (2010) [206], pour la préparation de la poudre, on pulvérise complètement les cuticules de l'abdomen des larves; témoins et traitées; avec l'azote liquide et on les écrase à l'aide d'un mortier et d'un pilon et on les stocke à -20°C jusqu'à l'utilisation. Les étapes de la préparation de la poudre de la cuticule sont présentées dans la figure ci-dessous:

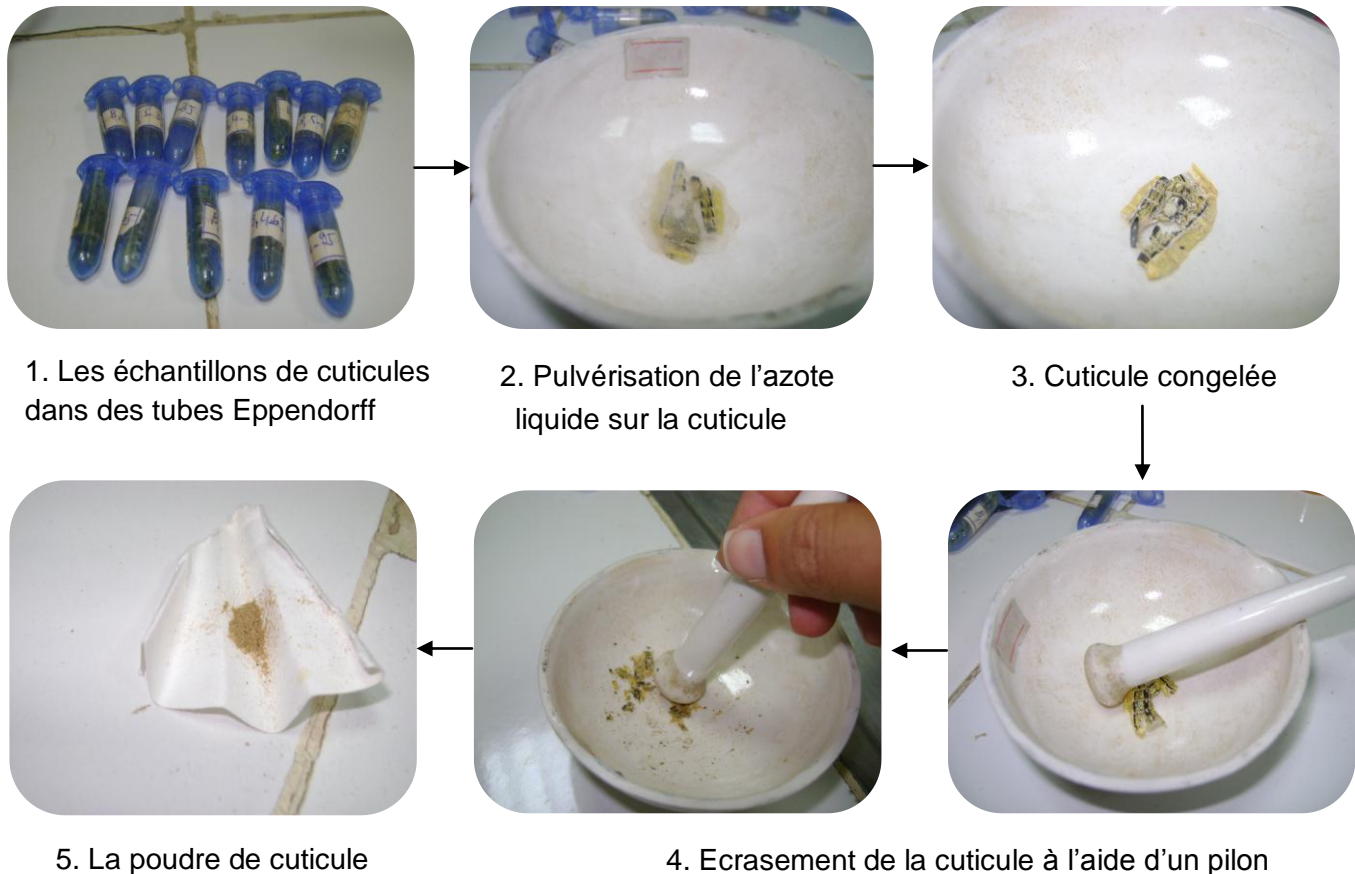


Figure 2.3: Etapes de préparation de la poudre cuticulaire des larves L4 de *S.gregaria* (Originale).

2.3.4.2. Séparation des protéines cuticulaires

Comme toute molécule chargée, les protéines peuvent se mouvoir dans un champ électrique, cette charge provient des groupements ionisables des chaînes latérales de certains acides aminés composant la protéine, on peut se servir de l'électrophorèse pour les séparer [207; 208].

La séparation des protéines est faite par une analyse électrophorétique dont le support de migration est le gel de polyacrylamide et les protéines ont été traitées au préalable avec le SDS (Sodium Dodecyl Sulfate), tel que préconisé par WEBER et OSBORNE(1960) cité dans ANONYME (2007) [208].

La polyacrylamide est un gel finement réticulé, que l'on fabrique au moment de l'emploi, en mélangeant de l'Acrylamide ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}_2$) qui polymérise en donnant des chaînes linéaires, et du Bis-acrylamide ou le N,N'-méthylène bis-acrylamide ($\text{CH}_2=\text{CH}-\text{CO}-\text{NH}-\text{CO}-\text{CH}=\text{CH}_2$) qui forme des ponts entre les chaînes (agent de réticulation); on obtient ainsi un réseau dont les mailles sont de tailles variables en fonction de la proportion d'acrylamide et de bis-acrylamide utilisés. Cette matrice électriquement inerte n'entrave pas la migration permettant donc une séparation des protéines à haute résolution [208].

Le Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) ($\text{CH}_3-(\text{CH}_2)_{10}-\text{CH}_2-\text{O}-\text{SO}_3^-, \text{Na}$), utilisé comme détergeant dans la préparation des échantillons avant l'électrophorèse, sert à dissocier les protéines pour qu'elles ne forment pas des agrégats impossible à séparer et sert aussi à dénaturer et détruire les structures secondaire, tertiaire et quaternaire des protéines, on dit qu'il les "linéarise", de plus il s'adsorbe sur les protéines et leur confère une charge négative donc on obtient des protéines de géométrie et de densité de charge uniforme la seule différence entre les protéines de l'échantillon devient leur masse; donc à toute fin pratique; leur taille [208].

2.3.4.3. Méthodologie de travail

2.3.4.3.1. Préparation et montage du gel de polyacrylamide

Le gel de polyacrylamide est constitué de 2 gel superposés verticalement, le premier est dite de concentration à 5% pH 6,8 à grandes mailles, permet d'initier la migration, et l'autre gel dite de migration à 10% pH 8,8 permet la séparation des sous unités de protéines [206].

La composition du gel de polyacrylamide est représentée dans le tableau 2.1.

Tableau 2.1: La composition du gel de migration et du gel de concentration

Composant	Gel de migration 10%	Gel de concentration 5%
Acrylamide- bisacrylamide 30%	2,66 ml	500 µl
Tris 1.5M pH8.8	2ml	-
Tris 0.5M pH 6.8	-	1ml
SDS 10%	80µl	40µl
Eau distillée	3,22 ml	2,43ml
APS 10% (Persulfat d'amonium)	50µl	30µl
TEMED	5µl	3µl

On nettoie les deux plaques en verre avec de l'alcool dilué, et on les fait monter sur le support et fixer en position verticale. On vérifie l'étanchéité des plaques avec de l'eau distillée.

Ensuite on coule le gel de 10% entre les deux plaques à l'aide d'une micropipette avant que le gel n'ait eu le temps de gélifier, après qu'il se polymérise on fait couler au dessus le gel à 5% de la même manière et on enchâsse le peigne pour avoir des puits et qui sont destinés à contenir les échantillons à analyser.

Après la polymérisation du gel on retire le peigne. On place les deux plaques de verres contenant le gel polymérisé dans la cellule d'électrophorèse. Par la suite on remplit la cellule par le tampon de migration (Tableau C.1; appendice C)

2.3.4.3.2. Préparation des échantillons

La méthode adaptée pour préparer les échantillons est celle de TANG et *al.* (2010) [206].

On fait suspendre chaque échantillon de la poudre de cuticule dans 1ml de PBS (pH 7,4) et on ajoute à chaque échantillon 0,5ml de SDS 2% et on le laisse incuber à la température ambiante pendant toute la nuit. Par la suite, on le passe à la centrifugeuse à raison de 6000 tours/min pendant 20mn pour séparer les parties solides de liquide.

On sépare le culot du surnageant, puis on introduit chacun dans l'électrophorèse pour caractériser les protéines correspondantes.

On ajoute à chaque échantillon à volume égale 1:1 de tampon de Laemmli. On place les échantillons dans un bain Marie et on les laisse bouillir à 90°C pendant 10 mn.

Par la suite, on dépose au fond de chaque puit creusé dans le gel d'acrylamide 20µl de chaque échantillon en parallèle avec une protéine standard ou étalon; le marqueur Promega dont les poids moléculaires sont: 225, 150, 100, 75, 50, 35, 25, 15 et 10 KDa [209].

2.3.4.3.3. Séparation des protéines

On relie l'appareil à un générateur de courant électrique, la tension appliquée est de 100 volts jusqu'à la limite du gel de concentration, ensuite 120 volts jusqu'à la fin de la migration, quand le bleu de bromophénol atteint le bas du gel. La migration dure environ une heure et trente minutes.

2.3.4.3.4. Fixation et coloration des protéines

Après avoir enlevé les plaques, on démonte les gels et on les trempe dans une solution de coloration pour environ six heures. Par la suite, on les trempe dans une solution de décoloration (Tableau C1; appendice C).

A la fin de cette décoloration on obtient un gel transparent avec des bandes de protéines colorées en bleu de Coomassi.

La figure 2.4 présente les étapes de l'électrophorèse. Le Matériel et les produits utilisés pour l'électrophorèse et les solutions préparées sont mentionnés en appendice C.

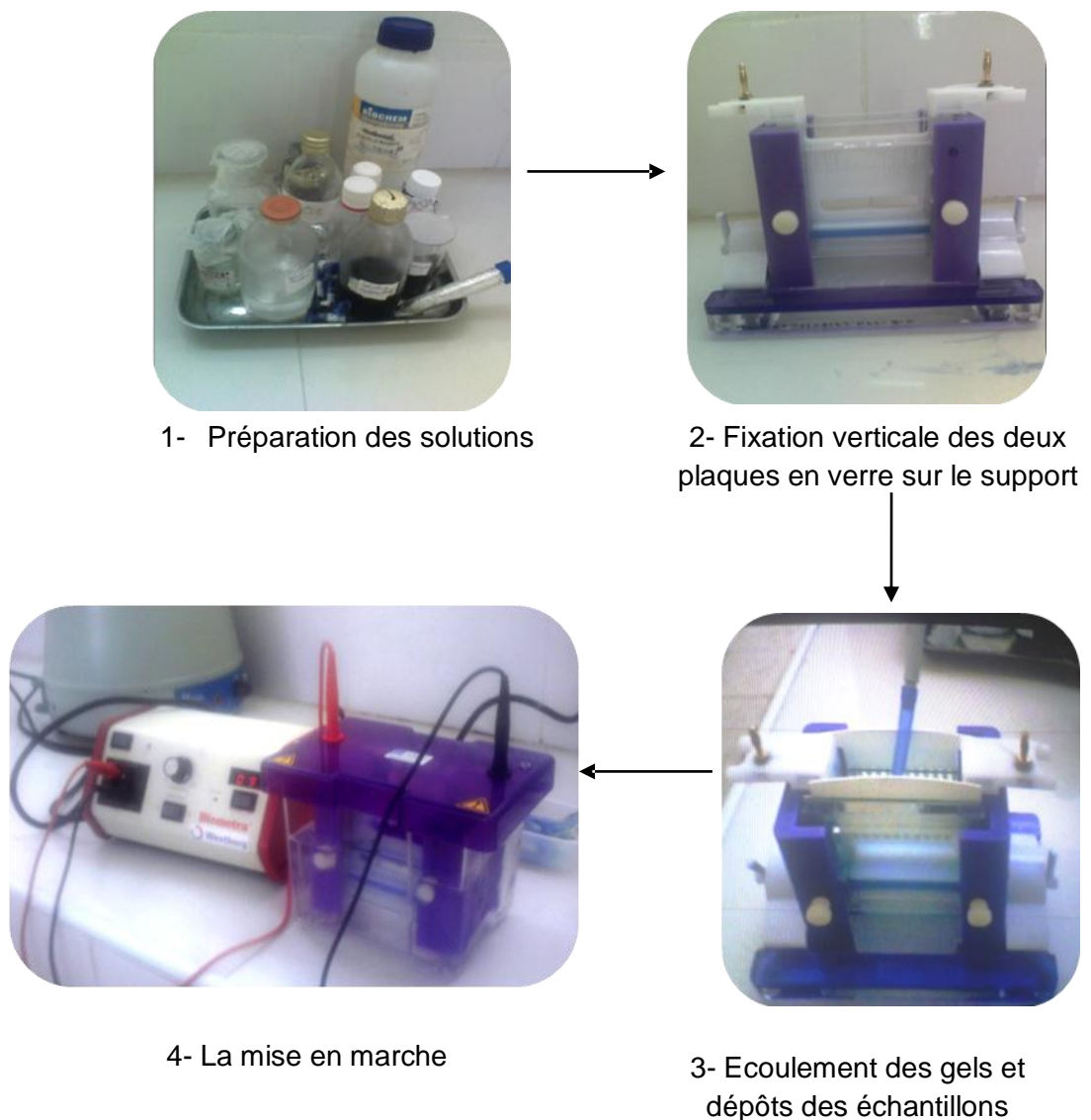


Figure 2.4: Etapes de l'électrophorèse des protéines cuticulaires(Originale).

2.3.4.3.5. Analyse de profil électrophorétique et estimation de la masse moléculaire (PM) des protéines

On détermine la migration des différentes bandes; étalon et échantillons; par le calcul du R_f (mobilité relative) qui est le rapport entre la distance de migration de la protéine et le front d'ions déterminé par la position de l'indicateur coloré qui est le bleu de bromophénol [208]. La mobilité relative (R_f) est déterminée par la formule suivante:

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

Par la suite, on mentionne sur le tableau 2.2 la mobilité relative (R_f) des marqueurs promega, les poids moléculaires et le logarithme décimal du poids moléculaire (Log PM) et on trace la courbe de calibration (courbe de référence) exprimant le logarithme décimal du poids moléculaire (PM) en fonction de la mobilité relative (Figure 2.5).

Tableau 2.2: Poids moléculaires (PM) et mobilités relatives (R_f) des marqueurs promega

R_f	PM (KDa)	Log PM (KDa)
0,036	225	2,35
0,071	150	2,17
0,101	100	2
0,132	75	1,87
0,223	50	1,69
0,340	35	1,54
0,472	25	1,39
0,760	15	1,17
0,946	10	1

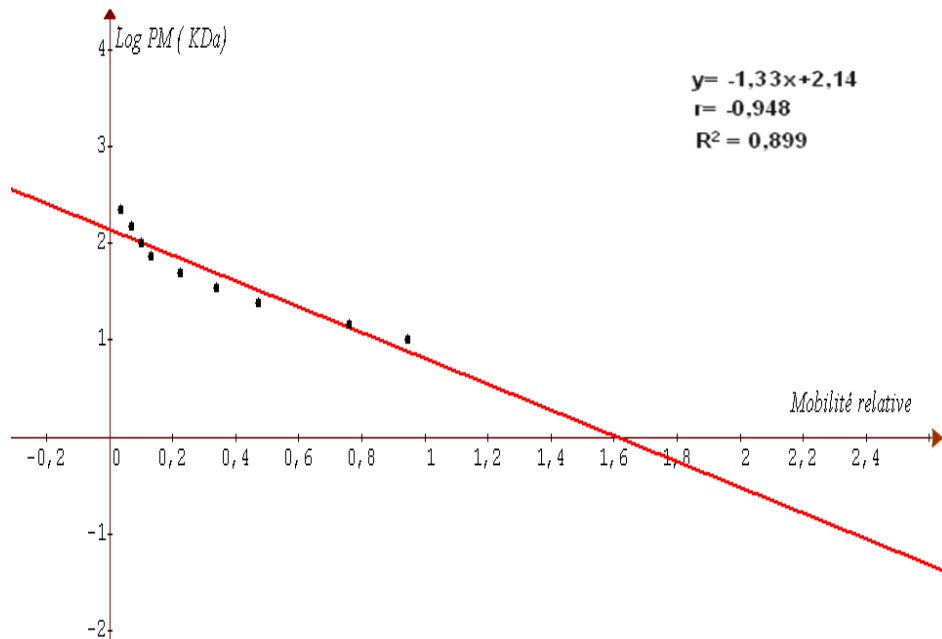


Figure 2.5: Courbe de référence exprimant le logarithme décimal du poids moléculaire (PM) en fonction de la mobilité relative (R_f) des protéines marqueurs.

On peut alors déterminer la taille des protéines des échantillons témoins et traitées à l'aide de la courbe de référence et les valeurs de R_f obtenues (relation linéaire).

Les bandes protéiques de la cuticule abdominale des larves L4 témoins et traitées sont ensuite répertoriées visuellement selon deux critères: leur présence ou absence et leur intensité.

2.4. Analyse statistique des résultats

Afin d'exploiter nos résultats, nous avons utilisé l'analyse de la variance à intervalle de confiance de 95%. Le traitement des données est effectué à l'aide du logiciel SYSTAT version 7.0.

CHAPITRE 3

RESULTATS

3.1. Effet de *M.anisopliae var.acridum* sur la cuticule abdominale des larves de *S.gregaria*

3.1.1. Effet de *M.anisopliae var.acridum* sur le poids sec de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*

Les résultats de l'évolution du poids sec moyen (Données brutes: tableau D.1; appendice D) de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae* sont consignés dans le tableau 3.1 et représentés par la figure 3.1.

Tableau 3.1: Evolution du poids sec moyen (mg) de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae*

Stade	Lot	N	Jours			
			1j (m±Et)	3j (m±Et)	6j (m±Et)	9j (m±Et)
L4	Témoins	12	3,3±0,5	4,13±0,41	7,6±2,03	8,5±2,99
	Traitées	12	3,53±0,83	3,26±0,46	5,2±0,43	4±0,46
L5	Témoins	12	9,26±1,16	13±1,97	14,26±0,81	15,7±0,69
	Traitées	12	9,23±1,81	6,93±1,47	7,86±1,67	7,5±4,50

m: Moyenne; Et: Ecart type

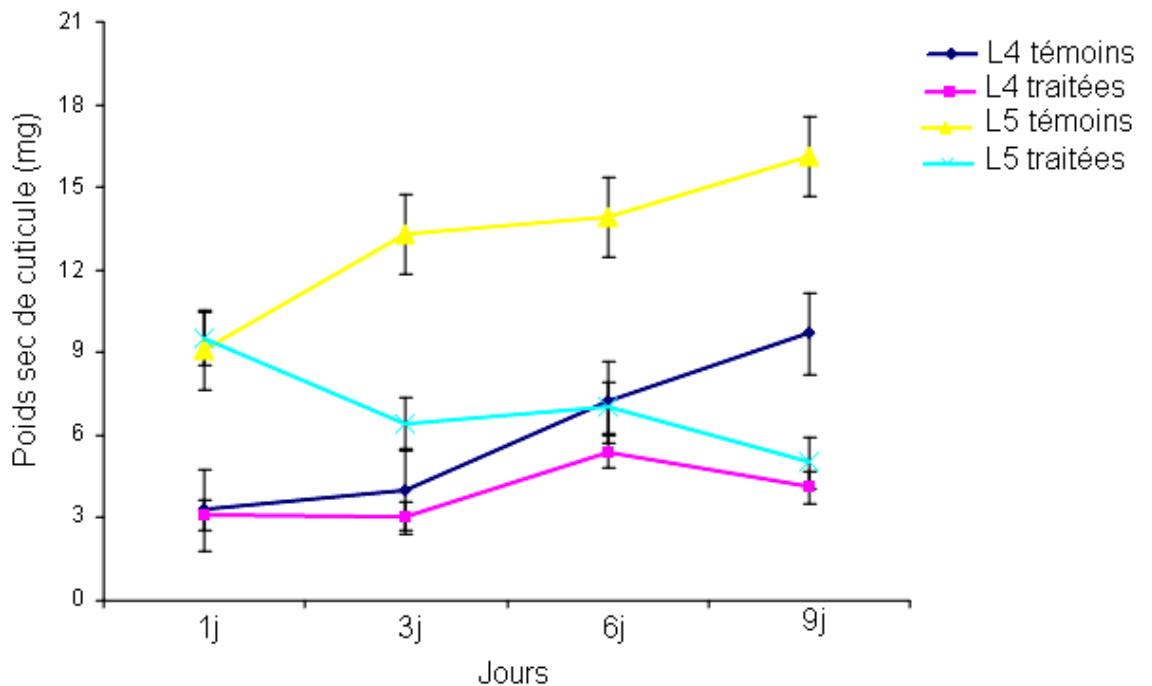


Figure 3.1: Evolution du poids sec de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*; témoins et traitées au *M.anisopliae*

Selon le tableau 3.1 et la figure 3.1, le poids sec moyen de la cuticule abdominale progresse positivement dans le temps chez les larves du 4^{ème} et du 5^{ème} stade du lot témoin. En effet, chez les larves L4 témoins le poids sec moyen est passé de 3,3mg à 8,5mg du même jour de traitement jusqu'au 9^{ème} jour après traitement, et il est passé de 9,26mg à 15,7mg du même jour de traitement au 9^{ème} jour après traitement chez les larves L5 témoins.

Le traitement a provoqué une diminution du poids sec moyen de la cuticule abdominale chez les individus traités par rapport aux témoins de même âge. Cette diminution est maintenue dans le temps. En effet, le poids sec moyen a diminué chez les larves L4 de 4,13mg à 3,26mg au 3^{ème} jour après traitement, de 7,6mg à 5,2mg au 6^{ème} jour et de 8,5mg à 4mg au 9^{ème} jour après traitement, et il a diminué chez les larves L5 de 13mg à 6,93mg au 3^{ème} jour après traitement, de 14,26mg à 7,86mg au 6^{ème} jour et de 15,7mg à 7,5mg au 9^{ème} jour après traitement.

On remarque aussi que le poids sec moyen de la cuticule abdominale chez les larves L4 témoins est inférieur à celui des larves L5 témoins, cette différence de poids est maintenue chez les larves traitées.

L'application de l'analyse de la variance aux résultats de l'évolution du poids sec de la cuticule abdominale des larves L4 et L5, témoins et traitées au *M.anisopliae* de *S.gregaria* en fonction du temps, fait ressortir les résultats représentés dans le tableau 3.2.

Tableau 3.2: Analyse de la variance concernant l'évolution du poids sec de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*; témoins et traitées au *M.anisopliae*

Sources	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F	<i>p</i>
Temps	3	62,246	20,749	6,679	0,001
Stade	1	366,860	366,860	118,088	0,000
Traitement	1	149,460	149,460	48,110	0,000
Temps*stade	3	4,237	1,412	0,455	0,716
Temps*traitement	3	65,671	21,890	7,046	0,001
Stade*traitement	1	32,505	32,505	10,463	0,003
Temps*stade*traitement	3	10,096	3,365	1,083	0,370

L'analyse de la variance (Tableau 3.2) appliquée sur les résultats de l'évolution du poids sec chez les individus du 4^{ème} et du 5^{ème} stade larvaire de *S.gregaria*, témoins et traités par le *M.anisopliae* fait ressortir des différences hautement significatives ($p < 0,001$) pour les facteurs temps, stade et traitement, ainsi que l'interaction temps –traitement.

3.1.2. Effet de *M.anisopliae* var.*acridum* sur la quantité de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*

Les résultats de l'évolution des quantités moyennes (Données brutes: tableau D.2; appendice D) de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et

L5 de *S.gregaria* témoins et traitées au *M.anisopliae*; sont consignés dans le tableau 3.3 et représentés par la figure 3.2.

Tableau 3.3: Evolution de la quantité moyenne (mg) de la chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae*

Stade	Lot	N	Jours			
			1j (m±Et)	3j (m±Et)	6j (m±Et)	9j (m±Et)
L4	Témoins	12	2,2±0,43	2,23±0,30	2,46±0,40	2,9±0,62
	Traitées	12	1,9±0,60	1,16±0,11	1,76±0,68	1,66±0,30
L5	Témoins	12	4,56±0,81	6,1±0,26	5,76±0,55	6,1±1,3
	Traitées	12	5,13±1,65	2,83±0,30	1,73±0,25	2,33±2,08

m: Moyenne; Et: Ecart type

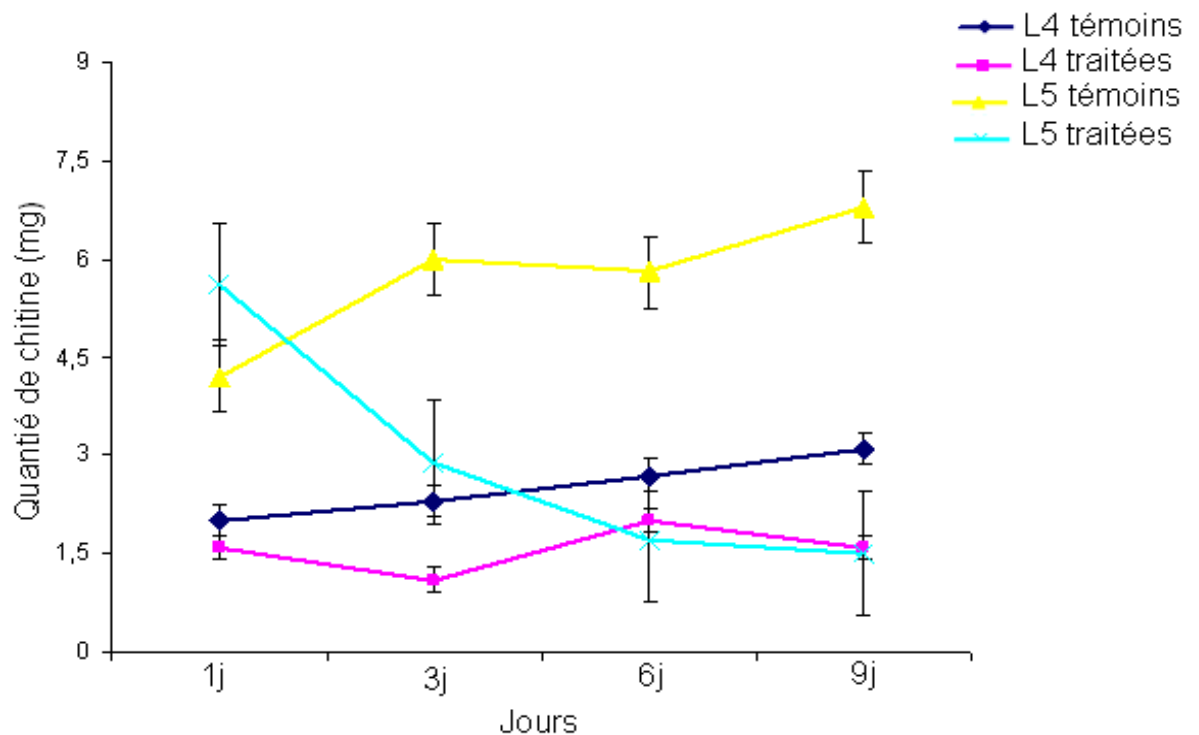


Figure 3.2: Evolution de la quantité de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae*

On remarque d'après le tableau 3.3 et la figure 3.2 que la quantité de chitine dans la cuticule abdominale évolue et progresse positivement dans le temps chez les larves du 4^{ème} et du 5^{ème} stade de *S.gregaria* du lot témoin. En effet, la quantité moyenne de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 témoins est passée de 2,2mg au même jour de traitement à 2,9mg au 9^{ème} jour après traitement, et chez les larves L5 témoins, elle est passée de 4,56mg au même jour de traitement à 6,1mg au 9^{ème} jour après traitement.

Le traitement a provoqué une diminution de la quantité de chitine dans la cuticule abdominale chez les individus traités par rapport aux témoins de même âge. Cette diminution est maintenue dans le temps. En effet, la quantité moyenne de chitine a diminué chez les larves L4 de 2,23mg à 1,16mg au 3^{ème} jour après traitement, de 2,46mg à 1,76mg au 6^{ème} jour et de 2,9mg à 1,66mg au 9^{ème} jour après traitement, et elle a diminué chez les larves L5 de 6,1mg à 2,83mg au 3^{ème} jour après traitement, de 5,76mg à 1,73mg au 6^{ème} jour et de 6,1mg à 2,33mg au 9^{ème} jour après traitement.

On note aussi que la quantité de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 témoins et traitées est inférieure à celle des larves L5 témoins et traitées respectivement.

L'application de l'analyse de la variance aux résultats de l'évolution de la quantité de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae* fait ressortir les résultats représentés dans le tableau 3.4.

Tableau 3.4: Analyse de la variance concernant l'évolution de la quantité de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae*.

Sources	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F	p
Temps	3	1,776	0,592	0,809	0,498
Stade	1	62,563	62,563	85,508	0,000
Traitement	1	35,708	35,708	48,803	0,000
Temps*stade	3	3,137	1,046	1,429	0,252
Temps*traitement	3	13,983	4,661	6,370	0,002
Stade*traitement	1	9,720	9,720	13,285	0,001
Temps*stade*traitement	3	7,620	2,540	3,472	0,027

L'analyse de la variance (Tableau 3.4) appliquée sur les résultats de l'évolution de la quantité de chitine dans la cuticule abdominale chez les individus du 4^{ème} et du 5^{ème} stade larvaire de *S.gregaria*, témoins et traités par le *M.anisopliae* fait ressortir des différences hautement significatives ($p < 0,001$) pour les facteurs, stade et traitement, ainsi que l'interaction temps –traitement, stade-traitement et l'interaction temps-stade-traitement ($p < 0,05$).

3.1.3. Effet de *M.anisopliae* var. *acridum* sur le taux de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*

Les résultats de l'évolution des taux moyens (Données brutes: tableau D.3; appendice D) de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria* témoins et traitées au *Metarhizium anisopliae* sont mentionnés dans le tableau 3.5 et représentés par la figure 3.3.

Tableau 3.5: Evolution de taux moyen (%) de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae*.

Stade	Lot	N	Jours			
			1j (m±Et)	3j (m±Et)	6j (m±Et)	9j (m±Et)
L4	Témoins	12	66,5±5,35	54,15±6,51	33,18±5,10	35,72±7,10
	Traitées	12	53,13±4,10	36,31±7,20	33,37±10,74	41,49±3,46
L5	Témoins	12	50,34±14,62	47,87±9,58	40,37±2,10	38,65±6,74
	Traitées	12	54,59±8,13	41,49±4,84	22,25±1,94	27,89±10,33

m: Moyenne; ET: Ecart type

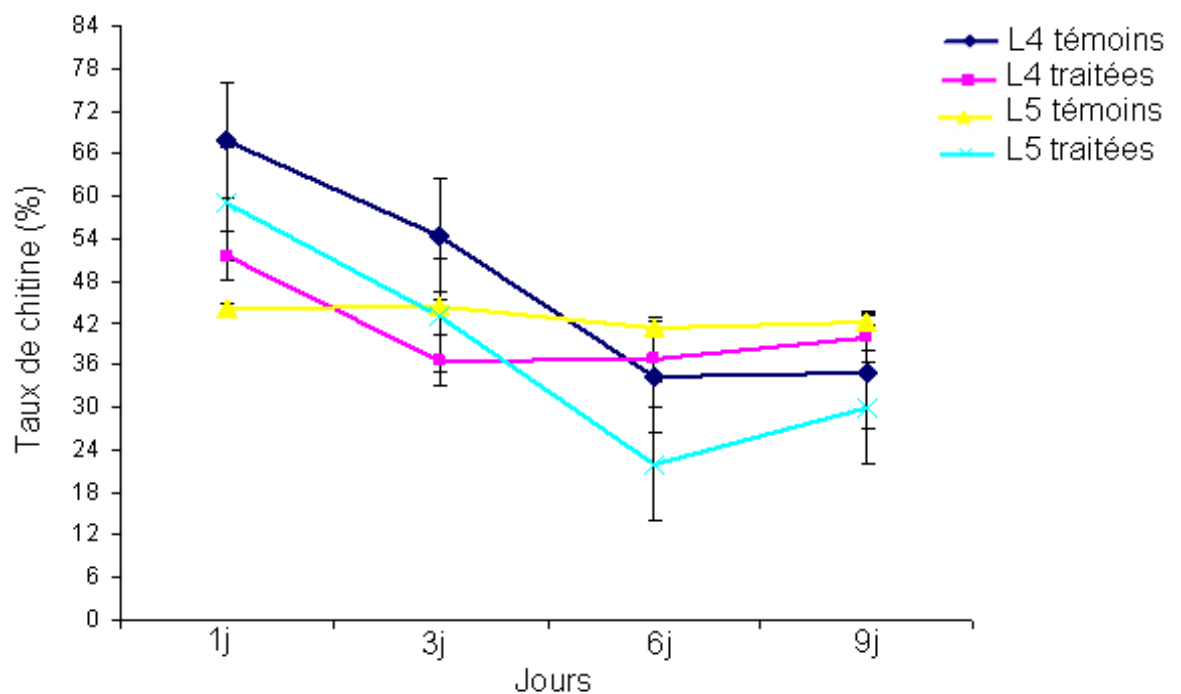


Figure 3.3: Evolution de taux de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae*

D'après le tableau et la figure précités, On remarque que le taux de chitine dans la cuticule abdominale diminue dans le temps chez les larves du 4^{ème} et du 5^{ème} stade de *S.gregaria* du lot témoin. En effet, le taux moyen de chitine dans la

cuticule abdominale des larves L4 témoins est passé de 66,5% au même jour de traitement à 35,72% au 9^{ème} jour après traitement, et chez les larves L5 témoins, il est passé de 50,34% au même jour de traitement à 38,65% au 9^{ème} jour après traitement.

Le traitement a provoqué une diminution de taux de chitine chez les larves L4 de 54,15% à 36,31% au 3^{ème} jour après traitement, et une augmentation de 33,18% à 33,37% au 6^{ème} jour et de 35,72% à 41,49% au 9^{ème} jour après traitement. Chez les larves L5, le traitement a provoqué une diminution d'une façon continue de ces taux. En effet chez les larves traitées, ce taux a diminué de 47,87% à 41,49% au 3^{ème} jour après traitement, de 40,37% à 22,25% au 6^{ème} jour et de 38,65% à 27,89% au 9^{ème} jour après traitement.

L'analyse de la variance des résultats de l'évolution de taux de chitine dans le temps chez les larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae* fait ressortir les résultats mentionnés dans le tableau 3.6.

Tableau 3.6: Analyse de la variance concernant l'évolution de taux moyen de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*; témoins et traitées au *M.anisopliae*.

Sources	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F	p
Temps	3	4070,671	1356,890	24,135	0,000
Stade	1	173,014	173,014	3,077	0,089
Traitement	1	593,121	593,121	10,550	0,003
Temps*stade	3	86,839	28,946	0,515	0,675
Temps*traitement	3	168,293	56,098	0,998	0,406
Stade*traitement	1	6,329	6,329	0,113	0,739
Temps*stade*traitement	3	781,289	260,430	4,632	0,008

L'analyse de la variance (Tableau 3.6) appliquée sur les résultats de l'évolution de taux de chitine dans la cuticule abdominale chez les individus du 4^{ème} et du 5^{ème} stade larvaire de *S.gregaria*, témoins et traités par le *M.anisopliae*

fait ressortir des différences significatives ($p < 0,05$) pour les facteurs temps et traitement, ainsi que l'interaction temps-stade-traitement.

3.1.4. Effet de *M.anisopliae var.acridum* sur la quantité de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*

Les résultats de l'évolution des quantités moyennes (Données brutes: tableau D.4; appendice D,) de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae* sont mentionnés dans le tableau 3.7 et représentés par la figure 3.4.

Tableau 3.7: Evolution de la quantité moyenne (mg) de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*; témoins et traitées au *M.anisopliae*.

Stade	Bloc	N	Jours			
			1j (m±Et)	3j (m±Et)	6j (m±Et)	9j (m±Et)
L4	Témoins	12	1,1±0,2	1,9±0,34	5,16±1,79	5,6±2,42
	Traitées	12	1,63±0,23	2,1±0,52	3,43±0,25	2,33±0,20
L5	Témoins	12	4,7±1,83	6,9±2,19	8,5±0,4	9,6±0,60
	Traitées	12	4,1±0,26	4,1±1,21	6,13±1,44	5,16±2,46

m: Moyenne; ET: Ecart type

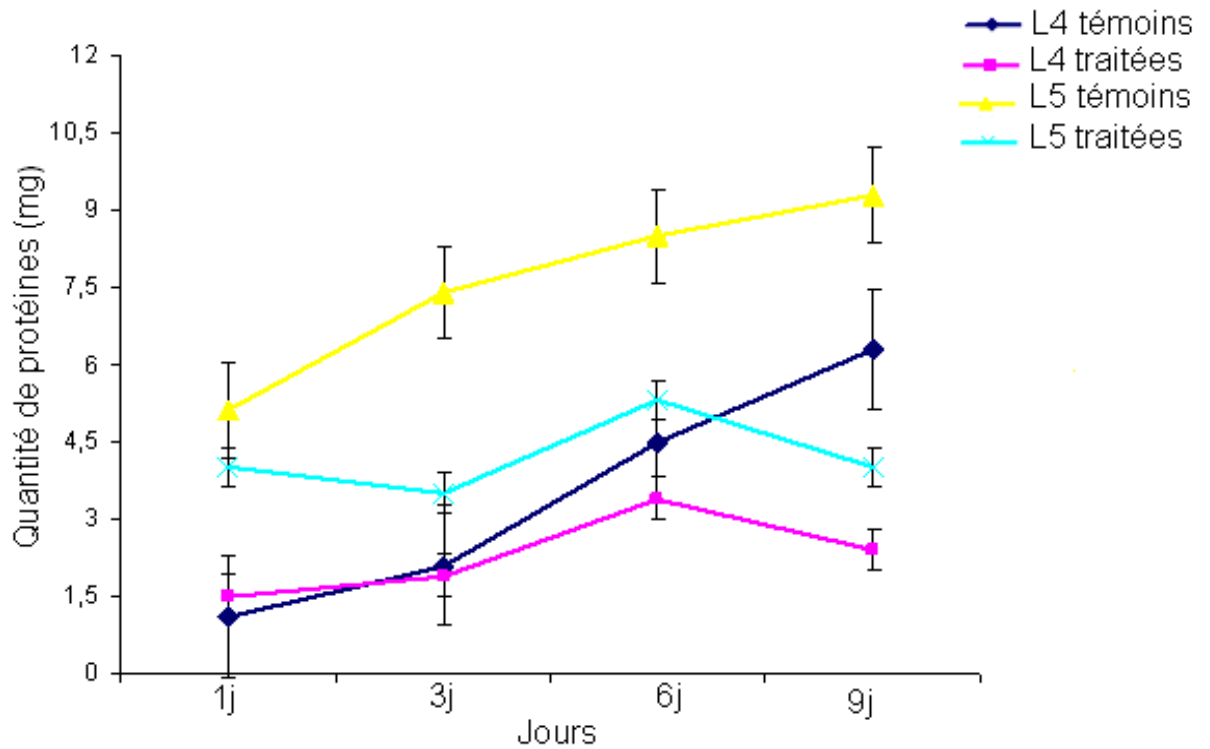


Figure 3.4: Evolution de la quantité de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*; témoins et traitées au *M.anisopliae*

On remarque d'après le tableau 3.7 et la figure 3.4 que la quantité de protéines dans la cuticule abdominale évolue et progresse positivement dans le temps chez les larves du 4^{ème} et du 5^{ème} stade de *S.gregaria* du lot témoin. En effet, la quantité moyenne de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 témoins est passée de 1,1mg au même jour de traitement à 5,6mg au 9^{ème} jour après traitement, et chez les larves L5 témoins, elle est passée de 4,7mg au même jour de traitement à 9,6mg au 9^{ème} jour après traitement.

Le traitement a provoqué une diminution de la quantité de protéines dans la cuticule abdominale chez les individus traités par rapport aux témoins de même âge. Cette diminution est maintenue dans le temps. En effet, la quantité moyenne de protéines a diminué chez les larves L4 de 5,16mg à 3,43mg au 6^{ème} jour après traitement, de 5,6mg à 2,33mg au 9^{ème} jour après traitement, et elle a diminué chez les larves L5 de 6,9mg à 4,1mg au 3^{ème} jour après traitement, de 8,5mg à 6,13mg au 6^{ème} jour et de 9,6mg à 5,16mg au 9^{ème} jour après traitement.

On note aussi que la quantité de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 témoins et traitées est inférieure à celle des larves L5 témoins et traitées respectivement.

L'application de l'analyse de la variance aux résultats de l'évolution de la quantité de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae* fait ressortir les résultats représentés dans le tableau 3.8

Tableau 3.8: Analyse de la variance concernant l'évolution de la quantité moyenne de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae*.

Sources	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F	<i>p</i>
Temps	3	74,926	24,975	14,307	0,000
Stade	1	126,425	126,425	72,424	0,000
Traitement	1	39,060	39,060	22,376	0,000
Temps*stade	3	0,552	0,184	0,105	0,956
Temps*traitement	3	22,884	7,628	4,370	0,011
Stade*traitement	1	6,675	6,675	3,824	0,059
Temps*stade*traitement	3	2,392	0,797	0,457	0,714

L'analyse de la variance (Tableau 3.8) appliquée sur les résultats de l'évolution de la quantité de protéines dans la cuticule abdominale chez les individus du 4^{ème} et du 5^{ème} stade larvaire de *S.gregaria*, témoins et traités par le *M.anisopliae* fait ressortir des différences hautement significatives ($p < 0,001$) pour les facteurs temps, stade et traitement, ainsi que l'interaction temps-traitement .

3.1.5. Effet de *M.anisopliae var.acridum* sur le taux de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*

L'évolution des résultats des taux moyens (Données brutes:tableau D.5; appendice D) de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de

S.gregaria, témoins et traitées au *Metarhizium anisopliae* sont consignés dans le tableau 3.9 et représentés par la figure 3.5.

Tableau 3.9: Evolution de taux moyen (%) des protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria* témoins et traitées au *M.anisopliae*.

stade	Lot	N	Jours			
			1j (m±Et)	3j (m±Et)	6j (m±Et)	9j (m±Et)
L4	Témoins	12	33,5±3,35	45,85±6,55	66,82±5,10	64,28±7,10
	Traitées	12	46,87±4,10	63,69±7,20	66,63±10,74	58,51±3,46
L5	Témoins	12	49,66±14,62	52,13±9,58	59,63±2,10	61,35±6,74
	Traitées	12	45,41±8,13	58,51±4,84	77,75±1,94	72,11±10,33

m: Moyenne; Et: Ecart type

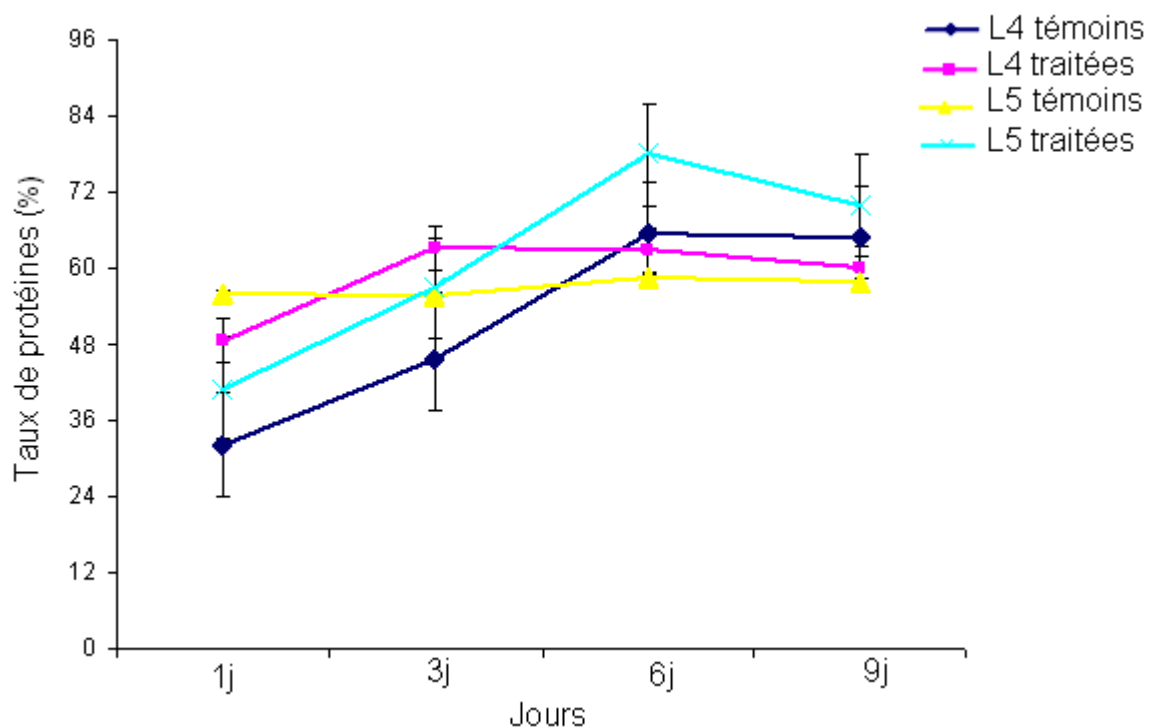


Figure 3.5: Evolution de taux de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae*.

Selon le tableau 3.9 et la figure 3.5, le taux de protéines dans la cuticule abdominale évolue et progresse positivement dans le temps chez les larves du 4^{ème} et du 5^{ème} stade de *S.gregaria* du lot témoin. En effet, le taux moyen de protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 témoins est passé de 33,5% au même jour de traitement à 64,28% au 9^{ème} jour après traitement, et chez les larves L5 témoins, elle est passée de 49,66% au même jour de traitement à 61,35% au 9^{ème} jour après traitement.

Le traitement a provoqué une augmentation de taux de protéines chez les larves de 4^{ème} stade traitées de 45,85% à 63,69% au 3^{ème} jour après traitement, et une diminution de 66,82% à 66,63% au 6^{ème} jour après traitement, et de 64,28% à 58,51% au 9^{ème} jour après traitement. Chez les larves L5 traitées, ce taux a augmenté de 52,13% à 58,51% au 3^{ème} jour après traitement, de 59,63% à 77,75% au 6^{ème} jour et de 61,35% à 72,11% au 9^{ème} jour après traitement.

L'application de l'analyse de la variance aux résultats de l'évolution de taux des protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae* fait ressortir les résultats représentés dans le tableau 3.10

Tableau 3.10: Analyse de la variance concernant l'évolution de taux moyen des protéines dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria*; témoins et traitées au *M.anisopliae*.

Sources	DDL	Somme des carrés	Carrés moyens	F	p
Temps	3	4070,671	1356,890	24,135	0,000
Stade	1	173,014	173,014	3,077	0,089
Traitement	1	593,121	593,121	10,550	0,003
Temps*stade	3	86,839	28,946	0,515	0,675
Temps*traitement	3	168,293	56,098	0,998	0,406
Stade*traitement	1	6,329	6,329	0,113	0,739
Temps*stade*traitement	3	781,289	260,430	4,632	0,008

L'analyse de la variance (Tableau 3.10) appliquée sur les résultats de l'évolution de taux de protéines dans la cuticule abdominale chez les individus du 4^{ème} et du 5^{ème} stade larvaire de *S.gregaria*, témoins et traités par le *M.anisopliae* fait ressortir des différences significatives ($p < 0,05$) pour les facteurs temps et traitement, ainsi que l'interaction temps-stade-traitement .

3.2. Effet de *M.anisopliae var.acridum* sur le profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria*

Le profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria*, témoins et traitées au *M.anisopliae* au 3^{ème}, 6^{ème} et au 9^{ème} jour après traitement est présenté dans les figures 3.6; 3.7; 3.8 et 3.9.

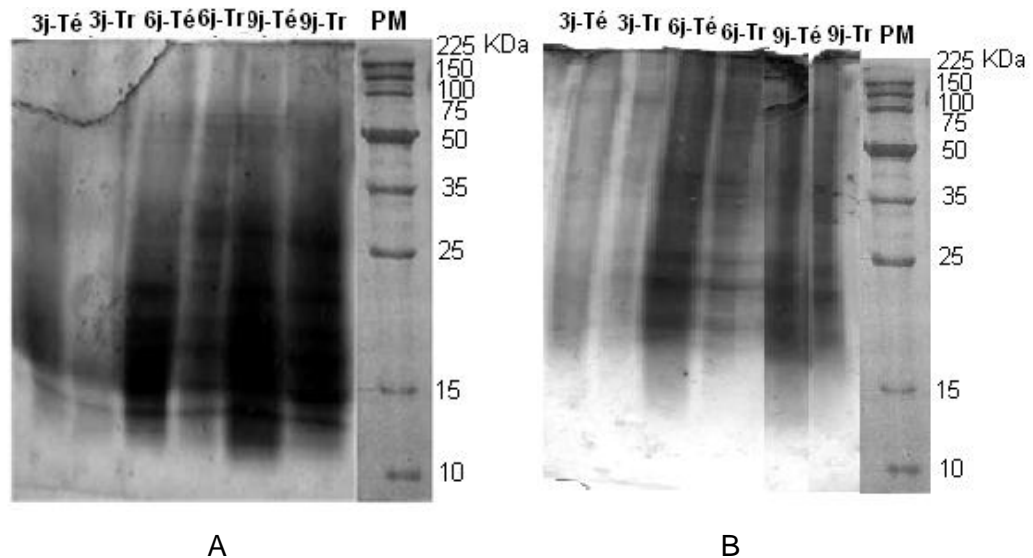


Figure 3.6: Photo de profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 témoins et traitées au *M.anisopliae*, au 3^{ème}, au 6^{ème} et au 9^{ème} jour après traitement.

A: Profil électrophorétique relevé à partir du surnageant.

B: Profil électrophorétique relevé à partir du culot.

Té: Témoin

Tr: Traité

j: Jour

PM: Protéines marqueurs.

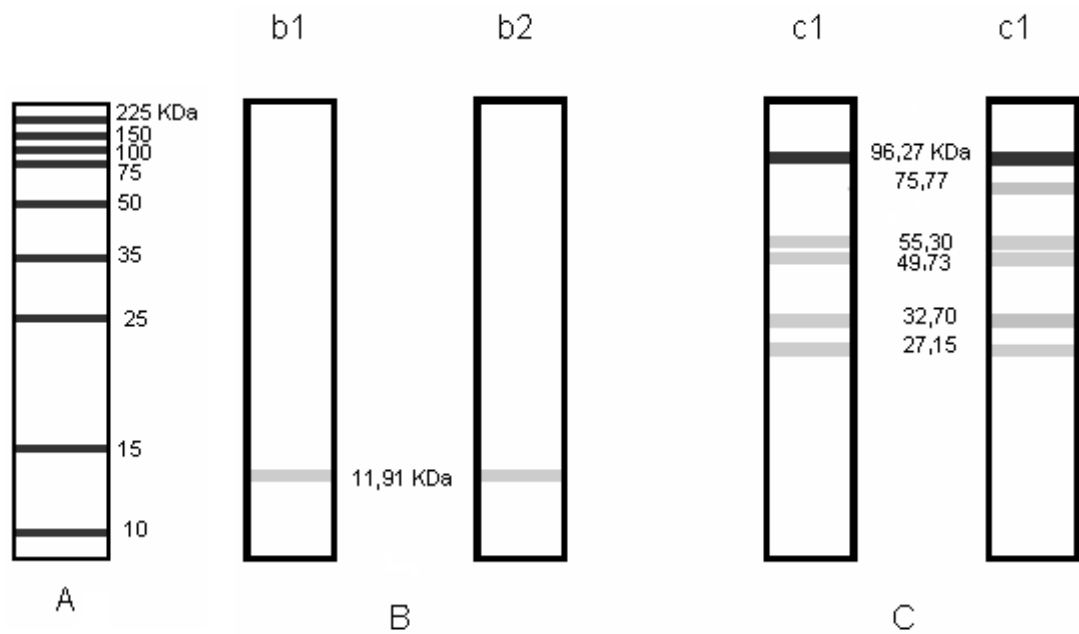


Figure 3.7: Schéma de la séparation électrophorétique sur SDS-PAGE des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria* témoins et traitées au *M.anisopliae* au 3^{ème} jour après traitement.

A: Protéines marqueurs.

B: Profil relevé à partir du surnageant. (b1: témoin, b2: traité)

C: Profil relevé à partir du culot. (c1: témoin, c2: traité)

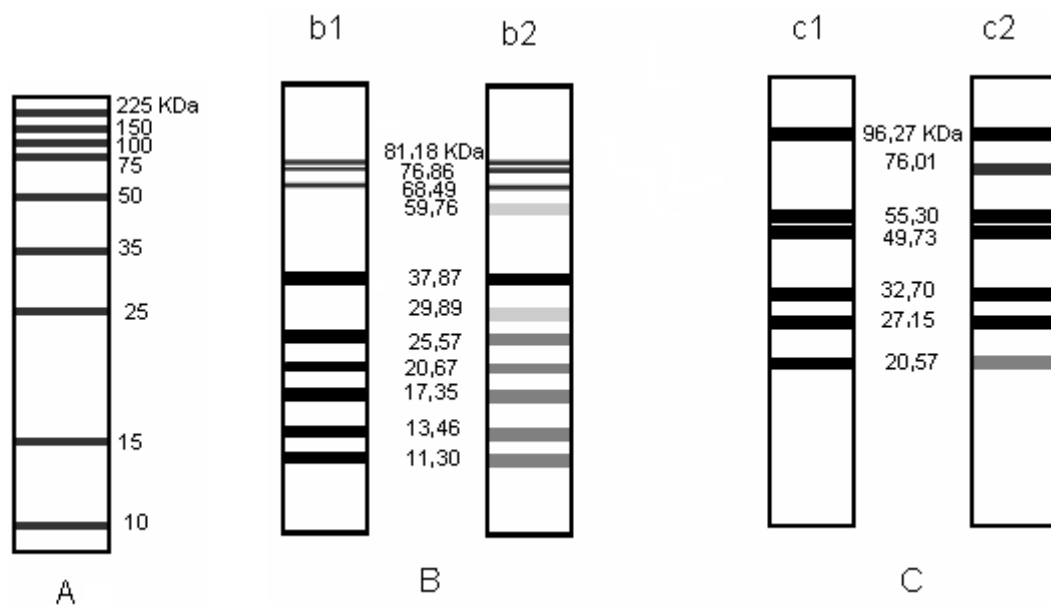


Figure 3.8: Schéma de la séparation électrophorétique sur SDS-PAGE des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria* témoins et traitées au *M.anisopliae* au 6^{ème} jour après traitement.

A: Protéines marqueurs.

B: Profil relevé à partir du surnageant. (b1: témoin, b2: traité)

C: Profil relevé à partir du culot. (c1: témoin, c2: traité)

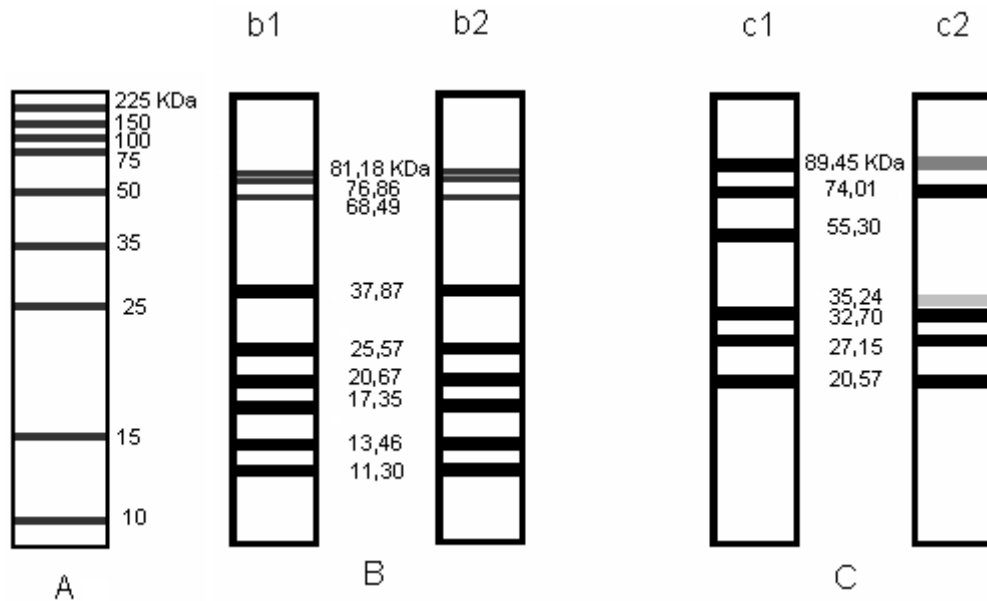


Figure 3.9: Schéma de la séparation électrophorétique sur SDS-PAGE des protéines de la cuticule de l'abdomen des larves L4 de *S.gregaria* témoins et traitées au *M.anisopliae* au 9^{ème} jour après traitement.

A: Protéines marqueurs.

B: Profil relevé à partir du surnageant. (b1: témoin, b2: traité)

C: Profil relevé à partir du culot. (c1: témoin, c2: traité)

3.2.1. Effet de *M.anisopliae var.acridum* sur le profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria* au 3^{ème} jour après traitement

L'électrophorèse sur PAGE- SDS des protéines cuticulaires de la série témoin au 3^{ème} jour a mis en évidence 6 fractions protéiques. Une fraction révélée dans le surnageant caractérisée par une mobilité relative (R_f) de 0,800 et un poids moléculaire (PM) de 11,91KDa (Figure 3.7 et tableau 3.11) et cinq autres fractions révélées dans le culot caractérisées par une mobilité relative (R_f) qui varie de 0,513 à 0,117, et un poids moléculaire (PM) qui varie de 27,15KDa à 96,27KDa (Figure 3.7 et tableau 3.12).

Comparativement aux témoins, le traitement avec *M.anisopliae* a engendré une augmentation de nombre de fractions protéiques de six à sept fractions. En effet, on a noté dans le culot l'apparition d'une fraction

supplémentaire, il s'agit de la fraction n°2 caractérisée par une mobilité relative (R_f) de 0,195 et un poids moléculaire (PM) de 75,77KDa (Figure 3.7 et tableau 3.12).

Tableau 3. 11: Mobilités relatives (R_f) et Poids moléculaires (PM) des protéines du surnageant de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria* témoins et traitées au *M.anisopliae* au 3^{ème} jour après traitement.

N° de bande	Témoins			Traitées		
	R_f	Log PM (kDa)	PM (KDa)	R_f	Log PM (kDa)	PM (KDa)
1	0,800	1,076	11,912-	0,800	1,076	11,912-

- Bande de faible intensité

Tableau 3. 12 : Mobilités relatives (R_f) et Poids moléculaires (PM) des protéines du culot de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria* témoins et traitées au *M.anisopliae* au 3^{ème} jour après traitement.

N° de bande	Témoins			Traitées		
	R_f	Log PM (kDa)	PM (KDa)	R_f	Log PM (kDa)	PM (KDa)
1	0,117	1,983	96,79	0,117	1,983	96,79
2	Absence de bande			0,195	1,879	75,77-
3	0,298	1,742	55,30-	0,298	1,742	55,30-
4	0,333	1,669	49,73-	0,333	1,669	49,73-
5	0,470	1,514	32,70-	0,470	1,514	32,70-
6	0,513	1,433	27,15-	0,513	1,433	27,15-

-Bande de faible intensité

3.2.2. Effet de *M.anisopliae var.acridum* sur le profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria* au 6^{ème} jour après traitement

Au 6^{ème} jour après traitement, l'étude électrophorétique des protéines cuticulaires nous a permis de séparer 16 fractions protéiques chez le témoin, neuf fractions dans le surnageant caractérisées par une mobilité relative (R_f) qui varie de 0,817 à 0,173 et présentent un poids moléculaire (PM) qui varie de 11,30 KDa à 81,18 KDa (Figure 3.8 et tableau 3.13) et six fractions dans le culot caractérisées par une mobilité relative (R_f) 0,621 à 0,117 et présentent un poids moléculaire (PM) qui varie de 20,57KDa à 96,27KDa (Figure 3.8 et tableau 3.14).

Par contre, chez la série traitée par le *M.anisopliae*, on a compté 19 fractions protéiques, deux fractions protéiques supplémentaires de faible intensité apparaissent dans le surnageant, il s'agit de la fraction n°4 d'une mobilité relative (R_f) de 0,273 et d'un poids moléculaire (PM) de 59,76KDa et de la fraction n°6 d'une mobilité relative (R_f) de 0,499 et d'un poids moléculaire de 29,89KDa, et on a enregistré de plus une diminution de l'intensité des fractions n°7, 8, 9, 10 et 11(Figure 3.8 et tableau 3.13).

Dans le culot des traitées par le *M.anisopliae*, on a noté l'apparition d'une nouvelle fraction protéique, c'est la fraction n°2 caractérisée par une mobilité relative (R_f) de 0,194 et un poids moléculaire (PM) de 76,01KDa, et une diminution de l'intensité de la fraction n°7 (Figure 3.8 et tableau 3.14).

Tableau 3.13: Mobilités relatives (R_f) et Poids moléculaires (PM) des protéines du surnageant de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria* témoins et traitées au *M.anisopliae* au 6^{ème} jour après traitement.

N° de bande	Témoins			Traitées		
	R_f	Log PM (kDa)	PM (KDa)	R_f	Log PM (kDa)	PM (KDa)
1	0,173	1,909	81,18	0,173	1,909	81,18
2	0,191	1,885	76,86	0,191	1,885	76,86
3	0,228	1,835	68,49	0,228	1,835	68,49
4	Absence de bande			0,273	1,776	59,76-
5	0,422	1,578	37,87+	0,422	1,578	37,87+
6	Absence de bande			0,499	1,475	29,89-
7	0,550	1,407	25,57+	0,550	1,407	25,57
8	0,620	1,315	20,67+	0,620	1,315	20,67
9	0,677	1,239	17,35+	0,677	1,239	17,35
10	0,760	1,129	13,46+	0,760	1,129	13,46
11	0,817	1,053	11,30+	0,817	1,053	11,30

+Bande de forte intensité

-Bande de faible intensité

Tableau 3.14: Mobilités relatives (R_f) et Poids moléculaires (PM) des protéines du culot de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria* témoins et traitées au *M.anisopliae* au 6^{ème} jour après traitement

N° de bande	Témoins			Traitées		
	R_f	Log PM (kDa)	PM (KDa)	R_f	Log PM (kDa)	PM (KDa)
1	0,117	1,983	96,27+	0,117	1,983	96,27+
2	Absence de bande			0,194	1,880	76,01
3	0,298	1,742	55,30+	0,298	1,742	55,30+
4	0,333	1,696	49,73+	0,333	1,696	49,73+
5	0,470	1,514	32,70+	0,470	1,514	32,70+
6	0,531	1,433	27,15+	0,531	1,433	27,15+
7	0,621	1,313	20,57+	0,621	1,313	20,57

+Bande de forte intensité.

3.2.3. Effet de *M.anisopliae var.acridum* sur le profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria* au 9^{ème} jour après traitement

Au 9^{ème} jour après traitement, l'étude électrophorétique des protéines cuticulaires nous a permis de séparer 16 fractions protéiques chez le témoin, neuf fractions dans le surnageant caractérisées par une mobilité relative (R_f) qui varie de 0,817 à 0,173 et présentent un poids moléculaire (PM) qui varie de 11,30KDa à 81,18KDa (Figure 3.9 et tableau 3.15) et six fractions dans le culot caractérisées par une mobilité relative (R_f) qui varie de 0,621 à 0,141 et présentent un poids moléculaire (PM) qui varie de 20,57KDa à 89,45KDa (Figure 3.9 et tableau 3.16).

Chez les traitées, le même nombre de fractions protéiques a été révélé. En effet, dans le surnageant, on a révélé le même nombre de fractions protéiques avec la même intensité que celui des témoins (Figure 3.9 et tableau 3.15) et dans le culot, on a constaté la disparition d'une fraction, il s'agit de la fraction n°3 d'une mobilité relative (R_f) de 0,298 et d'un poids moléculaire (PM) de 55,30KDa et l'apparition d'une nouvelle fraction à faible intensité, il s'agit de la fraction n°4 d'une mobilité relative (R_f) de 0,445 et d'un poids moléculaire (PM) de 35,24KDa. Cependant on a noté de plus une diminution de l'intensité de la fraction n°1 (Figure 3.9 et tableau 3.16).

Tableau 3.15: Mobilités relatives (R_f) et Poids moléculaires (PM) des protéines du surnageant de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria* témoins et traitées au *M.anisopliae* au 9^{ème} jour après traitement.

N° de bande	Témoins			Traitées		
	R_f	Log PM (kDa)	PM (KDa)	R_f	Log PM (kDa)	PM (KDa)
1	0,173	1,909	81,18	0,173	1,909	81,18
2	0,191	1,885	76,86	0,191	1,885	76,86
3	0,228	1,835	68,49	0,228	1,835	68,49
4	0,422	1,578	37,87+	0,422	1,578	37,87+
5	0,550	1,407	25,57+	0,550	1,407	25,57+
6	0,620	1,315	20,67+	0,620	1,315	20,67+
7	0,677	1,239	17,35+	0,677	1,239	17,35+
8	0,760	1,129	13,46+	0,760	1,129	13,46+
9	0,817	1,053	11,30+	0,817	1,053	11,30+

+ Bande de forte intensité

Tableau 3.16: Mobilités relatives (R_f) et Poids moléculaires (PM) des protéines du culot de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria* témoins et traitées au *M.anisopliae* au 9^{ème} jour après traitement.

N° de bande	Témoins			Traitées		
	R_f	Log PM (kDa)	PM (KDa)	R_f	Log PM (kDa)	PM (KDa)
1	0,141	1,951	89,45+	0,141	1,951	89,45
2	0,203	1,869	74,01+	0,203	1,869	74,01+
3	0,298	1,742	55,30+	Absence de bande		
4	Absence de bande			0,445	1,547	35,24-
5	0,470	1,514	32,70+	0,470	1,514	32,70+
6	0,531	1,433	27,15+	0,531	1,433	27,15+
7	0,621	1,313	20,57+	0,621	1,313	20,57+

+ Bande de forte intensité.

- Bande de faible intensité.

On a remarqué aussi que le nombre et l'intensité des bandes protéiques chez les larves témoins augmentent du 3^{ème} au 9^{ème} jour.

CHAPITRE 4

DISCUSSION

4.2. Effet de *M. anisopliae* var. *acridum* sur la cuticule abdominale des larves de *S.gregaria*

4.2.1. Effet de *M.anisopliae* var.*acridum* sur le poids sec de la cuticule abdominale des larves de *S.gregaria*

A travers les résultats obtenus, nous avons constaté que le poids sec de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria* témoins évolue au cours du temps. Ceci est déjà été mentionné par NOHRE et ANDERSON (1993) [210], qui ont expliqué qu'au moment de l'exuviation, le poids de la cuticule des insectes correspond à celui de l'exocuticule. Toute fois, l'augmentation du poids qui se produit au cours du stade, correspond au dépôt des nouvelles couches endocuticulaires. Vers la fin du stade larvaire le poids de la cuticule diminue suite à une dégradation graduelle des protéines et de la chitine pour préparer la mue suivante [210].

Le poids sec de la cuticule abdominale des larves L5 est supérieur à celui des larves L4, aussi bien chez les témoins que chez les traitées, ceci peut être expliqué par l'augmentation du poids de l'insecte d'un stade à autre [25].

Chez les individus L4 et L5 témoins de *S.gregaria*, les poids secs moyens des cuticules abdominales sont supérieurs à ceux des traitées par *M.anisopliae* à l'exception de poids sec de cuticule des larves L4 sacrifiées au même jour de

traitement, où le poids sec moyen de cuticule des individus traités est supérieur à celui des témoins.

Le traitement avec l'entomopathogène *M.anisopliae* des larves L4 et L5 de *S.gregaria* a entraîné une diminution significative du poids sec de la cuticule abdominale

Des résultats similaires ont été enregistrés par divers auteurs chez divers insectes; HALOUANE (1997) [10] a noté une diminution significative du poids sec de la cuticule sternale abdominale chez les larves L5 et les adultes de *S.gregaria* traitées par *M. anisopliae var acridum*. De même, BISSAAD et al. (2010) [211] ont enregistré une diminution significative du poids sec de la cuticule sternale abdominale des larves L5 de *S.gregaria* mâles et femelles traitées par le même chryptogame.

Aussi, une diminution du poids sec de la cuticule abdominale après l'utilisation des extraits des plantes, comme *Azadirachta indica* chez les adultes de *S.gregaria* et *Locusta mognatoria* [212], et l'application des dérégulateurs de croissance; l'Hexaflumuron chez *Locusta migratoria* [213] et le Diflubenzuron (DFB) chez *Cydia pomonella* [214]; a été constatée.

4.2.2. Effet de *M.anisopliae var.acridum* sur la quantité et le taux de chitine dans la cuticule abdominale des larves de *S.gregaria*

La chitine est un constituant important de la cuticule des insectes [215; 216] dont elle présente en générale près de 30% de sa masse totale [217]. La teneur en chitine tégumentaire diffère d'une espèce à une autre. En effet, la cuticule des fémurs d'imagos «pharates» de *Locusta migratoria* contient 22% de chitine par poids sec de cuticule [218]. La cuticule des larves de *Ceroplaste japonicus* et d'*Didesmococcus Koreanus* contient respectivement 4% et 8% de chitine par poids sec [204], et celle des larves de *Calliphora vomitoria* (linné, 1758) comprend 48,4% par poids sec [219].

Nos résultats ont montré que la quantité de chitine contenue dans la cuticule abdominale des larves L5 témoins et traitées de *S.gregaria* est nettement plus élevée que celle contenu dans la cuticule abdominale des larves L4 témoins et traitées respectivement.

Nos résultats mettent en évidence une réduction significative de la quantité et de taux de chitine dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria* traitées par le *M.anisopliae* ($p < 0.05$).

Dans la nature plusieurs organismes par le biais de leur équipement enzymatique sont capables de dégrader la chitine, comme c'est le cas des bactéries; *Bacillus chitonovor*, *Serratia*, *Pseudomonas*, *Vibrio*, et les bactéries aquatiques du genre *Aeromonas* [220], le cas des champignons; *Trichoderma*, *Beauveria*, *Aspergillus*, *Metarhizium...etc.* [221].

En effet la présence des chitinases extracellulaires de type acétyl-b-D-glucosaminidases facteur de virulence dans l'entomopathogène *M.anisopliae*; *M.flavoviride* et *Beauveria bassiana* [222]. Ces enzymes chitinolitiques sont induites lors de la pénétration primaire de l'hyphe dans la cuticule de *Manduca sexta* [223].

De même, ces enzymes chitinolitiques ont été identifiées lors de l'infection des larves L3 de *Helicoverpa armigera* [224], et *Rhipicephalus microplus* [217] par *M.anisopliae*. DE SILVA et al. (2005) [147], ont arrivé à caractériser le gène qui code le chitinase CHIT 30 dans *M.anisopliae var.acridum* au cours de sa pénétration dans la cuticule de tique *Boophilus microplus*.

Dans le même sens, chez les adultes de *S.gregaria* traités avec *M.anisopliae*, HALOUANE (1997) [10] a noté une réduction significative de la quantité et de taux de chitine dans la cuticule sternale abdominale. Chez les larves L5 de *S.gregaria*, ce même auteur a enregistré une diminution significative de la quantité et non significative de taux de chitine au niveau de la cuticule sternale abdominale.

Ce même traitement a diminué significativement la quantité de chitine dans la cuticule sternale abdominale des larves L5 mâles et femelles de *S.gregaria* [211]. De même, BOUHACEINE (1999) [225], a noté un effet significatif de traitement au *M.anisopliae* et au *Beauveria bassiana* sur la quantité et la teneur en chitine cuticulaire chez les larves L5 et les adultes de *S.gregaria*. Selon ST LEGER (1995). [226], ce champignon a produit le même effet sur le contenu en chitine de la cuticule chez le scarabée *Blaberus giganteus*.

En utilisant les dérégulateurs de croissance, le Teflubenzuron a diminué significativement la quantité et le taux de chitine dans la cuticule sternale abdominale des larves L5 et des adultes de *Locusta migratoria* [227], cette réduction est non significative pour celle traités à l'Hexaflumuron [213] et significative pour la teneur en chitine cuticulaire chez les adultes de *Locusta migratoria* traités par le Diflubenzuron [228].

Les facteurs externes tels que les températures trop basses ou trop élevées provoquent l'inhibition de la synthèse de la chitine chez les insectes [229].

4.2.3. Effet de *M.anisopliae var.acridum* sur la quantité et le taux de protéines dans la cuticule abdominale des larves de *S.gregaria*

La cuticule des insectes est en grande partie un composé biphasé d'élément fibreux de polysaccharide (chitine) inclus dans une matrice protéinique [230; 231]. XIE et al. (2010)[204], ont noté que le tégument des insectes est constitué de plus de 70% de protéines. Cette teneur en protéines cuticulaires varie d'une espèce à une autre. En effet, elle est de 72,0% et de 71,4% du poids sec de la cuticule abdominale chez respectivement *Rhodnius prolixus* et *Triatoma phyllosoma pallidepensis* [232], et 35,28% a été relevée chez *Calliphora vomitoria* [219], 72% chez *Ceroplaste japonicus* et 80% chez *Didesmococcus Koreanus* par poids sec de cuticule [204].

Selon nos résultats, on remarque que la quantité des protéines cuticulaires dans la cuticule abdominale des larves L5 est supérieure par rapport à

celle chez les larves L4 de *S.gregaria*, aussi bien chez les larves témoins que chez les larves traitées.

On note aussi une réduction significative de la quantité des protéines cuticulaires dans la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria* traitées au champignon.

Au cours de l'infection par l'entomopathogène, le tégument constitue une barrière contre la pénétration fongique, les protéases sont des enzymes qui facilitent le processus d'infection [136]. En effet, le *M.anisopliae* produit la protéinase extracellulaire Pr1 (subtilisine), qui est adaptée pour dégrader les protéines cuticulaires des insectes [233], elle est localisée et détectée dans la cuticule hôte au cours de la pénétration [234].

Le *M.anisopliae* a provoqué une protéinémie chez *Manduca sexta* sous l'action de la protéinase extracellulaire Pr2 (trypsine) sécrétée par l'appressoria lors de la pénétration de la cuticule [226].

Le champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* déclenche une intense activité enzymatique de Pr1 (subtilisine) et Pr2 (trypsine) lorsqu'il est incubé dans un milieu qui contient la cuticule de *Rhammatocerus schistocercoides* [235], et dans un milieu de culture contenant la cuticule de scolyte des fruits de caféier *Hypothenemus hampei* [236].

Un tel cas a déjà été noté chez d'autres champignons entomopathogènes, en présence de différente cuticule d'insecte. En effet, l'entomopathogène *Nomuraea rileyi* en présence de la cuticule d'*Anticarsia gemmatalis* (Hünber) (*Lepidoptera: Noctuidae*), produit la subtilisine (Pr1) et la trypsine (Pr2) [237]; la même activité a été signalé en présence de la cuticule de *Manduca sexta*, *Trichoplusia ni* et *Helicoverpa zea* et *Heliiothis virescens* [233; 238; 239].

Par ailleurs, notre traitement par le *M.anisopliae* a entraîné une augmentation significative de taux des protéines cuticulaires chez les larves L4 et L5 de *S.gregaria*. Cette augmentation en teneur en protéines peut être due à la

sécrétion enzymatique déclenchée par la pénétration de *M.anisopliae*, comme elle peut être résulter de l'accumulation de protéines issues du parasite ou de son métabolisme [10].

En effet, la sécrétion des chitinases chez les insectes est décrite à partir *Bombyx mori* et *Manduca sexta* [240], ces enzymes jouent un rôle de défense contre les attaques des parasites, en plus ils ont un rôle pour la dégradation de l'ancienne cuticule pendant l'ecdyse [241].

D'autre part, ST LEGER et al.(1995) [226], sont arrivés à montrer qu'au niveau de la cuticule du scarabée *Blaberus giganteus*, la synthèse protéique de *M.anisopliae* est intense, Ils sont même arrivés à isoler 13 protéines, l'une d'entre elles est la carboxypeptidase. ST LEGER et al.(1987) [233] ont reporté que 14 protéases isoformes ont été détectées au cours de la croissance de *M.anisopliae* dans l'insecte. MANALIL et al. (2010) [242], sont arrivés à déterminer 101 protéines secrétées par *M.anisopliae* au cours de la pénétration de la cuticule du coléoptère *Dermolepedia albohirtum*.

Le champignon *Aspergillus fumigatus* synthétise approximativement 250 protéines dont 110 sont en relation avec son métabolisme énergétique [243].

HALOUANE (1997) [10] a noté une diminution significative des quantités de protéines dans la cuticule sternale abdominale chez les larves L5 et les adultes de *S.gregaria* traités au *M.anisopliae*. Ce même auteur a noté chez les adultes de *S.gregaria* traités au *M.anisopliae* une augmentation significative de taux de protéines cuticulaires par contre cette augmentation n'était pas significative chez les larves L5 traitées par ce même champignon.

BISSAAD et al.(2010) [211] ont signalé une diminution significative des quantités de protéines dans la cuticule sternale abdominale chez les larves L5 mâles et femelles de *S.gregaria* traitées par *M.anisopliae* par rapport aux larves mâles et femelles témoins.

4.3. Effet de *M.anisopliae var.acridum* sur le profil électrophorétique des protéines de la cuticule abdominale des larves L4 de *S.gregaria*

Chez différentes espèces d'insecte ,100 protéines cuticulaires ont été identifiées et caractérisées de point de vue poids moléculaire [91; 92; 244; 245; 246; 247; 248; 249; 250].

D'après nos résultats, on a enregistré chez les larves L4 de *S.gregaria* témoins des protéines de poids moléculaire allant de 11,30KDa jusqu'à 96,79KDa. Des résultats différents ont été rapportés par plusieurs auteurs chez divers insectes et crustacées. En effet par la technique de SDS-PAGE, HOPKINS et *al.* (2000) [251], ont identifié dans la cuticule abdominale de pharate de *Manduca sexta* 100 protéines de poids moléculaire allant de 14KDa jusqu'à plus de 200KDa. TANG et *al.*(2010) [206], ont identifié 9 protéines de masses moléculaires comprises entre 14-16, 18-24, 28-31, et 33-43KDa.dans la cuticule des larves L5 de *Bombyx mori*.

Chez la cuticule de la nymphe post-ecdysial de *Blaberus craniifer*, cinq bandes ont été trouvées de masses moléculaires allant de 3,8KDa à 21,1KDa [252]. Selon le même auteur, sept (7) protéines ont été mis en évidence dans la cuticule post-ecdysial de la nymphe de *Locusta migratoria* d'une masse moléculaire qui varie de 4,9KDa à 21,3KDa [252]. YOUSEF (2003) [253] a caractérisé 20 bandes protéiques de masse moléculaire qui varie de 26 à 267KDa dans le pattern électrophorétique des protéines cuticulaires des larves L2 de *Parasarcophaga aegyptiaca*.

Chez les crustacées, DITZELA et *al.* (2003) [254] ont trouvé dans la carapace de *Limulus polyphemus* sept (7) bandes protéiques d'une masse moléculaire qui varie de 7à 16KDa. PAUL et *al.* (2010) [255] ont caractérisé dans la carapace de *Sartoriana spinigera* dix bandes protéines de poids moléculaire allant de 17 KDa à 175 KDa.

D'après nos résultats, on constate qu'il y a une différence dans le nombre et la qualité des protéines cuticulaires chez les larves témoins au cours du temps.

En effet nous avons remarqué que le nombre et l'intensité des fractions protéiques augmentent du 3^{ème} au 9^{ème} jour. Ce qui est en accord avec nos résultats trouvés concernant l'augmentation de quantité de protéines cuticulaires chez les larves L4 témoins (Figure 3.4 et tableau 3.7). Cela est due au dépôt des nouvelles couches endocuticulaires au cours du stade [210].

La variation de la qualité de protéines cuticulaires au cours du temps chez les larves témoins peut être due phénomène de sclérotisation qui se manifeste par le dépôt des quinones, qui sont le résultat de l'oxydation des deux acyldopamines, N-acetyldopamine (NADA) [256] et N-b-alanyldopamine (NBAD) [257], en effet le dépôt des quinones réduit la solubilité des protéines cuticulaires [258; 259].

L'insolubilité des protéines cuticulaires suite à la sclérotisation a été montrée chez l'adulte de *Locusta migratoria*, du faite que ZHANG C. et XIA Y., (2009) [154] et ANDERSEN et HOJRUP (1987) [260] ont montré que les protéines extrait à partir la cuticule pré-ecdysial de la nymphe et de l'adulte de *L.migratoria* sont complètement différentes par rapport à celles des cuticules post-ecdysial respectivement.

Les électrophorégrammes montrent que le traitement par *M.anisopliae* entraîne une variation dans le nombre et l'intensité des bandes protéiques chez les larves L4 traitées par rapport aux individus normaux du même âge. Au 3^{ème} jour de traitement apparaît une bande protéique chez les larves traitées par rapport aux témoins. Au 6^{ème} jour apparaissent deux bandes et au 9^{ème} jour de traitement on a noté l'apparition d'une nouvelle bande et la disparition d'une autre. En parallèle, le traitement a engendre une diminution dans l'intensité de la coloration de certaines bandes par rapport à celles des témoins du même âge.

Cela peut confirmer l'influence du parasitisme au *M.anisopliae*, qui se traduit par la disparition de certaines bandes protéiques. Donc l'apparition de nouvelles bandes chez les individus infestés peut résulter d'une accumulation de protéines issues du parasite ou de son métabolisme, comme elle pourrait avoir comme origine la sécrétion enzymatique déclenchée lors de la pénétration de *M.anisopliae*.

La première barrière contre la pénétration de champignon entomopathogène c'est la cuticule, donc pour qu'il puisse la traverser il mis en jeu une intense activité enzymatique pour hydrolyser les composants essentiels de tégument (la chitine, les protéines et les lipides). Selon MANALIL et *al.* (2010) [242], le *M.anisopliae* secrète une grande variété de protéines propre à son métabolisme au cours de la pénétration de la cuticule de *Dermolepidea albohirtum* comparativement aux protéines secrétées après sa pénétration à l'intérieur de l'insecte. Ils ont identifié les estérases (lipases) associés avec la formation des appressoria, les protéines d'adhésion (MAD1) pour attacher à la surface de la cuticule, le N-acetyl-glucosaminidase pour la dégradation de chitine, et des protéinases pour dégrader les protéines.

MURAD et *al.* (2008) [243], ont caractérisé 14 protéines produites par *M.anisopliae* au cours de la pénétration de la cuticule de *Callosobruchus maculatus*, parmi eux citant les protéases de poids moléculaires de 24839Da, 14535Da et 57243Da, acetyltransferase de poids moléculaire de 24839Da et ATPase de poids moléculaire de 43533Da.

Selon SANTI et *al.* (2009) [217], les protéines secrétées par *M.anisopliae* dans une culture contenant la cuticule de tique *Rhipicephalus microplus* sont des bandes dans la région entre 20-66KDa. Ils ont identifié les protéases; les carboxypeptidases et subtilisines (Pr 1) et chitinases, propre au métabolisme du *M.anisopliae*.

La dégradation des lipides cuticulaires est en relation intime avec la pré-germination des spores de *M.anisopliae* dans la cuticule de l'insecte hôte [261]. Les lipides présentent dans l'épicuticule, la première barrière contre les attaques de pathogène, renforcent l'activité des enzymes lipases pour initier l'infection. Selon SILVA et *al.* (2005) [148], les lipases produites par *M.anisopliae* ont montré qu'ils ont une part importante dans ce processus. En effet 25 estérases isoenzyme ont été produites par *M.anisopliae* dans des cultures contenant des cuticules d'insectes [126].

D'après ST LEGER et *al.* (1987) [233], le *M.anisopliae* peut produire jusqu'à 14 protéases isoformes au cours sa croissance dans l'insecte, parmi eux citant: la subtilisine (Pr1), la trypsine (Pr2), la protéase cystéine (Pr4) et la metalloprotéase. Ces sécrétions diffèrent d'un insecte à un autre en fonction de la composition en protéines cuticulaires [170]. PADMINI et *al.* (2010) [262] ont pu purifier les protéinases de poids moléculaire 19KDa secrété par *Beauveria bassiana* et 21KDa par *M.anisopliae*.

D'autre par, SILVA et *al.* (2005) [148]; ST LEGER et *al.*(1991; 1996) [222; 263]; PINTO et *al.* (1997) [264]; KANG et *al.* (1999) [265], ont pu caractériser et purifier 6 chitinases chez *M.anisopliae* de masse moléculaire de 30; 33; 43,5; 45; 60 et 110KDa.

Ces endochitinases sont dans la majeure partie de nature acide [143]. Il s'agit de deux bandes de poids moléculaire de 43,5 et de 45KDa en présence de la cuticule de *Manduca sexta*. Ces deux endochitinases sont similaires à ceux produites par le mycoparasitique *Trichoderma harzianum* [222].

SANTI et *al.* (2009) [217], ont identifié une chitinase d'une masse moléculaire de 43,5KDa au cours de l'infection de *Rhipicephalus microplus* par *M.anisopliae*. Deux autres endochitinases sont secrétées avec une masse moléculaire allant de 43,5 à 60KDa en présence de la cuticule de *Boophilus microplus*.

Contrairement à nos résultats, d'après KOTZE et REYNOLDS (1991) [266], la SDS- PAGE n'a indiqué aucune différence concernant le type de protéines cuticulaires synthétisées chez les larves de *Manduca sexta* témoins et traitées par le dérégulateur de croissance le Cyromazine.

CONCLUSION GENERALE

Notre étude est réalisée dans le but de contribuer à apporter quelques connaissances sur l'effet du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae var.acridum* sur les constituants de base de la cuticule abdominale des larves de *Schistocerca gregaria* à savoir la chitine et les protéines.

L'activité de *M.anisopliae var.acridum* sur ces deux paramètres structuraux de la cuticule abdominale des larves L4 et L5 de *S.gregaria* nous a permis de constater comme conséquence une diminution hautement significative ($p<0,001$) du poids sec de la cuticule abdominale chez les larves L4 et L5 de *S.gregaria* traitées par rapport aux témoins. En effet, le poids sec moyen a diminué chez les larves L4 de 4,13mg à 3,26mg au 3^{ème} jour après traitement, de 7,6mg à 5,2mg au 6^{ème} jour et de 8,5mg à 4mg au 9^{ème} jour après traitement, et il a diminué chez les larves L5 de 13mg à 6,93mg au 3^{ème} jour après traitement, de 14,26mg à 7,86mg au 6^{ème} jour et de 15,7mg à 7,5mg au 9^{ème} jour après traitement.

Le *M.anisopliae* a provoqué aussi une diminution significative ($p<0,05$) de la quantité de chitine dans la cuticule abdominale chez les individus traités par rapport aux témoins de même âge. Cette diminution est maintenue dans le temps. En effet, la quantité moyenne de chitine a diminué chez les larves L4 de 2,23mg à 1,16mg au 3^{ème} jour après traitement, de 2,46mg à 1,76mg au 6^{ème} jour et de 2,9mg à 1,66mg au 9^{ème} jour après traitement, et il a provoqué une diminution chez les larves L5 de 6,1mg à 2,83mg au 3^{ème} jour après traitement, de 5,76mg à 1,73mg au 6^{ème} jour et de 6,1mg à 2,33mg au 9^{ème} jour après traitement.

Concernant le taux de chitine, le *M.anisoplia* a provoqué chez les larves L4 une diminution de taux moyen de 54,15% à 36,31% au 3^{ème} jour après traitement, et il a provoqué une augmentation de 33,18% à 33,37% au 6^{ème} jour et de 35,72% à 41,49% au 9^{ème} jour après traitement. Chez les larves L5, le taux a diminué d'une façon continue chez les larves traitées. En effet, il a diminué de 47,87% à 41,49% au 3^{ème} jour après traitement, de 40,37% à 22,25% au 6^{ème} jour et de 38,65% à 27,89% au 9^{ème} jour après traitement.

Le traitement a provoqué une diminution significative ($p < 0,05$) de la quantité de protéines dans la cuticule abdominale chez les individus traités par rapport aux témoins de même âge. Cette diminution est maintenue dans le temps. En effet, la quantité moyenne de protéines a diminué chez les larves L4 de 5,16mg à 3,43mg au 6^{ème} jour après traitement, de 5,6mg à 2,33mg au 9^{ème} jour après traitement, et elle a diminué chez les larves L5 de 6,9mg à 4,1mg au 3^{ème} jour après traitement, de 8,5mg à 6,13mg au 6^{ème} jour et de 9,8mg à 5,16mg au 9^{ème} jour après traitement.

Ce même traitement a provoqué une augmentation de taux de protéines dans la cuticule abdominale chez les individus L4 traités par rapport aux témoins de même âge de 45,85% à 63,69% au 3^{ème} jour après traitement, et une diminution de 66,82% à 66,63% au 6^{ème} jour après traitement, et de 64,28% à 58,51% au 9^{ème} jour après traitement. Chez les larves L5, ce taux a augmenté de 52,13% à 58,51% au 3^{ème} jour après traitement, de 59,63% à 77,75% au 6^{ème} jour et de 61,35% à 72,11% au 9^{ème} jour après traitement.

Sur le plan qualitatif notre étude nous a permis d'établir le profil électrophorétique des protéines cuticulaires de l'abdomen des larves L4 de *S.gregaria* témoins et traitées au *M.anisopliae*, au 3^{ème} jour, au 6^{ème} et au 9^{ème} jour après traitement.

D'après nos résultats, on a enregistré chez les larves L4 de *S.gregaria* témoins des poids moléculaires de protéines allant de 11,30KDa jusqu'à 96,79KDa et on a constaté qu'il y a une différence dans le nombre et la qualité des protéines cuticulaires chez les larves témoins au cours du temps, d'où le nombre et

l'intensité des bandes protéiques augmente du 3^{ème} au 9^{ème} jour après traitement, cela est due au dépôt des nouvelles couches endocuticulaires au cours du stade.

Ainsi la variation de qualité de protéines cuticulaires au cours du temps chez les larves témoins qui est due probablement au phénomène de sclérotisation qui réduit la solubilité des protéines cuticulaires.

Les électrophorégrammes montrent que le traitement par le *M.anisopliae* a entraîné une variation dans le nombre et l'intensité des bandes protéiques chez les larves L4 traitées par rapport aux larves normaux du même âge. Au 3^{ème} jour de traitement apparaît une bande protéique chez les larves traitées par rapport aux témoins, au 6^{ème} jour apparaissent deux bandes et au 9^{ème} jour de traitement on note l'apparition d'une nouvelle bande et la disparition d'une autre. En parallèle, le traitement a engendré une diminution dans l'intensité de certaines bandes par rapport à celles des témoins du même âge. La disparition de n'importe quelle bande peut être en relation avec la pénétration de champignon *M.anisopliae* et l'apparition de nouvelles bandes est en relation avec son activité et son métabolisme ou leurs propres sécrétions.

En perspective, il serait intéressant d'aller très loin en identifiant la nature et le rôle des sécrétions de *M.anisopliae* au cours de la pénétration de la cuticule de *S.gregaria*, et en analysant les facteurs qui peuvent influencer sur ces sécrétions et le déroulement de l'infection pour assurer le maximum d'efficacité de ce champignon entomopathogène dans les conditions réelles du terrain.

APPENDICE A

LISTE DES ABREVIATIONS ET DES SYMBOLES

CILSS	: Comité permanent Inter-états de Lutte contre la Sécheresse dans le Sahel
DL50	: Dose letale 50
FAO	: Food and Agriculture Organization of the United Nations
GY	: Gray
INPV	: Institut National de la Protection des Végétaux
KDa	: Kilodalton
M	: Molle
PAN	: Pesticide Action Network
PBS	: Phosphate Buffered Saline
SDS-PAGE	: Sodium Dodecyl Sulfate- Poly Acrylamide Gel Electrophoresis
UBV	: Ultra-Bas Volume
p	: Probabilité

APPENDICE B

QUELQUES ENNEMIS NATURELS DU CRIQUET PELERIN



Figure B.1: *Stomorphina lunata* [267].

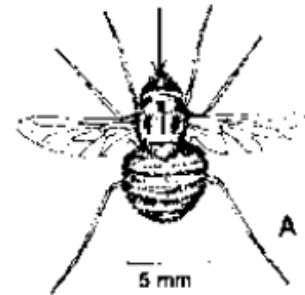


Figure B.2: *Systoechus somali*.
[268 ; 269]

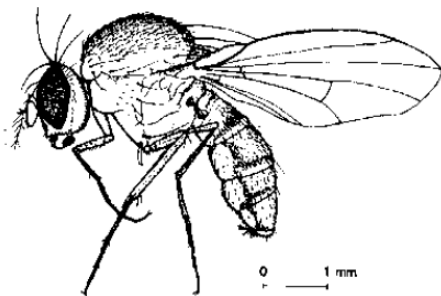


Figure B.3: *Curtonotum cuthbertsoni* [46].



Figure B.4: Imago de *Trichopsidea costata* [269].



Figure B.5: *Prionyx* sp. attaquant un Criquet [46]

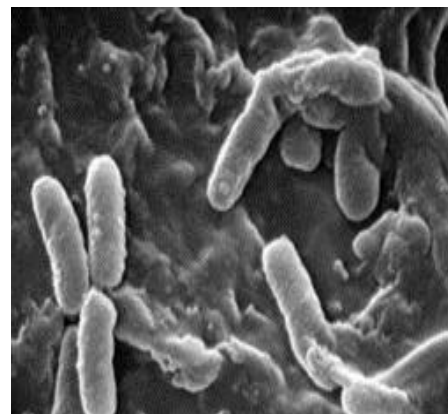


Figure B.6: *Pseudomonas aeruginosa*
[270].

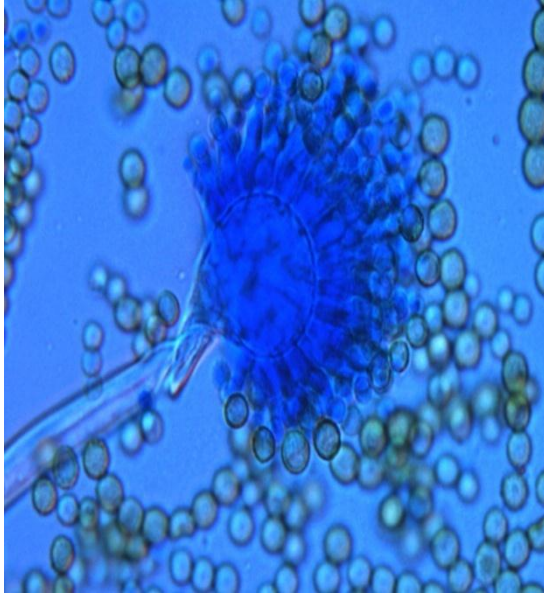


Figure B.7: *Aspergillus flavus* (Deutromycotina) [271]

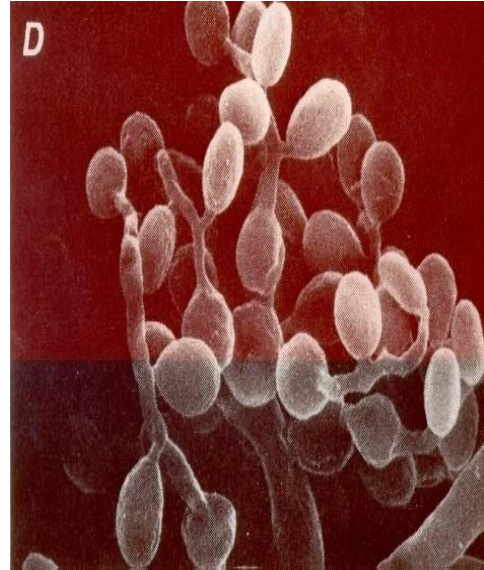


Figure B.8: Unité infectieuse: Spore de *Beauveria bassiana* [272]

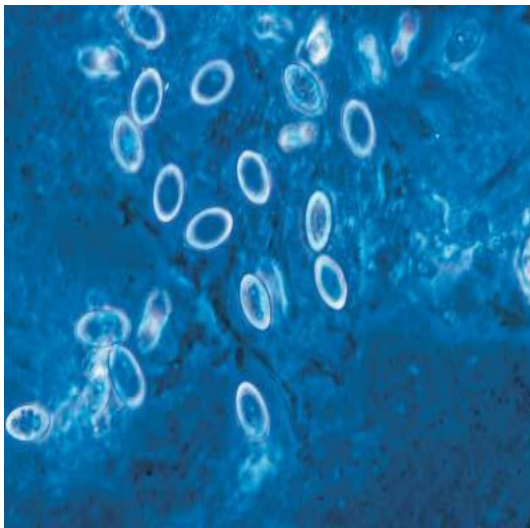


Figure B.9: kystes matures de *Malamoeba locustae* isolés à partir les tubes de Malpégie de *Locusta migratoria* [273]

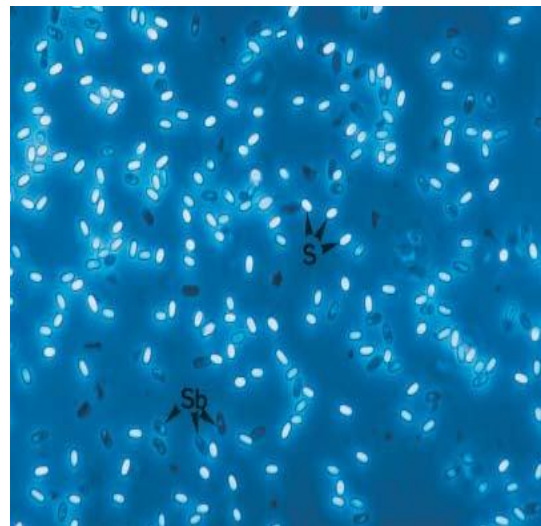


Figure B.10: Spores (S) et blastospores (Sb) de *Nosema locustae* [273]

APPENDICE C

MATERIEL ET PRODUITS UTILISES POUR LA REALISATION DE L'ESSAI

C.1: Matériel utilisé au laboratoire

- Thermomètre, hygromètre, pissette, bechers, éprouvettes, spatule, fioles graduées, Erlenmeyer, agitateur magnétique à plaque chauffante, pH mètre, tubes Eppendorf, tubes flacons, pilon et mortier, micropipettes, microseringue, bain marie, centrifugeuse, balance, étuve, support pour couler le gel, système d'assemblage des plaques en verre pour couler le gel, peignes, plaques en verre avec espaceur intégré, cuve d'électrophorèse verticale et son système d'électrodes, générateur.

C.2: Produits utilisés

- Ether, Chloroforme, Alcool 96°, NaOH, Ethanol absolu, Azote liquide, Eau distillée, Sodium Dodecyl Sulfate (SDS), Acrylamide, Bis-acrylamide, Trishydroxyméthyl-aminométhane (Tris), PerSulfate d'Ammonium (APS), N,N,N'-Tetraméthyléthylène diamine (TEMED), Chlorure de sodium (NaCl), Chlorure de potassium (KCl), Phosphate disodique (NaHPO_4), Phosphate monopotassique (KH_2PO_4) Glycine, Glycérol, β mercaptoéthanol, Bleu de bromophénol, Bleu de Coomassie R-250, Ethanol, Acide acétique, Acide acétique glacial.

Tableau C.1 : Préparation des solutions pour l'électrophorèse

Solutions	Préparation
Pour préparer 100ml de solution d'acrylamide-bisacrylamide 30%	29,8g acrylamide+0,2g bisacrylamide+Eau distillée qsp 100ml.
Pour préparer 25ml du tampon Tris 1,5 M pH 8,8	4,54g Tris+ Eau distillée qsp 25ml et ajusté avec HCl à 8,8.
Pour préparer 25 ml du tampon Tris 0,5 M pH 6,8	1,51g Tris+Eau distillée qsp 25ml et ajusté avec HCl à 6,8.
Pour préparer 250ml tampon 10X	36g glycine+7,5g Tris+Eau distillée qsp 250 ml.
Pour préparer 1440ml du tampon de migration	160ml tampon 10x+16ml SDS10%+Eau distillée qsp 1440ml.
Pour préparer 500 μ l d'APS 10%	0,05g APS+Eau distillée qsp 500 μ l.
Pour préparer 5ml du tampon Laemmli	Préparer solution de Tris 0,06M pH 6,8 -On prend 0,6ml de Tris 0,5M pH 6,8
	Quantité de Glycerol 10% nécessaire est 0,5ml
	Préparer solution SDS2% : On prend 1ml de SDS 10%
	Une pincé de de Bleu de bromophénol
	Quantité de β -mercaptoethanol 5% est 0,25ml
Solution de Coloration	50ml éthanol+ 10ml acide acétique glacial+40ml eau distillée+0,1g de Bleu de Coomassi R 250.
Solution de décoloration	50ml éthanol+ 10ml acide acétique +40ml Eau distillée.
Solution PBS pH 7,4	137mM NaCl ; 2,7mM KCl; 10mM NaHPO ₄ ; 1,7 mM KHPO ₄ ,

Qsp: Quantité suffisante pour atteindre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. **FAO, 2001** – La situation mondiale de l'alimentation et de l'agriculture, Chapitre III, impact économique des ravageurs, des plantes et des maladies transfrontières. Rome: 199-280.
2. **TAFERKA S., 2009** – Protection des végétaux et sécurité alimentaire Une stratégie et des moyens- Diagnostic- Le jour d'Algérie, Quotidien national d'information, Quatrième année - n°1802 - Jeudi 23 juillet 2009. Algérie. Page n° 10.
3. **LECOQ M., 2005** – Desert locust management: from ecology to anthropology. *Journal of Orthoptera Research*, 14: 179-186.
4. **TINGLE C.C.D., 1996** – Sprayed barriers of diflubenzuron for control of migratory locust (*Locusta migratoria capito* (Sauss)) [*Orthoptera: Acrididae*] Madagascar: Short term impact on relative abundance of terrestrial non-target invertebrates. *Crop Protection*, 15 (6): 579-592.
5. **PRETTY J. N., 1996** – Regenerating Agriculture: Policies for Sustainability and Self-reliance. *Earthscan Publications*, England, 320 p.
6. **BALANÇA G. et DE VISSCHER M.N., 1997** – Effects of very low doses of Fibronile on grasshopper and non-target insects following field trials for grasshopper control. *Crop Protection*, 1 (6): 553-564.

7. **MAMADOU A., MAZIH A. et INEZDANE A., 2005** – l'impact des pesticides utilisés en lutte contre le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forskål, 1775) (*Orthoptera, Acrididae*) sur deux espèces de *Pimelia* (*Coleoptera: Tenebrionidae*) au Niger. In: *Vertigo, La revue en sciences de l'environnement* , 6 (3), Niger: 8 p.
8. **ALAIN F. et CHRISTINE S., 1999-** Lutte biologique. Institut National de la Recherche Agronomique, Paris, 30p.
9. **DOBSON H.M., 2001** – Lutte antiacridienne, Directive sur le criquet pèlerin. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), Rome, 82 p.
10. **HALOUANE F., 1997** – Cycle biologique de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) et de *Locusta migratoria* (Linné, 1758) (*Orthoptera, Acrididae*). Efficacité de *Metarhizium anisopliae* (Metch) (*Hyphomycetes, Deuteromycotina*) et effet sur quelques paramètres physiologiques de *Schistocerca gregaria*. Thèse Magister en Sciences Agronomiques, Institut National Agronomique, El Harrach, Alger, 235 p.
11. **YOUCEF M., 2007** – Efficacité de *Metarhizium anisopliae var. acridum* vis-à-vis des larves de *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (*Orthoptera: Cyrtacanthacridinae*) et effet sur la cuticule. Thèse Ingénieur d'Etat en Sciences Agronomiques, Institut National Agronomique, El Harrach, Alger, 82 p.
12. **OUBATA M. et LAIDANI S., 2007** – Evaluation de l'efficacité de deux champignons entomopathogènes *Metarhizium flavoviride* et *Metarhizium anisopliae var. acridum* par une analyse histotechnique sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*. Thèse d'Etudes Supérieures en Biologie, Faculté des Sciences Agro-Vétérinaires et Biologiques, Université Blida, Algérie, 50p.
13. **DURANTON J.F. et LECOQ M., 1990** – Le criquet pèlerin au sahel. Collection acridologie opérationnelle n°6, Centre de Coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), Ed. ISNB, France, 83 p.

14. **DIRSH V.M., 1965** – Preliminary not of the revision of the genus *Schistocerca* Stal, 1873. EOS, 41: 31-43.
15. **DIRSH V.M., 1974** – Genus *Schistocerca* (*Acridomorpha, insecta*). *Collection. Series Entomologica n° 10*. The Hague: 238 p.
16. **PEDGLEY D.E., 1981** – Desert locust forecasting manuel (2). Centre for Overseas Pest Research (COPR), London, 270 p.
17. **COPR, 1982** – The locust and grasshopper agricultural manuel. Centre for Overseas Pest Research, London, 690 p.
18. **LATCHININSKY A.V. et LAUNOIS-LUONG M.H., 1997** – Le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forskal, 1775), dans la partie nord-orientale de son aire de distribution .Institut Pan Russe de la Protection des Plantes (VIZR) Saint Petersburg, Russie, 192 p.
19. **MICHAEL L.A., 2009**- Serotonin Mediates Behavioral Gregarization Underlying Swarm Formation in Desert Locusts. *Science*, vol. 323, n° 5914 : 627 - 630.
20. **PASQUIR R., 1950** – Sur une cause des causes de la grégarisation chez les acridiens: la densation. *Annales de l'Institut Agricole et de Service de Recherche et D'expérimentation Agricole de l'Algérie* 5 (9) :1-9.
- 21 **DALE J.F. et TOBE S.S., 1990** – The endocrine basis of locust phase polymorphism. *Biology of grasshoppers*, New York: 393 -414.
22. **PENER M.P., 1991** – Locust phase polymorphism and its endocrine relations. *Advances in Insect Physiology*, 23: 1–79.
23. **SYMMONS P.M. et CRESSMAN K., 2001** – Directives sur le criquet pèlerin, biologie et comportement. Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), Rome, 42 p.

24. **LAUNOIS-LUONG M.H. et LECOQ M., 1989** – VADE-MECUM des criquets du sahel. *Collection d'Acridologie opérationnelle* n° 5, Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), ISNB, France, 77 p.
25. **MALLAMAIRE A. et ROY J., 1968** – La lutte contre le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forsk.) en Afrique Occidentale Française. ORSTOM, Paris, 113 p.
26. **STEEDMEN A., 1988** – Locust Handbook Overseas Development Natural Resources Institute, London , 191 p.
27. **MOUMENE K., LAZAR M. et CHAOUCH A., 2005** – Le criquet pèlerin, un redoutable envahisseur. In : *Agriculture et Développement*, Revue de vulgarisation et de communication n° 1, Institut National de la Vulgarisation Agricole, Alger : 7-16.
28. **SHELIA B., 1995** – La peste des acridiens de désert de 1986-1989. Programme de formation à la gestion des catastrophes, 2^{ème} édition, Département des Affaires Humanitaires des Nations Unies (UNDHA), Rome: 155-158.
29. **WALOFF Z., 1960** – Some notes on the Desert Locust and on its occurrence at sea. *Mar. Obs.* 30:40-45.
30. **WEIDNER H., 1969** – Beobachtungen wandernder Feldheuschrecken auf hoher See. *Anz. Schädlingsk.* 42:118-121.
31. **KRAUSS H.A., 1902** – *Orthoptera* aus Australien und dem Malayischen Archipel, *Zoologische Forschungsreisen in Australien und dem Malayischen Archipel*: 745-770.
32. **UVAROV B.P., 1929** – Le Criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forsk.). Izdatelstvo Glavnogo Khlopkovogo Komiteta, Moscou, 48 p.
33. **LECOQ M., 2004** – Vers une solution durable au problème du criquet pèlerin?. *Science et changements planétaires / secheresse* ,15 (13): 217-224.

34. **BASHIR M.O., EL RAHIM SORKATI I.A., et HASSANALI A., 1998** – The effect of desert locust *Schistocerca gregaria* (Forskal) , on productivity of rangelang in the Red Sea coast of the Sudan and its population management throught environnement fiendly control tactis. IFAD SERIES: *Technic.Reports*: 321-328.
35. **SIMPSON S.J., MCCAFFERY A.R. et HAGELE, B.F., 1999** – A behavioural analysis of phase change in the desert locust. *Biological Revu* 74: 461-480.
36. **USAID, 2001** – Lutte d'urgence contre les invasions transfrontalières des ravageurs en Afrique et en Asie, évaluation et environnementale programmatique révisée. Ministère Américaine de l'Agriculture, Etats Unies d'Amérique. 141 p.
37. **Anonyme, 2010** – Criquet pèlerin, en [ligne] < http://fr.wikipedia.org/wiki/Criquet_pèlerin#L.27invasion_2003-2004>.Page consultée le 16/09/2010.
38. **LECOQ M., 1988** – Les criquets du sahel. Collection Acridologie Opérationnelle n°1. Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), ISNB, France .125 p.
39. **VASSAL J.M., 2009** – Le criquet pèlerin en Afrique de l'ouest. In : Dossier insectes ravageurs prévention et lutte n° 16, valorisation et innovation partenariat, Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), ISNB, France, 2 p.
40. **POPOV G.B., LAUNOIS-LUONG M.H. et VANDER WELL J., 1990** – Les oothèques des criquets au sahel. Collection acridologie opérationnelle n°7, Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), ISNB, France, 91 p.
41. **TZYPLIONKOV E.P., 1970** – Les acridiens nuisibles en URSS."Kolos", Leningrad. 272 p.

42. **TCHERNIAKHOVSKY M.E., 1986** – Identification des acridiens ravageurs à partir de leurs oothèques (clés d'identification), Vsesoyuznaya Akademiya Selskokhozyaïstvennyh Nauk imeni Lenina (VASKHNIL), Moscou, 58 p.
43. **STCHERBINOVSKY N.S., 1952** – Le Criquet pèlerin. Le problème de la protection des territoires méridionaux de l'URSS des invasions d'essaims de *Schistocerca*. Izdatelstvo Selskokhozyaïstvennoï Literatury (SELKHOZGIZ), Moscou, 416 p.
44. **TELENGA N.A., 1930** – Les observations biologiques sur *Schistocerca gregaria* Forsk. au Khorezme en 1929. Izvestiya Khorezmskoï Selskokhozyaïstvennoï Opytnoï Stantsyi, 6: 1-27.
45. **STOROZHENKO S.YU., 1991** – Locusts and grasshoppers pests of USSR. The field guides to the most serious locust and grasshopper pests of the World n° D7E, *Collection Orthopterists Society*, Quebec, 89 p.
46. **GREATHEAD D.J., KOOYMAN C., LAUNOIS-LUONG M.H. et POPOV G., 1994** – Les ennemis naturels des criquets au sahel .Collection acridologie opérationnelle n°8, Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), ISNB, France, 81 p.
47. **DURANTON J.F., 1989** – Situation acridienne au Niger en novembre 1988, diagnostic, pronostic. Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), ISNB, France, 77 p.
48. **SYMENS P., 1989** – Influence of the mass migration of Desert Locust (*Schistocerca gregaria*) on birds in the Taif aera. *National Wild Research. Center Quarterly Report*, Winter 1988-1989.
49. **VOISIN C., 1996** – Comportement des oiseaux face à la pullulation de *Schistocerca gregaria* au Sénégal (hiver 1988-1989). *L'oiseau et la revue française d'ornithologie*, Vol 62, n° 4, Laboratoire de Zoologie (Mammifères et Oiseaux), Muséum national d'Histoire naturelle, ORSTOM, Paris: 348-351.

50. **RACHADI T., 1991** – Promesses et limites de la lutte chimique dans la stratégie antiacridienne. Collection acridologie opérationnelle n°12, Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), ISNB, France: 151-165.
51. **LAUNOIS-LUONG M.H., LAUNOIS M. et RACHADI T., 1988** – La lutte chimique contre le criquet au sahel. Collection acridologie opérationnelle n°3, Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), ISNB, France, 43 p.
52. **SYLVIE J., 2002** – Les insecticides chez les carnivores domestiques, Extension aux NAC (Rongeurs). Thèse Docteur Vétérinaire, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Paris, 63 p.
53. **BOURAIM K. et PESTICIDE ACTION NETWORK (PAN) AFRICA, 2006** – Utilisation et gestion des pesticides dans la lutte antiacridienne de 2004-2005 au Mali. Rapport provisoire n°9, La banque mondiale/ Pesticide Action Network, Sénégal, 44 p.
54. **DURANTON J.F., LAUNOIS-LUONG M., LAUNOIS-LUONG M.H. et LECOQ M., 1982** – Manuel de prospection acridienne en zone tropicale sèche. Centre de Coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), ISNB, France, 695 p.
55. **LOCKWOOD J.A. et EWEN A.B., 1997** – Biological control of rangeland grasshoppers and locusts, the binomics of grasshoppers, katydids and their kind .KABI International Waling ford, United Kingdom: 421-442.
56. **FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations. 2005** – Provisional additions; Glossary of phytosanitary terms. Secretariat of the International Plant Protection Convention (IPPC) FAO, Rome, Italy.
57. **DUSHIMIRIMANA S., HANCE T. et DAMIENS D., 2008** – A first analysis of the sterile male technique for the control of the desert locust *Schistocerca gregaria* (Orthoptera: Acrididae). Ecology and Biogeography Unit, Université Catholique de Louvain, Carnoy, 22 p.

58. **OULD AHMADOU M.L., BOUAICHI A. et IDRISSE HASSANI L., 2001** – Mise en évidence du pouvoir répulsif et toxique de *Glinus lotoides* (Aizoaceae) sur les larves du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* Forskal (Orthoptera, Acrididae). *Zoologie baetica*, 2: 109-117.
59. **AMAR M., BARBOUCHE N. et BANHAMOUDA M., 1995** – Action des extraits décomposés des feuilles de *Cestrum parqui* et de *Olea europea* sur la longévité et la croissance du criquet *Schistocerca gregaria*. Faculté de médecine, Université de Gent: 831-835.
60. **OULD EL HADJ A., 1997** – Biologie et écologie du *Schistocerca gregaria* Forsk. et ses plantes hôtes en Mauritanie. Thèse du troisième cycle, Université Mohamed V, Rabat, 98 p.
61. **BARBOUCHE N., HAJJEM B., LOGNARY G. et AMMAR A., 2001** – Contribution à l'étude de l'activité biologique d'extrait des feuilles de *Cestrum parqui* L'Herit (Solanaceae) sur le criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forsk). *Biotechnologie Agronomique et Société d'Environnement*, 5 (2): 85-90.
62. **AMMAR M. et N'CIRINE S., 2008** – Incorporation of *Cestrum parqui* (Solanaceae) Leaves in an artificial diet affected larval longevity and gut structure of the desert locust *Schistocerca gregaria*. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 3 (1): 27-34.
63. **ABASSI K., ATAY KADIRI Z. et GHAOUT S., 2004** – Activité biologique des feuilles de *Calotropis procera* sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria*, Forsk. 1775). *Zoologie baetica*, 15: 153-166.
64. **ABASSI K., MERGAOUI L., ATAY KADIRI Z., STAMBOULI A. et GHAOUT S., 2003** – Effets des extraits de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) sur le criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria* Forskal, 1775). *Zoologie. baetica*, 13/14: 203-217.

65. **IDRISSI HASSANI L.M., OULD AHMEDOU M.L., MAYAD E.H. et BOUAICHI A., 2002** – Pouvoir insecticide de *Peganum Harmala* sur *Schistocerca gregaria*: Effets de l'huile et des extraits de feuilles. *Biologie & Santé*, 2 (2) : 122-133.
66. **IDRISSI HASSANI L. M. et HERMAS J., 2008** – Effets de l'alimentation en *Peganum harmala* L.(Zygophyllaceae) sur le tube digestif du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* Forsk. (*Orthoptera, Acrididae*). *Zoologie baetica*,19 :71-84.
67. **OULD EL HADJ M.D., TANKARI DAN-BADJO A. et HALOUANE F., 2003** – Etude comparative de la toxicité de trois substances acridifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* forskal, 1775 (*Orthoptera, Cyrtacanthacridinae*). *Courrier du Savoir* N°03, Université Mohamed Khider, Biskra, Algérie: 81-86.
68. **OULD EL HADJ M.D., TANKARI Dan-BADJO A., HALOUANE F. et DOUMANDJI S., 2006** – Toxicité comparée des extraits de trois plantes acridifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* Forskal, 1775 (*Orthoptera-Cyrtacanthacridinae*). *Sécheresse*, 17 (3): 407-414.
69. **VAN HUIS A., 1992** – New developments in desert locust management and control .*Proceedings of Experimental and Applied Entomology*, Amsterdam 3: 2-18.
70. **ZAKARIA O. et SAGNIA S.B., 2004** – Lutte Intégrée contre les sautériaux et les locustes: importance du biopesticide Green Muscle. In: Bulletin trimestriel d'information du Centre Régional AGRHYMET, 5 (3), Niamey, Niger: 5-8.
71. **VIJAY C., 2007** – Efforts internationaux de biocontrôle des sautériaux et des criquets. In: Dossier biocontrôle, le bulletin canadien de l'écogestion des insectes, des mauvaises herbes et des maladies des plantes n° 10, Le Réseau Biocontrôle et Agriculture et Agroalimentaire, Canada: 5-6.

72. **LANGE C.E., BECNE J.J., RAZAFINDRATIANA E., PRZYBYSZWESKI J. et RAZAFINDRATIANA H., 1996** – *Johenrea locustae*. (*Microspora: Glugeidae*), a pathogen of migratory locusts (*Orthoptera: Acrididae*) from Madagascar. *Journal of Invertebrate Pathology*, 68: 28-40.
73. **MAHAR A.N., JAN N.D., MAHAR G.M. et MAHAR A.Q., 2008** – Control of insects with entomopathogenic bacterium *Xenorhabdus nematophila* and its toxic secretions. *International Journal of Agriculture & Biology*, 10 (1): 52-56.
74. **STREETT D.E. et HENRY J.E., 1990** – Microbial control of locusts and grasshoppers in the semi-arid tropics. *Bulletin de Sanidad vegetal*, 20: 21-27.
75. **FARGUES J. et GOETTEL M., 1996** – Environmental constraints of mycopesticides; a challenge. *Bull. OILB srop*, 19(8). In: **OUTTAR F., 2009** – Utilisation de quelques biopesticides sur le criquet migrateur *Locusta migratoria* (Linné, 1758) (*Oedipodinae, Acrididae*), Thèse Magistère en Sciences Agronomiques, Ecole Nationale Supérieur Agronomique EL- HARRACHE, Algérie, 186 p.
76. **LUONG-SKORMAND M.H., RACHADI T. et LECOQ M., 1999** – La lutte contre les criquets ravageurs: intérêts des mycopesticides, (19), Centre de Coopération International en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), ISNB, France: 49-52.
77. **LOMER C.J., BATEMAN R.P., JOHNSON D.L., LANGEWALD J. et THOMAS M.B., 2001** – Biological control of locust and grasshoppers. *Annual Review of Entomology* 1, 46: 667-702.
78. **THOMAS M.B., 2000** – Development of mycopesticide for biological; control of locusts in Southern Africa. Natural Resources Institute, Chatham, United Kingdom: 173-182.
79. **BCP (Biological Control Products), 2002** – Green Muscle Handbook for Central and Southern Africa. *Lutte Biologique Contre les Locustes et les Sautériaux (LUBILOSA)*, 1171: 69-81.

80. **BATEMAN R.P., 1992** – Controlled droplet application of mycopesticides to locusts. *Biological Control of Locusts and Grasshoppers*. CAB International, United Kingdom: 249 - 254.
81. **TAFASKA A., 2005** – Une arme contre les acridiens et respectueuse de l'environnement testé avec succès en Algérie. In: *Revue mensuelle Terre et vie; monde rural et de l'environnement*, 92: 3 p.
82. **THOMAS M.B., BLANFORD S. et LOMER C.J., 1997** – Reduction of feeding by the variegated grasshopper, *Zonoceros variegatus*, following infection by the fungal pathogen, *Metarhizium flavoviride*. *Biocontrol Science and Technology*, 7:327-334.
83. **DIEYE P.O., 2003** – Editorial; lutte Intégrée contre les sautériaux et les locustes: importance du biopesticide Green Muscle. In: Bulletin trimestriel d'information du Centre Régional AGRHYMET, 5 (3), Niamey, Niger: p 3.
84. **BAUCE E., 2002** – Laboratoire d'entomologie forestière, Bio-17250. Faculté de foresterie et de géomatique, Université Laval, Canada, 88 p.
85. **PANCHOUT F., 2007** – Physiologie des insectes- La cuticule, nature et fonction."monde des insectes". Remise en ligne par Didier Roustide en date de jeudi 26 avril 2007 <<http://www.insecte.org/spip.php?article29>> .Page consultée le 16 septembre 2011.
86. **RACCAUD-SCHOELLER J., 1980**– Les insectes physiologie développement .Ed. MASSON .Paris. 290 p.
87. **MORIN A. et HOUSEMAN J., 2002**– Les animaux: Structures et fonctions. - Bio 2525, Université d'Ottawa, Canada, 12 p.
88. **NATION J., 2002**– Insect physiology and biochemistry. CRC Press, Boca Raton, Fla 55p.

89. **LEE W.J. et BREY P. T., 1994**– Isolation and identification of cecropin antibacterial peptides from the extracellular matrix of the insect. *Annual of Biochemistry*, 217: 231-235.
90. **MOLNAR K., BORHEGYI H.N., CSIKOS G. et SASS M., 2001**– Immunoprotein scolexin and its synthesizing sites, midgut and epidermis. *Biology and Academy of Sciences. Hung.* 52: 473-488.
91. **REBERS J.E. et RIDDIFORD L.M., 1988** – Structure and expression of a *Manduca sexta* larval cuticle gene homologous to *Drosophila* cuticle genes. *Journal of Molecular Biology*, 203: 411–423.
92. **ANDERSEN S.O., HOJRUP P. et ROEPSTORFF P., 1995**–Insect cuticular proteins. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 25: 153–176.
93. **WILLIS J.H., 1999**– Cuticular proteins in insects and crustaceans. *American Zoology*, 39: 600–609.
94. **ANDERSEN S.O., 1999** – Exoskeletal proteins from the crab, *Cancer pagurus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, A* 123: 203–211.
95. **IKEYA T., PERSSON P., KONO M. et WATANABE T., 2001**–The DD5 gene of the decapod crustacean *Penaeus japonicus* encodes a putative exoskeletal protein with a novel tandem repeat structure. *Comparative Biochemistry and Physiology, B* 128: 379–388.
96. **TOGAWA T., NAKATO H. et IZUMI, S., 2004**– Analysis of the chitin recognition mechanism of cuticle proteins from the soft cuticle of the silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 34: 1059–1067.
97. **BISCHOFF J.F., REHNER S.A. et HUMBER R.A., 2009** – A multilocus phylogeny of the *Metarhizium anisopliae* lineage. *Mycologia*, vol.101:512–530
98. **DONALD G., 2005** – Fungus fatal to mosquito may aid global war on Malaria», *The New York Times*, 104 (10):135-151.

99. **TULLOCH M., 1976** – The genus *Metarhizium*. *Transactions of the British Mycological Society*, 46: 407-411.
100. **ROMBACHM C., HUMBERR A. et EVANSH C., 1987** – *Metarhizium album*, a fungal pathogen of leaf- and planthoppers of rice. *Transactions of the British Mycological Society*, 88: 451-459.
101. **JARROD E.L., 2001** – Environmental-stress tolerant formulations of *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* for control of african desert locust (*Schistocerca gregaria*). Faculty of Virginia Polytechnic Institute. Blacksburg, Virginia, 188 p.
102. **MICHAEL J.B., ANDRENA M., KAMP T., MICHAEL L., JASON D. et AMRITHA DE CROOS J. N., 2001** – Habitat association in two genetic groups of the insect-pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*: Uncovering Cryptic Species?. *Applied of Environement Microbiology*.104: 1335–1342.
103. **DIOMANDE T., 1968** – Contribution à l'étude du développement et de la spécificité de la muscardine verte à *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin des larves d'*Oryctes monoceros*. Thèse Doctorat III cycle, Faculté des Sciences, Université de Paris, France, 94 p.
104. **DRIVER F., MILNER R.J. et TRUEMAN W.H., 2000** – A Taxonomic revision of *Metarhizium* based on sequence analysis of ribosomal DNA. *Mycological Research*, 104: 135–151.
105. **ANONYME, 2010** - *Metarhizium anisopliae* Souche F52, Rapport d'évaluation. Agence de Règlement de la Lutte Antiparasitaire, Canada, 58p.
106. **BIDOCHKA M.J. et SMALL C.L., 2005** – Phylogeography of *Metarhizium*, an insect pathogenic fungus. *Ecology and Evolution*, Oxford University Press, New York: 28–50.
107. **ZIMMERMAN G., 1993** – The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Pesticide and Science*, 37: 375-379.

108. **MILNER R.J., SAMSON P. et MORTON R., 2003** – Persistence of conidia of *Metarhizium anisopliae* in sugarcane fields: effect of isolate and formulation on persistence over 3.5 years. *Biocontrol Science and Technology*, 13: 507–516.
109. **SALLAM M.N., MCAVOY C., SAMSON P. et BULL J., 2007** – Soil sampling for *Metarhizium anisopliae* spores in Queensland sugarcane fields. *Biocontrol Science and Technology*, 52: 491–505.
110. **ST LEGER R.J., 2008** – Studies on adaptations of *Metarhizium anisopliae* to file in the soil. *Journal of Invertebrate Pathology*, 98: 271–276.
111. **CHOUVENC T., SU N.Y et ELLIOTT M.L., 2008** – Interaction between the subterranean termite *Reticulitermes flavipes* (Isoptera: Rhinotermitidae) and the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* in foraging arenas. *Journal of Economic Entomology*, 101: 885–893.
112. **ZIMMERMANN G., 2007** – Review on safety of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Biocontrol Science and Technology*, 17: 879-920.
113. **DE HOOG S., 2000**- 2000, Atlas of clinical fungi, (2): 1-1126
114. **VEEN K.H., 1968** – Recherches sur la maladie due à *Metarhizium anisopliae* chez le Criquet Pèlerin. *Medeslingen Landbourwhoge school Wageningen*, 68: 117 p.
115. **YANNICK C.B., 2009** – L'agrile du frêne, un insecte exotique envahissant. Cours séminaire en phytologie. Département de phytologie, Faculté des Sciences de l'Agriculture et de l'Alimentation, Université Laval, Canada, 34 p.
116. **GUNNER H.B., SILVA F.A., et JOHNSON C.A., 1991** – Method and device for biological control of cockroaches. U.S. Patent: 5057-5135.
117. **PACHAMUTU P., KAMBLE S.T. et YUEN G.Y., 1999** – Virulence of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) strain ESC-1 to German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae) and its compatibility with insecticides. *Journal Of Economic Entomology*, 92: 340–346.

118. **AHMED S., ASHRAF M.R., HUSSAIN M.A. et RIAZ M.A., 2009** – Pathogenicity of isolates of *Metarhizium anisopliae* from Gujranwala (Pakistan) against *Coptotermes heimi* (wasmann) (Isoptera: Rhinotermitidae). *International Journal of Agriculture and Biology*, 11: 707–711.
119. **BITTENCOURT V., MASSARD C.L. et LIMA A.F., 1994** – The action of *Metarhizium anisopliae*, at eggs and larvae of tick *Boophilus microplus*. *Revista Universidade Rural Seria Ciencia da Vida*, 16: 41–47.
120. **MONTEIRO A., FIORIN A.C., CORREIA A.B., 1998** – Pathogenicity of isolates of *Metarhizium anisopliae* (Metsh.) Sorokin towards the cattle tick *Boophilus microplus* (Can.) (Acari: Ixodidae) under laboratory conditions. *Revu de Microbiologie*, 29: 109–112.
121. **SOUZA E.J., REIS R.S. et BITTENCOURT V., 1999**– Evaluation of in vitro effect of the fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*.
122. **GINDIN G., SAMISH M., ALEKSEEV E. et GLAZER I., 2001** – The susceptibility of *Boophilus annulatus* (Ixodidae) ticks to entomopathogenic fungi. *Biocontrol Science and Technology*, 11: 111–118.
123. **GINDIN G., SAMISH M., ZANGI G., MISHOUTCHENKO A. et GLAZER I., 2002** – The susceptibility of different species and stages of ticks to entomopathogenic fungi. *Experimental and Applied Acarology*, 28: 283–288.
124. **HAJEK A.E. et ST.LEGER R.J., 1994** – Interactions between fungal pathogens and insect host. *Annual Review of Entomology*, 39: 293-322.
125. **MILTONATT C.W., 2002** – Detection and characterization of Prl virulent gene deficiencies in the insect pathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *FEMS Microbiological Letters*, 213: 251–255.
126. **FREIMOSER F.M., SCREEN S., BAGGA S., HU G. et ST LEGER R.J., 2003** – Expressed sequence tag (EST) analysis of two subspecies of *Metarhizium anisopliae* reveals a plethora of secreted proteins with potential activity in insect

- hosts. *Microbiology*, 149: 239-247.
127. **BATEMAN R.P., CAREY M., BATT D., PRIOR C., ABRAHAM Y., MOORE D., JENKINS N. et FENLON J., 1996** – Screening for virulent isolates of entomopathogenic fungi against the desert locust *Schistocerca gregaria* (Forskål). *Biocontrol Science and Technology*, 6: 549-560.
 128. **KAMP A.M. et BIDOCHKA M.J., 2002** – Conidium production by insect pathogenic fungi on commercially available agars. *Applied of Microbiological Letters*. 35: 74–77.
 129. **MÜLLER-KOGLER E., 1965** – Pilzkrankheiten bei Insekten. Anwendung zur biologischen SchAdLingsbekâmpfung und Grundlagen der Insektenmykologie. Paul Parey édit., Berlin et Hambourg. 444 p.
 130. **DONAUBEUER E., 1959** – Uber cine Mykose der Latenzlarve von *Cephaleia abietis* L Sydowia. *Annual of Mycology II*, 13:183-222.
 131. **GABRIEL B.P., 1959** – Fungus infection of insects via the alimentary tract. *Journal of Insect Pathology*.I: 319-330.
 132. **AOKI J., 1961** – Studies on the infection mechanism of *Aspergillus* disease in silkworm larvae, *Bombyx mori* II. The invading loci of causal fungus. *Sericicultural*, 30: 43-48.
 133. **VEEN K.H., 1966** – Oral infection of second-instar nymphs of *Schistocerca gregaria* by *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology* (8) : 254-256.
 134. **FERRON P., 1981** – Pest Control by the Fungi *Beauveria* and *Metarhizium*,, *Microbial Control of Pests and Plant Diseases: 1970-1980*, Academic Press, London: 465-482.
 135. **STARNES R.L., LIU C.L. et MARRONE P.G., 1993** – History, Use and Future of Microbial Insecticides. *American Entomologists*: 83-91.

136. **CLARKSON J.M. et CHARNLEY A.K., 1996** – New insights into the mechanisms of fungal pathogenesis in insects. *Trends in Microbiology*, 4:197–203.
137. **SMOOT D.T., 1997** – How does *Helicobacter pylori* cause mucosal damage? Direct mechanisms. *Gastroenterology*, 113: 31–34.
138. **BATEMAN R.P., 1998** – Green Muscle, Handbook for Central and Southern Africa. *Biological Control Products*, South Africa, 12 p.
139. **ASKARY H., BENHAMOU N. et BRODEUR J., 1999** – Ultrastructural and chytochemical characterization of aphid invasion by the hyphomycete *Verticillium lecanii*. *Journal of Invertebrate Pathology* 74:1–13.
140. **STEHR F., KRETSCHMAR M., KROGER C., HUBE B. et SCHAFFER W., 2003** – Microbial lipases as virulence factors. *Journal Of Molecular. Catalysed. by Enzyms*. 22:347–55.
141. **ROBERTS D.W. et ST LEGER R.J., 2004** – *Metarhizium* spp, cosmopolitan insect-pathogenic fungi: mycological aspects. *Advice Applied of Microbiology*, 54:1-70.
142. **WANG C. et ST LEGER R., 2007** – The MAD1 adhesin of *Metarhizium anisopliae* links adhesion with blastospore production and virulence to insects, and the MAD2 adhesin enable attachment to plants. *Eukaryotic Cells*, 6: 808–816.
143. **ST LEGER R.J., JOSHI L., BIDOCHKA M.J. et ROBERTS D.W., 1996** – Construction of an improved mycoinsecticide overexpressing a toxic protease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 93: 6349–6354.
144. **FRAZZON A.P., VAZ JUNIOR I., MASUDA A., SCHRANK A. et VAINSTEIN M.H., 2000** – In vitro assessment of *Metarhizium anisopliae* isolates to control the cattle tick *Boophilus microplus*. *Veterinary Parasitology*. 94: 117–125.

145. **BARRETO C.C., STAATS C.C., SCHRANK A. et VAINSTEIN M.H., 2004** – Distribution of chitinases in the entomopathogen *Metarhizium anisopliae* and effect of N-acetylglucosamine in protein secretion. *Current in Microbiology*, 48: 102–107.
146. **ARRUDA W., LUBECK I., SCHRANK A. et VAINSTEIN M.H., 2005** – Morphological alterations of *Metarhizium anisopliae* during penetration of *Boophilus microplus* ticks. *Experimental and Applied Acarology*, 37: 231–244.
147. **SILVA M.V., SANTI L., STAATS C.C., DA COSTA A.M., COLODEL E.M., DRIEMEIER D., VAINSTEIN M.H. et SCHRANK A., 2005** – Cuticle-induced endo/exoacting chitinase CHIT30 from *Metarhizium anisopliae* is encoded by an ortholog of the chi3 gene. *Research in Microbiology*, 156: 382–392.
148. **SILVA W.O.B., MITIDIERI S., SCHRANK A. et VAINSTEIN M.H., 2005** – Production and extraction of an extracellular lipase from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Proceeding of Biochemistry*. 40 (1): 321–326.
149. **PEDRINI N., CRESPO R. et JUAREZ M.P., 2007** – Biochemistry of insect epicuticle degradation by entomopathogenic fungi. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 146 (1–2): 124–137.
150. **LUBECK I., ARRUDA W., SOUZA B.K., STANISÇUASKI F., CARLINI C.R., SCHRANK A. et VAINSTEIN M.H., 2008** – Evaluation of *Metarhizium anisopliae* strains as potential biocontrol agents of the tick *Rhipicephalus* (*Boophilus*) *microplus* and the cotton stainer *Dysdercus peruvianus*. *Fungal Ecology*, 1:78–88.
151. **POLAR P., MOORE D., KAIRO M. et RAMSUBHAG A., 2008** – Topically applied myco-acaricides for the control of cattle ticks, overcoming the challenges. *Experimental and Applied Acarology*
152. **BOLDO J.T., JUNGES A., AMARAL K.B., STAATS C.C., VAINSTEIN M.H. et SCHRANK A., 2009** – Endochitinase CHI2 of the biocontrol fungus *Metarhizium anisopliae* affects its virulence toward the cotton stainer bug *Dysdercus peruvianus*. *Current Genetic*. 55: 551–560.

153. **FLEXNER J.L., LIGHTHART B. et CROFT B.A., 1986** – The effect of microbial pesticides to non-target, beneficial arthropods. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 16: 203-254.
154. **ZHANG C. et XIA Y., 2009** – Identification of genes differentially expressed in vivo by *Metarhizium anisopliae* in the hemolymph of *Locusta migratoria* using suppression-subtractive hybridization. *Current. Genetic*. 55: 399–407.
155. **KARINE L., 2009** – Introduction à la mycologie. Cours Parasitologie / mycologie fondamentale et médicale, Unité des Aspergillus, Institut Pasteur. France, 118 p.
156. **ROBERTS D.W., 1969** – Toxins from the entomogenous fungus *Metarhizium anisopliae*: isolation from submerged cultures. *Journal of Invertebrate Pathology*, (14): 82–88.
157. **PAÏS M., DASB C. et FERRON P., 1981** – Depsipeptides from *Metarhizium anisopliae*. *Phytochemistry*, 20: 715–723.
158. **SAMUELS R.I., CHARNLEY A.K. et REYNOLDS S.E., 1988** – The role of destruxins in the pathogenicity of 3 strains of *Metarhizium anisopliae* for the tobacco hornworm *Manduca sexta*. *Mycopathologia*, 104: 51-58.
159. **ALDRIDGE D.C. et TURNER W.B., 1969** – Structures of cytochalasin C and cytochalasin D from *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Chemical Society C*, 6: 923–928.
160. **KONDO S., MEGURIYAN M., AOTAT M., FUJIT H., MAKINO K. et YAMAMOTAM N., 1980** – K-582,a new peptide antibiotic. *The Journal of Antibiotics*, 33: 533–542.
161. **GUPTA S., KRASNOFF S.B., RENWICK J.A.A., ROBERT S.D.W., STEINER J.R. et CLARDY J., 1993** – Viridoxins A and B: novel toxins from the fungus *Metarhizium flavoviride*. *Journal of Organic Chemistry*, 58: 1062–1067.

162. **PATRICK M. et ADLARDMW K., 1993** – Production of a nindolizidine alkaloid, swainsonine by the filamentous fungus, *Metarhizium anisopliae*. *Biotechnology Letters*, 15: 997–1000.
163. **AZUMI M., ISHIDOHK I., KINOSHITAH N., IHARAF F. et IGARASHI Y., 2008** – Aurovertins F–H from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Natural Products* , 71: 278–280.
164. **SCHRANK A. et VAINSTEIN M.H., 2010** – *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon*: 1-8.
165. **CILEK J. E., STEELMAN C.D. et KNAPP F.W., 1991**– Horn fly (*Diptera: Muscidae*) insecticide resistance in Kentucky and Arkansas. *Journal of Economic Entomology*, 84: 756-762.
166. **ZIMMERMANN G., PAPIEROK B. et GLARE T., 1995** – Elias Metschnikoff, Elie Metchnikoff or Ilya Ilich Mechnikov (1845–1916): a pioneer in insect pathology, the first describer of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and how to translate a Russian name. *Biocontrol Science and Technology*, 5: 527–530.
167. **BOOTH S.P., AND C.H. et SHANKS J.R., 1998** – Potential of a dried rice/mycelium formulation of entomopathogenic fungi to suppress subterranean pests in small fruits. *Biocontrol. Science and .Technology*. 8: 197-206.
168. **EKESI S., MANIANIA N.K., AMPONG-NYARKO K. et ONU E.T.I., 1998** – Potential of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin for control of the legume flower thrips, *Megalurothrips sjostedti* (Trybom) on cowpea in Kenya. *Crop Protection*. 17: 661-668.
169. **CAMPBELL L.G., EIDE J.D., SMITH J., AND G. et SMITH A., 2000** – Control of sugarbeet root maggot with *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Sugar Beet Research*, 37: 57-69.

170. **SHAH P.A. et PELL J.K., 2003** – Entomopathogenic fungi as biological control agents. *Applied of Microbiology and Biotechnology* 61 (5–6): 413–423.
171. **DUTRA V., NAKAZATO L., BROETTO L., SCHRANK S.I., VAINSTEIN H.M. et SCHRANK A., 2004** – Application of representational difference analysis to identify sequence tags expressed by *Metarhizium anisopliae* during the infection process of the tick *Boophilus microplus* cuticle. *Research in Microbiology*, 155: 245–251.
172. **QUESADA-MORAGA E., SANTOS-QUIROS R., VALVERDE-GARCÍA P. et SANTIAGO-A´LAREZ C., 2004** – Virulence, horizontal transmission, and sublethal reproductive effects of *Metarhizium anisopliae* (Anamorphic fungi) on the German cockroach (*Blattodea: Blattellidae*). *Journal of Invertebrate Pathology*, 87 (1): 51–58.
173. **SCHOLTE E.J., NG´HABI K., KIHONDA J., TAKKEN W., PAAIJMAN K., ABDULLA S., KILLEEN G.F. et KNOLS B.G.J., 2005** – An entomopathogenic fungus for control of adult african malaria mosquitoes. *Science*, 308 (5728): 1641–1642.
174. **DE MELO D.R., FERNANDES E.K., DA COSTA G.L., SCOTT F.B. et BITTENCOURT V.R., 2008** – Virulence of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* to *Ctenocephalides felis felis*. *Annual New York Academy of Science*. 1149: 388–390.
175. **MORAES A.P., ANGELO IDA C., FERNANDES E.K., BITTENCOURT V.R. et BITTENCOURT A.J., 2008** – Virulence of *Metarhizium anisopliae* to eggs and immature stages of *Stomoxys calcitrans*. *Annual New York Academy of Science*. 1149:384–387.
176. **ELLIOTT S.L., BLANFORD S. et THOMAS M.B., 2002** – Host–pathogen interactions in a varying environment: temperature, behavioural fever and fitness. *Proceedings of the Royal Society*, B 269:1599–1607.

177. **MCCOY C.W., SAMSON R.A. et BOUCAIS D.G., 1988** – Entomogenous Fungi. *In Handbook of natural pesticides, Microbial insecticides part A. Entomogenous protozoa and fungi.* CRC, Boca Raton: 151-236.
178. **ONOFRE SB., VARGAS L.R.B., ROSSATO M., BARROS N.M., BOLDO J.T., NUNES A.R.F. et AZEVEDO J.L., 2002** – Controle biológico de pragas na agropecuária, por meio de fungos entomopatogênicos. *Biotecnologia: Avanços na Agricultura e na Agroindústria*, EDUCS, Caxias do Sul: 295-317.
179. **CAMPBELL L.G., BOETEL M.A., JONASON N.B., JARONSKI S.T. et SMITH L.J., 2006** – Grower-adoptable formulations of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales) for sugarbeet root maggot (Diptera: Ulidiidae) Management. *Journal of Environment Entomology*, 35(4): 986-991.
180. **ST LEGER R.J., GOETTEL M., ROBERTS D.W. et STAPLES R.C., 1991** – Prepenetration events during infection of host cuticle by *M. anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 58: 168-179.
181. **HOE P.K., BONG C.F.J., JUGAH K. et RAJAN A., 2009** – Evaluation of *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycete) Isolates and their Effects on Subterranean Termite *Coptotermes curvignathus* (Isoptera: Rhinotermitidae). *American Journal of Agricultural and Biological Science*, 4 (4): 289-297.
182. **MILNER R.J., 2000** – Current status of *Metarhizium* for insect control in Australia. *Biocontrol News and Information*, 21: 47-50.
183. **ANONYME, 2008** – *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* BIPESCO 5/F52, Identity, physical and chemical properties. APPENDIX II. European Commission, Health & Consumers Directorate-General: 1-6.
184. **ANONYME, 2010** – Rapport d'évaluation ERC2010-01, *Metarhizium anisopliae* souche F52. l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire de Santé. Canada. 54 p.

185. **EKESI S., DIMBI S. et MANIANIA N.K., 2007** – The role of entomopathogenic fungi in the integrated management of tephritid fruit flies (*Diptera: Tephritidae*) with emphasis on species occurring in Africa. *Biological Pest Management. Research*, Kerala: 239–274.
186. **KONSTANTOPOULOS M.A. et MAZOMENOS B.E., 2005** – Evaluation of *Beauveria bassiana* and *B.brongniartii* strains and four wild-type fungal species against adults of *Bactrocera oleae* and *Ceratitis capitata*. *Biocontrol*, 50: 293–305.
187. **HOUPING L. et BAUER S., 2006** – Susceptibility of *Agilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae) to *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Economic Entomology*, 99 (4):1096-1101.
188. **POURSEYEDA S.H., TAVASSOLIA M., BERNOUSIB I. et MARDANI K., 2010** – *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales): An effective alternative to chemical acaricides against different developmental stages of fowl tick *Argas persicus* (Acari: Argasidae). *Veterinary Parasitology*, 6 p.
189. **ALONSO-DÍAZ M.A., GARCÍA L., GALINDO-VELASCO E., LEZAMA-GUTIERREZ R., ANGEL-SAHAGUÍN C.A., RODRÍGUEZ-VIVAS R.I. et FRAGOSO-SANNCHEZ H., 2007**–Evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycetes) for the control of *Boophilus microplus* (Acari:Ixodidae) on naturally infested cattle in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*, 147: 336- 340.
190. **OJEDA-CHIA M.M., RODRIGUEZ-VIVASA R.I., GALINDO-VELASCOB E. et LEZAMA-GUTIÉRREZ R., 2010** – Laboratory and field evaluation of *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina: Hyphomycetes) for the control of *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae) in the Mexican tropics. *Veterinary Parasitology*, 170: 348–354.
191. **GUPTA S., ROBERTS D.W. et RENWICK J.A.A., 1989** – Insecticidal cyclodeptide from *Metarhizium anisopliae*. *Journal of the Chemical Society Perkin Transactions*, 1: 2347–2357.

192. **ROBERTS D.W., GUPTAS, ET ST LEGER R.J., 1992** – Metabolite production by entomopathogenic fungus. *Pesquisa Agropecua'ria Brasileira*, 27: 325–347.
193. **PAL S., ST LEGER R.J. et WUL P., 2007** – Fungal peptide destruxin A plays a specific role in suppressing the innate immune response in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Biological Chemistry*, 282: 8969–8977.
194. **KRASNOFF S.B., SOMMERS C.H., MOON Y-S., DONZELLI B.G.G., VANDENBERG J.D., CHURCHILL A.C.L. et GIBSON D.M., 2006** – Production of mutagenic metabolites by *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54: 7083–7088.
195. **VEY A. et QUIOT J.M., 1989** – Effet cytotoxique in vivo et chez l'insecte hôte des destruxines, toxines cyclodepsipeptidiques produites par le champignon entomopathgène *Metarhizium anisopliae*. *Canadian.Journal of.Microbiology*, 35: 1000–1008.
196. **DUMAS C., ROBERT P., PAI'S M., VEY A., AND J. et QUIOT M., 1994** – Insecticidal and cytotoxic effects of natural and hemisynthetic destruxines. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 108: 195-203.
197. **DAVIDSON E.W., PATRON R.B-R., LACEY L.A., FRUTOS R., VEY A., AND D. et HENDRIX L., 1996** – Activity of natural toxins against the silver leaf white fly, *Bemisia argentifolii*, using a novel feeding bioassay system. *Entomology Experiment Applied*, 79: 25-32.
198. **VEY A., HOAGLAND R. et BUTT T.M., 2001** – Toxic metabolites of fungal biocontrol agents. CAB International, Oxon: 311–345.
199. **PEDRAS M.S.C., ZAHARIA L.I. et WARD D.E., 2002** – The destruxins: Synthesis, biosynthesis, biotransformation, and biological activity. *Phytochemistry*, 59 (6): 579–596.
200. **FARGUES J., ROBERT P.H., VEY A. et PAIS M., 1986** – Toxicité relative de la destruxine E pour le Lépidoptère *Galleria mellonella* L. *Academie des. Sciences*, Paris: 83-86.

201. **KERSHAW M.J., MOORHOUSE E.R., BATEMAN R., REYNOLDS S.E. et CHARNLEY A.K., 1999** – The role of destruxins in the pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* for three species of insect. *Journal of Invertebrate Pathology*, 74: 213-223.
202. **TAJICK GHANBARY M.A., ASGHARZADEH A., HADIZADEH A.R. et MOHAMMADI SHARIF M., 2009** – A Quick Method for *Metarhizium anisopliae* Isolation from cultural soils. *American Journal of Agricultural and Biological Science*, 4 (2): 152-155.
203. **BATEMAN R.P., 1991** – L'application des mycopesticides antiacridiens en gouttelettes antiacridiens calibries: 250-257.
204. **XIE Y., LIU W., XUE J., PENG G., HAN Z. et ZHANG Y., 2010** – Integument of soft scale insects and the invasion of the pathogenic fungus *Lecanicillium lecanii*. *Entomologia Hellenica*, 19: 66-75.
205. **BORDERAU C. et ANDERSON S.O., 1978**— Structural cuticular proteins in termite queens. *Comparative Biochemistry and Physiology*, 60B: 251-265.
206. **TANG L., LIANG J., ZHAN Z., XIANG Z. et HE N., 2010** – Identification of the chitin-binding proteins from the larval proteins of silkworm, *Bombyx mori*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 40: 228- 234.
207. **LAEMMLI U. K., 1970**— Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature (London)*, 227:680–685.
208. **ANONYME, 2007** – Techniques d'analyse-Electrophorèse sur gel de polyacrylamide (PAGE: *polyacrylamide gel electrophoresis*). Document technique - ASSOCIATION CIBAC. 42 p.
209. **ANONYME,2005** - Promega corporation .Broad rang protein molecular weight markers .1 p

210. **NØHR C. et ANDERSEN S.O., 1993** – Cuticular proteins from fifth instar nymphs of migratory locust *Locusta migratoria*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 23(4): 521-531.
211. **BISSAAD F.Z., YOUCEF M. et DOUMANDJI-MITICHE B., 2010** – Effet d'un champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* sur la cuticule de criquet pèlerin (*Schistocerca gregaria*, Forskål, 1775). *European Journal of Scientific Research* .45 (1): 55-63.
212. **NASIRUDDIN M. et MORDUE A.J., 1993** – The effect of azadirachtin on the midgut histology of the locust. *Schistocerca gregaria* and *Locusta migratoria*. *Tissue and Cells*, 25(6): 875-884.
213. **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 en Sciences Agronomiques, Institut National Agronomique, El Harrach, Algérie, 186 p.
214. **SOLTANI-MAZOUNI N. et SOLTANI N., 1992** – Protein synthesis in the fat body of *Tenebrio molitor* (L.) during oocyte maturation: Effect of Diflubenzuron, cycloheximide and starvation. *Journal of Stored Products Research*, 31: 117-122.
215. **CHAPMAN R.F., 1972** – The insects. Structure and function. Ed. The English Universities Press, New York, 819 p.
216. **GULLAN P.G. et CRANSTON P.S., 2005** – The insects: an outline of entomology. 3rd edition. *Blackwell Publishing*, United Kingdom: 68-80.
217. **SANTI L., DA SILVA W.O.B., PINTO A.F.M., SCHRANK A. et VAINSTEIN M.H., 2009** – Differential immunoproteomics enables identification of *Metarhizium anisopliae* proteins related to *Rhipicephalus microplus* infection. *Research in Microbiology*, 160: 824-828.

218. **ANDERSEN S.O., 2002** – Characteristic properties of proteins from pre-ecdysial cuticle of larvae and pupae of mealworm *Tenebrio molitor*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 31:445-452.
219. **HILLERTON J.E et VINCENT J.F.V., 1979** – The stabilisation of insect cuticles. *Journal of Insect Physiology*, 25: 957-963.
220. **SWIONTEK M. B. et DONDESKI W., 2001** – Occurrence and Activity of the Chitinolytic Bacteria of *Aeromonas* Genus. *Polish Journal of Environmental Studies*, 10(1): 27-31.
221. **FERRON P., FARGUES J. et RIBA G., 1991** – Les champignons agents de lutte microbiologiques contre les ravageurs. *Dost. Cell. Env.*, 5:55-76.
222. **ST LEGER R.J., JOSHI L., BIDOCHKA M.J., RIZZO N.W. et ROBERTS D.W., 1996** – Characterization and Ultrastructural Localization of Chitinases from *Metarhizium anisopliae*, *M. flavoviride*, and *Beauveria bassiana* during fungal invasion of host (*Manduca sexta*) cuticle. *Applied and Environmental Microbiology*, Edt. American Society for Microbiology, 62(3): 907–912.
223. **SUN CHUL. K., SANGGYU P. et DONG GYU L., 1998** – Purification and characterisation of a noval chitinase from the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 73: 267-281.
224. **NAHAR P., GHORMADE V. et DESHPANDE M.V., 2004** – The extracellular constitutive production of chitin deacetylase in *Metarhizium anisopliae*: possible edge to entomopathogenic fungi in the biological control of insect pests. *Journal of Invertebrate Pathology* , 85 : 80–88
225. **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).Thèse Ingénieur d'état en Sciences Agronomiques. Institut National. d'Agronomie, El Harrach, Algérie, 121 p.

226. **ST LEGER R.J., LOKESH-JOSH I., MICHAEL J., BIDOCHKA M.J. et DONALD W., 1995** – Protein synthesis in *Metarhizium anisopliae* growing on host cuticule. *Mycological Research*, 99(9): 1034-1040.
227. **DAHOUN G., 2000** – Activité biologique d'un dérégulateur de croissance le Téflubenzuron sur le cinquième stade larvaire de *Locusta migratoria* (Linné. 1758): Efficacité et effet sur la biochimie de la cuticule, l'hémolymphe et les ovaires. Thèse Ingénieur d'état en Sciences Agronomiques, Institut Nationale d'Agromonie, El-Harrach, Algérie, 175 p.
228. **VINCENT J.F.V. et CLARKE L., 1985** – Effects of Diflubenzuron on the stabilisation of protein within the cuticular matrix of the locust (Ensifera: Locustodae). *Entomological Generation*, 11(1/2):15- 24.
229. **CHANDLER D.R., KING R.G., JEWESS P. et REYNOLDS S.E., 1991** – Temperature effects on the action of a clurea insecticides against tobacco hornworm (*Manduca sexta*) larvae. *Pesticide Science*, 31: 295-304.
230. **CHARNLEY A.K., 2003** – Fungal pathogens of insects: cuticle degrading enzymes and toxins. *Advance of. Botanical Research*. 40: 241-321.
231. **NEVILLE A.C., 1975** – Biology of Arthropod Cuticle. *Springer*, New York, 448 p.
232. **HILLERTON J.E. et PURSLOW P.P., 1981** – An investigation of some matrix protein components critical to the extensible properties of insect cuticle. *Journal of. Materials Science*, 16: 1673-1679.
233. **ST LEGER R.J., CHARNLEY A.K. et COOPER R.M., 1987** – Characterization of cuticle-degrading proteases produced by the entomopathogen *Metarhizium anisopliae*. *Biochemistry and Biophysyc.* 253: 221-232.
234. **GOETTEL M.S., ST LEGER R.J., RIZZO N.W., STAPLES R.C. et ROBERTS W., 1989** – Ultrastructural localization of a cuticle-degrading protease produced by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* during penetration of host (*Manduca sexta*) cuticle. *Journal of. Genetic and. Microbiology*. 135: 2233–2239.

235. **DONATTI A.C., FURLANETO-MAIA L., FUNGARO M.H.P. et FURLANETO M.C., 2008** – Production and regulation of cuticle-degrading proteases from *Beauveria bassiana* in the presence of *Rhammatocerus schistocercoides* cuticle. *Current Microbiology*, 56: 256-260.
236. **DIAS B.A., NEVES P.M.O.J., FURLANETO-MAIA L. et FURLANETO M.C., 2008** – Cuticle-degrading proteases produced by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana* in the presence of coffee berry borer cuticle. *Brazilian Journal of Microbiology*, 39: 301-306.
237. **NUNES A.R.F., MARTINSI J.N., FURLANETO M.C. et DE BARROSI N.M., 2010** – Production of cuticle-degrading proteases by *Nomuraea rileyi* and its virulence against *Anticarsia gemmatilis*. Centre de Sciences biologiques, Université Estadual de Londrina, Londrina, Brésil, 7 p.
238. **EL-SAYED G. N., IGNOFFO C. M., LEATHERS T. D. et GUPTA S.C., 1993** – Cuticular and non-cuticular substrate influence on expression of cuticledegrading enzymes from conidia of an entomopathogenic fungus, *Nomuraea rileyi*. *Mycopathologia*, 122:79–87.
239. **EL-SAYED G.N., IGNOFFO C.M., LEATHERS T.D. et GUPTA S.C., 1993** – Effects of cuticle source and concentration on expression of hydrolytic enzymes by an entomopathogenic fungus, *Nomuraea rileyi*. *Mycopathologia*, 122: 149-152.
240. **MATSUMOTO K.S., 2006** – 13 Fungal chitinases- Advances in Agricultural and Food Biotechnology. Universidad Autonoma Metropolitana, Biotechnology Department, Lab. Biopolymers. Mexico City, 290-304.
241. **FUKAMIZO T., 2000**–Chitinolytic enzymes: catalysis, substrate-binding and their application. *Current Protein Peptide*, 1: 105- 124.
242. **MANALIL N.S., TEO V.S.J., BRAITHWAITE K., BRUMBLEY S., SAMSON P. et NEVALAINEN K.M.H., 2010** –Comparative analysis of the *Metarhizium anisopliae* sectome in response to exposure to the greyback cane grub and

grub cuticles .*Fungal Biology*: 1-9.

243. **MURAD A.M., NORONHA E.F., MILLER R.N.G., COSTA F.T., PEREIRA C.D., MEHTA A., CALDAS R.A. et FRANCO O.L., 2008** – Proteomic analysis of *Metarhizium anisopliae* secretion in the presence of the insect pest *Callosobruchus maculatus*. *Microbiology*, 154: 3766–3774.
244. **SNYDER M., HUNKAPILLER M., YUEN D., SILVERT D., FRISTROM J. et DAVIDSON, N., 1982** – Cuticle protein genes of *Drosophila*: structure, organization and evolution of four clustered genes. *Cell*, 29: 1027–1040.
245. **BINGER L.C. et WILLIS J.H., 1994** – Identification of the cDNA, gene and promoter for a major protein from flexible cuticles of the giant silkworm *Hyalophora cecropia*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 24: 989–1000.
246. **NAKATO H., SHOFUDA K., IZUMI S. et TOMINO S., 1994** – Structure and developmental expression of a larval cuticle protein gene of the silkworm, *Bombyx mori*. *Biochemistry and Biophysyc*, 1218: 64–74.
247. **MATHELIN J., BOUHIN H., QUENNEDEY B., COURRENT, A. et DELACHAMBRE J., 1995**– Identification, sequence and mRNA expression pattern during metamorphosis of a cDNA encoding a glycine-rich cuticular protein in *Tenebrio molitor*. *Genetics*, 156: 259–264.
248. **CHARLES J.P., CHIHARA C., NEJAD S. et RIDDIFORD L.M., 1997**– A cluster of cuticle protein genes of *Drosophila melanogaster* at 65A: sequence, structure and evolution. *Genetics*, 147: 1213–1224.
249. **ANDERSEN S.O., 1998** – Amino acid sequence studies on endocuticular proteins from the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 28: 421–434.
250. **DOTSON E.M., CORNEL A.J., WILLIS J.H. et COLLINS F.H., 1998** – A family of pupal-specific cuticular protein genes in the mosquito *Anopheles gambiae*. *Insect Biochemistry and Molecular Biolog*, 28: 459–472.

251. **HOPKINS T. L., KRCHMA L. J., AHMAD S. A., KRAMER K. J., 2000-** Pupal cuticle proteins of *Manduca sexta*: characterization and profiles during sclerotization. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30:19–27.
252. **ANDERSEN S.O., 2000–** Studies on proteins in post-ecdysial nymphal cuticle of locust, *Locusta migratoria* and cockroach *Blaberus craniifer*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 30: 569–577.
253. **YOUSEF H.A.2003-** Cuticular proteins of *parasarcophaga aegyptiaca* (salem): characterization and profiles during development. *Efflatounia*, 3: 1-9.
254. **DITZELA N., ANDERSEN S. O. et HØJRUP P., 2003–** Cuticular proteins from the horseshoe crab, *Limulus polyphemus*. *Comparative Biochemistry and Physiology, Part B* 134 489–497.
255. **PAUL S., NAYAN P., PRASAD R. N., BESRA S. E. et BESRA S.,2010–** electrophoretic studies on the major carapace proteins in *sartoriana spinigera*, freshwater crab (wood mason, 1871). *The bioscan*, 1: 225-230.
256. **KARLSON P. et SEKERIS C.E., 1962 –** N-acetyldopamine as sclerotizing agent of the insect cuticle. *Nature London* (195): 183-184.
257. **HOPKINS T.L., MORGAN T.D., ASO Y. et KRAMER K.J., 1982 –** N-b-Alanyldopamine: major role in insect cuticle tanning. *Science* (217): 364-366.
258. **HOPKINS T.L. et KRAMER K.J., 1992 –** Insect cuticle sclerotization. *Annual Review of Entomology* (37):273–302.
259. **ANDERSEN, S.O., PETER, M.G., ROEPSTORFF, P., 1996–** Cuticular sclerotization in insects. *Comparative Biochemistry and Physiology* 113): 689–705.
260. **ANDERSEN S.O. et HOJRUP P., 1987–** Extractable proteins from abdominal cuticle of sexually mature locusts, *Locusta migratoria*. *Insect Biochemistry*, 17:45–51.

261. **JARROLD S.L., MOORE D., POTTER U. et CHARNLEY A.K., 2007** – The contribution of surface waxes to pre-penetration growth of an entomopathogenic fungus on host cuticle. *Mycological Research*, 111: 240-249.
262. **PADMINI P., BHAGYA L. et GURVINDER K., 2010**– Isolation and purification of cuticle degrading extra cellular proteases from entomopathogenic fungal species of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *International Journal of Applied Biology And Pharmaceutical Technology* .vol I (3): 1150-1156.
263. **ST LEGER R.J., COOPER R.M. et CHARNLEY A.K., 1991** – Characterization of chitinase and chitobiase produced by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 58: 415-426.
264. **PINTO A.S., BARRETO C.C., SCHRANK A., ULHOA C.J. et VAINSTEIN M.H., 1997** – Purification and characterization of an extracellular chitinase from the entomopathogen *Metarhizium anisopliae*. *Canadian Journal of Microbiology*, 43: 322- 327.
265. **KANG S.C., PARK S. et LEE D.G., 1999** – Purification and characterization of a novel chitinase from the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 73: 267-271.
266. **KOTZE A.C. et REYNOLDS S.E., 1991**– An examination of cuticle chitin and protein in cyromazine affected *Manduca sexta* larvae. *Pesticide Biochemistry And Physiology*, 41: 14-20.
267. **ANONYME, 2009** – Mouche *Stomorhina lunata* <<http://www.fond-ecran-image.fr/galerie-membre/mouche-stomorhina-lunata/mouche-stomorhina-lunata-p1230400.jpg>>. Page consultée le 11/09/2011.
268. **GREATHEAD D.J., 1958** – Observations on two species of *Systoechus* (*Diptera: Bombyliidae*) preying on the Desert Locust, *Schistocerca gregaria* (Forskål) in eastern Africa. *Entomophaga*, 3: 1-22.
269. **GREATHEAD D.J., 1963** – A review of the insect enemies of *Acridoidea* (*Orthoptera*). *Proceedings of the Royal Society*, 114: 437-517.

270. **ANONYME, 2010** – *Pseudomonas aeruginosa*. Un article de Wikipédia, l'encyclopédie libre. [en ligne] <http://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa>. Page consultée le 26 septembre 2010.
271. **ANONYME, 2010** – [En ligne] « http://www.schimmelschimmelpilze.de/images/aspergillus_flavus_04_600x.jpg ».Page consultée le 26 septembre 2010.
272. **DE KOUASSI M., 2001** – Les possibilités de la lutte microbiologique, *Vertigo – la revue électronique en sciences de l'environnement* [en ligne] (le 01 octobre 2001) <<http://vertigo.revues.org/4091>> Page consultée le 26 septembre 2010.
273. **KLEESPIES R.G., Huger A.M. et STEPHAN D., 2000** – Diagnosis and pathology of diseases from locusts and other orthopterans. GTZ (Eschborn, Germany) and BBA (Darmstadt, Germany), 43 p.