BioOne COMPLETE

Effet de deux entomopathogènes, Beauveria bassiana et Metarhizium flavoviride (Hyphomycètes, Deuteromycotina) sur l'hémogramme des larves de 5ème stade et des adultes de Locusta migratoria migratorioides (Orthoptera: Acrididae)

Authors: Halouane, F., Benzara, A., Doumandji-Mitiche, B., and Bouhacein, M.

Source: Journal of Orthoptera Research, 10(2) : 331-334

Published By: Orthopterists' Society

URL: https://doi.org/10.1665/1082-6467(2001)010[0331:EDDENB]2.0.CO;2

BioOne Complete (complete.BioOne.org) is a full-text database of 200 subscribed and open-access titles in the biological, ecological, and environmental sciences published by nonprofit societies, associations, museums, institutions, and presses.

Your use of this PDF, the BioOne Complete website, and all posted and associated content indicates your acceptance of BioOne's Terms of Use, available at www.bioone.org/terms-of-use.

Usage of BioOne Complete content is strictly limited to personal, educational, and non - commercial use. Commercial inquiries or rights and permissions requests should be directed to the individual publisher as copyright holder.

BioOne sees sustainable scholarly publishing as an inherently collaborative enterprise connecting authors, nonprofit publishers, academic institutions, research libraries, and research funders in the common goal of maximizing access to critical research.

Downloaded From: https://complete.bioone.org/journals/Journal-of-Orthoptera-Research on 29 Mar 2024
Terms of Use: https://complete.bioone.org/terms-of-use

Effet de deux entomopathogènes, *Beauveria bassiana* et *Metarhizium flavoviride* (Hyphomycètes, *Deuteromycotina)* sur l'hémogramme des larves de 5ème stade et des adultes de *Locusta migratoria migratorioides* (Orthoptera: Acrididae)

F.Halouane, A. Benzara, B. Doumandji-Mitiche et M. Bouhacein

(FH) Université de Boumerdes , Faculté des sciences , Département de biologie. Alégrie.
(AB, BD-M, MB) Dé partement de Zoologie agricole et forestière, Institut national agronomique, El-Harrach, Alger.
E-mail: doumandjimitiche@yahoo.fr

Résumé

Ce travail a porté sur l'utilisation de deux entomopathogènes, *Beauveria bassiana* et *Metarhizium flavoviride* sur le 5ème stade larvaire et les adultes de *Locusta migratoria*. Les individus du criquet migrateur proviennent de la région d'Adrar, oasis située à 1600 km au sud d'Alger. Les champignons entomopathogènes sont de provenances différentes: *B. bassiana* a été isolée à partir de cadavre d'adulte de *Schistocerca gregaria* échantillonné à Adrar en décembre 1996. *M. flavoviride* est une souche isolée à partir de *Locusta migratoria* originaire de Madagascar. L'inoculation s'est réalisée par injection de 25 ml de l'entomopathogène dont les doses sont de 6.60×10^2 spores / ml et 2.34×10^4 spores / ml respectivement sur les L5 et les adultes. Les frottis chez les témoins et les traités sont faits selon la méthode de GUZO et STOLTZ.

Une forte activité toxinogène des cytoparasites, *B. bassiana* et *M. flavoviride* dans le sang des L5 et des adultes de criquet migrateur a été détectée et qui se traduit essentiellement d'une part par des altérations structurales marquées des cellules sanguines et d'autre part par une diminution significative aussi bien dans le nombre total des hémocytes que dans le nombre des différentes catégories identifiées (prohémocytes, plasmatocytes et granulocytes).

Mots-clés

Champignons entomopathogènes, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium flavoviride*, *Locusta migratoria,* hémogramme

Introduction

La lutte microbiologique par les champignons est une approche interventionniste de la lutte biologique dont l'application contre les locustes a été le plus souvent reconnue. Cet aspect est devenu un concept mature et fonctionnel avec la mise en place des technologies de production et de formulation d'entomopathogènes. En effet, plusieurs espèces fongiques telles que *Beauveria bassiana* (Bals), *Metarhizium anisopliae* et *Metarhizium flavoviride* Gams et Rozsypal sont formulées en biopesticides. Ces agents microbiens peuvent être combinés à d'autres méthodes de lutte et avoir une action prolongée grâce à leur pathogénécité et les différentes perturbations qu'ils peuvent causer au cœur de la population-hôte.

Ce travail a porté essentiellement sur l'effet de deux entomopathogènes sur l'hémolymphe d'un acridien notamment sur les hémocytes du point de vue qualitatif et quantitatif, sachant que ces cellules hémocytaires ont des rôles différents: les prohémocytes représentent la cellule-souche de tous les hémocytes, les plasmatocytes ont un rôle dans la phagocytose donc dans la défense contre des agents pathogènes et les granulocytes interviennent dans le métabolisme intermédiaire.

Matériel et Méthodes

Insectes.— Les individus du criquet migrateur, *Locusta migratoria*, proviennent de la région d'Adrar, au Sahara algérien et ont été ramenés du terrain l'année même de leur expérimentation. Les larves et les adultes sont élevés dans des cages en bois à une température avoisinant 28± 1°C., une humidité relative de 70 à 80 % et une photopériode continue. Les larves du 5ème stade et les adultes expérimentés sont âgés d'environ 48 heures. L'alimentation fournie est constituée de graminées (*Avena sterilis*, *Hordeum murinum*, *Phalaris bulbosus* et *Penisetum purpureum*)et de feuilles de salade placées dans des récipients en verre à moitié remplis d'eau ainsi que du son de blé placé dans une boîte de Pétri. Pour chaque stade expérimenté (L5 et imagos) 5 individus ont été pris en considération ainsi que pour chaque type de traitement (*B. bassiana* et *M. flavoviride*). Le même nombre de répétitions a été retenu dans la série témoin. Ceci nous donne un total de 30 individus expérimentés.

Souches fongiques.— Les champignons *Beauveria bassiana* et *Metarhizium flavoviride* sont de provenances différentes: la première a été isolée à partir d'un individu adulte de *Schistocerca gregaria* échantillonné en décembre 1996 dans une oasis à Adrar au niveau d'un pivot d'irrigation de céréales, (Doumandji-Mitiche *et al.* 1997). La deuxième souche par contre provient du laboratoire Darmesdat en Allemagne dont un seul isolat a été effectué à partir d'un individu de criquet migrateur originaire de Madagascar.

Traitement.— Pour réaliser les traitements à partir de ces deux souches de champignons, celles-ci ont été multipliées et conservées sur un milieu nutritif P.D.A.(Potaotos Dextros Agar) au niveau de la mycothèque de l'Institut National

Downloaded From: https://complete.bioone.org/journals/Journal-of-Orthoptera-Research on 29 Mar 2024
Terms of Use: https://complete.bioone.org/terms-of-use

Agronomique d'El-Harrach (Alger). Les différentes concentrations des solutions entomopathogènes (eau distillée + entomopathogène + 1 goutte de Tween à 20% pour une libération maximale des spores) sont évaluées à l'aide d'une cellule hématimétrique, la cellule de Malassez. L'inoculation s'est réalisée par injection de 25 ml de l'inoculum à l'aide d'une microseringue au niveau du pronotum de l'insecte. Les doses retenues lors de notre essai sont de 6.60×10^2 spores / ml pour les larves et 2.34×10^4 spores / ml pour les adultes soit respectivement 16.5 spores injectées aux L5 et 585 spores injectées aux adultes.

Réalisation de frottis.— Le frottis a été fait selon la méthode de Guzo & Stoltz (1987), avec la coloration May-Grûnwalt - Giemsa. Une quantité de 4 µl d'hémolymphe fraîche a été prélevée de chaque individu puis étalée en couche mince sur une lame. Les différentes catégories des hémocytes ont été identifiées et comptées.

Résultats et Discussions

L'infection de l'hémolymphe des L5 et des adultes de *L. migratoria* par les deux entomopathogènes *B. bassiana* et *M. flavoviride* s'est traduite par une réaction cellulaire que nous avons appréciée sur le plan qualitatif et sur le plan quantitatif.

Cytologie qualitative.— Après l'examen microscopique avec la coloration May-Grûnwalt-Giemsa nous avons pu identifier trois types cellulaires chez les L5 et les adultes témoins du criquet migrateur à savoir:

- les prohémocytes ou cellules germinatives
- les plasmatocytes ou cellules phagocytaires
- les granulocytes ou cellules granulaires.

Selon les travaux de Wigglesworth (1972), Arnold (1974) et Raccaud-Schoeller (1980), le sang des orthoptères renferme 4 catégories d'hémocytes rencontrées également chez les autres ordres d'insectes à savoir: les prohémocytes, les plasmatocytes, les granulocytes et les coagulocytes.

Après traitement par les deux acridopathogènes *B. bassiana* et *M. flavoviride* on note la présence des mêmes cellules sanguines citées plus haut.

Cependant, une forte activité toxinogène des cytoparasites dans le sang de l'acridien a été détectée et se traduit essentiellement par des altérations structurales marquées, totalement absentes chez les individus témoins. Les hémocytes atteints sont généralement rétractés, un aspect dense et diffus caractérise les cellules lésées qui ont tendance à former des agrégats, leur contenu cytoplasmique est déversé dans le milieu extracellulaire. En parallèle, des amas de spores de champignons sont observés, leur nombre assez élevé pourrait être à l'origine de la mort des criquets par septicémie. Une mise en culture de l'hémolymphe des individus traités sur gélose nutritive a fait ressortir une forte prolifération des champignons utilisés, on pourrait donc considérer l'hémolymphe comme étant un bon milieu de culture pour les acridopathogènes. La mort des individus peut être également due à la libération des toxines par les spores des champignons.

Vey *et al.*(1986) ont signalé de fortes altérations structurales conséquentes à l'infection de *Lymantria dispar* et *Bombyx mori* par *Metarhizium anisopliae*. Ce même entomopathogène a été responsable de fortes lésions des cellules sanguines des L5 et des adultes de *Schistocerca. gregaria* selon Halouane (1997).

Cytologie quantitative.— Chez *Locusta migratoria*, la densité d'hémocytes est la même chez les deux sexes de même âge. Elle montre une légère régression du second au 5ème stade. Elle augmente brusquement après la mue imaginale pour atteindre un niveau double à triple de celui des larves (Webly 1951 in Duranton *et al.*1982).

Pour ce qui nous concerne, nous avons également enregistré une différence significative ($p<0.05$) du nombre d'hémocytes entre les L5 et les adultes de *L. migratoria* (Fig. 1a). En effet, nous avons compté 150.4 hémocytes chez les adultes contre seulement 82 chez les L5. De même, Halouane (1997) a noté un nombre d'hémocytes plus élevé chez les adultes (213.5) par rapport aux L5 (124.5) de *Schistocerca gregaria*.

Si on considère les catégories cellulaires, on constate que le traitement a sévèrement diminué le nombre des **prohémocytes** chez les L5 et chez les adultes (Fig.1b). Cette situation a déjà été mentionnée par Guzo & Stoltz (1987) et par Halouane (1997) chez *S. gregaria* traitée au *M. anisopliae*.

Quant aux **plasmatocytes**, (Fig.1c), ces cellules phagocytaires de premier degré ont significativement chuté de nombre aussi bien chez les L5 que chez les adultes. Cette chute est conséquente à l'épuisement de ces cellules suite à l'activité phagocytaire induite contre les spores et les toxines des deux entomopathogènes. Pour ce qui concerne la 3ème catégorie déterminée ou **granulocytes**, (Fig.1d) on constate que le traitement a provoqué un effet similaire à celui observé chez les prohémocytes. En effet, une diminution significative du point de vue du nombre est observée chez les L5 et les adultes. Chapman (1969) signale que les granulocytes viennent renforcer la défense contre les deux cryptogames menée essentiellement par les phagocytes qui, si n'accomplissant pas leur rôle, ne serait-ce qu'une fois, sont aussitôt remplacés. D'autres auteurs tels que Arnold (1974) et Raccaud-Schoeller (1980) affirment que les granulocytes ne peuvent phagocyter mais leur rôle se situe au niveau du métabolisme intermédiaire.

Conclusion

L'hémogramme et l'identification des hémocytes des L5 et des adultes de *L. migratoria* montrent l'existence de trois types cellulaires à savoir les prohémocytes, les plasmatocytes et les granulocytes. L'étude de l'effet de *B. bassiana* et de *M. flavoviride* sur l'hémogramme des larves de 5ème stade de *L. migratoria* au 3ème jour après traitement met en évidence des perturbations de la cytologie de l'hémolymphe de cet acridien de manière qualitative se traduisant essentiellement par des altérations structurales marquées. Quantitativement, le traitement a entraîné une diminution du nombre total d'hémocytes passant de 82 à 55.8 et à 40.8 chez les L5 traitées respectivement au *B. bassiana* et au *M. flavoviride*. Ce nombre, chez les adultes et avec les mêmes entomopathogènes, passe de 150.4 à 98.8 et à 89 hémocytes

Downloaded From: https://complete.bioone.org/journals/Journal-of-Orthoptera-Research on 29 Mar 2024
Terms of Use: https://complete.bioone.org/terms-of-use

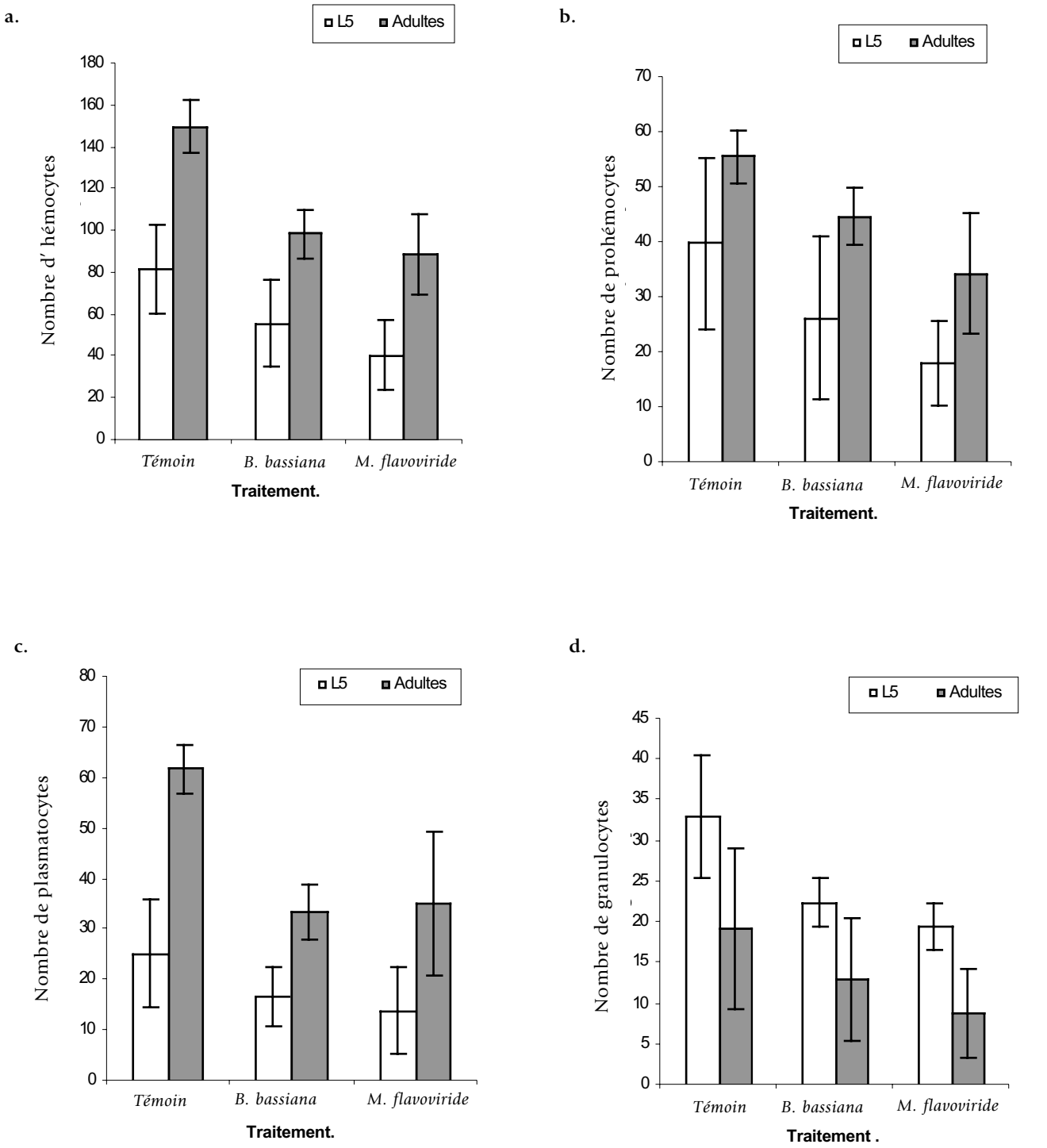


Fig. 1. Nombre moyen d'hémocytes (**a**), de prohémocytes (**b**), de plasmatocytes (**c**) et de granulocytes (**d**) chez les L5 et les adultes de *Locusta migratoria* au 3ème jour après traitement au *Beauveria bassiana* et au *Metarhizium flavoviride.*

Downloaded From: https://complete.bioone.org/journals/Journal-of-Orthoptera-Research on 29 Mar 2024
Terms of Use: https://complete.bioone.org/terms-of-use

après traitements. La fonction phagocytaire est sévèrement réduite.

Bibliographie

Arnold J.W. 1974. The hemocytes of insects. Pp. 201-214. In: Insect Physiology (Ed.) Academic Press., New York.

Chapman R.F. 1969. The Insects, Structure and Function. Eng. Univ. Press, London.

Doumandji-Mitiche B., Halouane F., Chahbar N., Agrane S., Merabti N., Seddik A., Doumandji S. 1997. Note sur la présence de l'entomopathogène *Beauveria bassiana (Hyphomycète, Deuteromycotina)* sur *Schistocerca gregaria (*Forskål, 1775 (*Orthoptera, Acrididae)* sur le terrain à Adrar (Algérie). Effet sur le rythme cardiaque et la respiration de cet acridien. Med. Fac. Landboww, Univ. Gent, 62 / 2b., Pp. 499-506.

Duranton J.P., Launois M., Launois-Luong M.H., Lecoq M. 1982. Manuel de prospection acridienne en zone tropicale sèche. (Ed.) CIRAD / PRIFAS, Départ. GERDAT, Paris, T.I, Pp. 695.

Guzo D., Stoltz D.B. 1987. Observations on cellular immunity and parasitism in the tussock moth. J. Insect. Physiol. 33: 19-31.

Halouane F. 1997. Cycle biologique de *Schistocerca gregaria* (Forskal 1775) et de *Locusta migratoria* (Linné 1758) (*Orthoptera, Acrididae)*. Efficacité de *Metarhizium anisopliae* (Metch.) (Hyphomycète, *Deuteromycotina*) et effet sur quelques paramètres physiologiques de *Schistocerca gregaria*. Thèse Magister Sci. Agro., Inst. Nat. Agro., El-Harrach, Pp. 235.

Raccaud-Schoeller J. 1980. Les insectes, physiologie et développement. (Ed.) Masson, Paris, Pp. 296.

Vey A.,Quiot J.M., Pais M. 1986. Toxémie d'origine fongique chez les invertébrés et ses conséquences cytotoxiques : étude sur l'infection à *Metarhizium anisopliae* (Hyphomycète, Moniliales) chez les Lépidoptères et les coléoptères. Soc. Biol. 180: 105 – 112.

Wigglesworth B., 1972. The Principles of Insect Physiology. (Ed.) Chapman and Hall, London, New York, 827 p.

Downloaded From: https://complete.bioone.org/journals/Journal-of-Orthoptera-Research on 29 Mar 2024
Terms of Use: https://complete.bioone.org/terms-of-use