

ÉTUDE DE L'IMPACT BIOLOGIQUE DE *PSEUDOMONAS SPP.* FLUORESCENTS SUR LES MÉTABOLITES HÉMOLYPHATIQUES ET L'HISTOLOGIE DU TUBE DIGESTIF DES LARVES L5 DU CRIQUET MIGRATEUR *LOCUSTA MIGRATORIA* (LINNÉ, 1758)

H. Oulebsir-MohandKaci et B. Doumandji-Mitiche¹

Département de Biologie, Faculté des Sciences, Université de M'hamed Bougara,
B.P. 35000 Boumerdes, Algérie

¹ Département de Zoologie Agricole et Forestière, Ecole Nationale Supérieure Agronomique,
16200 Alger, Algérie
mkbio2005@yahoo.fr

(Received 31 December 2010 - Accepted 25 August 2011)

RÉSUMÉ

Cette étude a permis de tester l'effet des bactéries entomopathogènes de *Pseudomonas fluorescens* bv III et *Pseudomonas fluorescens* bv V sur les métabolites hémolympatiques de *Locusta migratoria*, à savoir les protéines et les glucides ainsi que sur l'histologie de l'appareil digestif des larves du cinquième stade du criquet migrateur *Locusta migratoria*.

On constate d'après les résultats obtenus, une diminution significative de la concentration des protéines hémolympatiques comparativement aux témoins avec cependant une augmentation du taux des glucides. Après la réalisation des coupes histologiques, l'examen des différentes parties du tube digestif a montré quelques modifications histologiques chez les individus traités.

Mots-clés: *Locusta migratoria*, hémolymphe, *Pseudomonas fluorescens*, histologie, protéine, glucide

ABSTRACT

This study allows to test the effect of entomopathogenic bacteria of *Pseudomonas fluorescens* bv III and *Pseudomonas fluorescens* bv V on the haemolymph of *Locusta migratoria* metabolites, namely proteins and carbohydrates as well as on the histology of the digestive system of fifth stage larvae of migratory locust *Locusta migratoria*.

The results show an important decrease of haemolymph protein concentration compared to controls with an increase in carbohydrate concentration. Examination of histological sections of various parts of the digestive tract showed some changes in treated individuals.

Keywords: *Locusta migratoria*, haemolymph, *Pseudomonas fluorescens*, histology, protein concentration, carbohydrate

INTRODUCTION

Connus depuis l'Antiquité, les vols de criquets causent périodiquement de terribles ravages ; des arbres se cassent sous leur poids, ils rasant des milliers de km² de cultures. Il existe plusieurs espèces de criquets, aux aires de reproduction et aux voies de migration distinctes.

Parmi les criquets ennemis des cultures sahéliennes, le criquet migrateur *Locusta migratoria* occupe une très grande extension géographique. De nombreuses sous espèces plus ou moins nettes ont été décrites principalement en Afrique, à Madagascar, en Asie orientale, en Australie et en région méditerranéenne (Duranton *et al.*, 1982).

L'homme est longtemps resté désarmé devant ce phénomène ; ce n'est que vers les années 1930 qu'on a découvert la biologie de cet insecte. On a pu alors limiter les dégâts que les criquets migrants infligent dans les régions tropicales de l'Afrique.

Les mesures préventives ont déjà donné quelques résultats positifs ce qui est très encourageant (Duranton & Lecoq, 1990).

Le problème qui se pose actuellement est l'utilisation de manière intensive des insecticides qui menace dangereusement la sécurité des consommateurs (De Visscher, 1991; Rachadi, 1991).

Plusieurs recherches récentes ont fait l'objet de résultats prometteurs pour trouver des produits à base d'organismes entomopathogènes qui stoppent la croissance des larves.

En vue d'évaluer l'effet des biopesticides sur les insectes et notamment sur les acridiens, des études ont été effectuées par Greathead *et al.* (1994); Lazare *et al.* (1996); Zelazny *et al.* (1997) et McNeill et Hurst (2008). En Algérie, on note celles réalisées par Benfkih-Allal (2006) et Mohanad Kaci et Doumandji-Mitiche (2006).

Cependant, à notre connaissance, aucune étude sur l'effet des bactéries de *Pseudomonas spp.* fluorescents sur le criquet migrateur *Locusta migratoria* n'a été réalisée.

C'est dans ce concept que ce travail s'inscrit. Son objectif essentiel est d'étudier les incidences biologiques des bactéries de l'espèce *Pseudomonas fluorescens* bv III et *Pseudomonas fluorescens* bv V sur le criquet migrateur en évaluant leurs effets sur la composition biochimique de l'hémolymph et sur l'histologie du tube digestif des larves du 5^{ème} stade (L5) de *Locusta migratoria*.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

L'étude a été réalisée sur une espèce acridienne *Locusta migratoria*. Les individus utilisés sont issus d'un élevage reproduit dans des cages en bois de forme parallélépipédique, recouvertes d'une tulle et comportant une porte coulissante pour permettre les différentes manipulations. Le fond de la cage est perforé de trous circulaires où sont placés des pondoires

remplis de sable stérilisé et humidifié, permettant de récupérer les oothèques. L'éclairage est assuré d'une façon continue par une ampoule dans chaque cage. La salle d'élevage est munie d'un système de chauffage permettant de maintenir une température constante autour de 30° C.

Les souches de *Pseudomonas spp.* fluorescents utilisées sont : *Pseudomonas fluorescens bv III* à la concentration de $2,32.10^7$ UFC/ml et *Pseudomonas fluorescens bv V* à la concentration de $2,21.10^7$ UFC/ml.

On a isolé ces bactéries à partir de sol au niveau de la couche rhizosphérique dans deux palmeraies de la région de Biskra et Ghardaia (sud de l'Algérie), par la suite, elles ont été purifiées et identifiées suivants leurs caractères physiologiques et biochimiques (Guiraud, 1998).

Dosage des métabolites

L'application des traitements biologiques a eu lieu 48 heures après la 4^{ème} mue larvaire ; les individus ont reçu par injection, 20 µl de la suspension bactérienne (dilutions 10^{-3} et 10^{-5} de *Pseudomonas fluorescens bv III* et *Pseudomonas fluorescens bv V*) sous la patte métathoracique à raison de 05 individus par traitement (n= 05). Les témoins ont reçu le même volume d'eau physiologique.

Le prélèvement de l'hémolymphe est réalisé 72h après l'application du traitement à proximité d'un bec Bunsen pour éviter la coagulation de l'hémolymphe.

Lors du prélèvement, l'individu est immobilisé entre le pouce et l'index, puis on introduit une pipette Pasteur sous le pronotum et on prélève environ 10 µl d'hémolymphe dont 5 µl utilisés pour le dosage des protéines, et 5µl pour le dosage des glucides. L'hémolymphe ainsi prélevé est conservé dans des tubes eppendorffs à -20 °C jusqu'au dosage.

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford qui repose sur le principe suivant : une solution acide de bleu de Coomassie possède un maximum d'absorption à 595nm lorsqu'elle fixe des protéines. Il faut souligner que la réaction n'est linéaire que dans une certaine gamme de concentration (Bertrand, 2007).

La méthode colorimétrique de dosage des glucides par l'anthrone repose sur le principe suivant : dissous en milieu sulfurique concentré, l'anthrone apparaît de couleur jaune claire et donne avec les solutions de glucides selon leur concentration ; une gamme assez lumineuse allant du vert au bleu-vert (Bachelier & Gavinelli, 1966).

Etude histologique

Pour l'application des traitements biologiques, les larves du 5^{ème} stade de *Locusta migratoria* âgées de 48 h sont traitées par voie buccale. 20 µl de la suspension bactérienne (dilution 10^{-1} de la bactérie *Pseudomonas fluorescens bv III*) sont introduits à l'aide d'une micropipette dans l'appareil buccal de la larve. Les témoins sont traités par de l'eau physiologique. Le nombre d'individus utilisés est de 05 par traitement (n= 05).

Après cela, on a réalisé les coupes histologiques qui comportent plusieurs opérations. La méthode la plus utilisée est celle de l'inclusion sur paraffine qui donne des coupes très fines et observables au microscope photonique.

Selon Martoja et Martoja-Pierson (1967) et Bensalem-Bendjelloul (1998), cette technique passe par 7 étapes :

Prélèvement de la pièce qui a lieu 72 heures après traitement.

Fixation de la pièce dans un liquide fixateur : le Bouin de Hollande.

Lavage, déshydratation par passage des pièces dans des bains successifs d'éthanol à degré croissant (70°, 95° et 98°), et imprégnation à la paraffine.

Inclusion dans la paraffine et mise en blocs.

Microtomisation et étalement sur lame: des rubans des coupes de 5µm sont obtenus à l'aide d'un microtome. Les portions des rubans sont déposées sur des lames contenant de l'eau gélatinée. Ces lames sont ensuite placées sur une plaque chauffante afin d'étaler les coupes puis elles sont séchées.

Coloration des coupes: la coloration utilisée est la coloration topographique dite coloration de Mallory. Elle est composée d'une solution acide de fuchsine et d'une solution de Mallory.

Montage des coupes entre lame et lamelle à l'aide d'un baume histologique « baume de canada ».

Analyse statistique

Les résultats obtenus sont soumis aux tests de l'analyse de la variance. Les valeurs de $p \leq 0,05$ sont considérées statistiquement significatives.

On a appliqué en outre le test de Newman-Keuls qui est un test de comparaison de moyennes par paires, pratiqué à l'issue d'une ANOVA. Il fournit pour chaque paire de comparaison une valeur de statistique de test « $q_{\text{observé}}$ » que l'on confronte à une valeur critique théorique issue de la table de Newman-Keuls. Le Logiciel utilisé est le XLSTAT.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

Les symptômes

Les individus traités par différentes concentrations des bactéries *Pseudomonas fluorescens* bv III et *Pseudomonas fluorescens* bv V ont montré des symptômes et comportements très remarquables (Fig.1).



Difficulté de la mue imaginale

Noircissement du corps

Corps mou

Figure 1. Les symptômes observés chez les larves ayant subi le traitement bactérien.

Après la mort, le corps de l'insecte prend une teinte noirâtre et devient mou avec une difficulté de la mue imaginale et des déformations morphologiques chez les L5 survivants après traitement. Ces résultats confirment ceux obtenus par Ould Ahmadou *et al.* (2001), Tail *et al.* (2006), Kemassi *et al.* (2010) et Outtar (2009) sur des acridiens traités par des extraits de plantes et un régulateur de croissance.

On note également un retard très remarquable de la maturité sexuelle chez les adultes issus des L₅ traitées. Cela a été enregistré également après traitement des L5 de *Schistocerca gregaria* par trois plantes acridifuges et une plante acridicide (Abbassi *et al.*, 2005; Ould el Hadj *et al.*, 2006).

Benfekih *et al.* (2007) ont constaté après utilisation de *B. subtilis* sur des individus de *L. migratoria* que la vitellogenèse est inhibée lors de la maturation des ovocytes terminaux dans la phase pré-reproductive avec augmentation de la résorption ovocytaire à la phase reproductive.

Enfin, et contrairement à ces résultats, Bouaïchi et Chihrane (2001) indiquent que le taux de résorption des ovocytes ainsi que le taux et la période de ponte ne sont pas affectés par le diflubenzuron.

Effet des bactéries sur les protéines hémolymphatiques

Les résultats de l'effet des bactéries *Pseudomonas fluorescens* III (*P. fluo* III) et *Pseudomonas fluorescens* V (*P. fluo* V) sur les protéines hémolymphatiques sont représentés dans le Tableau 1.

TABLEAU 1

Les Concentrations (C) des Échantillons en Protéines

Individus	Témoin (D0)	<i>P. fluo</i> III		<i>P. fluo</i> V	
		Dilution 10 ⁻³ (D1)	Dilution 10 ⁻⁵ (D2)	Dilution 10 ⁻³ (D1)	Dilution 10 ⁻⁵ (D2)
C (mg/ml)	0.569±0,137	0.083±0,016	0.141±0,035	0.158±0,076	0.206±0,095
Signifiante		***		**	

*** Différence très hautement significative, ** différence hautement significative

D'après les résultats obtenus, on constate chez les larves traitées par les deux bactéries une nette diminution de la concentration des protéines hémolymphatiques comparativement aux témoins. On note également que plus la dose est élevée, plus la concentration en protéines est faible. En effet, chez les larves traitées par *Pseudomonas fluorescens* III, les concentrations enregistrées sont de 0.083 mg/ml et 0.141 mg/ml pour les doses 10⁻³ et 10⁻⁵ respectivement, tandis que chez celles traitées par *P. fluorescens* V, la concentration des protéines hémolympatique est de 0.158 mg/ml et 0.206 mg/ml pour les doses 10⁻³ et 10⁻⁵ respectivement contre 0.569 mg/ml pour les témoins.

L'analyse de la variance suivie du test de Newman-Keuls révèle une différence très hautement significative ($P=0,0001$) entre les teneurs en protéine chez les individus traités par *P. fluo* III et par *P. fluo* V par rapport aux témoins. Les teneurs en protéines enregistrées diffèrent significativement pour les combinaisons (D0, D1) et (D0, D2); cependant les 2 dilutions utilisées D1 et D2 ne montrent pas de différence significative pour les 2 bactéries.

La diminution de ces paramètres a déjà été notée par Moussa (2003) chez les larves L₅ de *Locusta migratoria* traitées par ingestion et par contact à l'huile de neem (*Azadirachta indica*). De même, Hemour (2009) a enregistré une réduction de la protéinémie chez les larves et les adultes du criquet pèlerin *schistocera gregaria* infectés par le champignon *Metarhizium anisopliae* var *acridum*.

Halouane (1997), Kara et Doumandji- Mitiche (2006) et Milat-Bissaad(2011); ont montré que le traitement aux champignons *Metarhizium anisopliae* *Metarhizium flavoviride* et *Beauveria bassiana* affecte la protéinémie des L5 et des adultes de *Schistocerca gregaria*, et *Locusta migratoria* quantitativement par une diminution de taux des protéines hémolymphatiques et qualitativement par une réduction dans le nombre et dans la colorabilité des bandes protéiques.

Seymour *et al.* (2002) indiquent que la concurrence du *Metarhizium anisopliae* var *acridum*, avec l'individu de *S. gregaria* vis-à-vis de ces métabolites hémolymphatiques conduit à l'épuisement des réserves en protéines accumulées dans le corps gras.

Selon Larpent et Sanglier (1989), les *Pseudomonas* peuvent dégrader de multiples macromolécules grâce à des enzymes hydrolytiques exocellulaires parmi lesquelles on peut retenir les protéases. Cela peut expliquer la diminution du taux des protéines hémolymphatiques par la capacité de ces bactéries à dégrader ces métabolites.

Les glandes de mue dépendent de l'hormone juvénile secrétée par les *corpora allata* pendant la vie larvaire, Cependant l'activité de ces derniers dépend de la protéinémie (Raccaud-Schoeller, 1980). La diminution du taux de protéine enregistrée dans cette étude peut être alors à l'origine des difficultés de la mue imaginale et des malformations signalées chez les L5 survivants après traitement.

Effet des bactéries sur les glucides hémolymphatiques

La concentration en glucides hémolymphatiques des L₅ de *Locusta migratoria* témoins et traitées par *Pseudomonas fluorescens* III et *Pseudomonas fluorescens* V est représentée dans le Tableau 2

Les résultats de dosage montrent que la concentration en glucidse est relativement élevée chez les larves traitées comparativement aux témoins. On note que plus la dose est élevée plus la concentration en glucides est élevée. Aux doses de 10^{-3} et 10^{-5} , les concentrations enregistrées sont respectivement 1,242 mg/ml et 0,974 mg/ml chez les larves traitées par *P.fluo* III contre 1,014 mg/ml et 0,945 mg/ml pour celles traitées par *P. fluo* V. Pour les témoins, la concentration est 0,656 mg/ml. L'ANOVA indique une différence significative au seuil de 5% ($P=0,01$) entre le lot traité par *P. fluo* III et le lot témoin, cependant le test de Newman-Keuls révèle une différence significative uniquement pour la

combinaison (D0, D1). Le traitement par *P. fluo V* a montré une différence non significative de la teneur en glucides.

TABLEAU 2

Les Concentrations (C) des Échantillons en Glucides

Individus	Témoin (D0)	<i>P. fluo III</i>		<i>P. fluo V</i>	
		Dilution 10 ⁻³ (D1)	Dilution 10 ⁻⁵ (D2)	Dilution 10 ⁻³ (D1)	Dilution 10 ⁻⁵ (D2)
C (mg/ml)	0.656±0,174	1.242±0,218	0.974±0,180	1.156±0,220	0.945±0,382
Signifiante		**		NS	

** Différence significative, NS différence non significative

Ces résultats diffèrent de ceux rapportés par la plupart des auteurs qui ont travaillé sur cet aspect. En effet Dahoun (2000) a montré que le traitement des larves L₅ de *Locusta migratoria* par le téflubenzuron provoque une diminution significative des concentrations des sucres totaux au cours du stade L₅. Par contre, à la veille d'exuviation imaginale, le traitement a engendré une augmentation des sucres chez la série traitée comparativement aux témoins.

De même Mahfouf et Azizi (2010) ont signalé une chute du taux de glucides chez les L5 de *L. migratoria* traitées par les bactéries *B. thuringiensis* et *B. subtilis*.

Moretau (1991) et Singh (1986) ajoutent que le lindane, le fenthion et la bioresmethrine diminuent très significativement la teneur en glucides hémolymphatiques chez les larves de *L. migratoria*. Par contre le baygon ne modifie pas ce paramètre. Les auteurs attribuent cette différence au fait que les larves après traitement présentent une phase d'hyperactivité avant d'arriver au stade de prostration. Une telle hyperactivité pourrait être à l'origine de la chute des glucides circulants.

Ces résultats diffèrent de ceux obtenus, ce qui est tout à fait normal du fait que les *Pseudomonas* fluorescents produisent certains métabolites comme les lipopolysaccharides (Lemanceau, 1992), ce qui serait probablement à l'origine de l'augmentation du taux des glucides hémolymphatiques.

Enfin, et d'après l'étude entreprise par Shairra (2009), Une diminution du volume de l'hémolymphe des larves L5 de *S. gregaria* a été observée comme une réponse à l'infection des nématodes *Steinernema glaseri*.

Effet des bactéries sur l'histologie de l'appareil digestif de *Locusta migratoria*

L'observation à l'œil nu du tube digestif des individus traités par la bactérie *P. fluorescens* ne montre pas de lésions ou de déformations morphologiques.

L'observation au microscope photonique a permis une meilleure comparaison entre les différents organes des individus témoins et traités ce qui a conduit donc à bien visualiser les modifications histologiques.

Chez les individus témoins, la région du stomodeum est constitué d'un jabot tapissé par une couche intima cuticulaire, et formé d'un épithélium unistratifié cubique avec des noyaux arrondis. On observe dans le jabot de nombreuses villosités, sur lesquelles se dressent les épines. La musculature du jabot est constituée d'une couche de muscle circulaire externe bien développé qui entoure l'organe et des muscles longitudinaux internes (Planche n°01, Figs. A et B). Le gésier fait partie également du stomodeum, il est tapissé d'une intima cuticulaire, il présente de nombreuses petites villosités uniformes avec une large lumière et un épithélium unistratifié constitué de cellules cubiques avec des noyaux ronds. La musculature du gésier est constituée de muscles longitudinaux internes et de nombreuses couches de muscles circulaires externes (Planche n°01, Figs. C et D). Au niveau du mésenteron, on trouve un intestin moyen qui présente un épithélium pseudostratifié palissadique avec une bordure en brosse et des cellules de régénération situées à la base de l'épithélium. Les muscles sont très réduits et forment une fine couche circulaire interne et quelques fibres longitudinales externes. De plus il présente une membrane péritrophique qui a la forme d'une mince couche enveloppant le bol alimentaire et empêche les aliments imparfaitement broyés de venir en contact avec la paroi intestinale (Planche n°01, Figs. E et F).

La région du mésentéron est pourvue de six caecum gastriques disposés radialement autour de la lumière centrale du tube digestif. Le caecum gastrique présente un épithélium unistratifié formant des villosités qui s'alternent avec les autres plus petites représentant les cryptes de régénération. La cuticule est absente à ce niveau comme dans l'intestin moyen, la musculature est très réduite et composée d'une seule couche de muscles circulaires très fine (Planche n°01, Figs. G et H).

Enfin, dans le proctodeum, s'insère le colon qui présente des replis épithéliaux développés et fructueux emplissant presque toute la lumière de l'organe. Le revêtement chitineux est moins épais que dans l'intestin antérieur. La musculature est représentée par des couches longitudinales et circulaires (Planche n°01, Figs. I et J).

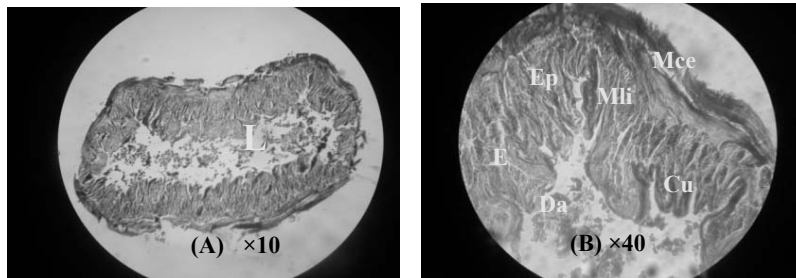
Ces observations du tube digestif chez les témoins concordent avec la littérature (Chauvin, 1938; Grassé, 1976; Raccaud- Schoeller, 1980).

Le traitement apporté par la bactérie *P. fluorescens* bv III à la concentration $2,32 \times 10^7$ UFC /ml (dilution 10^{-1}) sur des larves de cinquième stade de *L. migratoria* ne montre aucune modification morphologique ni des lésions macroscopiques du tube digestif comparativement aux témoins.

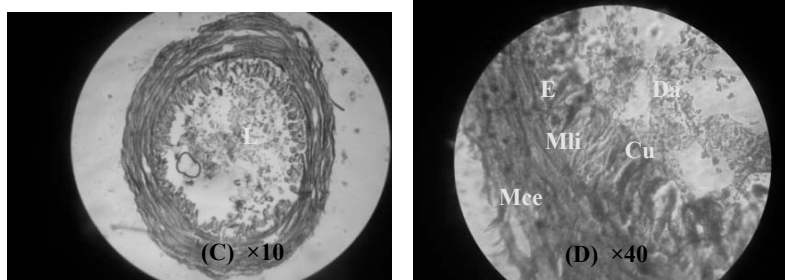
Après la réalisation des coupes histologiques, l'examen des différentes parties du tube digestif a montré que *P. fluorescens* bv III a des effets toxiques certains sur les cellules épithéliales du tube digestif de *L. migratoria*.

L'effet de la bactérie s'est traduit par une légère destruction de la cuticule, des villosités et des muscles circulaires au niveau du jabot, ainsi que la lyse de la membrane péritrophique et les muscles circulaires et une diminution de l'épaisseur de l'épithélium avec élargissement de la lumière intestinale de l'intestin moyen. Le caecum gastrique a subi la lyse

des muscles circulaires et une déchirure au niveau des cellules épithéliales est également observée. Enfin, la bactérie a provoqué la destruction des muscles circulaires externes du colon avec une lyse de la cuticule et de certaines cellules épithéliales.

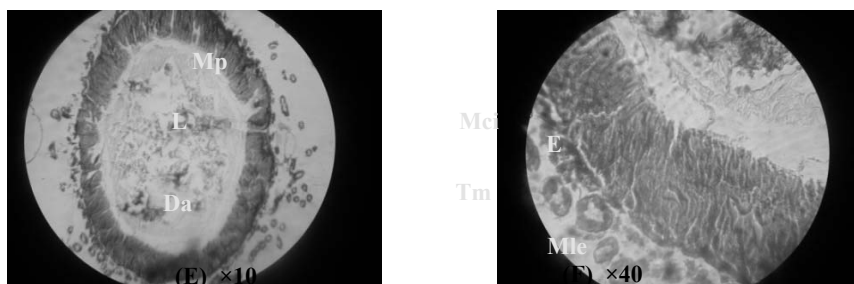


Coupes histologiques transversales du jabot d'un individu témoin de *L. migratoria*

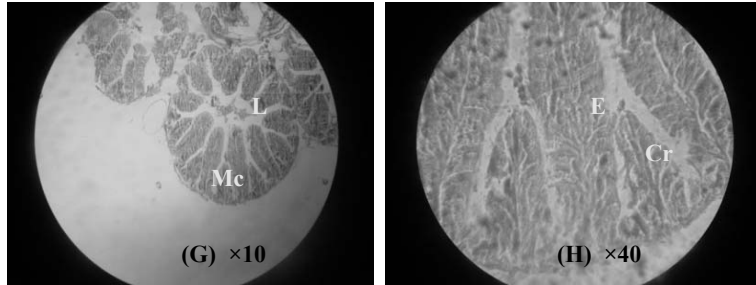


Mce
Mli
Cu
Da
Cu

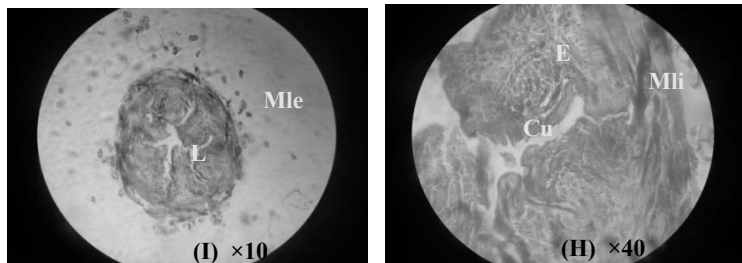
Coupes histologiques transversales du gésier d'un individu témoin de *L. migratoria*



Coupes histologiques transversales de l'intestin moyen d'un individu témoin de *L. migratoria*



Coupes histologiques transversales du caecum gastrique d'un individu témoin de *L. migratoria*

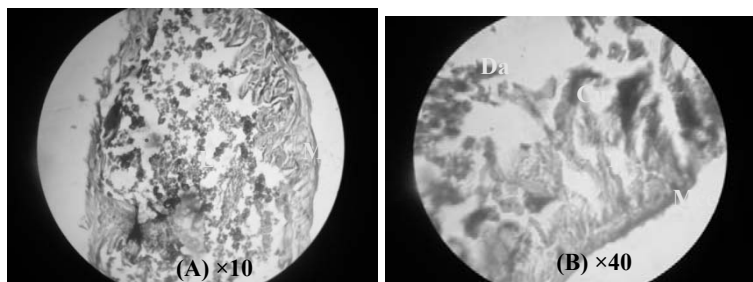


Coupes histologiques transversales du colon d'un individu témoin de *L. migratoria*

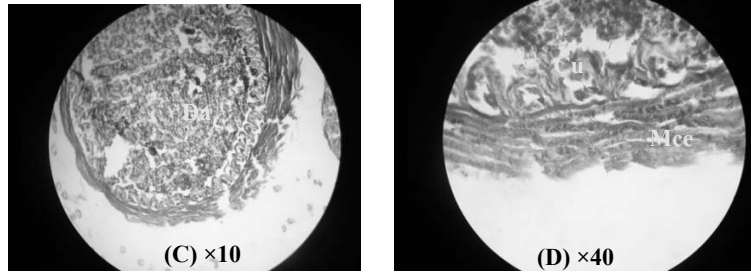
Planche n°01 : Coupes histologiques transversales du tube digestif chez les individus témoins de *L. migratoria* (coloration de Mallory).

Cr : cryptes de régénération, Cu : cuticule, Da : débris alimentaires, E : épithélium intestinale, Ep : épines, L : lumière intestinale, Mc : muscle circulaire, Mce : muscle circulaire externe, Mci : muscle circulaire interne, Mle : muscle longitudinal externe, Mli: muscle longitudinal interne, Mp : membrane péritrophique, Tm : tubes de malpighie.

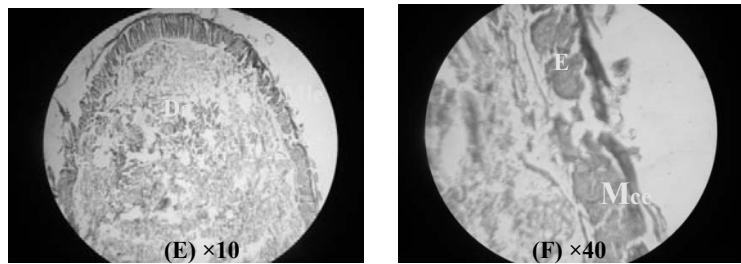
Chez les individus traités, l'examen de différentes parties du tube digestif a montré quelques différences de structure ;



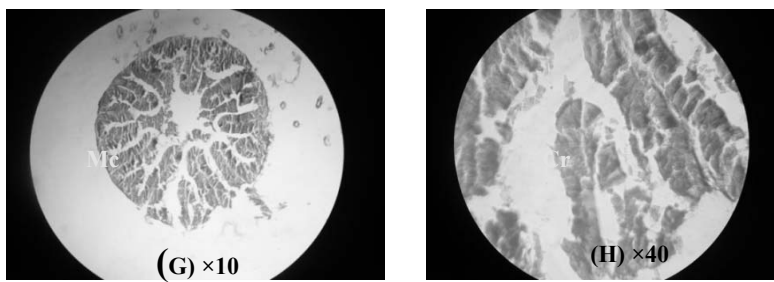
Coupes histologiques transversales du jabot d'un individu de *L.migratoria* traité par *Pseudomonas fluorescens* bv III



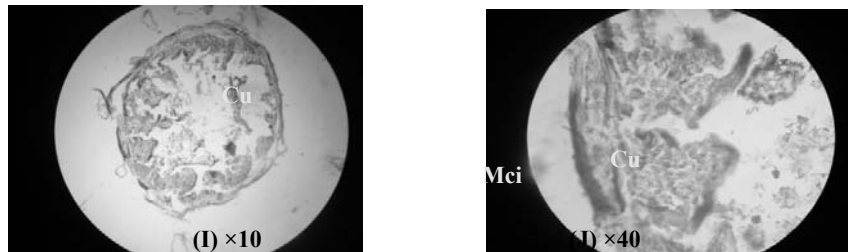
Coupes histologiques transversales du gésier d'un individu de L. migratoria traité par Pseudomonas fluorescens bv III



Coupes histologiques transversales de l'intestin moyen d'un individu de L. migratoria traité par Pseudomonas fluorescens bv III



Coupes histologiques transversales du caecum gastrique d'un individu de L. migratoria traité par Pseudomonas fluorescens bv III



Coupes histologiques transversales du colon d'un individu de *L. migratoria* traité par *Pseudomonas fluorescens* bv III

Planche n° 02: Coupes histologiques transversales du tube digestif chez les individus de *L. migratoria* traités par *Pseudomonas fluorescences* bv III (coloration de Mallory).

Cr : cryptes de régénération, Cu : cuticule, Da : débris alimentaires, E : épithélium intestinale, L : lumière intestinal, Mc : muscle circulatoire, Mce : muscle circulatoire externe, Mci : muscle circulatoire interne, Mle : muscle longitudinal externe, Mli: muscle longitudinal interne, Mp : membrane péritrophique.

À la lumière des ces résultats, il s'avère que la bactérie affecte surtout l'intestin moyen car le mesenteron est la partie d'assimilation et d'absorption. Il présente une sensibilité élevée aux traitements biologiques administrés par ingestion par rapport aux deux autres parties de l'appareil digestif, le stomodeum et le proctodeum.

Plusieurs études concernant l'histopathologie du tube digestif des acridiens ayant subi des traitements chimiques ou biologiques ont donné des résultats similaires à ceux du présent travail. Bendou (2001) a signalé des altérations remarquables provoquées par l'ingestion des extraits de polyphénols d'olivier chez *L. migratoria* au niveau de l'intestin moyen et Nasiruddin et Mordue (1993) ont remarqué les mêmes effets après ingestion des extraits de *Melia azadirachtine* par le criquet pèlerin et le criquet migrateur.

Des modifications notables au niveau du tube digestif chez les imagos de *Locusta migratoria* traités par un insecticide chimique le Decis ont été enregistrées par Acheuk (2000).

L'application de la bactérie *P. fluorescens* par ingestion sur les larves L5 de *Schistocerca gregaria* révèlent une altération de la membrane péritrophique ainsi qu'un élargissement de la lumière intestinale au niveau de l'intestin moyen (Tail, 1998).

De même, Idrissi Hassani et Hermas (2008), ayant testé les effets toxiques de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) sur le tube digestif du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* ont montré que l'intestin moyen présente une réduction de la musculature circulaire externe entraînant un relâchement de l'intestin et une atrophie de la muqueuse intestinale présentant un épithélium strié réduit, en brosse altérée et des signes typiques de nécrose cellulaire.

Mohandkaci *et al.* (2008 ; 2010) ont constaté des modifications au niveau des 03 parties de l'appareil digestif des imagos de *Schistocerca gregaria* après traitement au *Bacillus*

thuringiensis et *Cytisus triflorus*. Un résultat similaire est signalé par Mahfouf et Azizi (2010) chez les larves L5 de *L. migratoria* après traitement par *B. subtilis*.

Des observations ultrastructurales ont révélé que l'intestin moyen des adultes de *L. migratoria* traités par *B. thuringiensis* était hypertrophié et ont montré une désorganisation considérable en comparaison à l'intestin moyen des adultes non traités (Quesada-Moraga, 2001), Yan *et al.* (2011) ajoutent que le δ -endotoxine de *B. thuringiensis* induit des changements histopathologiques dans les cellules épithéliales de l'intestin moyen des adultes de *L. migratoria*.

Enfin, l'ingestion de la même bactérie par un lépidoptère, engendre un effet immédiat et provoque la mort des chenilles qui résulte de la dégénérescence de l'épithélium intestinal (Habes & Soltani, 1992).

Par ailleurs, un travail réalisé sur des acridiens traités par *B. thuringiensis*, a montré que ces individus ne subissent aucune altération au niveau des trois parties de l'appareil digestif (Chemoul, 1998).

On peut conclure à partir de ces derniers résultats que le pH intestinal bas des criquets n'a pas empêché la dissolution du cristal de l'endotoxine de la bactérie *B.t.* soluble dans un milieu à pH élevé. Cela suggère que d'autres facteurs, tels que les enzymes intestinales, jouent un rôle dans le processus de dissolution.

Quant à cette étude, les conditions de l'intestin de *L. migratoria* semblent permettre la multiplication de *P. fluorescens* bv III dans ce milieu favorable pour l'exercice de son activité insecticide.

CONCLUSION

Cette étude a permis de tester l'effet des bactéries entomopathogènes *Pseudomonas fluorescens* bv III et *Pseudomonas fluorescens* bv V sur les métabolites hémolympatiques de *Locusta migratoria*, à savoir, les protéines et les glucides ainsi que sur l'histologie de l'appareil digestif des larves du cinquième stade du criquet migrateur *Locusta migratoria*.

L'injection aux larves L₅ de *Locusta migratoria* des deux bactéries a provoqué des symptômes et comportements très remarquables : (mortalité, difficulté de la mue imaginale, changement de couleur et retard de la maturité sexuelle).

Le dosage quantitatif des protéines et glucides hémolympatiques montre une chute du taux des protéines et une augmentation du taux des glucides par rapport aux témoins. La perturbation de ces paramètres est plus remarquable chez les larves traitées par *P. fluo III* que chez les larves traitées par *P. fluo V*. Il est à noter que l'examen des différentes parties du tube digestif sur les larves traitées par *Pseudomonas fluorescens* bv III a montré des différences de structure notamment au niveau du mésenteron.

Enfin, cette étude projette des perspectives ou il serait intéressant, d'une part, d'étudier de façon approfondie le mécanisme d'action de ces bactéries au niveau de l'insecte et d'autre part, de déterminer la nature des protéines disparues par un profil

électrophorétique afin de déterminer leur relation avec le retard sexuel observé chez les individus traités.

REMERCIEMENTS

Les auteurs tiennent à remercier Madame Tihar- Benziana Farida du département de biologie, université de Boumerdes pour sa collaboration et sa disponibilité pour la réalisation de ce travail.

RÉFÉRENCES

- Abbassi, K., Mergaoui, L., Atay-Kadiri, Z., Ghaout, S. et Stambouli, A. 2005. Activités biologiques des feuilles de *Peganum harmala* (Zygophyllaceae) en floraison sur la mortalité et l'activité génétique chez le criquet pèlerin. *Zool. Baetica*, 16: 31-46.
- Acheuk, F. 2000. *Effet de quelques substrats alimentaires sur quelques paramètres de la biologie et de la reproduction de L. migratoria (Orth. Oedipodinae). Étude de l'efficacité de deux insecticides de synthèse : Dursban et Decis au laboratoire, et des perturbations histopathologiques du tube digestif.* Thèse Magister, Inst. Nati. Agro., El Harrach, 206 p.
- Bachelier, G. et Gavinelli, R. 1966. Dosage global des glucides du sol par les méthodes colorimétriques à l'anthrone et à l'orcinol. *Cah. ORSTOM. Sér. Pédol.*, IV(3): 97-103.
- Bendou, R. 2001. *Contribution à l'étude anatomique et histophysiologique de l'appareil digestif de Locusta migratoria (Linné, 1758). Action histopathologique des extraits de polyphénols totaux de feuilles d'olivier Olea europea sur le tractus digestif du criquet migrateur.* Thèse Magister Sci. Agro., Inst. Nati. Agro., El Harrach, 163p.
- Benfkih-Allah, L. 2006. *Recherche quantitatives sur le criquet migrateur Locusta migratoria(orth,oedipodinae) dans le Sahara algérien, Perspectives de lutte biologique à l'aide de microorganismes pathogènes et de peptides synthétiques.* Thèse de doctorat, Inst. Nat. Agro. El-Harrach, 150 p.
- Benfkih, L., Petit, D. et Doumandji-Mitiche, B. 2007. *Vers une nouvelle approche d'utilisation des bactéries en lutte anti-acridienne : Premiers résultats sur l'effet de Bacillus subtilis sur Locusta migratoria.* 17^{ème} Conférence de l'Association Africaine des Entomologistes, 11-15 juin 2007, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, Dakar-Fann, Sénégal.
- Bensalem-Bendjelloul, M. 1998. *Techniques histologiques: théorie et pratique.* Ed. Off. Pub. Univers., Alger, 109 p.
- Bertrand, A. 2007. *Travaux pratiques. Détermination des activités endon. et exo. B-glucanases, étude de l'activité pectine méthylestérase, dosage des protéines.* INRA-UCBN EVA, 15 p.
- Bouaïchi, A. and Chihrane, J. 2001. *The potential and extended effect of Diflubenzuron (IGR's) on the reproduction and feeding behaviour of desert locust Schistocerca gregaria Forskål (Orthoptera, Acrididae).* 8th International Meeting of the Orthopterist's Society, International Conference on Orthopteroid Insects, August 19-22, 2001, Montpellier, France.
- Chauvin, R. 1938. *Anatomie et histologie du tube digestif de Schistocerca gregaria.* Bulletin de la Société d'Histoire Naturelle de l'Afrique du Nord, 18: 488-499.

- Chemoul, M.S. 1998. *Contribution à l'inventaire des espèces des orthoptères au sein de Bab-Ezzouar et l'étude histophysiologique du tube digestif de Pamphagus elephas (L) (Orthoptera, Acrididae)*. Mém. D.E.S. Bio., U.S.T.H.P., Bab-Ezzouar, 78p.
- Dahoun, A. 2000. *Activité biologique d'un dérégulateur de croissance le Tésfluobenzurum sur le cinquième stade larvaire de Locusta migratoria (Linné, 1758) : efficacité et effet sur la biochimie de la cuticule. L'hémolymphes et les ovaires*. Mém. Ing. Agr. Inst. Nat. Agro., El-Harrach, 175 p.
- De Visscher, M.N. 1991. L'environnement et la lutte anti-acridienne, les perspectives et les contraintes de la recherche. In : Essaid A. La lutte anti-acridienne. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris © 1991, 219-227.
- Duranton, J.F., Launois, S.M., Launois-Luong, M.H. et Lecoq, M. 1982. *Manuel de prospection acridienne en zone tropicale sèche*. Ed. G.E.R.D.A.T., Paris, 695p.
- Duranton, J.F. et Lecoq, M. 1990. *Le criquet pèlerin au Sahel*. Ed. CIRAD/PRIFAS, Coll. Acrid. Operat. Montpellier, 183 p.
- Grassé, P.P. 1976. *Traité de Zoologie*. Tome VIII, Masson, Paris.
- Greathead, D., Kooyman, C., Launois-Luong, M. et Popov, G. 1994. *Les ennemis naturels des criquets du sahel*. Coll. Acrid. Operat. n°8, Ed. Cirad/Prifas, Montpellier, 85p.
- Guiraud, J.P. 1998. *Microbiologie alimentaire*. Ed. Dunod, 652p.
- Habes, D. et Soltani, N. 1992. Perturbation de la structure de l'intestin et de l'hémogramme par le thurucide HP chez *Thaumetopoea pityocampa*. *Schiff. Mém. Soc. Belge*, 35 :724-726.
- Halouane, F. 1997. *Cycle biologique de Schistocerca gregaria (Forskål, 1775) et de Locusta migratoria (Linné, 1758) (Orthoptera, Acrididae). Efficacité de Metarhizium anisopliae (Metch) (Hyphomycètes, Deuteromycotina) et effet sur quelques paramètres physiologiques de Schistocerca gregaria*. Thèse Magister : Inst. Nati. Agro., El-Harrach, Alger.
- Hemour, S. 2009. *Effet du biopesticide «Green Muscle» (Metarizium anisopliae var acridum) sur la reproduction du criquet pèlerin schistocerca gregaria (Forskål, 1775) (Acrididae, Cyrtacanthacridinae) en condition contrôle*. Thèse Magister Sci. Agro., Inst. Nat. Agro., El-Harrach, 140p.
- 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 Forskål. (Orthoptera, Acrididae)*. *Zool. Baetica*, 19: 71-84.
- Kara, F.Z. and Doumandji-Mitiche, B. 2006. *Impact of entomopathogenic fungus metarhizium flavoviride exposed to ultraviolet radiation on schistocerca gregaria*. Ninth Arab Congress of Plant Protection, 19-23 November 2006, Damascus, Syria.
- Kemassi, A., Boual, Z., Ould El Hadj- Khelil, A., Dadi Bouhoun, M. et Didi Ould El Hadj, M. 2010. *Activité biologique de l'extrait d'Euphorbia guyoniana (Boiss. & Reut.) (Euphorbiaceae) sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de Schistocerca gregaria (Forskål, 1775) (Orthoptera-Acrididae)*. *Annales des sciences et technologie, Revue Périodique Universitaire en Sciences et Technologie*, Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie, 2(1), 61- 70.
- Larparent, J.P. et Sanglier, J.J. 1989. *Biotechnologies des antibiotiques*. Ed. Masson, Paris, 148p.
- Lazare, K., Haubruge, E., Destain, J., Thonart, P., Lienard, V. et Gaspar, C. 1996. Utilisation de *Bacillus subtilis* comme insecticide à l'égard de *Drosophila melanogaster* (MEIGEN). *Med. Fac. Landbouwen, Univ. Gent*. 61/3a, Belgique, pp. 887-893.
- Lemanceau, P. 1992. Effets bénéfiques de rhizobactéries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas spp.* fluorescents. *Agronomie*, 12(6) : 413-443.

- Mahfouf, A. et Azizi, D. 2010. *Etude de l'effet de trois bacteries entomopathogènes et des alcaloïdes de Cytise à trois fleurs (Cytisus triflorus L'Hérit.) sur quelques paramètres physiologiques du criquet migrateur Locusta migratoria (Linné, 1758) (Orthoptera - Acrididae)*. Mémoire biologie, Fac. Sciences, UMBB, Boumerdes, Algérie.
- Martoja, R. et Martoja-Pierson, M. 1967. *Initiation aux techniques de l'histologie animale*, Ed. Masson et Cie, Paris, 345p.
- Mneill, M.R. and Hurst, M.R.H. 2001. *Yersinia* sp. (mh96) – A potential biopesticide of migratory locust *locusta migratoria* L. *New Zealand Plant Protection*, 61: 236-242.
- Milat- Bissaad, F.Z. 2011. *Etude de l'effet de deux entomopathogènes, Beauveria bassiana (Vuil.1912) et Metarhizium anisopliae var acridum (Metch., 1883)(Hyphomycètes, Deuteromycotina) sur le criquet pèlerin Schistocerca gregaria (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae)*. Thèse doctorat, Inst. Nati. Agro., El Harrach, Alger.
- Mohanad Kaci, H. and B. Doumandji-Mitiche, B. 2006. *Evaluation of the biological impact of bacteria on desert locust pilgrim schistocerca gregaria*. Ninth Arab Congress of Plant Protection, 19-23 November 2006, Damascus, Syria.
- Mohandkaci, H., Ait Kaci, K., Doumandji- Mitiche, B. et Fazouane, F. 2008. *Study of the insecticidal activity of alkaloids of the hairybroom Cytisus triflorus and of the bacterium Bacillus thuringiensis against the desert locust Schistocerca gregaria*. The XX International Congress of Zoology, 26-29 August 2008, Paris.
- Mohandkaci, H., Ait kaci, K., Doumandji- Mitiche, B. et Fazouane, F. 2010. *Etude de l'effet de deux biopesticides sur le criquet pèlerin Schistocerca gregaria*. Journée nationale sur la zoologie agricole et forestière, Dép. Zool. Agri. For., Inst. Nati. Agro., El Harrach.
- Moretau, B. 1991. *Etude de certains aspects de la physiotoxicologie d'insecticides de synthèse chez Locusta migratoria*. In : Essaid A. *La lutte anti-acridienne*. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey Eurotext, Paris © 1991, pp. 167-178.
- Moussa, A. 2003. *Effet de l'huile de neem (Azadirachata indica) sur quelques paramètres biologiques et physiologiques de Locusta migratoria (Linnée, 1758) et Locusta migratoria migratorioides (Ret F 1850) (Orthoptera- Acrididae)*. Thèse Magister, Sci. Agro. Inst. Nati. Agro., El-Harrach, 123p.
- Nasiruddin, M. and Mordue, A.J. 1993. The effet of azadirachtine on the midgut histology of the locusts, *Schistocerca gregaria* and *Locusta migratoria*. *Tissues and Cell*, 25 (06): 875-884.
- Ould Ahmedou, M.L, Bouaichi, A et Idrissi Hassani L.M., 2001. Mise en évidence du caractère répulsif et du pouvoir toxique de *Glinus lotoïdes (Aizoacées)* sur les larves du criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria* Forskål, 1775 (*Orthoptera, Acrididae*). *Zoologica Baetica*, 12: 109-117.
- Ould El Hadj, M.D., Tankari Dan-Badjo, A., Halouane, F. et Doumandji, S. 2006. Toxicité comparée de trois plantes acridifuges sur les larves du cinquième stade et sur les adultes de *Schistocerca gregaria* Forskål, 1775 (*Orthoptera, Cyrtacanthacridinae*), Algérie. *Séchresse*, 17(3): 407-414.
- Outar, F. 2009. *L'utilisation de quelques biopesticides sur le criquet migrateur Locusta migratoria (Linné, 1758) (Oedipodinae, Acrididae)*. Thèse Magister, Ecole Nat. Agro., El-Harrach, Alger
- Quesada-Moraga, E. 2001. Histopathological effects of *Bacillus thuringiensis* on the midgut of the Mediterranean locust *Dociostaurus maroccanus*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 78: 183–186.

- Raccaud-Schoeller, J. 1980. *Les insectes physiologie, développement*. Ed. Masson, Paris, 296 p.
- Rachadi, T. 1991. *Promesses et limites de la lutte chimique dans la stratégie antiacridienne. La lutte antiacridienne*. Ed. AUPELF-UREF, John Libbey eurotext, Paris, pp. 151-165.
- Seymour, E., Bateman, R.P. and Charnly, A.K. 2002. The effect of *Metarhizium anisopliae* var *acridum* on haemolymph energy reserves and flight capability in the desert Locust, *Schistocerca gregaria*. *J. Appl. Ent.*, 126: 119-124.
- Shairra, S.A. 2009. Parasitism of locust by entomopathogenic nematode in relation to insect microaggregation inhibitor Egypt. *Acad. J. Biolog. Sci.*, 2(2): 221- 230.
- Singh, G.J.P. 1986. Hemolymph carbohydrate and lipid mobilization in *Locusta migratoria* in relation to the progress of poisoning following bioresmethrin treatment. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 25(2): 264-269.
- Tail, G. 1998. *Action de quelques substrats alimentaires sur quelques paramètres biologiques de Schistocerca gregaria (Forsk., 1775) (Orthoptère, Acrididae). Efficacité entomopathogène de Pseudomonas fluorescens (Pseudomonadaceae) sur quelques aspects physiologiques du criquet pèlerin*. Thèse Mag. Sci. Agro., Inst. Nati. Agro. El-Harrach, 190 p.
- Tail, G., Bourchoroun, B. and Doumandji Mitiche, B. 2006. *Effect of diflubenzuron on the fourth and fifth stage larvae of the desert locust schistocerca, gregaria under laboratory conditions*. Ninth Arab Congress of Plant Protection, 19-23 November 2006, Damascus, Syria.
- Yan, W., Cheng-Feng, L., Dan, Y., Peng-Ming, L., and Mei-Ying, G. 2011. Novel Bacillus thuringiensis δ -endotoxin active against *Locusta migratoria manilensis*. *Applied and Environmental Microbiology*, 77(10): 3227-3233.
- Zelazny, Y.B., Goetelm, S. and Keller, B. 1997. *The potential of bacteria for the microbial control of grasshoppers and locusts*. Memoire of the entomological society of Canada 171, pp. 147-156.