



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة محمد البشير الإبراهيمي برج بوعريريج
Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.
كلية علوم الطبيعة والحياة وعلوم الارض والكون
قسم العلوم البيولوجية
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre et de l'Univers
Département des Sciences Biologiques



Mémoire

En vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Agronomique

Spécialité : protection des végétaux

Thème

Etude comparative de l'effet larvicide de *Metarhizium Anisopliae* var. *acridum* autochtone isolé à partir des excréments et des cadavres de *Dociostaurus maroccanus* et *Metarhizium anisopliae* VAR. *acridum* (GREEN. MUSCLE®)

**Présenté par : Hanniche Amina
Zaidi Basma**

Devant le jury :

Président: M Bensghir Hadjira (Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.)

Encadrant: M Alili Dahman (Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.)

Examineur 1: M Laib Djamel eddine (Univ Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A.)

Année universitaire : 2017/2018

Remercîments

Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements en premier lieu à ALLAH le tout puissant pour nous avoir illuminé et ouvert les portes du savoir, et pour nous avoir donné la volonté et le courage d'élaborer ce modeste travail.

*Nous tenons à exprimer nos remerciements à notre Promoteur **Docteur ALILI Dahmane.**, Maître assistant B à l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de B.B.A., pour le temps qu'il nous a consacré pour achever ce travail, ses précieux conseils et ses encouragements. Merci infiniment Monsieur.*

*Notre reconnaissance et nos remerciements s'adressent également à **Mme Ben seghir Hadjira** Maître assistante A à l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi B.B.A., qui a bien voulu présider le jury.*

*Nous tenons à remercier **M.LAIB Djamel eddine** Maître assistant B à l'Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi de B.B.A., pour nous avoir fait l'honneur d'examiner ce présent travail.*

*Nos vifs remerciements vont également à **A nos familles***

Nous vous remercions pour votre soutien sans entaille.

*Ce travail est l'aboutissement d'un long cheminement au cours duquel nous bénéficions de l'encadrement, des encouragements et du soutien de plusieurs personnes, à qui nous tenons à dire profondément et sincèrement **MERCI***

Amina et Basma

Dédicace

*Je dédie cette humble mémoire aux deux qui j'aime le plus au monde mon père et ma mère : **Hocine et Nacira** , pour l'éducation qu'ils m'ont prodigué ; avec tous les moyens et au prix de toutes les sacrifices qu'ils ont consentis à mon égard, pour le sensé du devoir qu'ils m'ont enseigné depuis mon enfance, pour leur amour et leur sacrifice. Que Dieu vous protège et vous garde pour nous*

*A mes frères : **Ammar, Abdellatif, Abdeldjalil, Azzedine et Farouk**, mes sœurs **Zohra et Rania** que j'aime et à qui je souhaite une vie plein de bonheur et de réussite*

*A mes Anges : **Meriem, Assil, Maram, Ritadj et Adam***

*A toute la famille **Hanniche et Benabdellah***

*A mes adorables amies, **Basma, Chahinez, Hanan, Chahrazed, Nadjib et Mebrouk** pour leur fidélité, mes amis avec lesquels j'ai partagé mes moments de joie et de bonheur .J'espère du fond de mon cœur que vous trouverez dans ce travail l'expression de mon amour et de mon estime les plus sincères. Que Dieu, les toutes puissantes éclaires votre vie de santé, de bonheur et de succès*

A l'ensemble des enseignants et étudiants du département de science

Agronomique de Bordj Bou Arreridj

Mes chers collègues du Master Protection des végétaux

A tous ceux qui m'aiment et que j'aime

Que toute personne m'ayant aidé de près ou de loin, trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

AMINA

Dédicace

Toutes les lettres ne sauraient trouver les mots qu'il faut. .Tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, la reconnaissance. Aussi, c'est tout simplement que je dédie ce projet de fin d'étude....

*A mes chers parents : **Boubakeur et Nacira***

Autant de phrases et d'expressions aussi éloquents soient-elles ne sauraient exprimer ma gratitude et ma reconnaissance. Vous avez su m'inculquer le sens de la responsabilité, de l'optimisme et de l'engagement en soi face aux difficultés de la vie. Vos conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite .Votre patience sans fin , votre compréhension et votre encouragement sont pour moi le soutien dispensable que vous avez toujours su m'apporter. Je vous dois ce que je suis aujourd'hui et ce que je serai demain et je ferai toujours de mon mieux pour rester votre fierté et ne jamais vous décevoir. Que Dieu, le tout puissant, vous préserve, vous accorde santé, bonheur, quiétude de l'esprit et vous protège de tout mal.

*A mes chers frères : **Abd El Rahim et khelifi** ; mes adorables sœurs : **Hadjira ; Sabrina et Nedjet***

Merci d'être toujours à mes côtés, par votre présence, par votre amour dévoué et votre tendresse, pour donner du goût et du sens à ma vie. En témoignage de mon amour et de ma grande affection, je vous prie de trouver dans ce travail l'expression de mon estime et mon sincère attachement. Je prie Dieu, le tout puissant, pour qu'il vous donne bonheur et prospérité

*A mes deuxièmes frères : **Toufik et Bilel***

Puisse ce travail témoigner de ma profonde affection et de ma sincère estime.

*mes neveux : **Wail ;Louay ; Idjlel et Saif elddin et Ma nièce :Takwa***

*A mon oncle **Mouhamed**, ainsi que mes cousins et mes cousines*

*Mon chère ami : **Mourad***

Ton aide et ton encouragement m'ont donné l'espoir et la persévérance d'achever ce travail. Que Dieu le tout glorieux te donne santé, joie et réussite.

*A mes adorables amis : **Amina Sarah, Khawla, Nadjib***

Mabrouk, Chahinez, Hanen, Chahrazed ,Dounia et Wided

Votre amitié est un honneur et une fierté pour moi. Je vous remercie d'avoir embelli ma vie par de précieux moments de bonheur. J'espère du fond de mon cœur que vous trouverez dans ce travail l'expression de mon amour et de mon estime les plus sincères.

Que Dieu, les toutes puissantes éclaire votre vie de santé, de bonheur et de succès.

A tous mes amis du master spécialité de protection des végétaux

C'est une grande fierté et honneur pour moi d'être parmi vous.

A tous mes enseignants et toutes mes enseignantes

Il vous revient le mérite de m'avoir prodigué un enseignement profitable et une formation complète. Veuillez accepter mes remerciements les plus sincères.

BASMA

Table des matières

Table de matières

Remerciements	
Dédicace	
Résumés	
Liste des abréviations	
Liste des tableaux	
Liste des figures	
Introduction.....	1
Chapitre 1- Données bibliographiques	
1.1-Données bibliographiques sur le criquet marocain <i>Dociostaurus maroccanus</i> (Thunberg,1815).....	4
1.1.1-Position taxonomique du criquet marocain.....	4
1.1.2-Description morphologique.....	4
1.1.3-Cycle biologique.....	5
1.1.4-La reproduction chez <i>Dociostaurus maroccanus</i>	8
1.1.5-Polymorphisme phasaire.....	8
1.1.6-Répartition géographique de <i>Dociostaurus maroccanus</i>	11
1.1.7-Importance économique.....	13
1.1.8-Facteurs favorisant la pullulation du <i>Dociostaurus maroccanus</i>	14
1.1.9-Les plantes hôtes (espèces affectées).....	15
1.2-Données bibliographiques sur le Green Muscle ® (<i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acidum</i>).....	17
1.2.1-Généralités sur le développement du Green Muscle ®.....	17
1.2.2-Présentation et identification de la matière active du Green Muscle® <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acidum</i>	17
1.2.3-Position systématique et morphologie du <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acidum</i>	18
1.2.4- Mode d'action.....	18
1.2.5-Formulation et application	20
1.2.6- Conditionnement.....	21
1.2.7-Gamme d'hôtes.....	22

Chapitre 2- Données générales sur la région de Boughezoul	
2.1- Situation géographique de la région d'étude.....	23
2.2- Climat de la région d'étude.....	24
2.2.1-Précipitations.....	24
2.2.2- Températures.....	24
2.3- Diagramme climatique.....	25
Chapitre 3- Matériel et méthodes	
3.2.1-Matériel utilisés.....	26
3.2.1.1-Produits et milieux.....	26
3.2.1.2-Méthodes utilisés.....	26
3.2.1.3-Multiplication de champignon et préparation.....	27
3.3-L'analyse microbiologique du Green muscle.....	29
3.4-L'isolement de la souche <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acidum</i>	36
3.4.1- Les analyses des cadavres du criquet marocain.....	36
3.4.2- Les analyses des fèces.....	37
3.5- Méthode de traitement du criquet marocain <i>Dociostaurus maroccanus</i>	38
Chapitre 4- Résultats	
4.1-Analyses microbiologiques de Green muscle.....	40
4.2-La recherche de <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acidum</i> dans les cadavres et les fèces.....	41
4.5- Traitement par contact avec <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acidum</i>).....	42
4.5.1-Mortalité d'individus mâles et femelles de criquet marocain	42
4.5.2-Mortalité des males	44
4.5.3 -Mortalité des femelles.....	45
4.5.4-Calcul de la DL50pour le traitement par contact au <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acidum</i>	47
4.5.5-Calcul de la DL50 pour le cinquième jour.....	47
4.5.6-Calcul de la DL50 pour le neuvième jour.....	48
4.5.7-Calcul de TL50 pour Dose 1.....	49
4.5.8-Calcul de la TL50 pour la dose 2.....	50
4.5.9-Calcul de la TL50 pour la dose 3.....	51

4.6-Traitement par ingestion au <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acridum</i>).....	54
4.6.1-Test de Newman kleus.....	55
4.6.2-Analyse des différences entre les groupes l'analyse des différences entre les groupes.....	56
4.6.3-Mortalité des mâles.....	57
4.6.4-Mortalité des femelles.....	58
4.6.5-Calcul de DL50 après traitement par ingestion au <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acridum</i>).....	59
4.6.5.1-Calcul de la DL50 au 9 ^{ème} jour.....	59
4.6.6-Calcul de TL50 pour Dose 1.....	60
4.6.7-Calcul de la TL50 pour dose 2.....	62
4.6.8-Calcul de la TL50 pour dose 3.....	64
Discussion	67
Conclusion	70
Références bibliographiques	
Annexe	

Liste des tableaux

Tab 1 : Les critères principaux permettant la distinction des différents stades larvaires chez <i>Dociostaurus maroccanus</i> Thunb. (Latchininsky&Launois-Luong 1992)	6
Tab 2 : Les plantes hôtes (espèces affectées) de <i>Dociostaurus maroccanus</i> .	15
Tab 3 : les précipitations annuelles à Boughezoul de 2017..	23
Tab 4 : La température moyenne annuelle à Boughezoul est de 2017.	23
Tab 5. Moyenne des Log des UFC/mL des différents germes recherchés dans les échantillons GREEN MUSCLE.	40
Tab 6 : Résultats du dénombrement des coliformes totaux présents dans les échantillons Green muscle selon la table de McGrady	40
Tab 7 : Résultats de recherche des <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acridum</i> dans les cadavres et les fèces	41
Tab 8. taux de mortalité des males et femelles de <i>Dociostaurus maroccanus</i> suite au traitement par contact .	43
Tab 9 : Taux de mortalité chez les males de <i>Dociostaurus maroccanus</i> du traitement par contact au <i>Metarhizium anisopliae</i> var <i>acridum</i> en fonction des doses	44
Tab 10. Taux de mortalité chez les femelles de <i>Dociostaurus maroccanus</i> du traitement par contact au <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acridum</i> en fonction des doses.	46
Tab 11. Mortalités observées et corrigées et leurs probits au cinquième jour	47
Tab 12 .Mortalités observées et corrigées et leurs probits au 9ème jour	48
Tab 13. Mortalités observées et corrigées et leurs probits de la dose D1	49
Tab 14. Mortalités observées et corrigées et leurs probits de la dose D2	50
Tab 15. Mortalités observées et corrigées et leurs probits de la dose D3.	52
Tab 16. évaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ($H_0 = Y = \text{Moy}(Y)$)	53

Tab 17. Taux de mortalité cumulé des males et des femelles de <i>Dociostaurus marocanus</i> après traitement par ingestion au <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acridum</i> selon les doses	54
Tab 18. Classement et regroupements des groupes non significativement différents	55
Tab 19. L'analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance de 95%	56
Tab 20 Classement et regroupement des doses non significativement différents	56
Tab21 . Taux de mortalité cumulé des males de <i>Dociostaurus marocanus</i> après ingestion au <i>Metarhizium anisoplea</i> var. <i>acridum</i> selon les doses	57
Tab 22. Taux de mortalité cumulé des femelles de <i>Dociostaurus marocanus</i> après traitement par ingestion au <i>Metarhizium anisoplea</i> var. <i>acridum</i> selon les doses.	58
Tab 23. La mortalité observée est corrigée ainsi que les probits pour le calcul de la DL50 au 9 ^{ème} jour	59
Tab 24. La mortalité observée et corrigée ainsi que les probits pour le calcul de la TL50 pour la dose 1	61
Tab 25. Mortalité observées et corrigées et leurs probits de la dose D2.62	62
Tab 26. Mortalité observées et corrigées et leurs probits de la dose 3	64
Tab 27. Evaluation de la valeur de l'information apportée par les variables ($H_0=Y=MOY$ (Y)	65
Tab 28. Classement et regroupement des groupes non significativement différents.	65
Tab 29. Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance de 95%	66
Tab 30. Classement et regroupements des doses non significativement différents.	66

Liste des figures

Fig 1 : <i>Dociostaurus maroccanus</i> (Thunberg, 1815) photographie originale	4
Fig 2 : Cycle biologique de <i>D. maroccanus</i> photographir originale	4
Fig 3 : L'accouplement chez <i>Dociostaurus maroccanus</i>	5
Fig 4 : Oothèque de <i>Dociostaurus maroccanus</i>	5
Fig 5 : Les différentes phases sous lesquelles peuvent se présenter les locustes sont été décrites par UVAROV et ZOLOTAREVS Kin CHOPARD (1938).	7
Fig 6 : La répartition de <i>D.marocanus</i> dans le monde (Cirad 2017)	11
Fig 7 : L'air de répartition de <i>D. marocanus</i> en Algérie	12
Fig 8 : Conidies de <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acidum</i> (KOOYMAN, 2007)	17
Fig 9 : Germination des spores de <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acidum</i> (KOOYMAN, 2007)	19
Fig 10 : Souche de <i>Metarhizium anisopliae</i> var. <i>acidum</i> (GREEN MUSCLE®)	21
Fig 11 : Situation géographique de la région de Boughezoul en Algérie	22
Fig 12 : Situation géographique de la région de Boughezoul en Algérie..	22
Fig 13 : Diagramme climatique de Boughezoul météo 2017..	24
Fig 14 Préparation du milieu PDA (photographie originale).	27
fig 15: Technique de préparation de la dilution mère et les dilutions décimales pour le produit solide..	28
Fig 16 : Technique de recherche et dénombrement des Germes Aérobie Mésophiles Totaux (GAMT).	30
Fig17: Technique de recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux	32
Fig 18 : Technique de recherche et dénombrement des spores de <i>Clostridium</i> sulfito- réducteur	34
Fig 19 : Technique de Recherche et dénombrement des levures et des moisissures.	35
Fig 20: Les analyses des cadavres du criquet marocain	36
Fig 21 : Technique de Recherche du <i>Metarhizium anisoplia</i> var. <i>acidum</i>	37
Fig 22 : Quadrillage de la cellule Malassez.	38

Fig 23 : Mortalité cumulée de l'ensemble des males et des femelles de <i>Dociostaurus maroccanus</i> après traitement par contact par <i>Métarhizium Anisoplea</i> var <i>acidum</i> .	44
Fig 24 : Mortalité cumulée des males de <i>Dociostaurus maroccanus</i> après traitement par contact au <i>Métarhizium acidum</i> .	45
Fig 25 : Mortalité cumulée des femelles de <i>Dociostaurus maroccanus</i> après traitement par contact par <i>Métarhizium acidum</i> ..	47
Fig 26 : Droite de régression de la mortalité en probit en fonction du log doses au cinquième jour pour le traitement par <i>Métarhizium anisoplea</i> var <i>acidum</i> par contact...	48
Fig 27 : Droite de regression de la mortalité en probit en fonction du log temps pour la première dose pour le traitement par <i>Métarhizium acidum</i> par contact	49
Fig 28 : Droite de régression de la mortalité en probit en fonction du log temps pour la première dose pour le traitement par <i>Métarhizium acidum</i> par contact	50
Fig 29 : Droite de régression de la mortalité en probit en fonction du log temps pour la deuxième dose pour le traitement par <i>Métarhizium acidum</i> par contact.	51
Fig 30 : Droite de régression de la mortalité en probit en fonction du log temps pour la troisième dose pour le traitement par <i>Métarhizium acidum</i> par contact	53
Fig 31 : Mortalité cumulée de l'ensemble des males et des femelles de <i>Dociaustaurus maroccanus</i> après traitement par ingestion par <i>Métarhizium acidum</i> ...	55
Fig 32 : Mortalité cumulée des femelles de <i>Dociaustaurus maroccanus</i> après traitement par ingestion par <i>Métarhizium acidum</i> ..	59
Fig 33 : Droite de régression de la mortalité en probit en fonction des logs doses au neuvième jour pour le traitement par <i>Métarhizium acidum</i> par ingestion	60
Fig 34 : Droite de régression de la mortalité en probit en fonction du log temps pour la deuxième dose pour le traitement par <i>Métarhizium acidum</i> par ingestion...	63
Fig 35 : Droite de régression de la mortalité en probit en fonction du log temps pour la troisième dose pour le traitement par <i>Métarhizium acidum</i> par ingestion	64

Liste d'abréviation

LUBILOSA : Lutte Biologique contre les Locustes et les Sautereaux

URSS : Union des républiques socialistes soviétiques

FAO : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture

INPV : Institut Nationale de Protection des Végétaux

ADN : Acide désoxyribonucléique

ADN_r : Acide désoxyribonucléique

TC: Technique concentrée

SU : formulation diluée

P.D.A: Potatoes Dextros Agar

TSE : tryptophane-sel-eau

DM : dilution mère

GAMT : des germes aérobies mésophiles totaux

PCA : gélose glucosé a l'extrait de levure ou Plate Count Agar

VRBG : Violet Red Bile Glucose Agar

VF : Viande-Foie

OGA: Oxytetracycline-Glucose-Yeast Extract Agar

Tl₅₀ : taux d'application létal, 50 %

DL₅₀ : dose létale qui cause la mort de 50 % (la moitié)

FMAT : Flore mésophile aérobie totale

ANOVA : Analyse de la variance

ULV : Ultra bas volume

ML : Millilitre

Csa : Climat méditerranéenne

Fig : Figure

UFC : Unité Faisant Colonie.

ISO : Organisation internationale de normalisation

NF : Norme Française

µL : Micro litre

Introduction générale

Introduction

Depuis plusieurs siècles, les problèmes posés par les insectes nuisibles ont retenu beaucoup l'attention. Cependant les acridiens sont sans aucun doute les plus redoutables ennemis de l'homme depuis l'apparition de l'agriculture.

Les acridiens, constituent des ravageurs majeurs dans de nombreuses régions. Leur capacité de migration sur des centaines, voire des milliers de kilomètres, en font un problème international aux répercussions économiques, sociales et environnementales majeures. Les pullulations peuvent revêtir un caractère chronique ou épisodique dans le cas de "locustes" comme le criquet marocain (*Doclostaurus maroccanus*). L'invasion, une fois déclarée, peut durer de nombreuses années.

Le criquet marocain, (*Doclostaurus maroccanus*, Thunberg 1815) (Acrididae, Gomphocerinae), était traditionnellement considéré comme l'un des ravageurs agricoles les plus dangereux de la zone méditerranéenne. Sa grande polyphagie, sa grande voracité, sa fécondité énorme et sa capacité à migrer en essaim en font un ennemi majeur des agriculteurs. Au niveau des hautes plateaux algériens, des pertes importantes en céréalicultures inquiètent tous les acteurs de la filière agricoles parmi les causes l'apparition des criquets marocains ces dernières années des invasions de criquets marocains semblent avoir été plus fréquentes dans le passé et, dans de nombreuses régions, l'espèce est devenue rare. Les facteurs climatiques, en particulier la quantité de pluies printanières, sont critiques pour le cycle de développement de *Doclostaurus maroccanus*. Cependant, les facteurs anthropiques semblent avoir l'effet le plus puissant sur la dynamique de la population acridienne. D'une part, la déforestation et le surpâturage créent les conditions préalables nécessaires à la colonisation par le criquet marocain. D'autre part, la conversion des prairies en terres cultivées rend l'habitat totalement inapte à l'insecte, car les femelles peuvent pondre leurs œufs dans des sols non perturbés. Ces deux tendances conflictuelles semblent gouverner l'évolution actuelle des populations acridiennes marocaines, leurs manifestations étant différentes selon les zones géographiques. Bien que dans certaines régions (par exemple dans de nombreux pays européens) *Doclostaurus maroccanus* ait perdu son importance économique autrefois élevée, dans d'autres (pays d'Afrique du Nord et d'Asie centrale) l'espèce continue de prospérer et peut même augmenter son statut d'organisme nuisible. Leurs manifestations étant différentes selon la zone géographique. Bien que dans certaines régions (par exemple dans de nombreux pays européens). Cette situation résulte largement d'une

meilleure connaissance du problème associée à l'apparition de nouveaux moyens de surveillance et de lutte.

L'arrêt de toute invasion acridienne nécessite, généralement, l'épandage d'énormes quantités d'insecticides sur de grandes surfaces. Cette pratique ne peut rester sans effets très néfastes sur les écosystèmes naturels sans pour autant affecter la fréquence des invasions. Dans le but de la recherche des méthodes alternatives à la lutte chimique, le projet LUBILOSA (Lutte Biologique contre les Locustes et les Sautereaux) a mis sur le marché un produit à base de champignon.

Depuis, les champignons entomopathogènes ont été utilisés dans la lutte antiacridienne, en effet, de nombreux champignons entomopathogènes ont été isolés et développés pour leur potentiel infectieux afin d'être utilisés contre les insectes ravageurs en général et les acridiens en particulier, leur efficacité a encouragé leur production et leur commercialisation pour qu'ils soient appliqués à grandes échelles bien qu'ils constituent, de nos jours, un sujet de nombreuses discussions scientifiques. *Metarhizium acridum*, est un pathogène reconnu efficace contre les acridiens. Deux souches ont été développées dont la première est originaire d'Afrique, elle est commercialisée maintenant sous le nom Green-muscle, et la deuxième est originaire de l'Australie et commercialisée sous le nom Green-guard.

La faune acridienne a fait l'objet de nombreux travaux, en Algérie notamment ceux de FELLAOUINE (1989,1995) DOUMANDJI-MITICHE *et al.* (1991, 1992 et 1993), HACINI (1992), HAMADI (1992), DOUMANDJI *et al.* (1993), BENRIMA (1993), MESLI (1991,1997), MESLI (2007), MEKKIOUI (1997), DAMERDJI et MESLI (1994), DAMERDJI (1998 et 2003), DAMERDJI et BECHLAGHEM (2006) et récemment BOUKLI (2009), HASSANI (2013), BRAHIMI (2014) et DANOUNE (2016).

La présente étude a pour objectif de proposer des solutions alternatives basées sur l'utilisation d'un produit naturel "bioinsecticide constitué de *Metarhizium anisopliae* VAR. *acridum* " pour lutter contre *Dociostaurus maroccanus* qui est considérée comme une menace sérieuse pour les productions agricoles en Algérie. Pour lutter contre ce redoutable ravageur, les producteurs ont recours à l'utilisation d'insecticides chimiques. Pour cela, nous avons consacré notre travail, après le premier chapitre sur quelques données systématiques, morphologies et bioécologiques sur le criquet marocain et le *Metarhizium anisopliae*, nous avons abordé dans le deuxième chapitre les données générales de la région de Boughzoul, le troisième sur les méthodes et le matériel utilisé dans la partie

expérimentale qui consiste à analyser les cadavres, les fèces du criquets marocains et de produits Green-muscle ainsi que les application du traitement sur les imagos du criquet marocain *Dociostaurus maroccanus* . Le troisième chapitre est consacré aux résultats et discussion.

Chapitre I

Données bibliographiques

1.1-Données bibliographiques sur le criquet marocain *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg,1815)

L'Algérie, de part situation géographique et l'étendue de son territoire, occupe une place prépondérante dans l'aire d'habitat de certain acridiens. On y trouve plusieurs espèces grégariaptés et beaucoup d'autres non grégariaptés ou sauterelles provoquent des dégâts (OUELD EL HADJ, 2001). Parfois très importantes sur différentes cultures. Parmi les espèces acridiennes non grégariaptés rencontrées en Algérie. On a :*Calliptamus barbarus barbarus*, *Anacridium agyptium*, *Acrotylus patruelis*, *Ocneridiavol seimii* et les espèces acridiennes grégariaptés: *Locusta migratoria*, *Schistocerca gregaria* et *dosiostaurus maroccanus*, (BENKENANA.N , 2006)

Le criquet marocain *Dociostaurus maroccanus* (Thunb.,1815) est une espèce sédentaire strictement inféodée aux lits caillouteux, un sol compact, une végétation mosaïque et un climat semi-aride. Son aire de répartition s'étend sur tout le pourtour semi-aride du littoral méditerranéen : en Europe, au Moyen Orient, en Afrique du Nord, dans la majorité des îles méditerranéennes et dans différentes régions asiatiques (Uvarov 1977, Louveaux *et al.* 1996). C'est une espèce grégariapte dont les individus, sous l'effet d'un regroupement important, sont capables de passer d'une forme solitaire inoffensive à une forme grégaire qui les rend redoutables par les dégâts considérables qu'ils peuvent occasionner.

1.1.1-Position taxonomique du criquet marocain

Selon CHOPARD (1943), LOUVEAUX et BENHALIMA (1987) Le criquet marocain *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg, 1815) est une espèce qui appartient

Ordre : Orthoptères,

Sous ordre: Caelifera,

Famille: Acrididae

Sous famille: Gomphocerinae.

1.1.2-Description morphologique

Cette espèce présente une taille moyenne, la longueur du corps chez le mâle est de 1,65 à 2,85 cm, alors que chez la femelle elle varie de 2,05 à 3,80 cm. La coloration du corps est gris jaunâtre avec des taches plus sombres, grises ou jaune pâle. Il présente un signe sous forme de croix sur la partie supérieure du pronotum et trois taches sombres sur la face interne du fémur postérieur (fig. 1).



Fig.1: *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg,1815) (Photographie originale)

1.1.3. Cycle biologique

Le cycle biologique de *Dociostaurus maroccanus* passe par trois états successifs comme tous les autres acridiens:

Le développement embryonnaire

Le développement larvaire

Le développement imaginal



Fig 2 : cycle biologique de *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg,1815) . (Latchininsky et Launois-Luong 1992)

1.1.3.1. Développement embryonnaire

Après l'accouplement des adultes de *Dociostaurus maroccanus* (fig3), les œufs sont pondus dans une oothèque (fig.4). Le criquet marocain présente une diapause embryonnaire extrêmement longue car la partie hypogée de son cycle dure 9 mois environ chaque année.

Le développement embryonnaire est régit par un complexe poly factorial thermohydrique et édaphique. La température élevée accélère la croissance de l'embryon au printemps, a près la levée de la diapause.

L'action défavorable des pluies d'automne sur les œufs de *D. maroccanus* est également signalée par UVAROV (1977).

Au printemps, le développement des œufs est soumis aux mêmes facteurs principaux: La température et l'humidité du sol

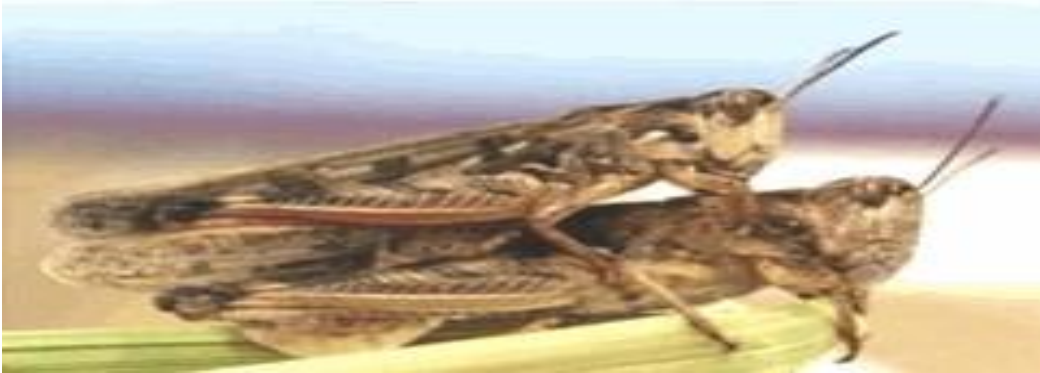


Fig.3: L'accouplement chez *D.maroccanus* (Latchininsky et Launois Luong 1992)



Fig.4: Oothèque de *Dociostaurus maroccanus* Latchininsky et Launois-Luong 1992)

1.1.3.2 Développement larvaire

Le développement larvaire de *Dociostaurus maroccanus* se fait en cinq stades (fig. 5). La durée de développement de ces stades est en moyenne de 28 à 38 jours selon les facteurs du milieu, notamment la température élevée qui accélère le développement des larves tandis que l'augmentation de l'humidité relative de l'air leur est néfaste. SAFAROV in LATCHININSKY et LAUNOIS-LUONG (1992), constate qu'une forte mortalité (55 à 80 %) résulte des conditions écologiques défavorables pendant la vie des deux premiers stades, notamment la grêle qui est particulièrement fatale aux néonates.

Dans le tableau ci dessus montre les principaux stades larvaires

Tableau I. Les critères principaux permettant la distinction des différents stades larvaires chez *Dociostaurus maroccanus* Thunb. (Latchininsky et Launois-Luong 1992).

Stades larvaires	Larve 1 ^{er} stade	Larve 2 ^{ème} stade	Larve 3 ^{ème} stade	Larve 4 ^{ème} stade	Larve 5 ^{ème} stade
Largeur du corps (mm)	5 - 8	6 - 11	8 - 14	♂ : 13-19 ♀ : 15-22	♂ : 17-24 ♀ : 19-28
Longueur du fémur (mm)	3 - 4	4 - 5	5 - 7	7 - 10	♂ : 10-13 ♀ : 13-15
Nombre d'articles antennaires	13	15 - 17	17 - 20	20 - 22	22 - 24

L'éclosion des œufs a lieu fin avril début mai. Celle-ci n'est pas synchrone et s'échelonne dans le temps, avec un décalage dépassant un mois entre l'apparition des premières larves et l'éclosion des derniers œufs. Les larves des trois premiers stades peuvent se rencontrer jusqu'à la mi-juin. L'apparition du quatrième stade s'étend du début mai jusqu'à la première quinzaine de juillet. En fin, la mue imaginale commence généralement en fin mai début juin et les adultes se rencontrent jusqu'au début août.

1.1.1.3-Développement imaginal.

Le développement imaginal du *Dociostaurus maroccanus* d'après plusieurs auteurs, dure généralement un à deux mois dans les conditions naturelles. Ils signalent également que les accouplements commencent entre 6 à 10 jours après la mue imaginale.

D'après LATCHININSKY et LAUNOIS-LUONG (1992), la femelle s'accouple au moins quatre fois avant de déposer sa première oothèque. Les individus ne

s'accouplent que pendant le jour, entre 9h et 20h. BENHALIMA (1983) et BENFEKIH (1993) signalent que les femelles de criquet marocain pondent deux à trois fois.

1.1.4 La reproduction chez *Dociostaurus maroccanus*

Comme tous les orthoptères, l'appareil génital femelle de *Dociostaurus maroccanus* est formé de deux ovaires accolés, placés au-dessus de part et d'autre du tube digestif. Chaque ovaire est composé d'ovariole. La base de chaque ovariole s'ouvre sur un canal appelé calice. Celui-ci se transforme vers l'arrière du corps en un oviducte latéral de chaque côté du tube digestif. Les deux oviductes latéraux fusionnent ensuite en un oviducte commun dont l'extrémité forme une poche: le vagin, où se trouve l'orifice de la spermathèque (CHARA, 1987).

1.1.5 Polymorphisme phasaire

1.1.5.1-Théorie des phases

La définition de la théorie des phases peut s'énoncer de la façon suivante : Une espèce caélifère grégariapte donnée peut se trouver dans la nature ou deux états extrêmes appelés phases, très différentes l'une de l'autre (DOUMANDJI et DOUMANDJI-MITICHE, 1994; MOUMENE, 2002).

Chez une population de criquet grégariapte, la grégarisation s'accomplit progressivement il faut plusieurs générations pour qu'elle s'installe d'une manière durable (CHARA, 1995b).

Dès que le grégarisme s'amorce, l'insecte commence à subir des transformations sur le plan morphologique, et au bout d'un certain temps, il aura la forme d'un individu complètement grégaire.

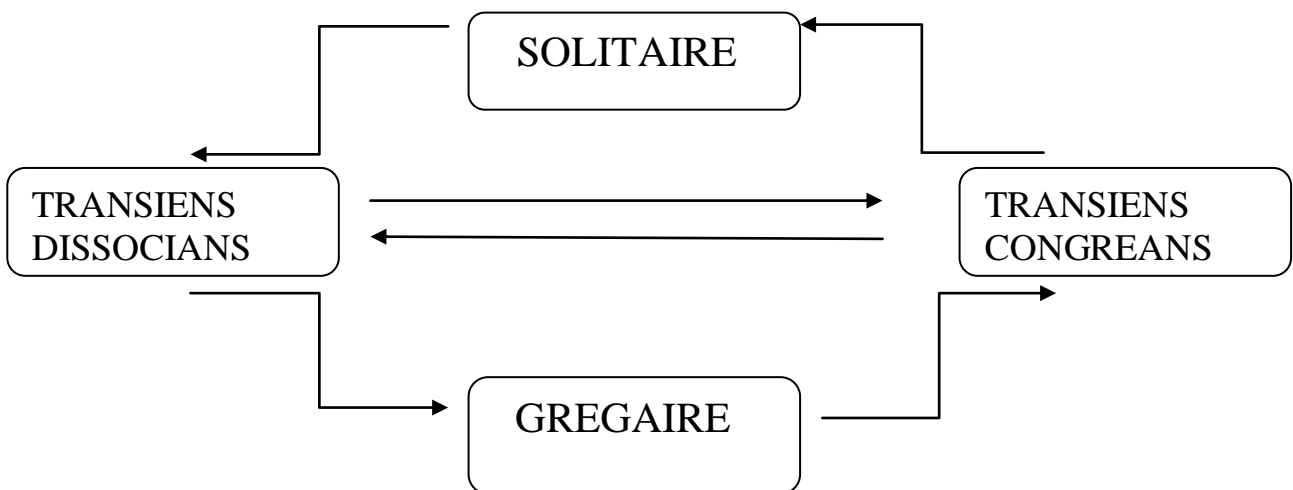


Fig 5 : Les différentes phases sous lesquelles peuvent se présenter les locuste sont été décrites par UVAROV et ZOLOTAREVS Kin CHOPARD(1938).

Le passage de la phase solitaire à la phase gragaire est le resultat d'une interaction de plusieurs facteurs dont précipitation qui permet laugmentation des taux de survie chez les locustes le type et la distribution de la végétation (BABAHA et SWORD 2004 in TRABBLOS et *al.* 2010) et enfin Il a facteur qui mène au changement est le rythme auquel les poils situés sur les pattes posterieures du criquet soient touchés par dautres locustes en forte densité (SIMPSON *et al.*, 2001)

Plusieur etudes en réveler le role des produits semio chimique , secretés par les locustes dans le phynomene du polymorphysme phasaire .le guaiacol, le viratrol et le phenylacetonitrile , sont des composants aromatiques volatiles responsables de la gregaration (ANGELI et *al* 1999) les larves ne présentent aucune réaction envers les odeurs des adultes.De même ,les adultes ne sont pas attirés par les odeurs sécrétées par les larves (OCHIENG et *al* 1998)

Les différentes phases sous lesquelles peuvent se présenter les locustes sont été décrites par UVAROV et ZOLOTAREVS KIN CHOPARD (1938).

✓ **Phase solitaire**

C'est la forme extrême d'une espèce dans une localité donnée où il n'y a pas de migrations depuis au moins une génération. Tous les individus représentant cette espèce vivent isolés.

✓ **Phase transiens**

Les individus qui ont des formes intermédiaires entre les grégaires et les solitaires sont appelés **transiens**. Le terme transiens ne s'applique pas à une forme bien définie, mais à une série continue de formes de transition allant d'un extrême à l'autre. Ils sont **transiens congregans** quand ils évoluent vers la phase grégaire et **transiens dissocians** lorsqu'ils redeviennent solitaires (CHARA, 1995b).

✓ **Phase grégaire**

C'est une forme extrême d'une espèce dans une localité donnée représentée par des individus migrants formant des nuages denses ou essaims.

1.1.5.2- Processus de transformation phasaire

Le passage des acridiens de la phase solitaire à la phase grégaire se réalise dans la nature suivant trois étapes successives : densation, multiplication et grégation.

✓ **Densation**

ALBERCHT (1967), a montré que lors qu'il y a des dessèchements progressifs du tapis végétal, les criquets se dirigent vers les taches de végétation qui persistent dans des zones d'accumulation des eaux, se traduisant par la suite par une concentration des

individus. Le processus de concentration peut conduire à une augmentation de la densité; c'est le principal facteur déclenchant le grégarisme. D'après DURANTON et *al.* (1982a), les individus grégaires ou solitaires peuvent être obtenus à partir d'une même ponte simplement en élevant les larves nouveau-nées en groupes ou isolées.

Les premières modifications divergentes sont renforcées s'il a même contrainte est imposée à la génération suivante.

✓ **Multiplication**

La reproduction des individus est réalisée selon trois étapes : La maturation des adultes, le développement embryonnaire et le développement larvaire. D'après DURANTON et *al.* (1987), la multiplication est favorisée par le maintien de conditions écologiques favorables à l'espèce durant toutes ces étapes.

✓ **Grégarisation**

Le contact entre individus augmente et déclenche le grégarisme qui conduit les criquets à des mutations par transformations morphologique, biologique, anatomique, physiologique, écologique et éthologique.

D'une manière générale, le conditionnement à l'agrégation et au déplacement des larves solitaires exige un entraînement plus prolongé chez *Locusta migratoria*. Il faut 4 heures à peine pour regrouper des individus de *Locusta migratoria* alors que 30 minutes suffisent pour apparaître les premières manifestations du comportement grégaire chez *Schistocerca gregaria* (ALBRECHT, 1967).

1.1.5.3- Modifications phasaires

Les différences phasaires s'expriment dans la couleur, la morphologie et le comportement ainsi que dans les aspects relevant de la biologie et de la physiologie des larves et des ailés (ALBRECHT, 1967; SKAF, 1972; DURANTON et *al.*, 1982a; LATCHININSKY et LAUNOIS- LUONG, 1992; CHARA, 1995a).

1.1.5.3.1-Modifications morphologiques

Lors du passage de la phase solitaire à la phase grégaire plusieurs transformations morphologiques interviennent, telle que la taille des individus, car les grégaires chez *Dociostaurus maroccanus*, *Schistocerca gregaria* et *Locusta migratoria*, ont généralement une taille moindre que les solitaires. Les variations de taille sont à rapprocher des différences du métabolisme de croissance des œufs, des larves et des ailés.

Pour ce qui est de la pigmentation, il ya une distinction chromatique entre les individus solitaires et les individus grégaires, car ces dernier sont une pigmentation plus claire que les solitaires chez *Dociostaurus maroccanus* contrairement à *Schistocerca gregaria* et à *Locusta migratoria*.

1.1.5.3.2-Modifications physiologiques

Les individus grégaires ont un métabolisme plus élevé que les solitaires .Les grégaires consomment davantage de nourriture chaque jour, produisent des œufs plus gros et en nombre plus restreint que les solitaires.

1.1.5.3.3-Modifications éthologiques

Les formes grégaires occupent une aire géographique plus étendue que celle des solitaires .Ces derniers mènent une vie isolée tandis que les grégaires se rassemblent pour former des essaims d'ailés ou de bandes larvaires à l'intérieur des quels les individus adoptent le même comportement que leurs congénères.

1.1.5.3.4-Modifications écologiques

Les exigences écologiques des individus sont plus marquées chez les solitaires. En effet ils ne se rencontrent en période de rémission que dans des régions limitées dans l'espace. Par contre, en période d'invasion, les criquets grégaires sont une plasticité écologique plus large, ce qui leur permet de coloniser des territoires très étendus.

1.1.6- Répartition géographique de *Dociostaurus maroccanus*

1.1.6.1-Dans le monde

Le criquet marocain est réparti dans l'ensemble du pourtour méditerranéen et en Russie. On peut l'observer également au niveau des Iles Canaries jusque l'Asie centrale soviétique en passant par le Maroc, l'Algérie, la France, l'Espagne, la Turquie, la Syrie, l'Irak, l'Iran et l'Afghanistan

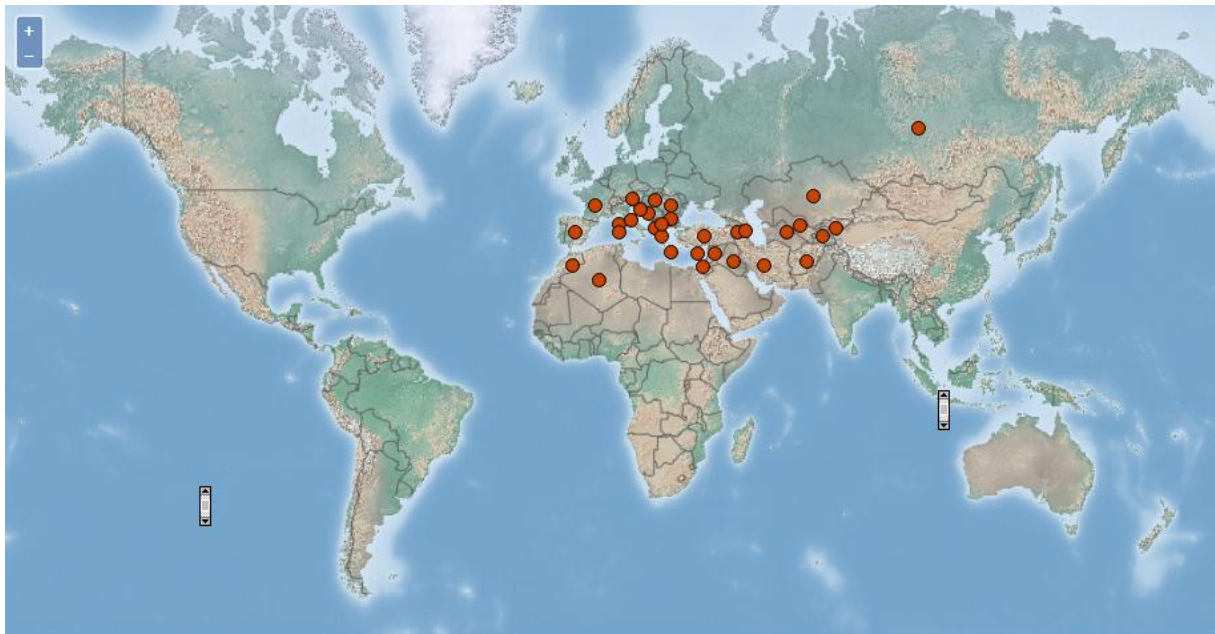


Fig 6 : la répartition de *Dociostaurus maroccanus* dans le monde (Cirad 2017)

1.1.6.2-En Algérie

Le criquet marocain est une espèce acridienne considérée comme très redoutable à l'agriculture. Elle peut engendrer, par année favorable, des pullulations très importantes, pouvant se constituer en essaims et envahir des régions entières.

Ce ravageur étant spécifique aux régions des hauts plateaux où la pluviométrie est comprise entre 250 et 400 mm/an et du fait de sa polyphagie, il peut s'attaquer aux céréales, aux cultures maraîchères et à l'arboriculture fruitière.

Cette espèce acridienne, dénommée *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg, 1815), appartient à l'ordre des Orthoptères, sous ordre des Caelifèra, famille des Acrididae et sous famille des Gomphocerinae.

L'aire de répartition est très grande en Algérie, il est présent dans les étages bioclimatiques sub-humide et semi aride, notamment les hauts plateaux dont la pluviométrie est comprise entre 250 et 400 mm/an. Tous les foyers grégarigènes de criquet marocain sont définis et répertoriés par l'Institut National de la Protection des Végétaux. Il se trouve dans les Wilayate de Tlemcen, Sidi Bel Abbes, Saïda, Mascara, Tiaret, Chlef, Tissemsilt, Médéa, Djelfa, M'Sila, Bordj Bou Arreridj, Sétif et Batna.

C'est l'extrême polyphagie du Criquet marocain qui l'a placé parmi les importants ravageurs des cultures, parce que les larves comme les imagos peuvent attaquer une

cinquantaine d'espèces végétales, les pâturages et les cultures céréalières sont toujours les plus endommagés.

La gravité des invasions du Criquet marocain tient à la proximité entre les cultures et les foyers de grégarisation. Les pertes de récolte seraient dues surtout aux jeunes stades qui se déplacent en bandes avant la moisson. La quantité de matière qu'elles ingèrent en une journée pourrait atteindre plusieurs fois leur poids. Les adultes sont moins voraces que les larves.

Les superficies infestées varient de quelques dizaines à quelques centaines de milliers d'hectares, leur influence sur la situation économique précaire des régions semi-aride ou aride demeure très grande.



Fig 7: l'air de répartition de *Dociostaurus maroccanus* en Algérie (INPV 2018)

1.1.7- Importance économique

Acridiens de la plus haute importance dans l'ex - URSS sont *Locusta migratoria*, *D. maroccanus*, et *Gomphocerus italicus* *Calliptamus sibiricus*, alors que d'autres espèces de criquets et les sauteriaux sont d'une importance plus occasionnelle. La recherche en URSS a apparemment commencé en 1902 avec une épidémie de *D. maroccanus* plus de 60.000 ha en Ouzbékistan actuel, où la propagation de l'infestation plus de 200.000 ha et diverses espèces de cultures ont été détruites (UVAROV et al., 1980). Le criquet marocain a été enregistré comme un ravageur important des pâturages et des cultures en Espagne depuis plusieurs siècles. Plus de 500 000 par ha ont été affectés dans les provinces de Badajoz, Ciudad Real, Almeria et Saragosse (KLASS et al., 2004).

Au siècle dernier en Bulgarie, le criquet marocain a été enregistré à une forte densité périodiquement, mais des flambées plus importantes a eu lieu à des intervalles de 10 ans: 1909, 1919, 1929 et 1939. En 1929, l'invasion dans le sud-est poursuivie pendant environ 3 semaines. L'armée et les citoyens locaux exterminés ravageur à la main. Plus de 200 tonnes

de criquets ont été détruits dans trois villages. Plus de 50 à 70% des cultures agricoles dans la région ont été détruits (CHORBADJIEFF, 1936, GEORGIEV, 1987). Le dernier foyer de criquets marocains était en 2000 dans la même région. La densité de population du ravageur dans les zones touchées de 12.600 ha était de 150 à plus de 1000 m² par locustes. Seule la lutte antiparasitaire bien chronométré empêche de lourdes pertes financières des champs de tabac voisins (NSPP, 2000; ANDREEV, 2002).

Selon la FAO, les criquets devaient infester environ 40 000 ha en 2002 au Tadjikistan, qui est supérieur à une estimation antérieure de 10 000 ha. Des experts de l'agriculture n'ont déclaré qu'un total de 60.000 hectares de terres nécessaires à traiter pour enrayer le problème. La gravité des invasions du Criquet marocain tient à la proximité entre les cultures et les foyers de grégarisation. Les pertes de récolte seraient dues surtout aux jeunes stades qui se déplacent en bandes avant la moisson (CHAOUCH, 1993). La quantité de matière qu'elles ingèrent en une journée pour rait atteindre plusieurs fois leur poids. Les adultes sont moins voraces que les larves.

En Algérie les Wilayates les plus touchées par des pullulations de criquet marocain sont celles de l'Ouest (Sidi Bel Abbas Saida Tiaret) (INPV, 2016),

1.1.8- Facteurs favorisant la pullulation du *Dociopterus maroccanus*

1.1.8.1-Facteur abiotique

1.1.8.1.1-**Facteurs nutritionnels:** Ils influent sur la fécondité des femelles car cette dernière est largement conditionnée par

- La disponibilité de la nourriture:

Végétation qui persiste verte très longtemps, permet aux femelles d'augmenter leur longévité et par conséquent de se reproduire plusieurs fois au cours de leur vie.

- La qualité de la nourriture

Une nourriture de qualité permet aux femelles d'optimiser leur rendement ovarien, c'est- à-dire de produire le maximum d'œufs par ponte. Cet effort de production d'œufs peut également se maintenir pendant plusieurs pontes.

- Facteurs de mortalité

En dehors des composants climatiques, les autres facteurs de mortalité qui tendent à limiter les effectifs de populations d'orthoptères sont soit des agents causant

des maladies, soit des prédateurs invertébrés ou vertébrés (DOUMANDJI et DOUMANDJI-MITICHE, 1994).

1.1.8.2. Facteurs abiotiques

Ce sont surtout les pluies, les températures et les vents qui influent le plus sur la dynamique des populations acridiennes.

1.1.8.2.1 Pluies

CHARA (1995), a mentionne que l'influence des pluies sur la dynamique des populations acridiennes se fait à travers les conditions écologiques qu'elles rendent favorables ou défavorables à la reproduction des criquets ainsi que leur développement.

1.1.8.2.2 Température

Quand les températures sont très basses, elles ralentissent le développement des acridiens aux différents stades de leur cycle, elles peuvent même devenir létales (CHARA, 1995a).

1.1.8.2.3 Vents

Le vent joue un rôle important dans la formation du climat (déplacement des différentes masses d'air) et a également une grande influence sur le transport des insectes (LECOQ, 1975).

Selon CHARA (1995), les vents influent sur l'augmentation des effectifs de criquets. Les densités par unité de surface peuvent augmenter dans une région à la suite de vents convergents.

STEEDMAN (1988), signale que les vents forts soulèvent parfois la terre qui entoure les oothèques, les quelles se dessèchent au point que les œufs meurent.

1.1.9- Les plantes hôtes (espèces affectées)

Le criquet marocain est un insecte polyphage les plantes les plus infectées sont insérés dans le tableau suivant

Tableau 2 .Les plantes hôtes (espèces affectées) de *Dociostaurus maroccanus*

<i>Avena</i> (avoine)	<i>Beta vulgaris</i> (betterave rouge)
<i>Bromus</i> (bromes)	<i>Cannabis sativa</i> (chanvre)
<i>Capsicum annuum</i> (poivron)	<i>Carduus</i> (chardon)
<i>Carum carvi</i> (carvi)	<i>Cicer arietinum</i> (pois chiche)
<i>Citrullus lanatus</i> (pastèque)	<i>Cucumis melo</i> (melon)
<i>Cucumis sativus</i> (concombre)	<i>Cucurbita</i> (citrouille)
<i>Elymus repens</i> (chiendent)	<i>Fragaria ananassa</i> (fraise)
<i>Glycine max</i> (soja)	<i>Gossypium hirsutum</i> (coton Bourbon)
<i>Helianthus annuus</i> (tournesol)	<i>Hordeum</i> (orge)
<i>Hordeum vulgare</i> (orge)	<i>Humulus lupulus</i> (hop)
<i>Lactuca</i> (laitue)	<i>Malus</i> (pomme espèces d'ornement)
<i>Medicago</i> (medic)	<i>Nicotiana tabacum</i> (tabac)
<i>Panicum miliaceum</i> (millet)	<i>Poaceae</i> (graminées)
<i>Prunus</i> (de fruits en pierre)	<i>Pyrus</i> (poires)
<i>Quercus</i> (chênes)	<i>Rosa</i> (roses)
<i>Rubus idaeus</i> (framboise)	<i>Secale cereale</i> (seigle)
<i>Solanum</i> (morelle)	<i>Solanum lycopersicum</i> (tomate)
<i>Spinacia oleracea</i> (épinards)	<i>Trifolium</i> (trèfles)
<i>Triticum</i> (blé)	<i>Vicia sativa</i> (vesce commune)
<i>Vitis vinifera</i> (vigne)	<i>Zea mays</i> (maïs)

1.1.9.1- Symptômes

Le criquet marocain est un insecte à mâcher. Les jeunes larves ne mangent que les feuilles de leurs plantes hôtes. Défoliation est visible. Après le troisième stade larvaire, ils mangent les parties vertes des plantes, des tiges et des épis de blé. Toute masse verte des plantes hôtes peut être détruit lorsque la densité de la population du ravageur est élevée.

Chapitre II

Données générales sur la région de Boughezoul

1.2-Données bibliographiques sur le Green Muscle ® (*Metarhizium anisopliae var acridum*).

Dans deuxième chapitre, quelques données bibliographiques sont apportées sur le produit Green Muscle ® par lequel nous avons pu obtenir la souche du champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae var acridum* utilisée lors de notre projet de recherche.

1.2.1. Généralités sur le développement du Green Muscle ®

Metarhizium anisopliae var. acridum présente un intérêt considérable pour son potentiel en tant qu'agent de lutte biologique spécifique contre les criquets et les sauterelles. Après une phase de développement importante

Le projet LUBILOSA « Lutte Biologique contre les Locustes et les Sautereaux » a été lancé en 1989 en réponse aux lourdes préoccupations environnementales qui ont suivi l'utilisation intensive des insecticides chimiques au cours de l'invasion de criquet marocain.

Les propriétés biologiques et physiques de ce champignon ont donc fait de lui le candidat idéal pour la lutte biologique contre les criquets et les sautériaux en Afrique. C'est ainsi que LUBILOSA a développé un bio pesticide sous le nom de «Green Muscle ® » à base de formulation huileuse de spores de cet entomopathogène. Ce produit est maintenant homologué en Afrique du Sud, dans plusieurs pays ouest africains et au Soudan (LOMER et al., 1999 ; BIOCONTROLE, 2007)

1.2.2-Présentation et identification de la matière active du Green Muscle®

Metarhizium anisopliae var acridum.

Metarhizium est un genre du groupe des champignons anamorphes, autrefois appelés *Fungi imperfecti* ou champignon mitosporiques *Deuteromycotina*. Ce groupe a été créé pour des champignons qui se reproduisent presque toujours asexuellement. L'espèce *Metarhizium anisopliae* est cosmopolite, elle est plus commune dans les zones tropicales et subtropicales et vit saprophytiquement dans la plupart des types de sol comme un pathogène facultatif d'insectes. Les souches qui infectent les criquets sont parmi les plus spécifiques. Sous des conditions naturelles elles infectent presque exclusivement les orthoptères aux antennes courtes (Acridomorpha). Pour cette raison elles ont été classifiées dans une variété séparée, *Metarhizium anisopliae var. acridum* (KOOYMAN, 2007).

La taxonomie classique du champignon est basée sur la taille et la forme de la spore; cependant, cela avait semé la confusion par le passé et aujourd'hui, les méthodes moléculaires sont de plus en plus utilisées pour caractériser les micro-organismes.

Pour les champignons filamenteux, la méthode privilégiée est la séquence du ribosome de l'ADN (rADN) qui contient les séquences conservées et variables. Avec cette méthode, la souche de LUBILOSA IMI- 330189 est passée du *M. flavoviride* au *M. anisopliae* var. *acridum* (LOMER, 1999).

1.2.3 Position systématique entomorphologie du *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*

Metarhizium anisopliae est un champignon imparfait qui présente d'après GREATHEAD et

al. (1994). la classification est comme suit:

- **Sous embranchement:** Deuteromycotina
- **Sous classe:** Deutéromycètes
- **Famille:** Moniliaceae
- **Série:** Sympodulosporae
- **Genre:** *Metarhizium*
- **Espèce:** *Metarhizium anisopliae*

D'après ZIMMERMAN (1993), *Metarhizium anisopliae* peut être aisément identifié par les conidies cylindriques vertes de longueur variant de 5 à 8 µm, qui sont produites en chaînes et qui forment une couche compacte de spores. Les souches de ce champignon forment des conidies particulièrement allongées (AMOURIQ, 1973).

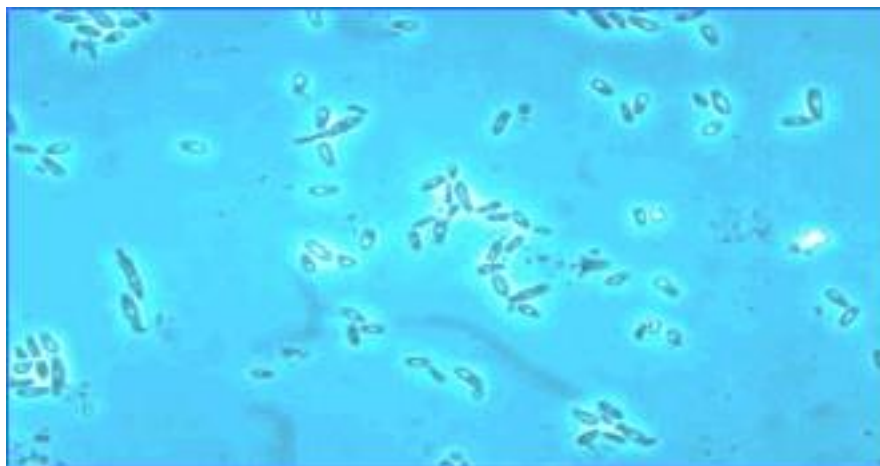


Fig 8 : Conidies de *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (KOOYMAN, 2007)

1.2.4. Mode d'action

Les micro champignons entomopathogènes sont des agents de lutte très intéressants du fait de leur aptitude à infecter l'hôte par ingestion ou par simple contact rendant tous les stades, œuf, larve et adulte sensibles (KOUASSI, 2001).

L'infection des champignons entomopathogènes passe par trois phases successives:

- **Phase d'adhésion**

Certains auteurs, PAILLOT (1933), FERRON et *al.* (1991); montrent que les spores des champignons entomopathogènes se fixent sur le tégument de l'insecte et germent lorsque les conditions du milieu optimales sont favorables.

- **Phase de germination**

Elle dépend directement des caractéristiques thermohydriques (24 à 29°C et 50 à 58 % d'humidité).

- **Phase de pénétration**

D'après FERRON et *al.* (1991), le mode de pénétration des champignons entomopathogènes est finalement très comparable à celui de la plupart des champignons phytopathogènes. Ce processus faisant intervenir des forces mécaniques et hydrolyses enzymatiques.

L'infection des champignons entomopathogènes passe par trois phases successives:

Les spores qui tombent sur la cuticule de l'insecte ou qui sont ramassées de la végétation, germent après 24 heures. Les hyphes sortant pénètrent la cuticule à l'aide d'enzymes et se désintègrent ensuite en corpuscules hyphales qui se répandent à travers le corps de l'insecte. Ce dernier essaie d'enkyster ces cellules fongiques (surtout quand leur développement est arrêté par une température élevée). Cependant, la plupart sont capables de se libérer au moment où la température devient favorable à nouveau.

Les corpuscules hyphales concurrencent alors l'insecte en nutriments, au fur et à mesure que la biomasse fongique augmente (KOOYMAN, 2007). D'après GILLESPIE (1999), le développement des hyphes peut être observé dans l'hémolymphe des criquets à partir du 3^{ème} jour d'inoculation. Ce développement commence à s'intensifier à partir du 4^{ème} jour suivant l'infection accompagné d'une réduction considérable du nombre d'hémocytes. Du mycelium pousse ensuite dans les tissus, lors de ce processus la cuticule rougit ce qui est dû à la production de l'oosporéine par le champignon. Après la mort de l'insecte, du mycélium blanc commence par sortir des articulations. Au bout d'un certain temps, le champignon fructifie et le cadavre devient vert. L'animal est plus ou moins transformé en matière pulvérulente gris-vert et se dissémine peu à peu dans le sol pour infecter d'autres criquets (AMOURIQ, 1973 ; KOUASSI, 2001 ; KOOYMAN, 2007)



Fig 9 : Germination des spores de *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (KOOYMAN, 2007)

1.2.5. Formulation et application

Le produit Green Muscle ® existe sous forme de poudre de spores sèches en technique concentrée (TC) dans des sachets laminés en aluminium ou alors en concentré liquide et miscible à de l'huile (formulation OF) qui contient 500g/L dans une base huileuse (LANGEWALD, 1999). Green Muscle ® est conçu pour être utilisé par la méthode ULV, les spores du *Mrtarhizium. anisoplia .var. acridum* doivent donc être suspendues dans une huile de formulation (SU : formulation diluée) pour être appliquées à l'aide des pulvérisateurs à disque rotatif de divers types: à main, monté sur un véhicule ou sur un avion. (LOMER, 1999). Les formulations SU sont toujours huileuses, plutôt qu'aqueuses. Les conidies de champignons sont faciles à conserver et à transporter sous forme de poudres sèches. Ces composants de la formulation SU peuvent être: Deux sortes de préparation de la formulation peuvent être utilisées pour la suspension et la pulvérisation des spores de *Metarhizium*:

Technique "standard" (huile minérale): 50% de Shellsol T: 50% d'huile Ondina et la **Technique "adaptée"** (huile végétale): 70% de "paraffine": 30% d'huile d'arachide.

Le kérosène peut être remplacé par le Diesel et l'huile d'arachide par celle du maïs. Le volume d'application est de 0,5 - 2 L/ ha ce qui est équivalent à un taux de 100g de spores/ ha (LANGEWALD, 1999).

1.2.6. Conditionnement

Les facteurs limitant l'efficacité des champignons acridopathogènes comme agents de lutte biologique

1.2.6.1-Les facteurs de l'environnement

Parmi les facteurs interagissant dans les écosystèmes du sol, la matière organique et inorganique, la microflore et la microfaune antagonique et le pH peuvent affecter la persistance des pathogènes fongiques (FERRON et *al.*, 1991).

AMOURIQ (1973), a montré que la température et l'humidité du milieu jouent un rôle important dans la conservation du pouvoir germinatif des spores, leur dissémination et leur germination. D'après PAILLOT (1933), les conidies de *Beauveria bassiana* conservées à l'air sec ne perdraient le pouvoir germinatif qu'au bout de 3ans environ.

1.2.6.2 Les facteurs liés au pathogène

PICARD in PAILLOT (1933), a montré que la virulence des champignons pour une espèce d'insecte déterminé est variable. Elle peut être atténuée par repiquage successif sur milieu artificiel, ou la renforce par passage à travers l'organisme nuisible .La capacité de survie a également une influence. De nombreux champignons entomopathogènes formant des structures de résistance peuvent être importants pour la survie et la régénération de la population du pathogène (FERRON et *al.*, 1991).

1.2.6.3 Les facteurs dépendants de l'hôte

Selon FERRON et *al.* (1991), il existe une sensibilité des populations en vers *Beauveria bassiana* chez plusieurs ordres d'insectes. Tous les stades de développement de l'insecte depuis l'œuf jusqu'à l'adulte sont généralement sensibles à l'infection par les champignons mais cette sensibilité dépend du stade de l'infection et vari eau sein d'une même espèce hôte.



Fig 10. Souche de *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* (GREEN MUSCLE®) conservée en sachet fermé hermétiquement à 4°C.

1.2.7-Gamme d'hôtes

D'après FERRON et *al.* (1991) et GEOTTEL (1991), il existe plus de 700 espèces d'insectes dans le monde qui peuvent être attaquées par ces champignons. En effet, il ya plusieurs espèces à partir des quelles des isolements de *B. bassiana* et de *M. anisopliae* ont été effectués. Ces champignons sont donc largement répandus.

MI- 330189 a été isolée du sautereau *Ornithacris cavroisi* près de Niamey au Niger en 1989. Après être choisi comme l'isolat idéal, il a été testé sur beaucoup d'espèces de criquets ce qui a dévoilé que ce dernier infecte quasiment toutes les espèces acridiennes des familles Acrididae et Pyrgomorphidae, notamment *Schistocerca gregaria*, *Locusta migratoria*, *Locusta napardalina*, *Nomadacris septemfasciata*, *Oedaleus senegalensis* et d'autres espèces du complexe des criquets sahéliens (KOOYMAN, 2007).

2-Données générales sur la région de Boughezoul

2.1-Situation géographique de la région d'étude

La commune de Boughezoul est localisée au sud-ouest de la wilaya de Médéa à 35 km au sud de Ksar El Boukhari et 30 km au nord de Ain Oussara. (fig.11)

Latitude : 35,6997, Longitude : 2,8477 35° 41' 59" Nord, 2° 50' 52" Est

Superficie de 448,00Km²



Fig 11. Situation géographique de la région de Boughezoul en Algérie (google maps 2018)

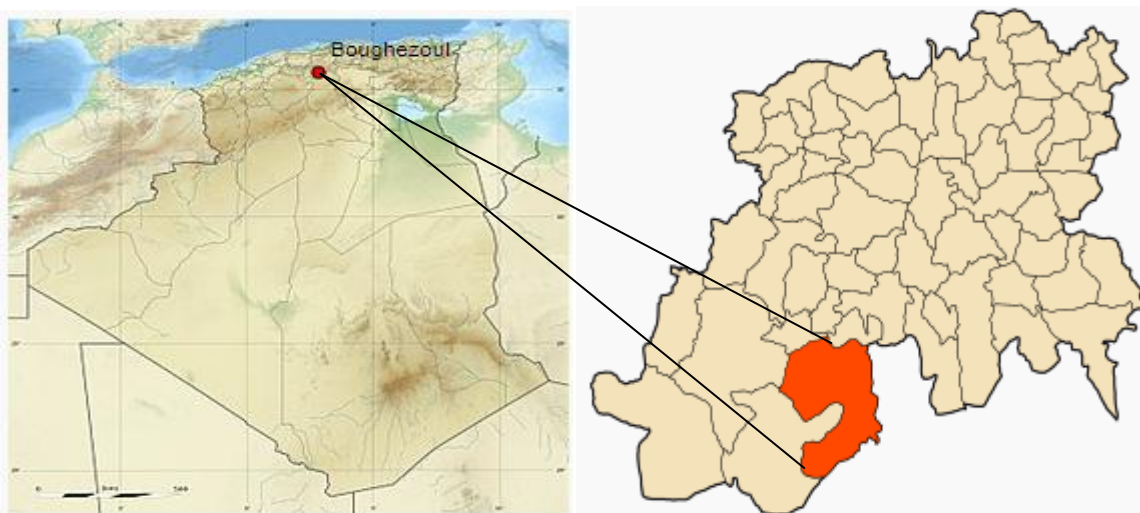


Fig 12. Situation géographique de la région de Boughezoul en Algérie (google maps 2018)

La zone d'étude est steppique, connue comme un des foyers grégaires de *Dociostaurus maroccanus* définis par l'INPV.

2.2-Climat de la région d'étude

Le climat de la région d'étude est considéré comme un climat méditerranéen avec été chaud

2.2.1-Précipitations

Boughezoul bénéficie d'un climat tempéré chaud. Les précipitations sont plus importantes en hiver qu'en été (tableau 3). Selon la classification de Köppen-Geiger, le climat est de type Csa. La moyenne des précipitations annuelles atteints 736 mm.(météo 2017)

Tableau 3: les précipitations de la région Boughezoul. (Météo 2017)

mois	jan	fév	mar	avr	mai	jui	jui	aout	sept	oct	nov	déc
P mm	111	87	81	55	55	23	3	5	29	60	102	125

La différence de précipitations entre le mois le plus sec et le mois le plus humide est de 122 mm. 18,4 °C de variation sont affichés sur l'ensemble de l'année. Le mois le plus chaud de l'année est celui de Juillet avec une température moyenne de 24,6 °C. Avec une température moyenne de 6,2 °C, le mois de Janvier est le plus froid de l'année. La différence de précipitations entre le mois le plus sec et le mois le plus humide est de 122 mm. 18,4 °C de variation sont affichés sur l'ensemble de l'année. (Météo Algérie, 2017)

2.4-Températures.

Tableau 4 : La température moyenne annuelle à Boughezoul est de 14.4 °C (météo 2017)

mois	Jan	Fév	Mar	Avr	Mai	Jui	Juil	Aou	Sept	oct	Nov	Déc
T. moyen C°	6,2	6,7	9,4	12	15,6	20,3	24,6	24,4	20,8	15,4	10,4	6,4
T. minimale moyenne C°	2,5	2,6	5,1	7,5	10,6	15	18,7	18,6	15,8	10,9	6,4	2,8
Température maximale C°	10	10,9	13,8	16,6	20,6	25,7	30,6	30,3	25,8	20	14,5	10,1

2.5- Diagramme climatique

Le diagramme climatique représentant les variations mensuelles sur une année des températures et des précipitations selon des gradations standardisées : une gradation de l'échelle des précipitations exprimées en millimètres ou litres par mètres carrés correspond à deux gradations de l'échelle des températures exprimée en degrés Celsius selon la formule : $P = 2T$.(Fig 13)

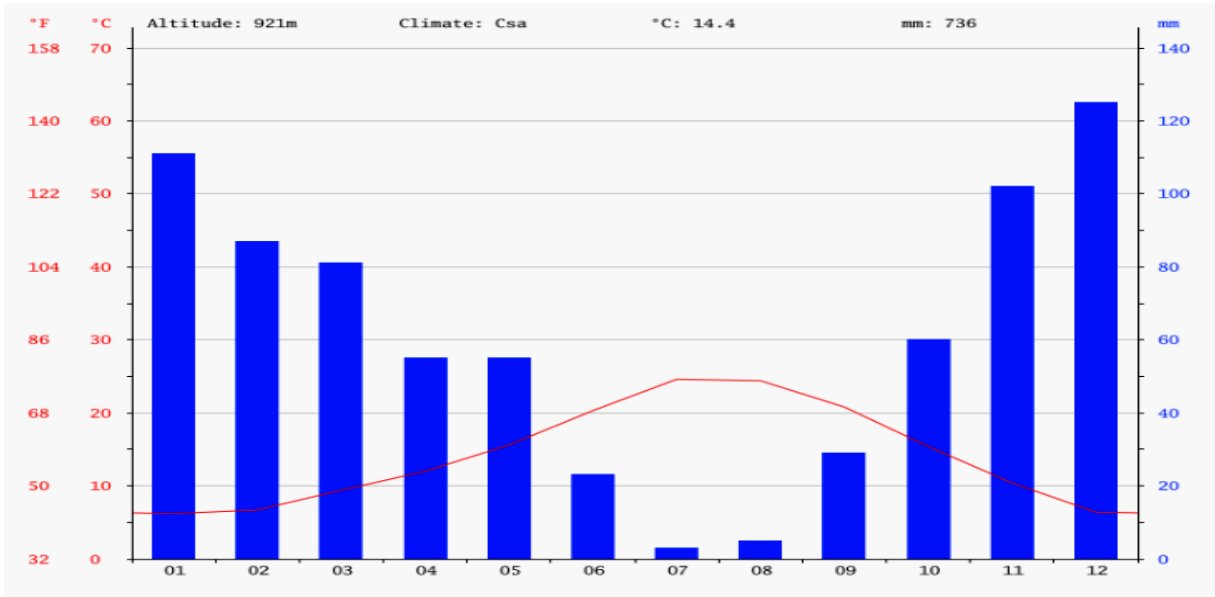


Fig 13 : Diagramme climatique de Boughezoul météo 2017

Le diagramme climatique de la région de Boughezoul (Media, Algérie) On peut le classe d'un climat tempéré a cause des sa température moyenne, qui avoisine 14,4°C en moyenne, pendant le mois le plus froid a 6,2°C. Le mois le plus chaud a 26,4°C en moyenne, ce qui entraine une amplitude thermique annuelle de 20,2°C. On peut parler donc d'une amplitude forte. On peut aussi parler d'un climat sec avec une précipitation de 736 mm.la précipitation est concentrées sur quelque mois : Novembre, Décembre et janvier. La saison la plus humide est l hiver avec 338 mm de précipitation. la saison la plus sèche est l'été avec 60 mm de précipitation totale. Selon l'index Gaussen, on considère comme mois aride : juillet. Ce climat est donc méditerranéen.

Chapitre III

Matériel et méthodes

3-Matériel et produits utilisés au laboratoire

3.2.1-Matériel utilisés

Au cours de cette expérimentation, nous avons utilisé le matériel cités en annexe.

3.2.1.1-Produits et milieux

Les produits et les milieux utilisés sont regroupés au niveau des annexes.

3.2.1.2-Méthodes utilises

Le produit Green Muscle ® existe sous forme de poudre de spores sèches en technique concentrée (TC) dans des sachets laminés en aluminium ou alors en concentré liquide et miscible à de l'huile qui contient 500g/L dans une base huileuse (LANGEWALD, 1999).

Green Muscle ® est conçu pour être utilisé par la méthode ULV (Ultra Bas Volume), les spores du *Metarhizium anisopliae var. acridum* doivent donc être suspendues dans une huile de formulation (SU : formulation diluée) pour être appliquées à l'aide des pulvérisateurs à disque rotatif de divers types :à main, monté sur un véhicule ou sur un avion. (LOMER, 1999) homogénéiser la présentation des auteurs soit tous en majuscule soit uniquement la 1ere lettre en majuscule

La souche de *Metarhizium anisopliae var acridum* (isolat IMI: 330189) a été isolée à partir de la solution huileuse ou poudre du “Green Muscle” obtenue au laboratoire de lutte antiacridienne de l’Institut National de Protection des végétaux d’El-Harrach en 2018.

Une öse de *Metarhizium anisopliae var acridum* est prélevée à l’aide d’une pipette Pasteur et ensemencée sur gélose P.D.A. (Potatoes Dextros Agar) contenu dans des boites de Pétri stériles puis incubée à 22°C. Pendant une semaine afin de favoriser l’apparition du mycélium, plusieurs repiquages sont effectués dans le but de purifier la souche. Enfin, la culture du *M. anisopliae var acridum* ainsi obtenues sont laissées en incubation à 22°C dans l’étuve jusqu’à atteindre un âge qui se situe entre 1 à 3 semaines pour être utilisées dans nos bio essais ultérieurs.

3.2.1.3-Multiplication de champignon et préparation

3.2.1.3.1-Préparation du milieu de culture (PDA)

Le milieu de culture spécifique pour *Metarhizium anisopliae var. acridum* est le PDA (Potatos Dextros Agar). Ce type de milieu présente une particularité qui est la présence de l'amidon dans laquelle cette espèce développe bien. La composition du milieu est comme suit

- 200 g de pomme de terre
- 20 g de Glucose
- 20 g de Gélose (Agar Agar)
- 1000 mL d'eau distillée.

Une fois le milieu prêt, il est mis dans un autoclave pendant une durée de 20 à 30 minutes à 120°C pour stériliser son contenu.



Fig14 : Préparation du milieu PDA (photographie originale)

3.2.1.3.2- Multiplication *Metarhizium anisopliae var. acridum*

La souche de champignon *Metarhizium anisopliae var. acridum* a été multipliée dans des boîtes de Pétri à moitié remplies du milieu PDA.

Sous la hotte, on prélève à l'aide d'une pipette Pasteur des fragments du milieu contenant le champignon et cela à partir d'une ancienne souche de *Metarhizium anisopliae var. acridum* qu'on ensemence dans le milieu de culture. L'ensemencement se fait de manière à ce que le développement du champignon occupe toute la surface de la boîte. Les boîtes sont fermées avec du parafilm pour éviter les contaminations, puis placées à l'étuve à 25°C.

3.2.1.2.3. Préparation des dilutions décimales pour analyse microbiologique

-Dilution 10^{-1} : Dans le cas des produits solides, introduire aseptiquement 2,5 grammes de produit à analyser dans un flacon stérile contenant au préalable 22,5 ml de diluant TSE, homogénéiser pendant 6 à 8 minutes selon la texture de produit.

Cette suspension constitue alors la dilution mère (DM) qui correspond donc à la dilution $1/10$ ou 10^{-1} .

-Dilution 10^{-2} : Introduire aseptiquement à l'aide d'une pipette en verre graduée et stérile, 1 ml de la DM, dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 ml de diluant TSE : cette dilution constitue alors la dilution au $1/100$ ou 10^{-2} , mélanger soigneusement.

-Dilution 10^{-3} : Introduire ensuite aseptiquement à l'aide d'une pipette graduée et stérile 1 ml de la dilution 10^{-2} , à introduire dans un tube à vis stérile contenant au préalable 9 mL du même diluant (TSE) : cette dilution est alors au $1/1000$ ou 10^{-3} , mélanger soigneusement.

Au moment de la réalisation des dilutions décimales, il est impératif de changer de pipettes entre chaque dilution.

Contrairement à cela, lors de l'ensemencement il est recommandé de commencer par la plus forte dilution à savoir 10^{-3} dans le but justement de ne pas changer de pipettes.

2,5 g de poudre

1ml à analyser

Ou 1g dans 9 ml

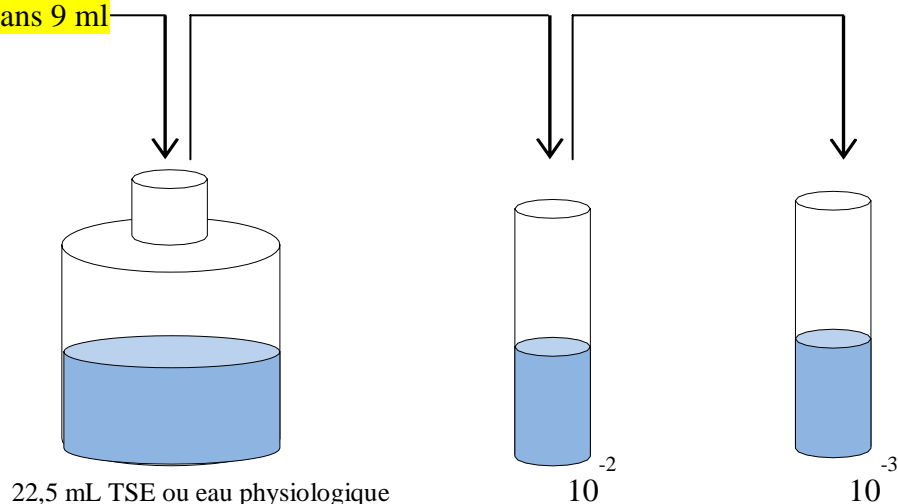


fig 14: Technique de préparation de la dilution mère et les dilutions décimales pour le produit solide

3.2.1.2.4 Recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux GAMT (NF V 08-051)

En principe, une flore totale aérobie mésophile peut être considérer comme flore d'altération car la présence des micro-organismes indique un processus de dégradation en cours (BONNEFOY *et al.*, 2002).

- **Mode opératoire**

A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , on porte aseptiquement 1 mL dans une boîte de Pétri vide préparée à cet usage et numérotée.

On complète ensuite avec 12 mL de gélose PCA fondue puis on refroidit à $45^{\circ}\text{C} \pm 1$. On fait ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de (8) pour permettre à l'inoculum de se mélanger à la gélose utilisée. On laisse solidifier sur la paillasse.

Incubation

Les boîtes seront incubées couvercle en bas à 30°C pendant 72h avec :

- Première lecture après 24 h d'incubation.
- Deuxième lecture après 48 h d'incubation.
- La troisième lecture après 72 h d'incubation

- **Lecture**

Les colonies des germes aérobies mésophiles se présentent sous forme **lenticulaire** en masse.

- **Dénombrement**

Il s'agit de compter toutes les colonies ayant poussées sur les boites en tenant compte des facteurs suivants :

Ne dénombrer que les boites contenant entre 30 et 300 colonies

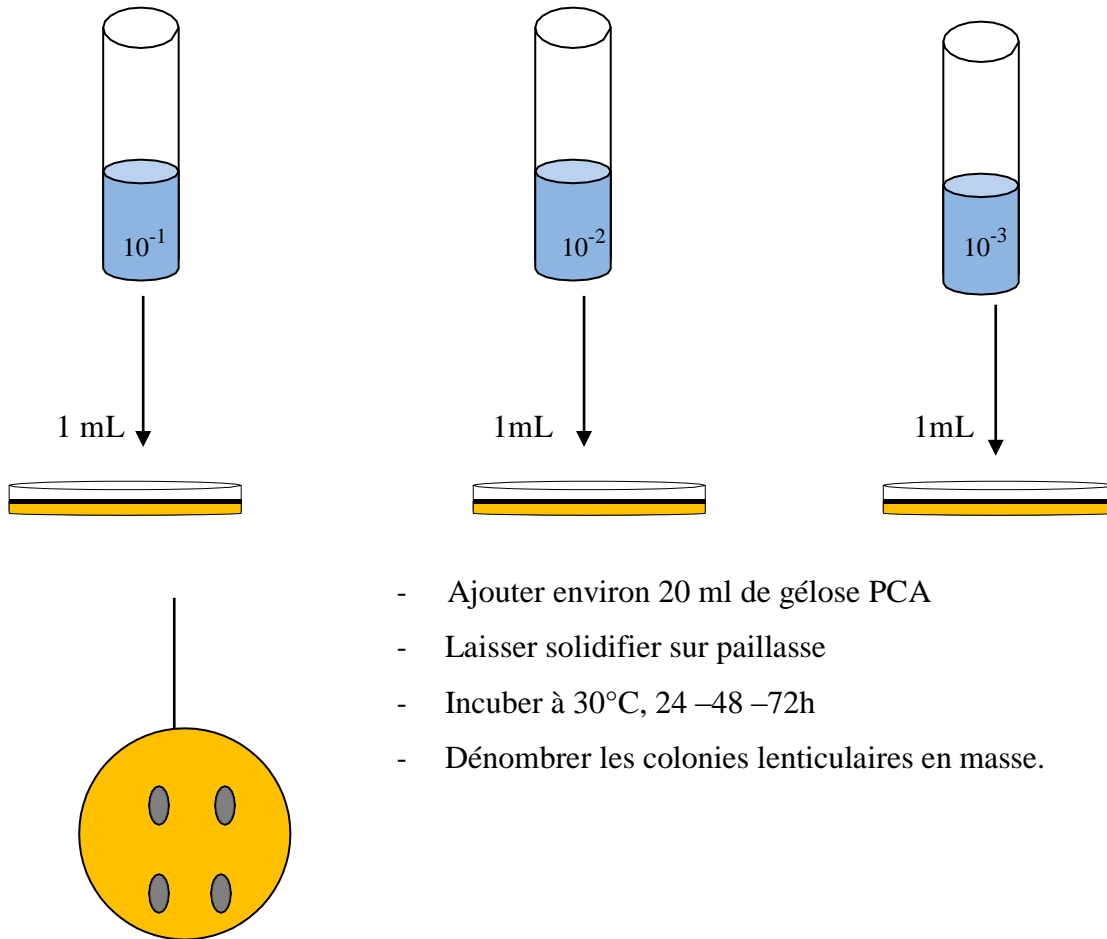
Multiplier toujours le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.

Faire ensuite la moyenne arithmétique des colonies entre les différentes dilutions.

Illustration

- La technique de recherche et dénombrement des germes aérobies mésophiles totaux est schématisée dans la figure suivante:

A partir des dilutions décimales



- Ajouter environ 20 ml de gélose PCA
- Laisser solidifier sur paillasse
- Incuber à 30°C, 24 -48 -72h
- Dénombrer les colonies lenticulaires en masse.

Fig.15 : Technique de recherche et dénombrement des Germes Aérobie Mésophile Totaux (GAMT).

3.2.1.2.5-Recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux NA 6803 (ISO 4832 :2006)

Selon JOFFIN et JOFFIN (2000) les coliformes sont des germes aérobies facultatifs caractérisés par leur aptitude à fermenter le lactose avec production de gaz et l'acide lactique.

- **Mode opératoire**

A partir des dilutions décimales allant de 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 2 fois 1 mL dans deux boîtes de Pétri vides préparés à cet usage et numérotées.

Compléter ensuite chaque boîte avec environ 20 mL de VRBG, fondue puis refroidie à $45\pm 1^{\circ}\text{C}$.

Faire ensuite des mouvements circulaires et de va-et-vient en forme de « 8 » pour permettre à l'inoculum de bien se mélanger à la gélose utilisée.

- **-Incubation**

-Une série de boîtes sera incubée à 37°C , pendant 24 à 48 h et servira à la recherche de coliformes totaux,

-l'autre série sera incubée à 44°C pendant 24 à 48 h et servira à la recherche de coliformes fécaux.

- **Lecture**

Dénombrer les colonies lenticulaires roses-rouges comprises entre 30 et 300. Et ensuite, on multiplie le nombre trouvé par l'inverse de sa dilution.

Le résultat est exprimé en UFC/g ou en UFC/mL de produit analysé.

La Technique de recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux est schématisée dans la figure suivante :

A partir des dilutions décimales

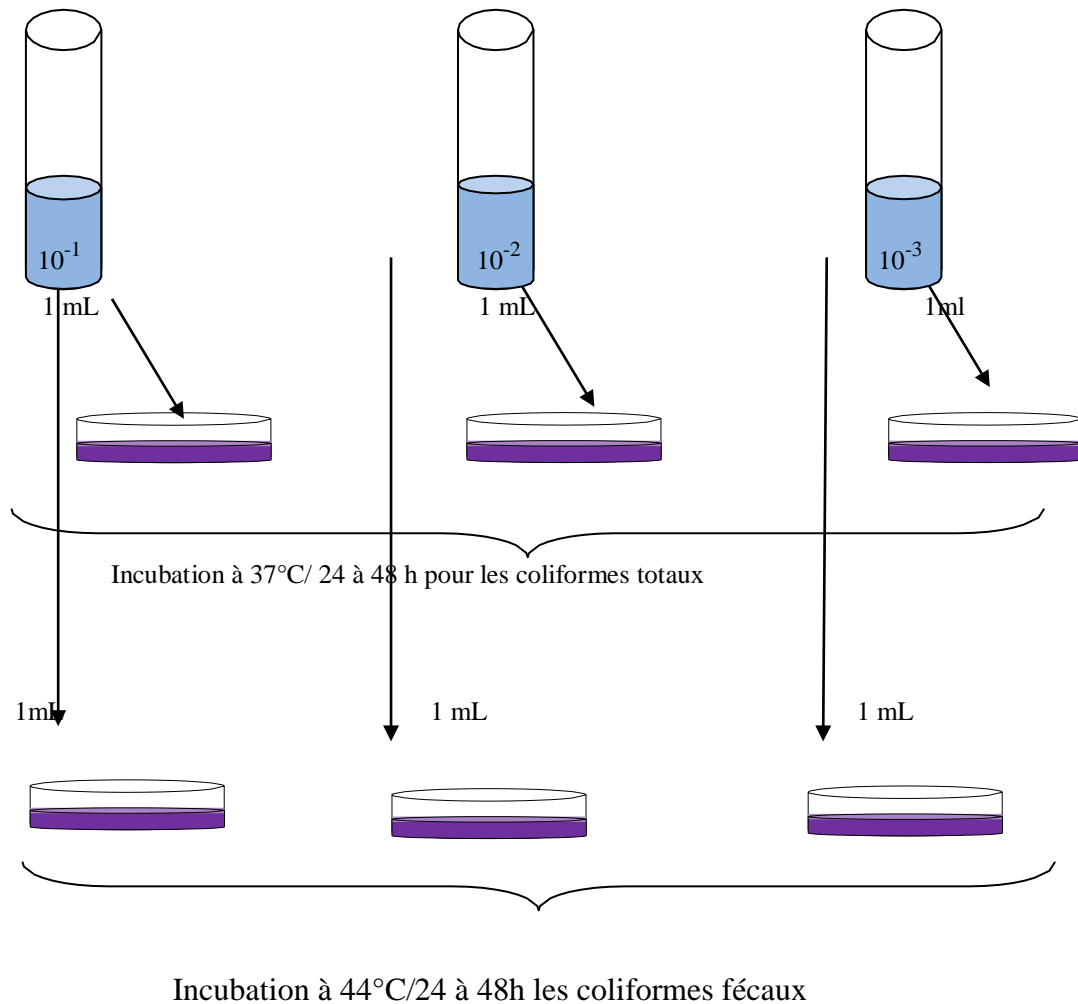


Fig.16 : Technique de recherche et dénombrement des coliformes totaux et des coliformes fécaux.

3.2.1.2.5-Recherche et dénombrement des *Clostridium* sulfito-réducteurs

Ce sont des bacilles à Gram positif, isolés en chaînettes généralement, immobiles et sporulés, quelques espèces sont responsables des intoxications (**Guiraud et Rosec, 2004**).

Clostridium sulfito-réducteurs sont capable de réduire les sulfites (sulfite de sodium) présent dans le milieu de culture en sulfures; ceux-ci se combinent avec un sel de fer pour donner du sulfure de fer **noir**, avec dégagement de H_2 Les colonies noires entourées d'un halo sont caractéristiques des ASR (**Delarras, 2007**).

Les spores des ASR constituent généralement des indices de contamination ancienne (**Lebres et al., 2002**).

• Mode opératoire (NF V59-109, 1982)

Prévoir une série de tubes stériles (stérilisés au préalable dans un four Pasteur à 180°C/30 min) à raison de deux tubes par dilution, répartir l'échantillon à analyser comme suit :

- 1mL de la dilution décimale 10^{-1} dans chacun des deux premiers tubes.
- 1mL de la dilution décimale 10^{-2} dans chacun des deux tubes suivants.
- 1mL de la dilution décimale 10^{-3} dans chacun des deux derniers tubes.

- Chauffer les 06 tubes au bain Marie à 80°C pendant 10 minutes, puis refroidir brutalement sous un jet d'eau du robinet, afin de créer un choc thermique pour éliminer toute forme végétative et ne laisser que les formes sporulées.

- Ajouter à chaque tube, 20mL de gélose VF (Viande-Foie) en surfusion à 45°C, 1 mL de sulfite de sodium et 0,5mL d'Alun de fer.

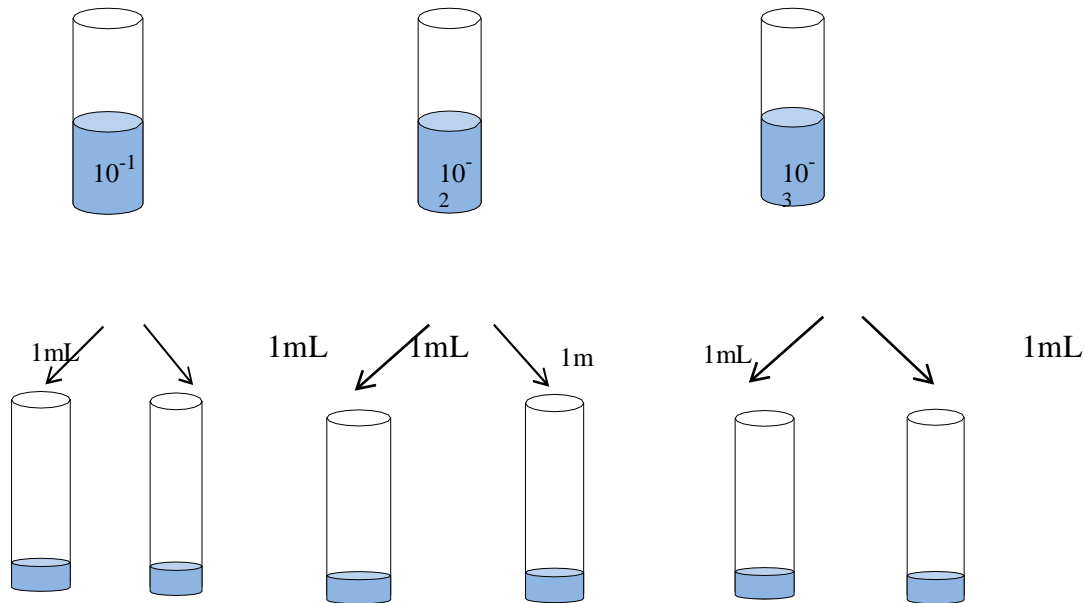
- Homogénéiser et laisser solidifier sur paillasse à température ambiante.

- Incuber les tubes à 46°C pendant 24 à 48 heures.

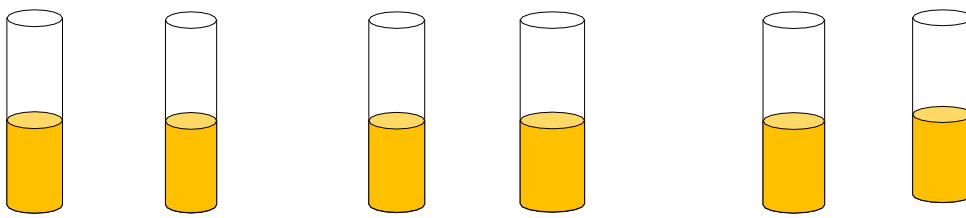
• Lecture

Le résultat positif concerne les tubes renfermant des colonies **noirâtres** de spores de *Clostridium* sulfito-réducteurs. Les résultats sont exprimés en nombre de spores par ml ou g de produit analysé. La Technique de recherche et dénombrement des spores de *Clostridium* sulfite réducteur est schématisé dans la figure 10.

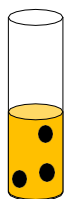
A partir des dilutions décimales



- Chauffage à 80°C pendant 8 à 10 min.
- Refroidir brutalement sous l'eau de robinet.
- Ajouter 15 mL de gélose Viande fois par tube.



Incubation à 46°C pendant 24 à 48 heures.



Dénombrement des colonies noires en masse.

Fig. 17:Technique de recherche et dénombrement des spores de *Clostridium* sulfito- réducteur

3.2.1.2.5-Recherche et dénombrement des levures et des moisissures NA 5911 (ISO 6611)

Les champignons sont capables de résister à des conditions environnementales très défavorables et se développent sur des milieux simples contenant une source de glucose, une source d'azote et quelques sels minéraux. Leur température optimale de croissance varie selon les espèces : elle est de 25°C pour les champignons mésophiles et de 37°C pour les champignons thermophiles. Les espèces pathogènes présentent un optimum de croissance à des températures comprises entre 30 et 45°C (Anonyme 1, 2009).

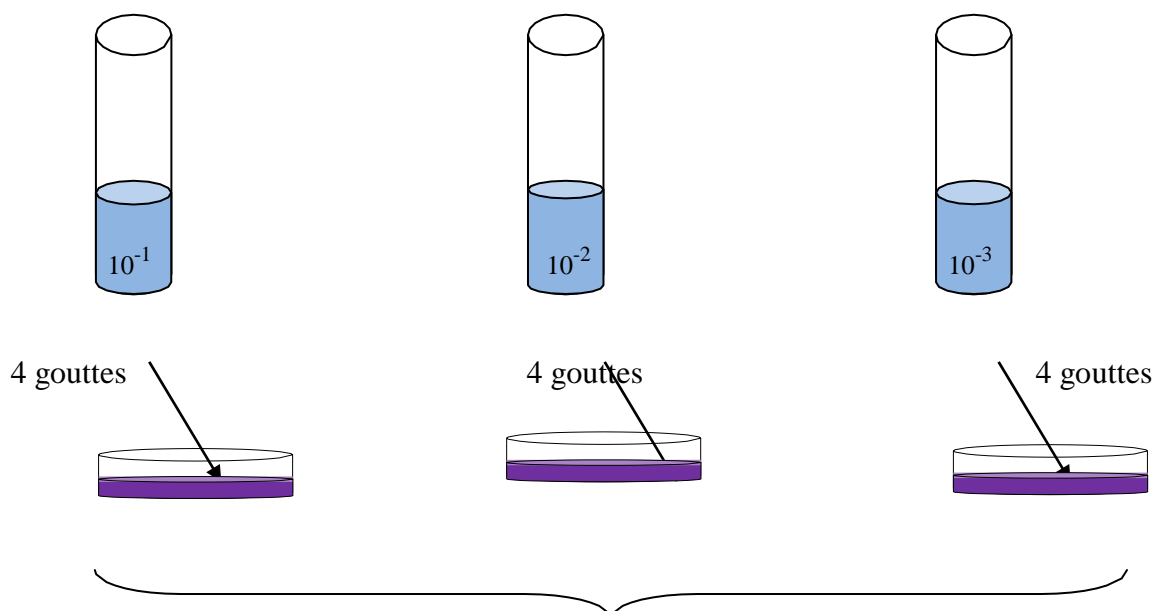
- **Mode opératoire**

A partir des dilutions décimales, 10^{-3} à 10^{-1} , porter aseptiquement 4 gouttes dans une boîte de pétri contenant de la gélose OGA ou Sabouraud au Chloramphénicol.

Etaler les gouttes à l'aide d'un râteau stérile, puis incuber à **22°C pendant 5 jours**.

Dans le souci de ne pas se trouver en face de boîtes envahies soit par les levures soit par les moisissures, on doit effectuer des lectures et des dénombrements tous les jours, Levures à part et les Moisissures à part.

A partir des dilutions décimales



Milieu Sabouraud au Chloramphénicol

Incubation à 22°C pendant 5 jours

Fig 18: Technique de Recherche et dénombrement des levures et des moisissures

3.4-L'isolement de la souche du genre *Metarhizium anisoliae* var *acridum*

Plusieurs méthodes ont été utilisées pour l'isolement sélectif des entomopathogènes. Elles reposent essentiellement sur le développement de milieux appropriés et l'addition aux milieux d'isolement des substances inhibitrices (antibiotiques et fongicides) stoppant la croissance des germes envahisseurs (Beilharz et al.,1982, Chase et al., 1986, Liu et al., 1993, Fernandes et al., 2010)

Dans cette technique, nous nous proposons dans une première étape, d'isoler sélectivement et de purifier des souches fongiques entomopathogènes du genre *Metarhizium anisoliae* var *acridum* à partir des échantillons des cadavres et des fèces du criquet marocain

3.4.1-Les analyses des cadavres du criquet marocain

Pour préparer les suspensions des cadavres, 1g de l'échantillon des cadavres séchés et broyés a été dilué dans 9 ml d'eau distillée stérile, puis une série de dilutions décimales a été effectuée sur les échantillons.

Après la préparation des dilutions, une agitation vigoureuse à l'aide du Vortex a été réalisée afin de permettre une bonne homogénéisation des solutions..

Par ailleurs, les milieux ont été ensemencés par étalement dans des boîtes de Pétri à raison de 4 gouttes. Les boîtes ont été incubées à 22°C à l'obscurité et observées quotidiennement pendant 5 jours la technique est schématisée dans la figure suivante :

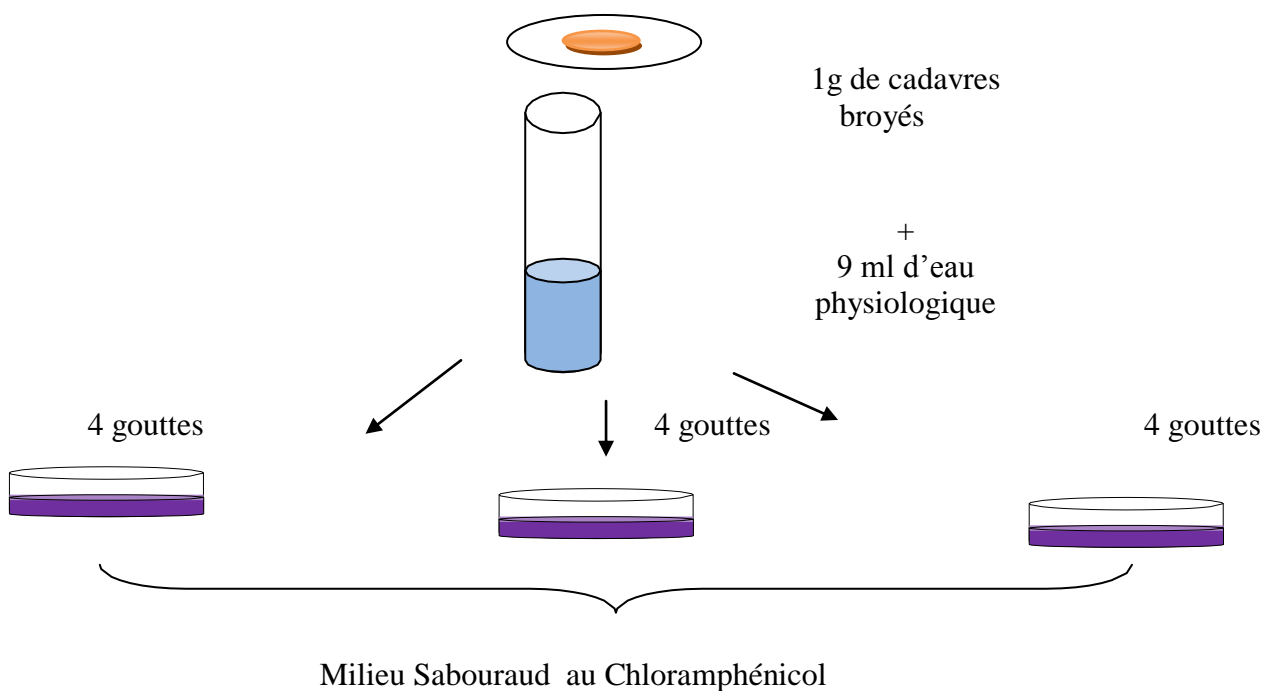


Fig 19: Les analyses des cadavres du criquet marocain

3.4.2- Les analyse des fèces

Les analyses des fèces ont pour objet le contrôle des échantillons du point de vue présence ou absence de micro-organismes .Elles se font par isolement de ces derniers à partir du substrat solide (fèces) en les mettant en suspension dans un diluant. Celui-ci est mis dans un milieu nutritive (Sabouraud au chloramphénicol) afin d'assurer leur multiplication. Les microorganismes recherchés sont les moisissures (*Metarhizium anisopliae* var *acridium*). Les manipulations ainsi que les préparations doivent être impérativement réalisées sur des paillasses désinfectées dans un périmètre de stérilité de 20 cm par rapport au bec bunsen.la technique est schématisé dan la figure suivante :

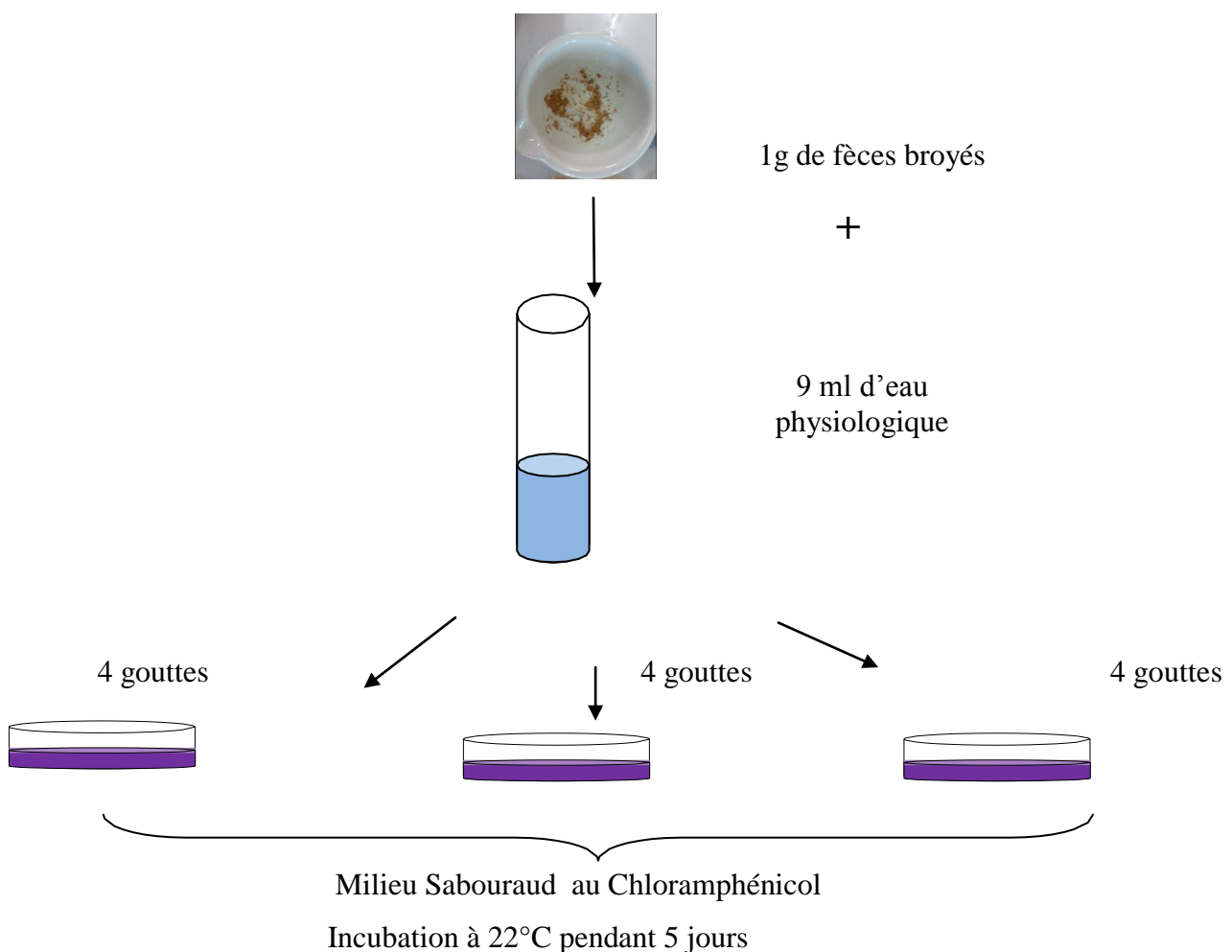


Fig. 20: Technique de Recherche du *Metarhizium anisopliae* var. *acridium*

3.5-Méthode de traitement du criquet marocain *Doclostaurus*

marocanus

3.5.1 Description de l'hématimètres de Malassez et détermination du nombre de spores

La cellule l'hématimètres de Malassez est utilisée pour le calcul des organites microscopiques dans une suspension donnée. Elle est formée de 100 rectangle égaux ou il ya 25 rectangle quadrilles d'égal volume qui sont divisés à leur tour en 20 petits carrés chacun où 13 de ceux- ci ont servi pour le comptage des spores aussi bien du champignon que de la bactérie. Pour le calcule du nombre de spores, après dilution avec de l'eau distillée, nous avons pris en considération 8 petits carrés quadrillés (0,01mm 3/20) que nous avons reportés au volume du quadrillage total. Le volume correspondant à celui-ci est égal à 1 μL et chaque rectangle correspond à un volume de 0,01 μL

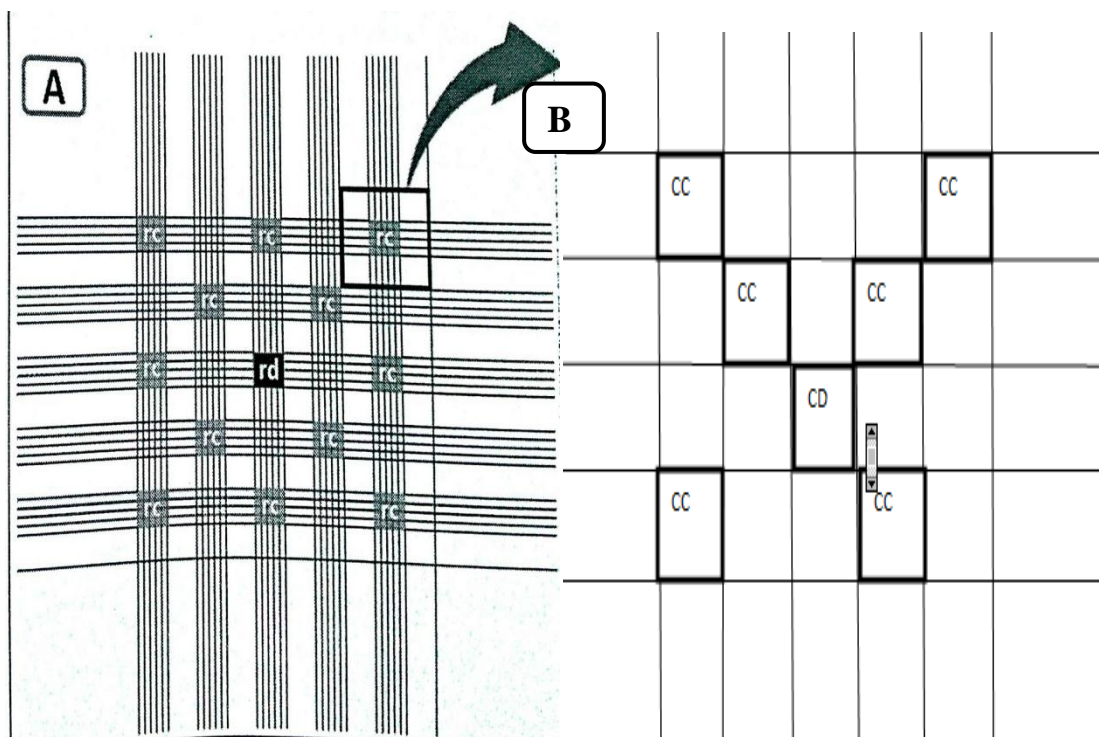


Fig21: Quadrillage de la cellule Malassez

(A) Quadrillage total de la cellule Malassez

(B) Quadrillage de rectangles de 0,01 μL

cc : carré de 0,25mm³ dans lequel nous avons calculé le nombre de spores

cd : carré dans lequel nous avons calculé le nombre de spores deux fois

rc : rectangle dans lequel nous avons estimé la nombre de spores

rd : rectangle dans lequel nous avons estimé la nombre de spores deux fois .

3.5.2 Préparation des doses *Metarhizium acridum* :

Une quantité de la souche poudre du champignon (*Metarhizium anisopliae* var. *acridum*) dans d'eau physiologique et bien agitée pour avoir une dose mère ($d_3 = 1,3 \times 10^6$) à partir de laquelle seront préparées les doses du champignon. Le calcul de la concentration de spores est réalisé par l'utilisation de la cellule Malassez. Après dilution avec l'eau physiologique, les comptages ont été effectués, à l'aide d'un microscope optique sur 8 petits carrés quadrillés d'un volume $0,0005 \text{ mm}^3$ ou 5×10^{-4} chacun que nous avons reportés au volume de quadrillage total. Nous rappelons que le volume de ce dernier correspondant à 1 mm^3 et chaque rectangle correspond à un volume de $0,01 \text{ }\mu\text{L}$. La préparation des autres doses se fait en diluant 1 mL de la dose mère à 9 mL d'eau physiologique pour obtenir la dose d_2 et ainsi de suite ; ce qui donne une $d_1 = 1,3 \times 10^4$ spores / μl , $d_2 = 1,3 \times 10^5$ spores / μl ; $1,3 \times 10^6$ spores / μl ; pour le traitement par contact, on possède de la même manière pour l'ingestion où les doses sont : $d_1 = 2,6 \times 10^4$ spores / μl , $d_2 = 2,6 \times 10^5$ spores / μl , $d_3 = 2,6 \times 10^6$ spores / μl , pour chaque test, nous avons mélangé les spores pure dilués au l'eau physiologique après agitation pendant 10 min et ajouté l'huile végétale de tournesol et le tween 80 pour l'homogénéisation

3.5.3 Mode de traitement

Les traitements par contact et ingestion

Les traitements par contact par ingestion à l'aide du *Metarhizium anisopliae* var *acridum*, ont eu lieu 72 heures des imagos du criquet marocain, dans des boîtes en matière plastique contenant une alimentation à base de gazon *Stenotaphrum americanum*, dont les couvercles sont perforés pour une bonne aération. Il a été pris en compte 3 répétitions, 3 doses et un témoin. Pour chaque répétition 8 individus ont été traités, 4 mâles et 4 femelles soit 24 individus pour chaque dose y compris le témoin dont les criquets ont été traités à l'aide d'eau distillés. Le traitement par ingestion forcés consiste à introduire dans la bouche du criquet à l'aide d'une micropipette de $1 \mu\text{L}$ contenant des spores des champignons.

Le traitement par contacts a été fait par l'application d'une goutte de $1 \mu\text{L}$ sous pronotum du criquet marocain dans le laboratoire.

Chapitre V

Résultats

4-Résultats

Les résultats se présentent en trois parties assez distinctes. La première concerne les analyses microbiologiques de Green muscle. La seconde tourne autour recherche de *Metarhizium anisoplea var acridum* dans les cadavres et les fèces du criquet marocain. la troisième étape est orientée vers le calcule de Taux de mortalités et la TI₅₀ et DL₅₀ de criquet marocain après traitement avec *Metarhizium Anisopliae var. acridum* par contact et ingestion

4.1-Analyses microbiologiques de Green muscle

Les tableaux suivants présentent les résultats de recherche de différents germes dans l'échantillon de Green muscle.

Tableau 5 : Moyenne des Log des UFC/mL des différents germes recherchés dans le Green muscle

Germes recherchés	Echantillon	Log des UFC/mL		
		10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³
Flore aérobie mésophile totale	Green muscle	Ind	ind	5,26
Fréquence Moyenne des UFC dans les différentes dilutions		Ind	ind	5,26
Levures	Green muscle	3,21	3,88	insuf
Fréquence Moyenne des Log UFC dans les différentes dilutions		3,21	3,88	Insuf
Moisissures	Green muscle	Insuf	insuf	Insuf
Fréquence Moyenne des UFC dans les différentes dilutions		Insuf	insuf	Insuf

Tableau 6: Résultats du dénombrement des coliformes totaux présents dans les échantillons Green muscle selon la table de McGrady

Germe recherché	Echantillon	D1	D2	D3	0.74
Coliformes totaux	T1	+	+	+	0.74
Coliformes fécaux	T1	-	-	-	

Les résultats des analyses microbiologiques rassemblés dans le tableau 1 montrent que la valeur logarithmique de la flore mésophile aérobie totale (FMAT) est importante soit de l'ordre de 5,26. FMAT est un indicateur microbiologique qui permet d'évaluer la charge bactérienne initiale globale dans un échantillon.

D'après nos résultats le nombre de coliforme totaux est de 0,74. La flore dominante, constituée par les coliformes totaux. La présence de ces derniers témoigne une mauvaise hygiène générale et signifie une contamination d'origine environnementale Nous notons une absence totale des coliformes fécaux.

La méthode de colimétrie utilisée dans cette présente étude nous a permis de réalisé un test présomptif (présence de coliformes totaux) et un test confirmatif (présence de coliformes fécaux). Les coliformes fécaux se distinguent des coliformes totaux par leur température de prolifération qui est de 44°C. La recherche et le dénombrement des coliformes totaux est d'un intérêt moindre pour déceler une contamination fécale sure. La recherche et le dénombrement des coliformes fécaux à 44°C., leur présence signifie l'existence quasi certaine de germes fécaux par contre la recherche.

La présence des levures et moisissures est souvent décelable dans les excréments, essentiellement en surface. Les levures et les moisissures sont à une valeur logarithmique moyenne qui varie respectivement entre 3.21et 3.88 Log UFC/ml pour les levures tandis que le nombre UFC/mL des moisissures est insuffisant dans les 3 dilutions. Notant aussi l'Absence de germes telluriques et ubiquiste soit *Clostridium* sulfito-réducteur dont le test présomptif revient négatif.

4.2-La recherche de *Metarhizium anisopliae* var *acridum* dans les cadavres et les fèces

Le tableau suivant présent les résultats de recherche *Metarhizium anisopliae* var *acridum* dans les cadavres et les fèces

Tableau 7 : résultats de recherche des *Metarhizium anisopliae* var *acridum* dans les cadavres et les fèces

Germe recherché	Dans les cadavres	Dans les fèces
<i>Metarhizium anisopliae</i> var <i>acridum</i>	Absent	Absent

4.3 Calcul de la mortalité corrigée

Le calcul de la mortalité corrigée se fait sur la base de la formule de Schneider orelli suivante :

$$MC = \frac{Mtr - Mtm}{100 - Mtm} \times 100$$

MC= Mortalité corrigée en (%)

Mtr= Taux de mortalité des individus traités (%)

Mtm = Taux de mortalité des individus témoin (%)

4.4 Calcul des DL₅₀ et TL₅₀

Le calcul de la DL₅₀ et TL₅₀ se fait après transformation des mortalités corrigées en probits et en fonction des logarithmes des doses ou du temps, ce qui permet de tracer la droite de la forme

$$y = a.x + b$$

y =(5) Probits de la mortalité corrigée

x= Logarithme décimal de la dose ou du temps

Analyse de la variance (ANOVA) et le test de Newman-Keuls

L'analyse de la variance (ANOVA) et le test de Newman-Kleuls ont été faits sur la base du logiciel XLSTAT 2010 pour la comparaison des doses deux à deux .

4.5- Traitement par contact au *Metarhizium anisopliae* var *acridum*

4.5.1 -Mortalité d'individus mâles et femelles de criquet marocain

Les taux de mortalité cumulée suite au traitement par contact des males et des femelles de *D.marocanus* sont regroupés dans le tableau suivant

Tableau 8 : taux de mortalité des males et femelles de *D. maroccanus* suite au traitement par contact *M. acridum* en fonction des doses

Dose	témoin		Dose1= 1.3×10^4		Dose2= 1.3×10^5		Dose3= 1.3×10^6	
Temps	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	1	4,7	4	16,7	4	16,7
3	0	0	2	8,3	6	25	7	29,7
4	0	0	2	8,3	7	29,7	7	29,7
5	0	0	3	12,5	11	45,8	15	62,5
6	1	4,7	7	29,7	19	79,7	23	95,8
7	1	4,7	11	45,8	22	91,7	24	100
8	1	4,7	17	70,8	23	95,8	24	100
9	1	4,7	18	75	23	95,8	24	100
10	1	4,7	20	83,3	24	100	24	100
11	2	8,3	23	95,8	24	100	24	100
12	2	8,3	24	100	24	100	24	100
13	2	8,3	24	100	24	100	24	100
14	2	8,3	24	100	24	100	24	100
15	2	8,3	24	100	24	100	24	100

Toutes les doses agissent dès le 2^{ème} jour mais causent de faible mortalités .Ce n'est qu'au 12^{ème} jour que la dose 1 provoque une mortalité de 100% tandis que les doses 2 et 3 provoquent cette mortalité respectivement au 10^{ème} et 7^{ème} jour. Si pour la dose 1, la mortalité est très faible, elle dépasse grandement 50% au 8^{ème} jour contrairement aux doses

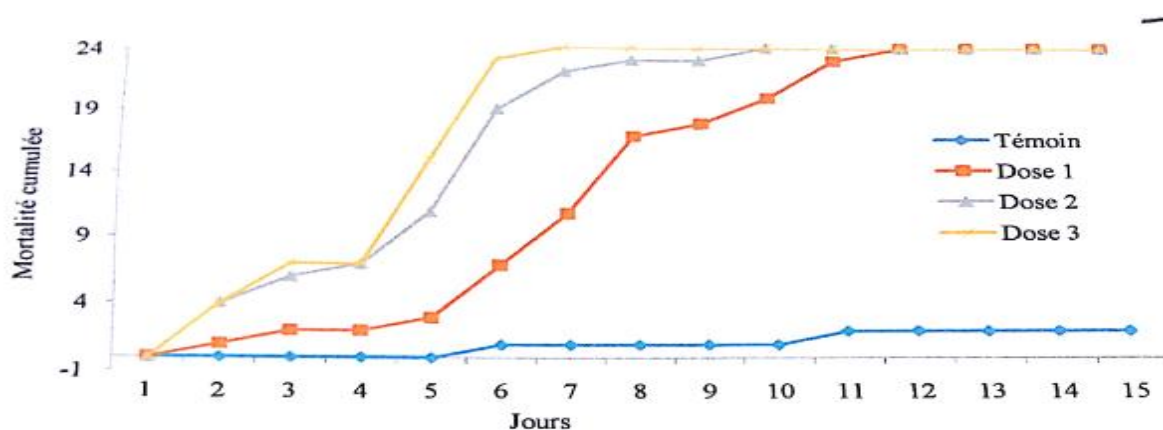


Fig22 : Mortalité cumulée de l'ensemble des males et des femelles de *Dociostaurus maroccanus* après traitement par contact par *Metarhizium anisopliae* var *acridum*

4.5.2- Mortalité des males

Les taux de mortalité du traitement par contact des criquets males de D.Marocanus sont regroupés dans le tableau suivant

Tableau 9 : Taux de mortalité chez les males de *Dociostaurus maroccanus* du traitement par contact au *Metarhizium anisopliae* var *acridum* en fonction des doses

Dose	témoin		Dose1= 1.3×10^4		Dose2= 1.3×10^5		Dose3= 1.3×10^6	
Temps	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	2	16,67	2	16,7
3	0	0	0	0	2	16,67	5	41,7
4	0	0	0	0	3	25	5	41,67
5	0	0	0	0	5	41,67	9	75
6	1	8,33	3	25	8	66,67	11	91,7
7	1	8,33	5	41,7	10	83,33	12	100
8	1	8,33	10	83,3	11	91,67	12	100
9	1	8,33	10	83,3	11	91,67	12	100
10	1	8,33	11	91,7	12	100	12	100
11	2	16,7	12	100	12	100	12	100
12	2	16,7	12	100	12	100	12	100
13	2	16,7	12	100	12	100	12	100
14	2	16,7	12	100	12	100	12	100
15	2	16,7	12	100	12	100	12	100

Les doses agissent 2 et 3 dès le 2^{ème} jour, bien qu'elles causent de faibles mortalités qui ne dépassent pas 16.7% contrairement à la dose 1 dont l'effet a lieu au 6^{ème} jour qui au 8^{ème} jour entraine une mortalité de 100% tandis que les doses 3 causent cette mortalité respectivement au 7^{ème} jours .Si pour la dose 1,la mortalité est très faible, elle dépasse grandement 50% au 8^{ème} jour. le pallier indique la mortalité de 100% d'individus (fig23)

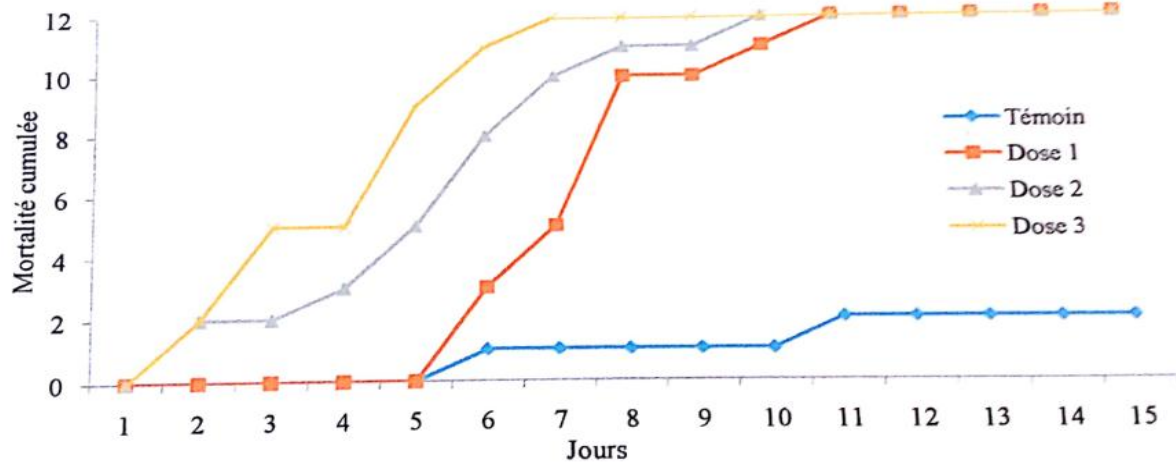


Fig23 . Mortalité cumulée des males de *Dociostaurus maroccanus* après traitement par contact par *Metarhizium anisopliae* var *acridum*

4.5.3- Mortalité des femelles

Les taux de mortalité du traitement par contact des criquets femelles de D.Marocanus sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 10: Taux de mortalité chez les femelles de *Docistaurus marocanus* du traitement par contact au *Metarhizium anisopliae* var *acridum* en fonction des doses

Dose	Témoin		Dose1= 1.3×10^4		Dose2= 1.3×10^5		Dose3= 1.3×10^6	
Temps	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	1	8,33	2	16,67	2	16,67
3	0	0	2	16,67	4	33,33	2	416,67
4	0	0	2	16,67	4	33,33	2	416,67
5	0	0	3	25	6	50	6	50
6	0	0	4	33,33	11	91,67	12	100
7	0	0	6	50	12	100	12	100
8	0	0	7	58,33	12	100	12	100
9	0	0	8	66,67	12	100	12	100
10	0	0	9	75	12	100	12	100
11	0	0	11	91,67	12	100	12	100
12	0	0	12	100	12	100	12	100
13	0	0	12	100	12	100	12	100
14	0	0	12	100	12	100	12	100
15	0	0	12	100	12	100	12	100

Contrairement aux males, les femelles sont sensibles dès le 2^{ème} jour pour ce qui est la dose 1 alors que dans le témoin aucune mortalité n'a été enregistrée. Comme dans le cas précédent, le champignon agit également dès le 2^{ème} jour et cause une mortalité de 100% aussi bien pour la dose 1 que pour la dose 2. La courbe montre une mortalité brusque de la mortalité dès le 7^{ème} pour les doses 2 et 3 tandis que pour la dose 1. La mortalité augmente progressivement pour atteindre 100% au 12^{ème} jour (Fig24)

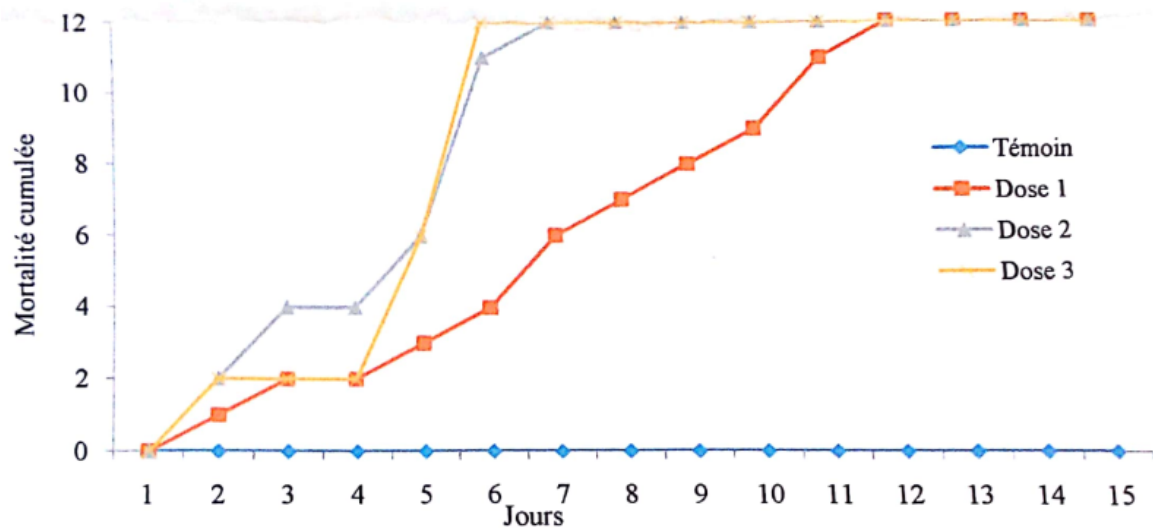


Fig24 : Mortalité cumulée des femelles de *Dociostaurus maroccanus* après traitement par contact Par *Metarhizium anisopliae* var *acridum*

4.5.6 Calcul de la DL₅₀ pour le traitement par contact au *Metarhizium anisopliae* var *acridum*

4.5.6.1- Calcul de la DL₅₀ pour le cinquième jour

Les mortalités corrigées et leurs probits pour le calcul de la DL₅₀, après traitement par contact au *Metarhizium anisopliae* var *acridum*, dans le tableau suivant

Tableau 11 : Mortalités observées et corrigées et leurs probits au cinquième jour

	LogDoses	Mort.Obs	Mort. Corr	Probits
Témoin	0	0	0	-
Dose 1	4,11	12,5	12,5	3,84
Dose 2	5,11	45,83	45,83	4,89
Dose 3	6,11	62,5	62,5	5,32

La dose qui provoque une mortalité de 50% au 5^{ème} jour du traitement par contact est de 3.4×10^5 spores/insecte (fig25)

$$Y = 0,74 x + 0.901$$

$$R^2 = 0.9447$$

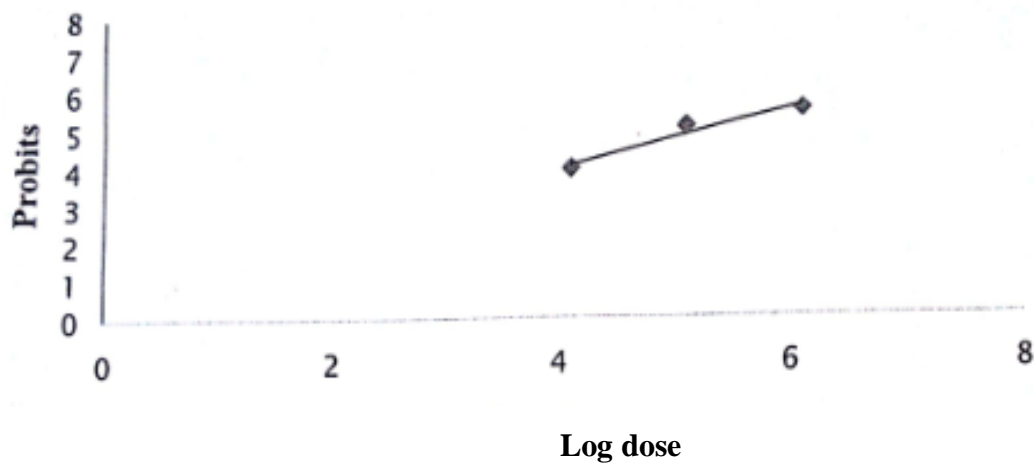


Fig25. Droite de régression de la mortalité en probit en fonction du log doses au cinquième jour pour le traitement par *Metarhizium anisopliae* var *acridum* par contact

4.5.6.2- Calcul de la DL₅₀ pour le neuvième jour

Les mortalités corrigées et leurs probits pour le calcul de la DL₅₀, après traitement par contact au *Metarhizium anisopliae* var *acridum*, sont regroupés dans le tableau suivant

Tableau12 : mortalités observées et corrigées et leurs probits au 9^{ème} jour

Doses	LogDoses	Mortalités observées	Mortalités corrigées	Probits
Témoin	0	4,17	0	-
Dose 1	4,11	75	70,86	5,52
Dose 2	5,11	95,83	91,70	6,39
Dose 3	6,11	100	95,87	6,73

La dose létale qui provoque une mortalité de 50% au 9^{ème} jour du traitement par contact au par *Metarhizium anisopliae* var *acridum* est de 3.9×10^4 spores/insecte (fig26)

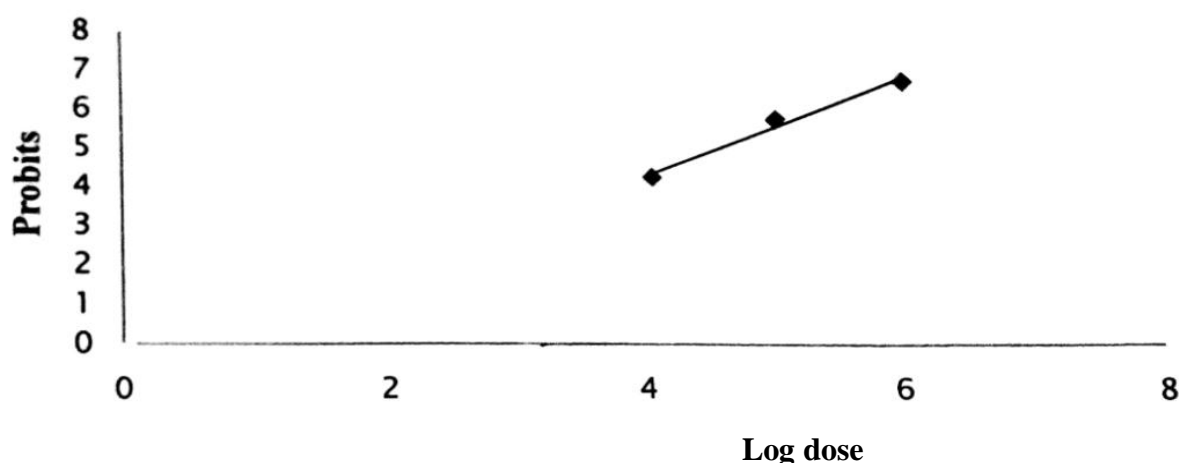


Fig 26. Droite de régression de la mortalité en probit en fonction du log doses au neuvième jour pour le traitement par *Metarhizium anisopliae* var *acridum* par contact

4.5.7-Calcul de TL₅₀pour Dose 1

Tableau 13 : Mortalités observées et corrigées et leurs probits de la dose D1

Jours	Mortalités observées	Mortalités corrigées	Probits
1	0	0	-
2	4,2	4,2	3,27
3	8,3	8,3	3,61
4	8,3	8,3	3,61
5	12,5	12,5	3,84
6	29,2	25,0	4,33
7	45,8	41,7	4,79
8	70,8	66,7	5,43
9	75	70,9	5,52
10	83,3	79,2	5,84
11	95,8	87,6	6,16
12	100	91,7	6,39
13	100	91,7	6,39
14	100	91,7	6,39
15	100	91,7	6,39

La figure suivante (fig27) représente la droite de régression probit log temps pour la première dose

La TL₅₀ calculée pour le traitement avec *M. acridum* par contacte, concernant la première dose, sur les imagos du criquet marocain est de 162.18 h (6.76 jours)

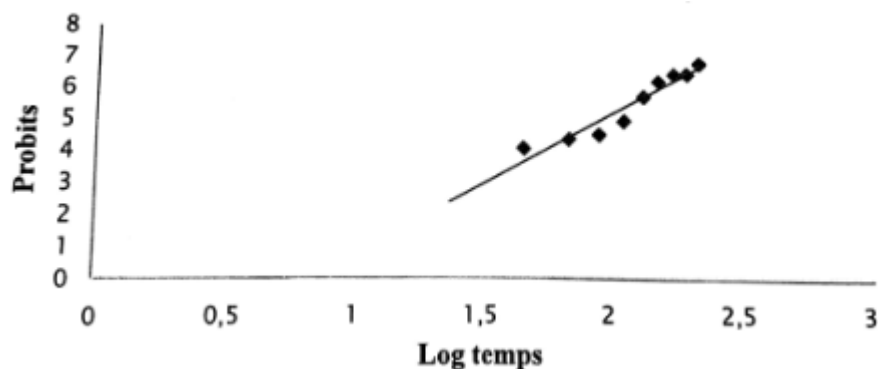


Fig 27 : Droite de régression de la mortalité en probit en fonction du log temps pour la première dose pour le traitement au *Metarhizium anisopliae* var *acridum* par contact

4.5.8- Calcul de la TL₅₀ pour la dose 2

Tableau 14: Mortalités observées et corrigées et leurs probits de la dose D2

Jours	Mortalités observées	Mortalités corrigées	Probits
1	0	0	-
2	16,7	16,7	4,04
3	25	25	4,33
4	29,2	29,2	4,46
5	45,8	45,8	4,89
6	79,2	75,0	5,67
7	91,7	87,5	6,15
8	95,8	91,7	6,39
9	95,8	91,7	6,39
10	100	91,7	6,39
11	100	91,7	6,39
12	100	91,7	6,39
13	100	91,7	6,39
14	100	91,7	6,39
15	100	91,7	6,39

La figure suivante représente la droite de régression probit log temps pour la deuxième dose

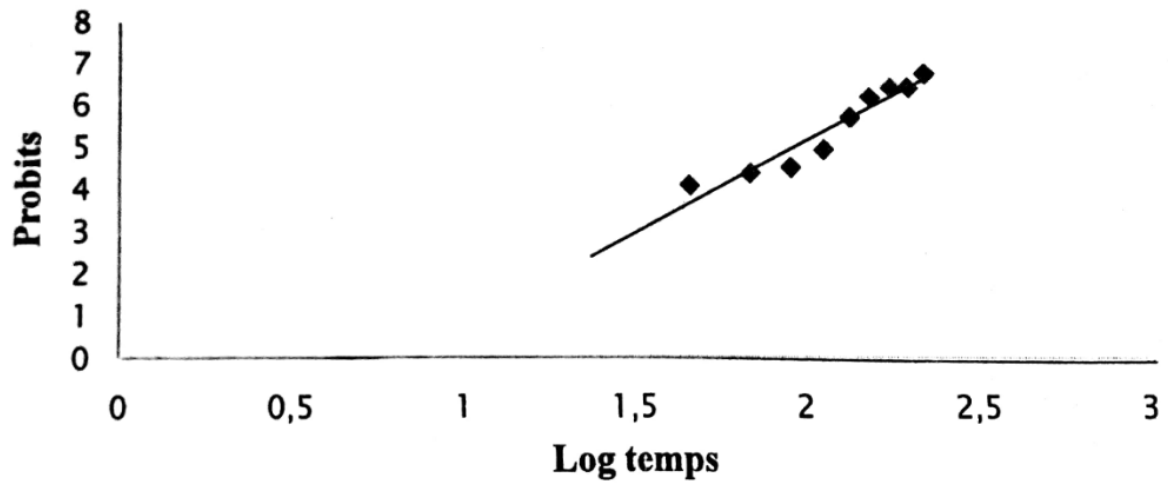


Fig 28. Droite de régression de la mortalité en probit en fonction du log temps pour la deuxième dose pour le traitement par *Metarhizium anisopliae* var *acridum* par contact

La TL_{50} calculée pour le traitement par contact avec *Metarhizium anisopliae* var *acridum* pour la deuxième dose sur les imagos du criquet marocain est de 100 h(4.16 jour)

4.5.9- Calcul de la TL_{50} pour la dose 3

Les mortalités observées et corrigées ainsi que les probits sont regroupés dans le tableau 8 suivant

Tableau 16 : mortalités observées et corrigées et leurs probits de la dose D3

Jours	Mortalités observées	Mortalités corrigées	Probits
1	0	0	-
2	16.7	16.7	4.04
3	29.2	29.2	4.46
4	29.2	29.2	4.46
5	29.2	62.5	5.32
6	95.8	91.7	6.39
7	100	95.9	6.73
8	100	95.9	6.73
9	100	95.9	6.73
10	100	95.9	6.73
11	100	91.7	6.39
12	100	91.7	6.39
13	100	91.7	6.39
14	100	91.7	6.39
15	100	91.7	6.39

La TL₅₀ calculée pour le traitement par contact avec *Metarhizium anisopliae* var *acridum* pour la deuxième dose sur les imagos du criquet marocain est de 100 h, soit 4.16 jours

La figure représente la droite de régression de la mortalité en probits par rapport aux logarithmes du temps

$$Y=5,0651x -4,88$$

$$R^2= 0,8382$$

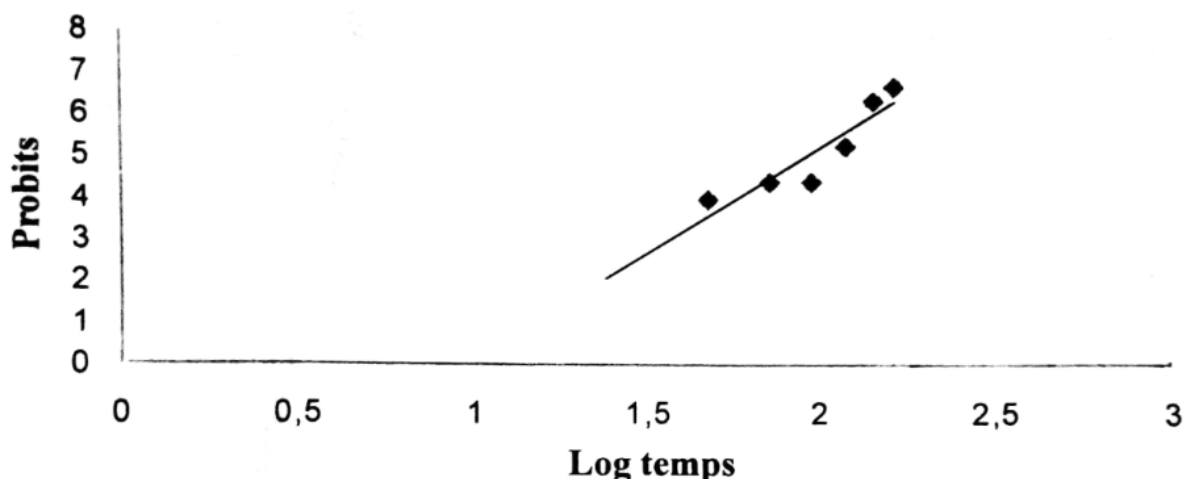


Fig29 : Droite de régression de la mortalité en probit en fonction du log temps pour la troisième dose pour le traitement au *Metarhizium anisopliae* var *acridum* par contact
 La TL₅₀ calculée pour le traitement par contact avec par *Metarhizium anisopliae* var *acridum* pour 3^{ème} dose sur les imagos du criquet marocain est de 89,12 h, 3,71 jours.

4.5.9.1- Analyse de la variance (ANOVA) pour le traitement par contact

Les résultats de l’analyse de la variance sont consignés dans le tableau suivant

Tableau 16: évaluation de la valeur de l’information apportée par les variables ($H_0=Y=$ Moy (Y))

Source	ddl	Somme de carrés	Carrés moyen	F de fisher	Pr > F
Modèle	17	5495,967	323,292	14,747	< 0,0001
Résidus	42	920,767	21,923		
Totale	59	6416,733			

Les résultats au dessus montre que il y’a une différence très hautement significative, c’est-à-dire que la mortalité est d’autant plus élevée que la dose est importante. (F,14,75, ddl ,59 ;Pr<0.0001)

4.6-Traitement par ingestion au *Metarhizium anisopliae* var *acridum*

Mortalité d'individus males et femelles de *Metarhizium anisopliae* var *acridum*

Les taux de mortalité après traitement par ingestion des males et des femelles de par *Metarhizium anisopliae* var *acridum* sont regroupés dans le tableau 17.

Tableau 17: taux de mortalité cumulé des males et des femelles de *Dociostaurus marocanus* après traitement par ingestion au *Metarhizium anisopliae* var *acridum* selon les doses

Doses	Témoin		Dose1		Dose2		Dose3	
Temps	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux
1	0	0	1	4,2	0	0	0	0
2	0	0	1	4,2	0	0	0	0
3	0	0	1	4,2	0	0	1	4,2
4	0	0	1	4,2	1	4,2	2	8,3
5	1	4,2	2	8,3	1	4,2	2	8,3
6	1	4,2	2	8,3	1	4,2	3	13
7	1	4,2	5	20,8	3	13	7	29,2
8	1	4,2	7	29,2	10	41,7	12	50
9	1	4,2	7	29,2	20	83,3	24	100
10	1	4,2	9	37,5	23	95,8	24	100
11	1	4,2	11	45,8	23	95,8	24	100
12	2	8,3	13	54,2	23	95,8	24	100
13	2	8,3	15	62,5	23	95,8	24	100
14	2	8,3	15	62,5	24	100	24	100
15	2	8,3	16	66,7	24	100	24	100

La mortalité de plus de 50% (54.2%) est atteinte au 12^{ème} jour pour la dose, tandis que pour les doses 2 et 3, elle est respectivement de 83.3% et 50% au 9^{ème} et au 8^{ème} jour .au 15^{ème} jour elle s'élève à 66.7% .en revanche elle atteint 100% pour la dose 3 au 9^{ème} jours et 14^{ème} pour la dose 2.

Le graphique indique une mortalités ascendante jusqu'à l'obtention d'une Asymptote appelé Pallier indiquant que la mortalité est de 100%

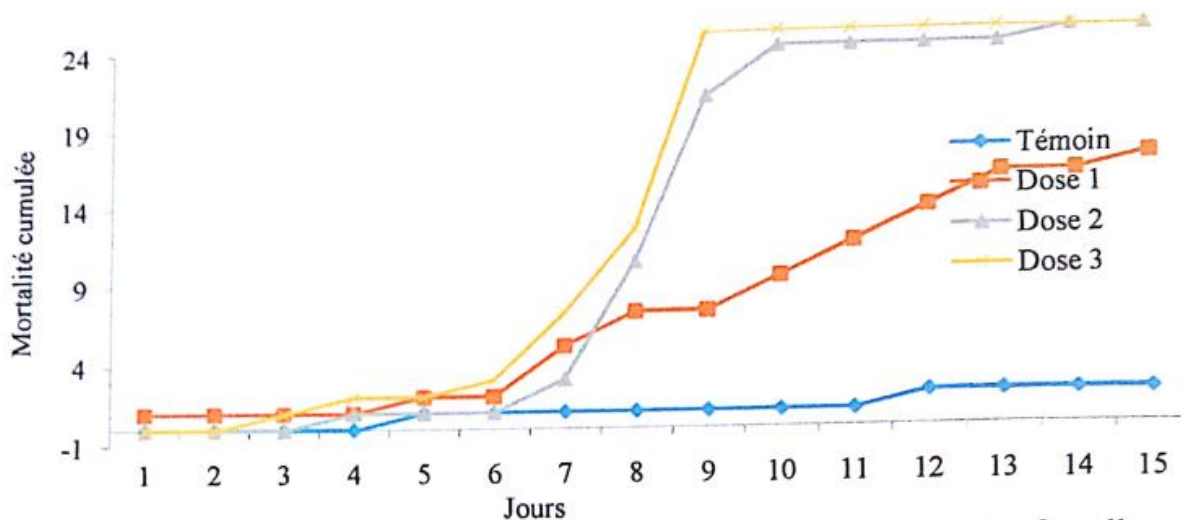


Fig 30 : Mortalité cumulée de l'ensemble des males et des femelles de *Dociostaurus maroccanus* après traitement par ingestion par *Metarhizium anisopliae* var *acridum*

4.6.1-Test de Newman kleus

Le test de Newman keuls révèle 3 groupes qui ont regroupés dans le tableau suivant

Tableau 18: classement et regroupements des groupes non significativement différents

Modalités	Moyenne	Regroupement		
J15	18,500	A		
J14	18,500	A		
J13	18,500	A		
J12	18,500	A		
J11	18,250	A		
J10	17,250	A		
J9	16,500	A		
J8	16,250	A		
J7	14,500	A		
J6	12,500	A	B	
J5	7,250	A	B	C
J4	4,000	A	B	C
J3	3,750		B	C
J2	2,250			C
J1	0,000			C

Il y a trois groupes qui apparaissent clairement après classement : le premier comprend du 5 au 15^{ème} jour où la mortalité est très forte. Le deuxième englobe 2 jours (3^{ème} et 4^{ème} jours) où la mortalité est faible tandis que les premiers jours ont une mortalité très faible.

4.6.2-Analyse des différences entre les groupes l’analyse des différences entre les groupes

Sont consignés dans le tableau suivant

Tableau19: L’analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance de

Modalités	Différence	Différence réduite	Valeur critique	Pr>diff	Significatif
D3 T	17,133	10,021	2,675	<0,0001	OUI
D3 D1	4,800	2,808	2,429	0,020	OUI
D3 D2	0,867	0,507	2,018	0,615	NON
D2 T	16,276	9,514	2,429	<0,0001	OUI
D2 D1	3,933	2,301	2,018	0,026	OUI
D1 T	12,333	7,214	2,018	<0,0001	OUI

95% La comparaison deux a deux des doses et du témoin a donne des différences significatives exception faite de la D3 et D2 qui ne sont pas significativement différentes et nettement notées dans le tableau sous le groupe A

Tableau 20 : classement et regroupement des doses non significativement différents

Moyenne	Regroupement		
18.133	A		
17.267	A		
13.333		B	
1.000			C

4.6.3-Mortalité des male

Les taux de mortalité après traitement par ingestion des male de *Dociaustaurus marocanus* sont regroupés dans le tableau suivant

Tableau 21: taux de mortalité cumulé des males de *Dociostaurus marocanus* après ingestion au par *Metarhizium anisopliae* var *acridum* selon les doses

Dose	témoin		Dose1		Dose2		Dose3	
Temps	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux
1	0	0	1	8,3	0	0	0	0
2	0	0	1	8,3	0	0	0	0
3	0	0	1	8,3	0	0	1	8,3
4	0	0	1	8,3	1	8,3	1	8,3
5	0	0	1	8,3	1	8,3	1	8,3
6	1	8,33	1	8,3	1	8,3	1	8,3
7	1	8,33	2	16,7	2	16,7	2	16,7
8	1	8,33	4	33,3	6	50	5	41,7
9	1		4	33,3	11	91,7	12	100
10	1	8,33	5	41,7	11	91,7	12	100
11	1	8,33	6	50	11	91,7	12	100
12	1	8,33	6	50	11	91,7	12	100
13	1	8,33	6	50	11	91,7	12	100
14	1	8,33	6	50	12	100	12	100
15	1	8,33	6	50	12	100	12	100

Le traitement par ingestion au par *Metarhizium anisopliae* var *acridum* sur les males donne une mortalité dès le premier jour pour la première dose .cette mortalités a lieu au 3^{ème} et 4^{ème} jour respectivement pour les doses, 3 et 2 .il faut attendre le 11^{ème} jour pour que la dose 1 entraine une mortalité 50% qui n'évolue pas tandis que pour la dose 2, la mortalité survient au 8^{ème} jour .au contraire la dose 3 provoque une mortalité de 100% au 9^{ème} jour.

Comme dans les cas précédents, la courbe montre une mortalité ascendante jusqu'à l'obtention du pallier qui indique que la mortalité est atteint 100%

4.6.4- Mortalité des femelles

Les taux de mortalité après traitement par ingestion des femelles de *Dociostaurus marocanus* sont regroupés dans le tableau suivant

Tableau 22 : taux de mortalité cumulé des femelles de *Dociostaurus marocanus* après traitement par ingestion au par *Metarhizium anisopliae* var *acridum* selon les doses

Dose	Témoin		Dose1		Dose2		Dose3	
Temps	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux	Mortalité	Taux
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	0	0	0	0	0	0	0	0
3	0	0	0	0	0	0	0	0
4	0	0	0	0	0	0	1	8,3
5	0	0	1	8,3	0	0	1	8,3
6	0	0	1	8,3	0	0	2	16,7
7	0	0	3	25	1	8,3	5	41,7
8	0	0	3	25	4	33,3	7	58,3
9	0	0	3	25	9	75	12	100
10	0	0	4	33,3	12	100	12	100
11	0	0	5	41,7	12	100	12	100
12	1	8,33	7	58,3	12	100	12	100
13	1	8,33	9	75	12	100	12	100
14	1	8,33	9	75	12	100	12	100
15	1	8,33	10	83,3	12	100	12	100

Le probits suivant (fig 31) représente le taux de mortalité chez les femelles témoin et traitées par les trois doses :

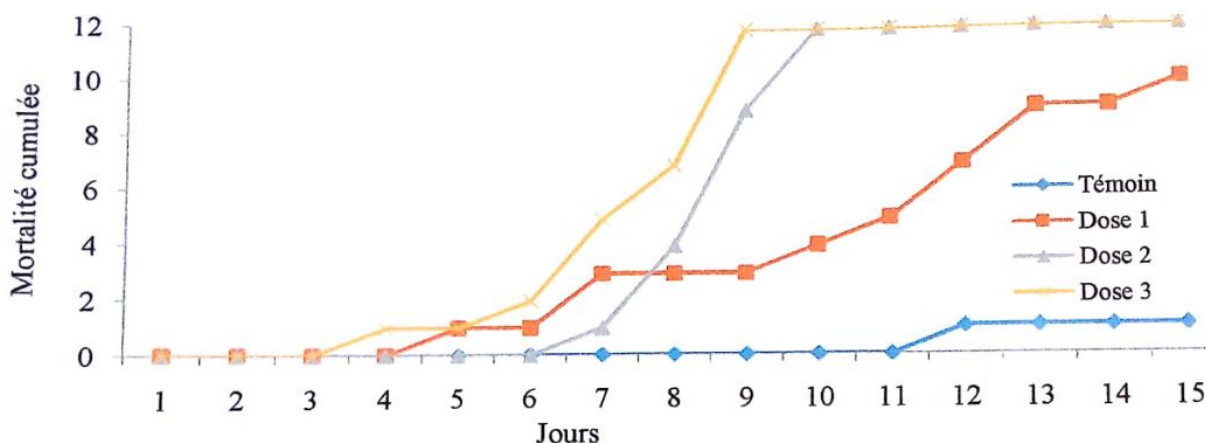


Fig31. Mortalité cumulée des femelles de *Dociostaurus maroccanus* après traitement par ingestion par *Metarhizium anisopliae* var *acridum*

Le traitement par ingestion au *Metarhizium anisopliae* var *acridum* sur les femelles de criquet marocain montre une mortalité identique comme celle des mâles où celle-ci intervient au 4^{ème} jour notamment pour la dose 3. Cette mortalité s’intensifie dès le 7^{ème} jour pour la même dose .elle est 100% au 9^{ème} jour. Pour ce qui est de la dose 2, il n’y a aucun effet sur les criquets jusqu’au 9^{ème} jour où la mortalité a atteint 75%. Bien que la dose 1 n’a pas agi pendant les premiers jours où la mortalité était nulle, il n’en pas le cas dès le 12^{ème} jour où celle-ci était de 58.3% pour culminer à 100% au 15^{ème} jour.

4.6.5-Calcul de DL50 après traitement par ingestion au *Metarhizium anisopliae* var *acridum*

4.6.5.1- Calcul de la DL₅₀ au 9^{ème} jour

La mortalité observée est corrigée ainsi que les probits pour le calcul de la DL₅₀ au 9^{ème} jour sont regroupés dans le tableau suivant

Tableau 23 : La mortalité observée est corrigée ainsi que les probits pour le calcul de la DL₅₀ au 9^{ème} jour

Dose	LogDose	Mort.Obs	Mort.corr	Probits
Témoin	0	4,17	0	-
Dose1	4,41	29,17	25,01	4,33
Dose2	5,41	83,33	79,20	5,82
Dose3	6,41	100	95,87	6,73

La DL₅₀ calculée pour le traitement par ingestion avec *Metarhizium anisopliae* var *acridum*, au 9^{ème} jour, sur les imagos du criquet marocain est $7,8 \times 10^4$ spores (fig. 32)

$$Y=2x -0.2441$$

$$R^2= 0,7371$$

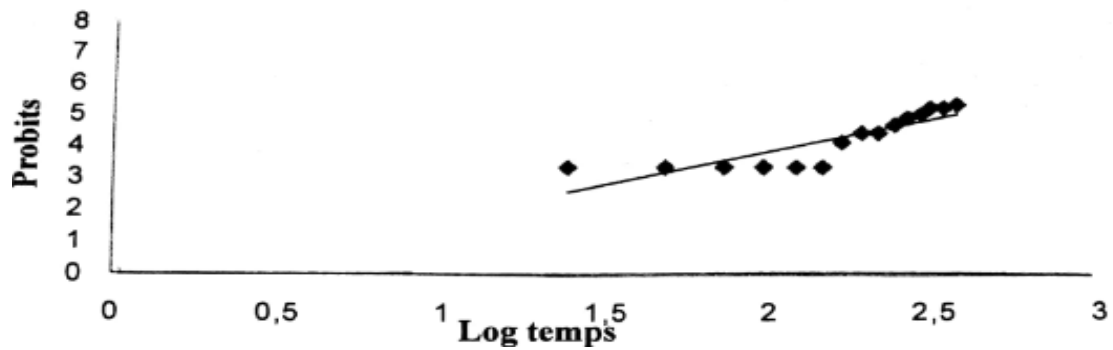


Fig32 : Droite de régression de la mortalité en probit en fonction des logs doses au neuvième jour pour le traitement par *Metarhizium anisopliae* var *acridum* par ingestion

4.6.6-Calcul de TL₅₀ pour Dose 1

La mortalité observée et corrigée ainsi que les probits pour le calcul de la TL₅₀ pour la dose 1 sont regroupés dans le tableau suivant

Tableau 24 : La mortalité observée et corrigée ainsi que les probits pour le calcul de la TL₅₀ pour la dose 1

Jour	Mortalités observées	Mortalités corrigées	Probits
1	4,17	4,17	3,27
2	4,17	4,17	3,27
3	4,17	4,17	3,27
4	4,17	4,17	3,27
5	8,33	4,17	3,26
6	8,33	4,17	3,26
7	20,83	16,67	4,03
8	29,17	25,01	4,33
9	29,17	25,01	4,33
10	37,50	33,35	4,57
11	45,83	41,68	4,79
12	54,17	45,85	4,9
13	62,50	54,21	5,11
14	62,50	54,21	5,11
15	66,67	58,38	5,12

La TL₅₀ calculée pour le traitement avec *Metarhizium anisopliae* var *acridum* par ingestion, pour la première dose sur les imagos du criquet marocain est de 418,84 h, soit 17,5 jour

4.6.7-Calcul de la TL₅₀pour dose 2

La mortalité observée et corrigé ainsi que les probits pour le calcul de la TL₅₀ pour la dose 2 sont regroupés dans le tableau suivant

Tableau 25 : Mortalité observées et corrigées et leurs probits de la dose D₂

Jour	Mortalités observées	Mortalités corrigées	Probits
1	0	0	-
2	0	0	-
3	0	0	-
4	4,17	4,17	3,27
5	4,17	0	-
6	4,17	0	-
7	12,50	8,83	3,61
8	41,67	37,52	4,68
9	83,33	79,20	5,81
10	95,83	91,70	6,38
11	95,83	91,70	6,38
12	95,83	87,57	6,22
13	95,83	87,57	6,22
14	100	91,74	6,4
15	100	91,74	6,4

La figure 33 : représente la droite de régression du logarithme en fonction de la mortalité en fonction de la mortalité en probit pour la deuxième dose.

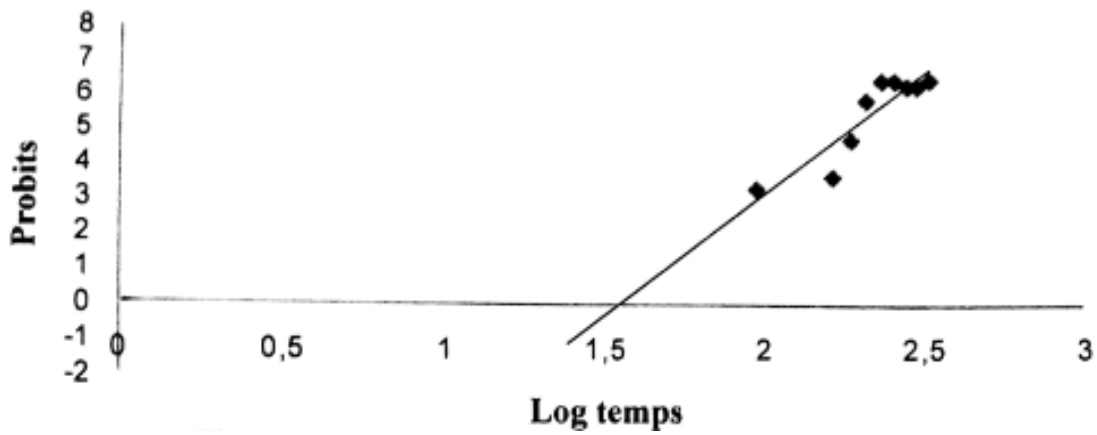


Fig 33 ; Droite de régression de la mortalité en probit en fonction du log temps pour la deuxième dose pour le traitement par *Metarhizium anisopliae* var *acridum* par ingestion

La TL₅₀ calculée pour le traitement avec *Metarhizium anisopliae* var *acridum* par ingestion, pour la deuxième dose sur les imagos du criquet marocain est de 189.77 h, 7.91 jour

4.6.8- Calcul de la TL₅₀pour dose 3

La mortalité observée et corrigé ainsi que les probits pour le calcul de la TL₅₀ pour la dose 3 sont regroupés dans le tableau suivant :

Tableau 26 : mortalité observées et corrigées et leurs probits de la dose 3

Jour	Mortalités observées	Mortalités corrigées	Probits
1	0	0	
2	0	0	
3	4,17	4,17	3,27
4	8,33	8,33	3,61
5	8,33	4,17	3,26
6	12,50	8,34	3,61
7	29,17	25,01	4,33
8	50	45,85	4,89
9	100	95,87	6,71
10	100	95,87	
11	100	95,87	
12	100	91,74	
13	100	91,74	
14	100	91,74	
15	100	91,74	

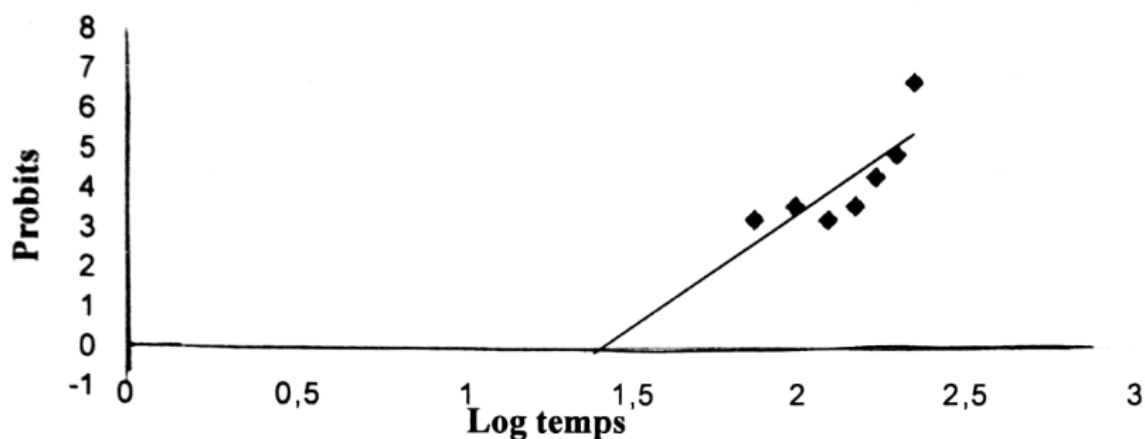


Fig34 : Droite de régression de la mortalité en probit en fonction des logs temp pour la troisième dose pour le traitement par *Metarhizium anisopliae* var *acridum* par ingestion

4.6.9-Analyse de la variance (ANOVA) pour le traitement par ingestion

Les résultats de l’analyse de la variance sont consignés dans le tableau suivant :

Tableau27 : évaluation de la valeur de l’information apportée par les varialbe ($H_0=Y=MOY$ (Y)

source	ddl	Somme de carrés	Carrés moyen	F de fisher	Pr > F
Modèle	17	4099,833	241,167	9,013	< 0,0001
Résidus	42	1123,767	26,756		
Totale	59	5223,600			

Le tableau montre qu’il y’a une différence très hautement significative, c’est –à-dire que la mortalité est d’autant plus élevée que la dose est importante. (F,9,013, ddl,59 ; Pr) < 0,0001

4.6.10- Test de Newman-keuls

Les résultats du Test de Newman-keuls sont consignés dans le tableau suivant

Tableau28 : classement et regroupement des groupes non significativement différents

Modalités	Moyenne	Regroupement	
J15	16,500	A	
J14	16,250	A	
J13	16 ,000	A	
J12	15,500	A	
J11	14,750	A	
J10	14 ,250	A	
J9	13,000	A	
J8	7,500		B
J7	4,000		B
J6	1,750		B
J5	1,500		B
J4	1,000		B
J3	0,500		B
J2	0,250		B
J1	0,250		B

Deux groupes apparaissent, l’un renferme les jours 1 à 8 où la mortalité est faible à moyenne et l’autre du 8 au 15 où la mortalité est moins importante

4.6.11- Analyse des différences entre les groupes

Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance de 95% sont consigné dans le tableau suivant :

Tableau 29:Analyse des différences entre les groupes avec un intervalle de confiance de 95%

Modalités	différence	Différence réduit	Valeur critique	Pr >diff	Significatif
D3 –T	12,000	6,353	2,675	0,0001	OUI
D3- D1	5,933	3,141	2,429	0,008	OUI
D3 -D2	1,267	0,671	2,018	0,506	NON
D2 –T	10,733	5,683	2,429	0,0001	OUI
D2- D1	4,667	2,471	2,018	0,018	OUI
D1- T	6,067	3,212	2,018	0,003	OUI

La comparaison deux à deux des doses et du témoin a donné des différences significatives exception faite de la D3 et D2 qui ne sont pas significativement différentes et nettement notées dans le tableau sous le groupe A.

Tableau 30 : classement et regroupements des doses non significativement différents

Modalités	Moyenne	Regroupement		
D3	13,000	A		
D2	11,733	A		
D1	7,067		B	
T	1,000			C

Discussion

DISCUSSION

Metarhizium anisopliae var *acridum* agit voie tégumentaire .la mortalité est donc due aux spores qui entrent en contact avec le tégument de l'appareil buccal de l'insecte (Hajeker St-Leger, 1994 ; Caudwell et Gatehouse , 1996; Tounou *et al.* 2008a). Blanford et Thomas (2001) ont enregistré une mortalité de 100% au 19^{ème} jour après traitement des adultes mâles de 14 jours avec une dose de 1×10^3 spores/insecte. De même , Hunt et Chaenely (2011) ont enregistré ce taux dans 10 jours en traitent des mâles adultes avec une dose de 7.5×10^4 ces résultats confirment l'efficacité de *Metarhizium acridum* contre les adultes de *Dociostaurus maroccanus* .en fonction de la dose ,la mortalité peut être de 100% .

l'efficacité est aigle et la mortalité débute aux premiers jours après traitement .Mais ceci varie selon le nombre de spores mises sur l'insecte .chez les insectes traités par la dose D3 (1.3×10^6 spores) ;ce taux est obtenu au bout de sept jour , tandis que chez les traités avec la deuxième dose 1.3×10^5 spores/insecte) celui-ci est obtenu dans dix jour. Enfin, pour la plus faible dose 1.3×10^4 spores/insecte), nous l'avons obtenu dans douze jour.la mortalité, donc, augmente avec le nombre de spores appliqués sur les insectes.

Le test de Newman-Keuls, effectué pour les doses, montre que les valeurs D₂ et D₃ appartiennent au même groupe A avec des mortalités enregistrées très importantes .la dose D₁ forme un groupe à part B avec des valeurs moins importantes et le témoin forme le troisième groupe C dont les valeurs sont très faibles. Le même test a été effectué sur les différents temps d'enregistrement des mortalités et les classe dans trois groupes homogènes.il montre une augmentation de la mortalité dans le temps. La mortalité est très basse dans deux premiers jours, mais elle commence à augmenter dès le troisième jour .Elle est importante au cinquième et sixième jour et s'élève au maximum au septième jour.

Blanford et Thomas (2001) et Hunt et Charnley (2011) ont utilisé de l'huile de grains du coton au lieu de l'eau distillée. Ce choix , de l'huile de grains du coton , est effectué en se basant sur les travaux de Bateman (1993) qui révèlent une efficacité de la suspension des spores de *Metarhizium acridum* a base de l'huile de grain du coton par apport à celle à base de l'eau .il a enregistré , au cinquième jour après traitement, une DL₅₀ de 8.9×10^3 spores/insecte pour la suspension huileuse contre une DL₅₀ supérieur à 10^6 pour la suspensions aqueuse .Fargues *et al.* (1997) confirment la différence de la toxicité entre les suspensions aqueuses .Vega *et al.* (2012) suggèrent que cette différence est peut être le résultat d'une diffusion plus large et une adhésion parfaite de l'huile avec la cuticule contrairement à la formulation aqueuse. cependant les formulation aqueuses restent moins chères (Paraiso *et al.*, 2008)dans notre travail. Nous avons utilisé des imagos jeunes au lieu des adultes de quatorze jours et plus.

Nous avons obtenu une DL_{50} (3.4×10^5 spores/insecte) Inférieure à celle calculée par Bateman (1993) Pour la suspension aqueuse .ceci montre une sensibilité au *Metarhizium acridum* plus intense chez les imagos n'est pas sclérosée contrairement à celle des adultes sexuellement matures. D'autre part, Tounou *et al.* (2008 b) ont testé trois doses sur les larves de cinquième stade dont la plus grande (1×10^4 spores /insecte). Est proche de la première dose utilisée dans notre travaille (1.3×10^4 spores/insecte). La TL_{50} calculé par les auteurs (12.3 ± 0.9 jours) est largement plus grande que celle que nous avons calculée pour la première dose (6.76 jour) .cela peut, en quelques sortes, montrer que les imagos sont plus sensible à ce champignon par apport aux larves du cinquième stade .selon Gillespie *et al.* (1998), la sclérose est éliminée pendant la mue imaginale. Peng et Xia (2014) ont testé de leur coté, une dose de 3.85×10^4 spores /insecte sur des larves de premier stade de *Dociostaurus maroccanus*. La TL_{50} obtenue par ces auteurs est de 5.6 jours contre 6.76 jours pour la dose de 1.3×10^4 étudiée dans notre travail. Selon chaouch (2009), les larves de quatrième stade sont plus sensibles au *Metarhizium acridum* par rapport aux ailés de *Dociostaurus maroccanus* .

Il a trouvé des TL_{50} de 4.46 jours et 4.17 jours en traitant les larves avec deux doses (4.7×10^4) spores/ ml et 4.7×10^5 spores/ml respectivement). Le traitement des ailés par cet auteur a donné des TL_{50} de 6.83 jours et 5.62 jours qui ne sont pas éloignées des nôtres. Ces travaux ; confirment nos résultats en ce qui concerne la toxicité de *Metarhizium acridum* envers les locustes. Le champignon testé est très efficace contre les locustes. Son efficacité diffère selon la dose, l'espèce de locuste et le stade du criquet. Les imagos sont très sensibles et sont même plus sensible que les L_5 .

La sensibilité des insectes diffère non seulement de la masse de l'individu, mais ainsi de la constitution de la cuticule en sclérose .selon Gillespie (1998), la sclérose est l'incorporation de petites molécules phénolique dans la structure cubulaire, ce qui cause une rigidité et une résistance de la dégradation du tégument par les enzymes du champignon. Quelque soit la dose , la mortalité de 100% des mâles et des femelles , survient respectivement au onzième jour et au douzième jour, ce qui peut être considéré comme identique .

Contrairement au traitement par contact, peu d'auteurs qui ont testé l'effet du *Metarhizium acridum* sur des locustes par voie orale. Le mode de traitent par ingestion avec ce champignon est hautement efficace. La courbe de mortalité enregistrée est différent de celle obtenue par apport au traitement, la mortalité dans les lots traités a été identique à celle enregistrée chez les lots témoins (< 13%). Au septième jour, celle-ci commence à augmenter rapidement pour atteindre les 100% au neuvième jour pour la troisième dose, et dépasser les 95% au dixième jour pour la deuxième dose. En effet le test de Newman-Keuls montre deux groupes pour ce qui est du temps de traitement : pendant les sept premiers jours, la mortalité

est très basse, elle est très élevée après le huitième jour. Le même test, appliqué aux doses, montre que les doses D2 et D3 sont les plus importantes et forment un seul groupe (A) dont l'efficacité est sensiblement identique. La dose D1 est peu importante et forme le deuxième groupe (B) et enfin le témoin qui forme le troisième groupe (C). Entz *et al.* (2008) ont testé l'effet du par *Metarhizium anisopliae* var *acridum* avec une dose d'environ 10^5 spores/insecte contre des larves de 3^{ème} et 4^{ème} stade.

L'inoculation a été effectuée par l'infection de petits morceaux de laitue par un nombre précis de spores pour chaque individu. Le taux de 100% a été obtenu dès le 8^{ème} jour. Le calcul de la TL_{50} a donné le résultat de 4.1 jour. Nous avons traité des imagos avec une dose de 2.6×10^5 spores/insecte (2^{ème} dose) et la mortalité n'a dépassé les 95% qu'au 10^{ème} jour, et la TL_{50} est de 7.91 jours. Ceci est expliqué par la sensibilité des larves par rapport aux adultes. L'efficacité du champignon au traitement par ingestion est liée à la masse de l'individu et au nombre de spores inoculées.

En traitement par contact, l'effet toxique du champignon commence dès les premiers jours après inoculation. Par contre au traitement par ingestion, l'entomopathogène, pense différemment. Selon Touou (2008a), la méthode des appâts est efficace contre les locustes, mais, son avantage, c'est qu'elle augmente le contact avec la cuticule de l'insecte en attirant les individus et en protégeant les spores, concentrées dans l'appât, des rayons biochimiques et physiologiques du tube digestif des criquets ne permettent au champignon de se développer à l'intérieur. Beaucoup d'autres auteurs sont d'accord avec cette hypothèse (Hajer et St-Leger, 1994 ; Caudwell et Gatehouse, 1996 ; Tounou, 2008a). Ils pensent que les taux élevés de mortalité enregistrés lors de l'ingestion des appâts sont dus au contact des spores contenus dans l'appât avec la cuticule de l'insecte.

Toutefois, les coupes histologiques faites infirment cette hypothèse. Le champignon entomopathogène cause des altérations intégrales au niveau des trois parties du tube digestif de *Dociostaurus maroccanus* pratiquement tous les tissus ont été infectés. Le champignon cause des ouvertures au niveau de la cuticule, une disjonction et une destruction de l'épithélium ainsi que des altérations du tissu conjonctif et troubles sérieux dans le tube digestif du criquet pèlerin et que l'origine de la mortalité enregistrée après traitement par ingestion est bien l'effet du développement du champignon dans l'intestin de l'insecte.

Conclusion générale

CONCLUSION

La présente étude consiste de tester l'effet de biopesticide d'origine fongique sur les imagos mâles et femelles du criquet marocain *Dociostaurus maroccanus* selon deux modes de traitement par contact et par ingestion.

Le traitement par contact a base du champignon, *Metarhizium anisoplea* var *acridum*, provoque un effet toxique qui commence dès les premiers jours de l'inoculation. Par contre le traitement par ingestion demande du temps pour que l'entomopathogène commence la destruction de l'insecte de l'intérieur car les conditions biochimiques et physiologiques du tube digestif des criquets ne permettent au champignon de se développer normalement à l'intérieur.

Les analyse microbiologiques du produit Green Muscle été effectué afin de s'assurer de la qualité hygiénique de ce dernier

L'absence du champignon *Metarhizium anisoplea* var *acridum* après les essais d'isolement à partir des cadavres et des fèces du *Dociostaurus maroccanus* inhibe notre expérience pour la comparaison entre les Green muscle et *Metarhizium anisopliae* var *acridum* isolé

Toutes les doses agissent dès le 2^{ème} jour mais causent de faible mortalités .Ce n'est qu'au 12^{ème} jour que la dose 1 provoque une mortalité de 100% tandis que les doses 2 et 3 provoquent cette mortalité respectivement au 10^{ème} et 7^{ème} jour. Si pour la dose 1, la mortalité est très faible, elle dépasse grandement 50% au 8^{ème} jour contrairement aux doses suite au traitement par contact au *Metarhizium anisoplea* var *acridum* sur les males et femelles de *D. maroccanus*

Les doses agissent 2 et 3 dès le 2^{ème} jour, bien qu'elles causent de faibles mortalités qui ne dépassent pas 16.7% contrairement à la dose 1 dont l'effet a lieu au 6^{ème} jour qui au 8^{ème} jour entraine une mortalité de 100% tandis que les doses 3 causent cette mortalité respectivement au 7^{ème} jours .Si pour la dose 1, la mortalité est très faible, elle dépasse grandement 50% au 8^{ème} jour. le pallier indique la mortalité de 100% d'individus mâles après traitement par contact, au contraire, , les femelles sont sensibles dès le 2^{ème} jour pour ce qui est la dose 1 alors que dans le témoin aucune mortalité n'a été enregistrée. Comme dans le cas précédent,

le champignon agit également dès le 2^{ème} jour et cause une mortalité de 100% aussi bien pour la dose 1 que pour la dose 2. La courbe montre une mortalité brusque de la mortalité dès le 7^{ème} pour les doses 2 et 3 tandis pour la dose 1. La mortalité augment progressivement pour atteindre 100% au 12^{ème} jour

La dose qui provoque une mortalité de 50% au 5^{ème} jour du traitement par contact est de 3.4×10^5 spores/insecte, ainsi que, pour le 9^{ème} jour est défini en 3.9×10^4 spores/insecte

Après la comparaison entre les TL₅₀ des trois doses, on trouve que la dose3 a un TL₅₀ de 89,12h, 3,71 jours inférieur de TL₅₀ de la dose 1 et dose 2 qui est de 162.18 h (6.76 jours) et 100 h(4.16 jour).

La mortalité de plus de 50% (54.2%) est atteinte au 12^{ème} jour pour la dose, tandis que pour les doses 2 et 3, elle est respectivement de 83.3% et 50% au 9^{ème} et au 8^{ème} jour .au 15^{ème} jour elle s'élève à 66.7% .en revanche elle atteint 100% pour la dose 3 au 9^{ème} jours et 14^{ème} pour la dose2.dans la traitement par ingestion

Le traitement par ingestion au *Metarhizium anisopliae* var *acridum* sur les femelles de criquet marocain montre une mortalité identique comme celle des mâles où celle-ci intervient au 4^{ème} jour notamment pour la dose 3. Cette mortalité s'intensifie dès le 7^{ème} jour pour la même dose .elle est 100% au 9^{ème} jour. Pour ce qui est de la dose 2, il n'y a aucun effet sur les criquets jusqu'au 9^{ème} jour où la mortalité a atteint 75%. Bien que la dose 1 n'a pas agi pendant les premiers jours où la mortalité était nulle, il n'en pas le cas dès le 12^{ème} jour où celle-ci était de 58.3% pour culminer à 100% au 15^{ème} jour, d'autre coté ,le traitement sur les males donne une mortalité dès le premier jour pour la première dose .cette mortalités a lieu au 3^{ème} et 4^{ème} jour respectivement pour les doses, 3 et 2 .il faut attendre le 11^{ème} jour pour que la dose 1 entraine une mortalité 50% qui n'évolue pas tandis que pour la dose 2, la mortalité survient au 8^{ème} jour .au contraire la dose 3 provoque une mortalité de 100% Au 9^{ème} jour.

Les TL₅₀ du traitement par ingestion est défini comme suit ; 418,84 h, soit 17,5 jour pour la dose 1 et 189.77 h, 7.91 jour, pour dose 2

Bibliographie

Référence bibliographique

ABBOT W.B., 1925 – A method for computing effectiveness of insecticides. *J. Econ.*

Ent., 19, pp: 265 – 267.

AMOURIQ L., 1973 – Rapports entomologo-cryptogamiques : Eléments sur la relation entre les insectes et champignons. Ed. Herman, Paris, 135 p.

Bateman R. P., Carey M., Moore D. et Prior C., 1993 _The enhanced infectivity of *Metarhizium Flavoviride* in oil formulation to desert locust at low humidities, *ann.Appl. Biol.*, N°122, pp : 145-152.

BENHALIMA T., 1983 – Etude expérimentale de la niche trophique de *Dociostaurus maroccanus* (Thunb, 1815) en phase solitaire au Maroc. Thèse Doc. Ing, Univ. Paris- Sud, 178 p.

BENFEKIH L., 1993 – Données préliminaires sur la bioécologie de la sauterelle marocaine *Dociostaurus maroccanus* (Thunb, 1815). (Ort, Gomph.) dans la région de Aïn Boucif (W. Médéa). Thèse Magister Scien. agro., Int. Nat. Agro., El Harrach, 129 p.

BIOCONTROLE, 2007- *Efforts internationaux de biocontrôle des sauteriaux et des criquets*. Dossier Biocontrôle, Montréal, Canada, n°10, pp.5-6

Bilans des campagnes nationales de lutte contre le criquet marocain, Int. Nat. Prot. Végé, d'El-Harrach –Alger, 2013; 25p

Bissaad, F.Z. ; Youcef, M. ; Bounacerur, F. et Doumandji-Mitiche, B. Activité biologique d'un biopesticide le Green Muscle sur le tégument du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria* (Forskål, 1775) (Orthoptera, Acrididae). *Nature & Technologie* 6 (2012) 51-58.

Blanford S. et Thomas M. B., 2001 _ Adult Survival, Maturation, and Reproduction of the desert infected with the Fungus *Metarhizium anisopliae var.acridum*, *journ . of invert, parhol.*, N°78,pp : 1-8

.Chaouch A., 2009_ *Etats phasaires de Dociostaurus maroccanus Thunberg,1815 (Acrididae,Gomphocerinae)* Effets de deux champignons entomopathogènes, *Beauveria bassiana* (Balsamo) et *Metarhizium anisopliae var. acridum* sur quelques paramètres biophysologiques. Thèse Mag., INA, El Harrach, pp : 181-190.

Caudwell R. W. et Gatehouse A. G., 1996_Formulation of grasshopper and locust entomopathogens in baits using starch extrusion technology. *Journ, of crop protection*. Vol. 15. N°1. Pp : 33-37.

CHARA B., 1995b – Polymorphisme phasaire chez les acridiens. Stage de formation de lutte antiacridienne. Ed. I.N.P.V-O.A.D.A., Alger, pp:1-4.

DOUMANDJI S. et DOUMANDJI-MITICHE B., 1994 – Criquets et sauterelles (Acridologie). Ed. Off. Publ. Univ., Alger, 99p.

Doumandi-Mitiche, B., Doumandji, S. et Benfkih, L., Données préliminaires sur la bioécologie de la sauterelle Marocaine *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg, 1815) à Ain Boucif (Médéa – Algérie). Med. Fac. Landbouww. Univ. Gent., 57/3a, 1992; pp 659-665.

Douro Kpindou, O.K. ; Gbongboui, C. ; Badou, R. ; Paa-Kwessi, E. ; Ackonor, J.B. et Langewald, J. Optimisation de l'application du *Metarhizium anisopliae* var. *acidum* sur le criquet puant, *Zonocerus variegates* (Orthoptera: Pyrgomorphidae). *International Journal of Tropical Insect Science* 25: 4 (2005) 251–258.

Ennemis naturels des criquets du Sahel. Ed. CIRAD /Prifas, n°8, Montpellier, 147 p.

Entz S. C., Kawchuk L. M. et Johnson D. I., 2008_ Discovery of a North American genetic variant of the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *anisopliae* pathogenic to grasshoppers, *Journ. Biocontrol*,N°53, pp: 327- 339.

ERRON P., FARGUES J. et RIBA G., 1991 – Des champignons agents de lutte microbiologique contre les ravageurs. Dost. Cell. Env. n°5, pp : 55 – 76

FAO, 2006_Towards a More Effective Response to desert Locusts and their impact on Food Security, Livelihoods and Poverty . Multilateral Evaluation of the 2003-05

Desert Locust Campaign, Meeting doc.,FAO, 96 pp.

Fargues J., Ouedraogo A., Goettel M. S. et Lomer C. J., 1997_effectes of temperature, humidity, and inoculation method on susceptibility of schistocerca gregaria to *Metarhizium flavoviride*, Ed. Biocontrol Sci. and Tech., Vom. N°3 , pp : 345-356.

Fernandes E. K. K., Keyser C. A., Rangel D. E. N., Foster R. N., Roberts D. W., 2010_CRC medium : A novel dodine-free selective medium for isolating

Gillespie J. P., Bateman R. et Charnley A. K., 1998_Role of Cuticle-Degrading Proteases in the Virulence of *Metarhizium spp.* For the Desert Locust, *Schistocerca gregaria*,*Journ. Invert. Path.*, N°71, pp : 128-137.

GILLESPIE P.J., BURNETT C. and CHARNLEY K., 1999- The immune response of the desert locust *Schistocerca gregaria* during mycosis of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* var *acridum*. *Journal of Insect Physiology*, 46: 429–437.

GREATHEAD D.J., KOOYMAN C., LAUNOIS-LUONG M.H.et POPOV G.B., 1994 – Les ennemis naturels des criquets du Sahel. Ed. *CIRAD /Prifas*, n°8, Montpellier, 147p.

HEMOUR S., 2005 – Etude morphométrique et effet de deux champignons entomopathogènes *Beauveria bassiana* bals. et *Metarhizium anisopliae* (Deuteromycotina, Hyphomycetes) sur quelques paramètres physiologiques de *Schistocerca gregaria* (Forsk., 1775) (Cyrtacanthacridinae, Acrididae). *Mém. Ing. Agro., Inst. Nation. Agro., El Harrach*, 103 P

Hunt V. I., Charnley A. K., 2011_the inhibitory effect of the fungal toxin , destruxin A, on behavioural fever in the desert locust, *Journ, of the insect Physiology*, N°57. pp :1341-1346.

KOOYMAN C, 2007- *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*, la matière active du Green Muscle®, pp :11-13 cité par WADE V. : *Atelier international sur l'avenir des biopesticides dans la lutte contre le criquet pèlerin (Sénégal, 12-15 février 2007)*. Ed. *The orthopterist's society*, 32p.

KOUASSI M., 2001 – Les possibilités de lutte biologique : emphase sur le champignon entomopathogène *b. bassiana*. *sci. environ.*, vol. 2, n°2, pp : 1 – 8.

KOOYMAN C., AMMATI M., MOUMENE K., CHAOUCH A., et AHMED ZAID A., 2005 –Essai de GREEN MUSCLE® sur des nymphes du criquet pèlerin dans la Wilaya d'El Oued, Nord-Est Algérie. *Rapport FAO- TAC 715*, 23 p

LANGEWALD, 1999- *Green Muscle User Hand Book LUBILOSA (Lutte Biologique contre les Locustes et les Sauteriaux). Biological Locust and Grasshopper Control Project Ed. CABI, IITA, CILSS, GTZ, Cotonou, Benin, 13 pp.*

LATCHININSKY A.V., et LAUNOIS-LUONG M. H., 1992 – Le Criquet marocain, *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg, 1815), dans la partie orientale de son aire de distribution. Etude monographique relative à l'ex-URSS et aux pays proches. CIRAD-GERDAT-PRIFAS : Montpellier / VIZR : Saint-Pétersbourg, 270 p.

LOMER C., 1999- *Phase 3 final report. LUBILOSA (Lutte Biologique contre les Locustes et les Sauteriaux). Biological Locust and Grasshopper Control Project. Ed. CABI, IITA, Cotonou, Benin, 73p.*

Météo Algérie 2017.

Naranayasamy P., 2013-Biological management of disease of crops, *Progress in biological control series*, Vol. 2 : integration of Biological Contrôle Strategies with Crop Disease Managment systèmes, ed. springer, coimbatore (india), 364 p.

Ochieng s. a., hallberg E. et Hansson B. S., 1998- Fine structure and distribution of antennal sensilla of the desert locuste, (orthoptera : acrididae), *Rev. Cell Tissue Res.*, N°291, pp : 525-536

PAILLOT, 1933 – L'infection chez les insectes. Ed. Patissier, Paris, 471 p

Pasquier R. Contribution à l'étude du criquet marocain, *Dociostaurus maroccanus* (Thumb. 1815) en Afrique mineure. Ext. Bull. Soc. Hist. Nat. Afrique du Nord, 1934 ; pp 167-200

Paraiso A., Soussou A., Thomas-Odjo A. et Ogounchi G., 2008 _Evaluation de l'efficacité des spores de *metarhizium anisopliae var. acridum* dans une formulation aqueuse contre les sautereaux au Nord-Bénin, Bull. Rech. Agro. Du Bénin, N°62, pp : 14-23

Peng G. et Xia Y., 2014_ Epression of scorpion toxin LqhIT2 increases the virulence of *Metarhizium acridum* towards locusta migratoria manilensis, *Journ, indust .Microbiol, Biotechnol.*,N°41, pp : 1659-1666.

Thomas M. B., Read A. F., 2007_Can fungal biopesticides control malaria., Nat, Microbiol, Rev., N°5, pp : 377-383

Tounou A, K., Kooyman C., Douro-Kpindou O. K., Pochling H. M., 2008a-Combined field efficacy of *Paranosema Locustae* and *Metarhizium anisopliae* var. *acidum* for the control of sahelian grasshoppers , *Journ. Biocontrol*, N°53, pp :813-828.

Tounou A. K., Kooyman C., Douro-Kpindou O. K. et Poehling H. M., 2008b-Interaction between *Paranosema Locustae* and *Metarhizium anisopliae* var . *acidum*, two pathogens of the desert locust, *Schistocerca gregaria* under laboratory condition ,*Journ. Of invert. Path .*, N°97, pp : 203-210.

Vega F , E., et Kaya H, K., 2012- *Insect pathology* . Second edition, Ed, *Elsivier, London*, 490 p

ZIMMERMAN G., 1993 – The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* and its potential as a biocontrol agent. *Pest. Sci.*, n°37, pp: 375 – 379.

Annexes

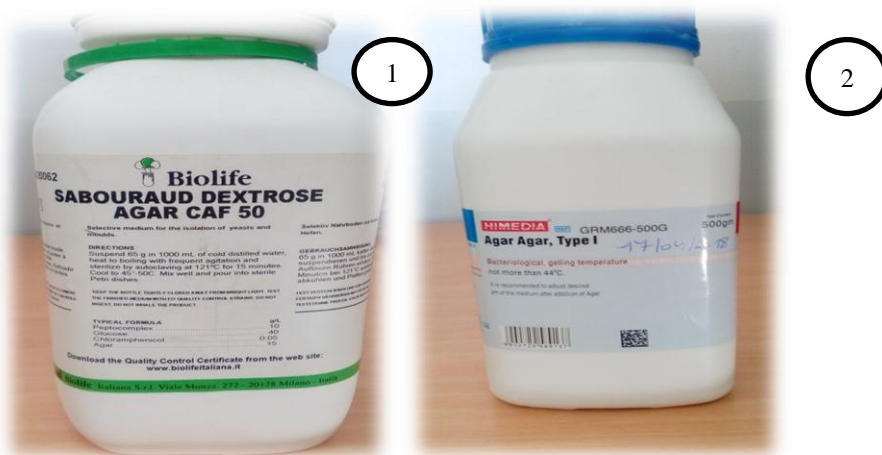
ANNEX I

Tableau : Composition des milieux utilisés en analyses microbiologique

Milieu	Composition	Principe
gélose sabouraud au chloramphénicol	Ingrédients en grammes par litre d'eau distillée ou déminéralisée. Peptone de caséine 5,00 Peptone de viande 5,00 Glucose monohydraté 40,00 Chloramphénicol 0,50 Agar 15 pH final à 25°C : 5,6 ± 0,2	gélose Sabouraud est un milieu d'utilisation générale, permettant la croissance et l'isolement d'une grande variété de levures et moisissures. L'addition de chloramphénicol inhibe la croissance des bactéries Gram positif et Gram négatif .
VF :Gélose Viande-Foie	Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée. Peptone viande-foie 30,00 Sulfite de sodium 2,50 Glucose 2,00 Citrate ferrique ammoniacal 0,50 Amidon soluble 2,00 Agar 11,00 pH final à 25°C : 7,6 ± 0,2	gélose Viande-Foie complète est recommandée pour la recherche et le dénombrement de spores de Clostridiasulfito-réducteurs dans les produits alimentaires.
Gélose PCA (gélose glucosé a l'extrait de levure ou Plate Count Agar)pour le dénombrement des GAMT	Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée. Peptone de caséine 5,00 Extrait de levure 2,50 Glucose 1,00 Agar 15,00 pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2	gélose PCA (Plate Count Agar) est un milieu recommandé pour le dénombrement standardisé des bactéries dans l'eau, les produits laitiers et les aliments.
Gélose O.G.A. (Oxytétracycline-Glucose-Yeast Extract Agar)	Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée. Milieu de base Extrait de levure 5,00 Glucose 20,00 Agar 12,00 Le milieu prêt à l'emploi en boîtes de Pétri contient en plus du milieu de base Oxytétracycline 0,10 pH final à 25°C : 7,0 ± 0,2	gélose Glucosée à l'Extrait de Levure et à l'Oxytétracycline (Oxytétracycline-Glucose-Agar) est recommandée pour le dénombrement des levures et moisissures dans le lait, les produits laitiers et les aliments.

<p>Gélose VRBG (Violet Red Bile Glucose Agar)</p>	<p>Ingrédients en grammes pour un litre d'eau distillée ou déminéralisée. Peptone 7,00 Chlorure de sodium 5,00 Extrait de levure 3,00 Rouge neutre 0,03 Sels biliaires 1,50 Cristal violet 0,002 Glucose 10,00 Agar 13,00 pH final à 25°C : 7,4 ± 0,2</p>	<p>gélose VRBG est recommandée pour la recherche et le dénombrement des coliformes dans les aliments</p>
<p>Green Muscle ®</p>	<p>produit naturel "bioinsecticide «</p>	
<p>Alun de fer Sulfite de sodium</p>	<p>alun de fer 5g Eau distillée 100 ml sulfite de sodium 5 g eau distillée 100 ml</p>	<p>Des Additifs de viande foie</p>
<p>Gélose Agar Agar</p>	<p>Bactériologique température de gélification pas plus de 44 c ° il est recommandé d'ajuster le pH désiré du milieu après addition de gélose</p>	
<p>TSE (tryptophane-sel-eau)</p>	<p>Tryptone 1 g Chlorure de sodium 8.5g Eau distillée 100 g Ph =7.2</p>	

ANNEX 2 : Matériels biologiques (photographie originale)





viande foie

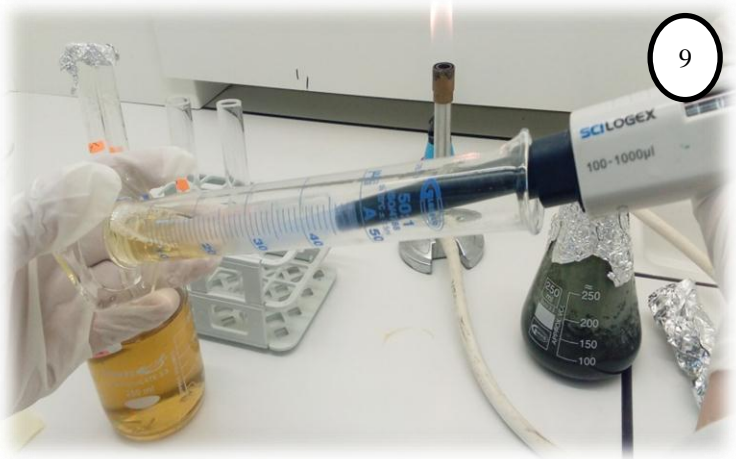
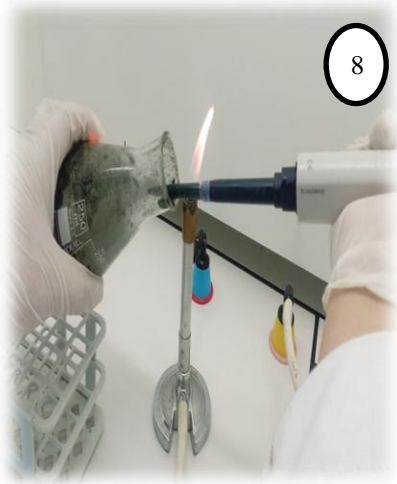
Biolife
MEAT LIVER SR AGAR

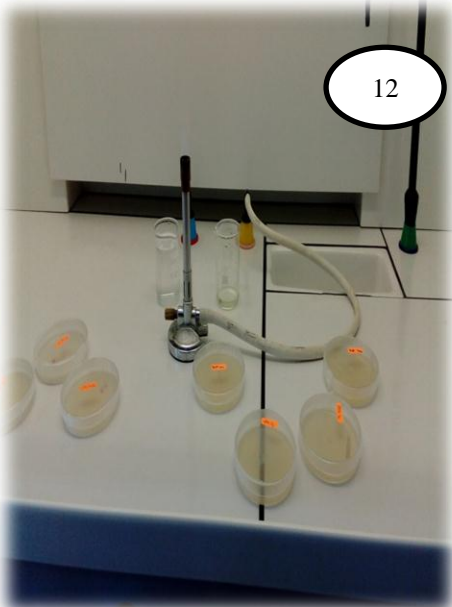
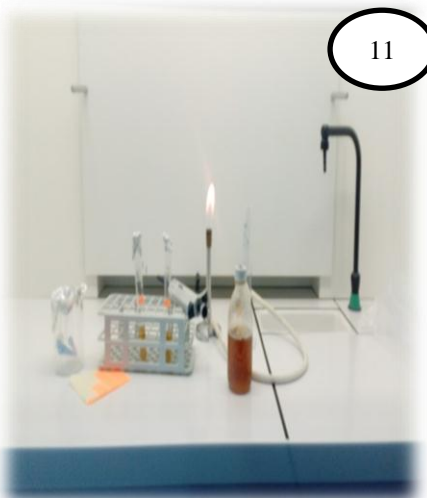
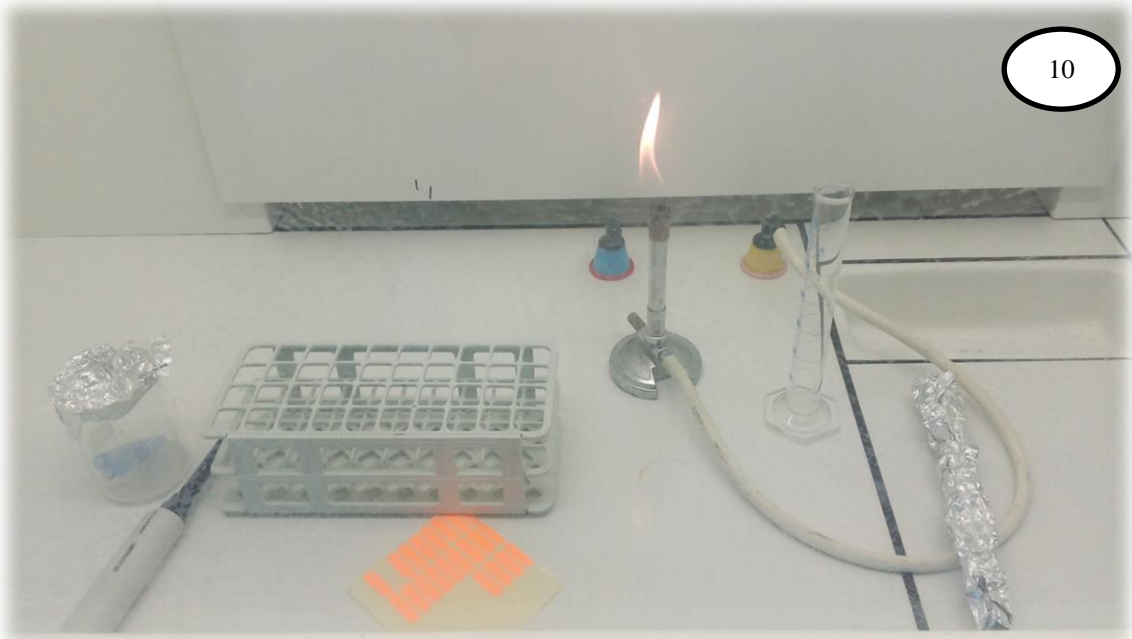
DIRECTIONS
Suspend 41g in 1000mL of cold distilled water, heat to boiling with agitation. Distribute and sterilize by autoclaving at 115°C for 20 minutes.

TYPICAL FORMULA

Meat Liver Fraction	35.0
Glucose	1.0
Sodium Sulphite	0.5
Fe ammonium Citrate	0.5
Starch	1.0
Agar	6.0

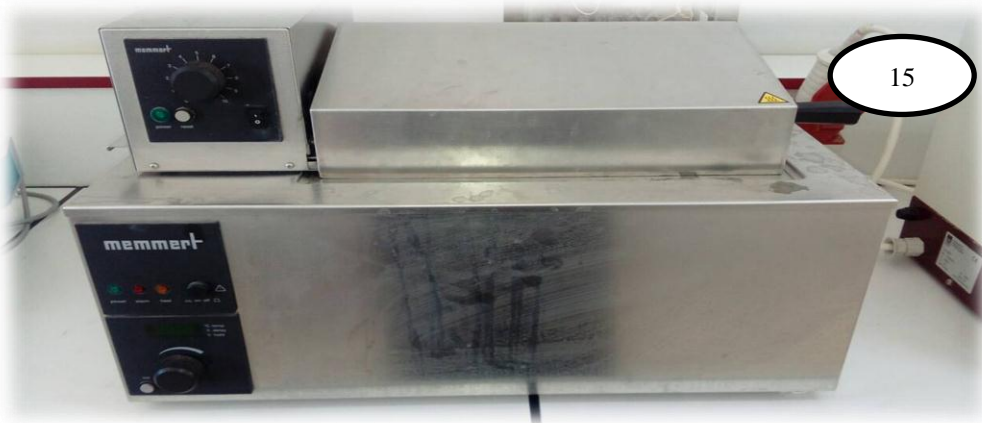
Download the Quality Control Certificate from the web site
www.biolifebrasil.com.br







14



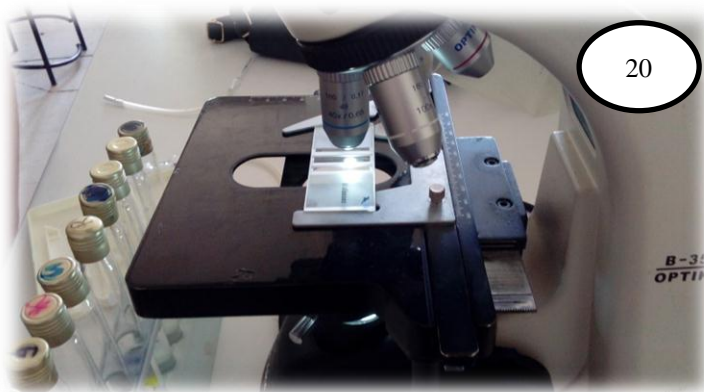
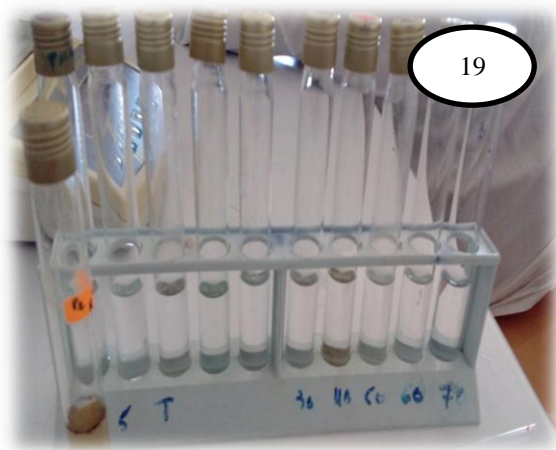
15



16



17





1	AGAR AGAR	13	Mortier et pilon (contiens des fèces de criquet marocain)
2	GELOSE DE SABAURAUX	14	Vortex
3	PDA préparé	15	Bain marie
4	Sabaoureux préparé	16	Microscope
5	Produit viande fois	17	Mortier et pilon
6	Etuve	18	Cellule de mallasez
7	Des boites pétries dans l'étuve	19	Des tubes a visé (contiens l'eau physiologique)
8	Préparation de solution	20	Cellule de mallasez sous microscope
9	Préparation des délutions	21	Préparation des spores
10	L'hôte chimique	22	Préparation de traitement
11	L'hôte chimique	23	Le criquet marocain après traitement
12	L'hôte chimique	24	Balance

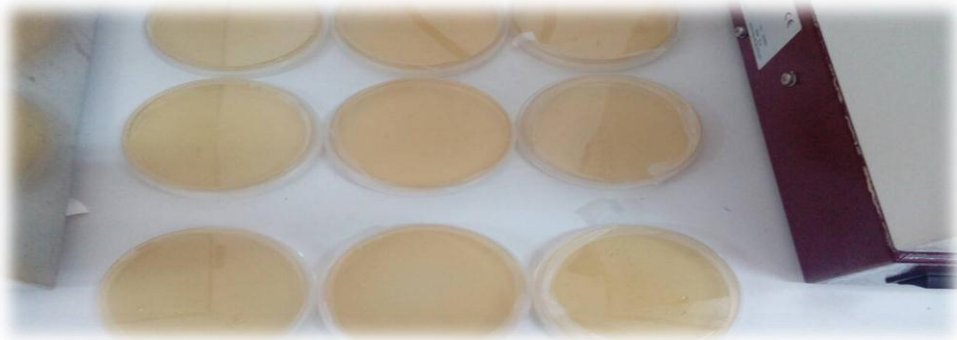


Fig25 : Resultat d'analyse des fèces et cadavre Du criquet marocain



Fig26 :résultat de recherche des germe sulfito-réducteur

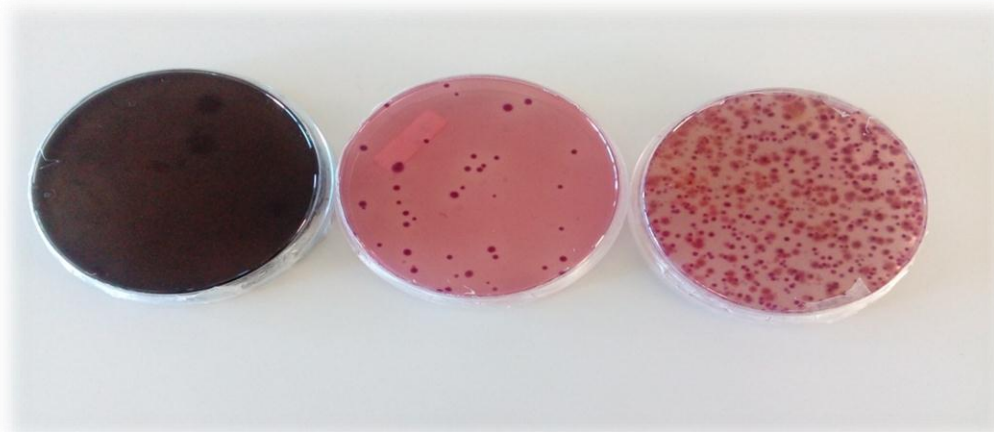


Fig 27: résultat de recherche et le dénombrement des coliformes totaux



Fig 28 :résultat de recherche et le dénombrement des coliformes totaux



Fig29: résultat de la recherche germe aérobie mésophile totale

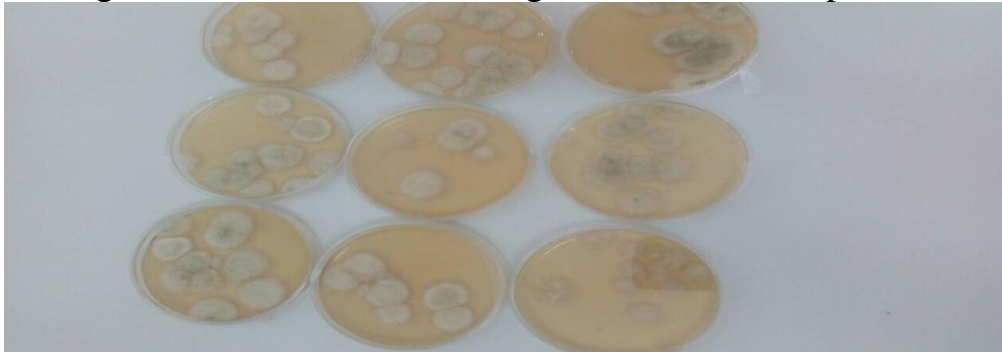


Fig 30: résultat de la recherche des levures et moisissures

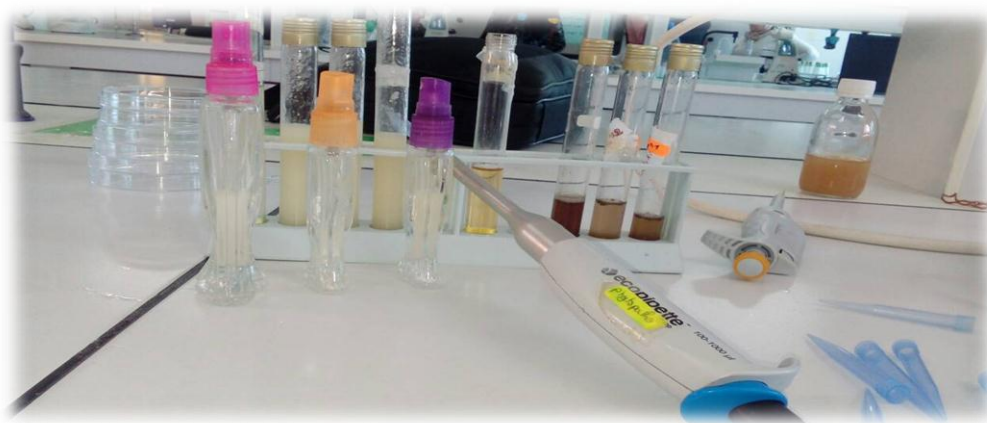


Fig31 : préparation des doses de traitement



Fig32 :Méthode de traitement du criquet marocain

Résumé

« Etude comparative de l'effet larvicide de *Metarhizium Anisopliae* var. *acidum* autochtone isolé à partir des excréments et des cadavres de *Dociostaurus maroccanus* et *Metarhizium anisopliae* VAR. *acidum* (GREEN. MUSCLE®) »

Lors de cette présente étude l'efficacité de produits biologique d'origine fongique contre les imagos de *Dociostaurus maroccanus* a été étudiée. Un contrôle microbiologique du produit GREEN. MUSCLE® a été effectué afin de s'assurer de la qualité hygiénique de ce dernier. Une souche appartenant à l'espèce *Metarhizium anisoplea* var. *acidum* a été isolée et purifiée à partir des cadavres et des fèces de *Dociostaurus maroccanus* récoltés de la région de Boughezoul.

Le champignon entomopathogène *Metarhizium anisopliae* var. *acidum* (GREEN. MUSCLE®) a montré une grande toxicité soit par la voie tégumentaire que par la voie orale.

En cas du traitement par contact, l'efficacité est aigüe et la mortalité atteint les 100% dans 7 jours. Par contre, au traitement par ingestion l'efficacité est chronique et la mortalité ne débute qu'au 7^{ème} jour et atteint les 100% au cours du 9^{ème} jour.

Mots clés: *Dociostaurus maroccanus*, analyses microbiologiques, cadavres, *Metarhizium anisopliae* var. *acidum*), GREEN. MUSCLE®, Toxicité.

الملخص

"دراسة مقارنة لتأثير اليرقات على *Metarhizium Anisopliae* var. *Acridum* الأصلي المعزول من الفضلات والجنث في *Dociostaurus maroccanus* و GREEN MUSCLE® VAR. *acidum* (GREEN MUSCLE®)"

في هذه الدراسة تم دراسة فعالية المنتجات البيولوجية من أصل فطري ضد يافعة *Dociostaurus maroccanus*. الفطريات الممرضة أظهرت (*Metarhizium anisopliae* var *Acridum* (GREEN MUSCLE®) سمية عالية إما عن طريق الطريق الإكلينيكي أو الطريق الفموي. تم تنفيذ تحليل ميكروبيولوجي على المنتج الأخضر (GREEN MUSCLE®). لضمان الجودة الصحية لهذه الأخيرة.

من ناحية أخرى تم محاولة عزل وتطهير *Metarhizium anisoplea* var *Acridum* من الجنث والبراز من *Dociostaurus maroccanus* التي تم جمعها من منطقة بوغزول في حالة العلاج بالاتصال، تكون الفعالية حادة ويصل معدل الوفيات إلى 100٪ في 7 أيام. من ناحية أخرى، أثناء العلاج، تكون الفعالية مزمنة ولا تبدأ الوفيات حتى اليوم السابع وتصل إلى 100٪ خلال اليوم التاسع

الكلمات المفتاحية: *Dociostaurus maroccanus*، التحاليل الميكروبيولوجية، الجنث، *var Acridum*، *Metarhizium anisoplea*®، سمية GREEN MUSCLE®.

Abstract

"Comparative study of the larvicidal effect of *Metarhizium Anisopliae* var. Native *acidum* isolated from the excrement and dead bodies of *Dociostaurus maroccanus* and *Metarhizium anisopliae* VAR. *acidum* (GREEN MUSCLE®)"

In this present study the efficacy of biological products of fungal origin against the imagos of *Dociostaurus maroccanus* was studied. Microbiological control of the GREEN product. MUSCLE® was performed to ensure the hygienic quality of the latter. A strain belonging to the species *Metarhizium anisopliae* var. *acidum* was isolated and purified from cadavers and feces of *Dociostaurus maroccanus* collected from the Boughezoul area.

The entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* var. *acidum* (GREEN MUSCLE®) showed high toxicity either by the integumentary route or by the oral route. In case of contact treatment, the effectiveness is acute and the mortality reaches 100% in 7 days. On the other hand, during ingestion treatment the efficacy is chronic and mortality does not begin until the 7th day and reaches 100% during the 9th day.

Key words: *Dociostaurus maroccanus*, microbiological analyzes, Cadavers, *Metarhizium anisopliae* var. *acidum*, GREEN. MUSCLE®, Toxicity