

République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Larbi Tébessi -Tébessa-

Faculté des Sciences Exactes et des Sciences

de la Nature et de la Vie

Département de Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Intitulé

**Caractérisations biochimiques de quelque espèces
d'orthoptères dans la région de TEBESSA**

Présentée par :

Sekiou Sabrina

Baccouche Amel

Membre de jury :

Mme Bouguessa Linda	MCB	Présidente
Mme Amri Chirine	MCB	Examinatrice
M.Bouguessa Slim	MCB	Encadreur

Date de soutenance : 23 septembre 2020

Année universitaire : 2019-2020

Remerciements

Nous remercions DIEU tout puissant qui nous avoir donner la volonté et la patience pour réaliser ce modeste travail.

Nous exprimons aussi nous profondes gratitude et nous sincères reconnaissances à M. BOUGUESSA SLIM, d'avoir accepté à nous encadrer et aussi pour son aide, ces précieux orientations et surtout sa patience et gentillesse avec nous.

Nous vifs remerciements à Mme BOUGUESSA L. de nous avons fait l'honneur de présider notre jury et aussi pour ses conseils et ses encouragements.

Nous vifs remerciements à Mme AMRI S. de nous avons fait l'honneur aussi avoir accepté d'examiner notre travail.

Nous adressons nos remerciements aussi à Mme ZGHIB A. responsable pédagogique des laboratoires, pour son précieux aide à faciliter notre accès au laboratoire aussi pour ses conseils, ses éclaircissements, sa modestie et sa gentillesse

Nous remercions aussi Mme CKENIKHER k. Responsable de laboratoire de biologie ainsi à l'ingénieur du laboratoire de biochimie Mme SEBAHI A. d'avoir mis à notre disposition tout le nécessaire pour réaliser notre travail.

Dédicace

Je dédie ce travail à l'âme de ma mère et à mon cher père.

Aussi ma mon frère : HOSSIN et mes sœurs : NASSIMA et Wafa est ses enfants.

Je le dédie aussi à mon mari : FOUAD

Aussi a mes tantes : FADILA ET HIDA

A mes cousines : IKRAM, KAWTHER et ASSAI.

A ma belle-famille FARHAT et mon beau-frère : HOCINE

Sabrina

Dédicace

Je dédie ce travail à ma famille : à ma chère mère et ma sœur et ses enfants.

Aussi à toute personne qui m'a encouragé durant mon cursus universitaire spécialement à :

SAMIA, MONIA, JAHIDA, SHAFIA et AYA.

A mes petites sœurs qui ont été toujours là pour moi durant la période de la réalisation de ce travail :

HANINE, KHAWLA, AICHA, BOUTHAINA, SIHEM, KHAWLA et AYA.

Amel

Résumé :

L'hémolymphe des insectes notamment celle des orthoptères présente un grand intérêt pour la science, les études réalisées nous apportent multitudes informations et explications sur la biochimie et physiologie de ces insectes.

Dans ce cadre un dosage quantitatif des protéines de l'hémolymphe des orthoptères de la région de Tébessa a été réalisé par la méthode de BRADFORD (1976). Le but de notre travail est de savoir si le dosage quantitatif des protéines pourra expliquer les variations des concentrations entre les espèces collectées d'un part et entre les individus de la même espèce d'orthoptère.

Nos résultats illustrent les variations des concentrations protéiques des orthoptères ne peuvent être significatif : entre les individus des différents milieux vue l'influence de la nourriture sur les concentrations protéiques chez les insectes ainsi elles sont significatives entre les deux sexes matures d'insectes ; les femelles possèdent généralement des taux plus élevés et très variés par rapport les mâles

Tandis que le dosage quantitatif n'est pas significatif entre les espèces, seul le dosage qualitatif (électrophorèse sur gel d'acrylamide) par des profils protéiques qu'on peut caractériser les espèces et soit confirmé ou donné une nouvelle systématique des espèces d'insectes.

Mots clés : orthoptères, Tébessa, hémolymphe, protéines totales, dosage quantitatif, méthode de BRADFORD.

Abstract :

The haemolymph of insects, especially the orthopteran haemolymph, is of great interest to science. The studies carried out provide us with a wealth of information and explanations on the biochemistry and physiology of these insects.

In this context, a quantitative determination of the proteins of the orthopteran haemolymph in the Tébessa region was carried out using the BRADFORD method (1976). The aim of our work is to find out whether the quantitative determination of proteins can explain the variations in concentrations between the species collected on the one hand and between individuals of the same orthopteran species on the other.

Our results illustrate that the variations in protein concentrations in orthopterans cannot be significant: between individuals from different environments, given the influence of food on protein concentrations in insects, they are significant between the two mature sexes of insects; females generally have higher and very varied levels of protein in their diet, while males generally have higher and very varied levels of protein in their diet.

While the quantitative assay is not significant between species, only the quantitative assay (acrylamide gel electrophoresis) using protein profiles can characterise the species and be confirmed or give a new systematics of insect species.

Key words : orthopterans, Tébessa, haemolymph, total proteins, quantitative assay, BRADFORD method.

ملخص

دملف الحشرات، ولا سيما ذات مستقيمت الأجنحة، له مكانة كبيرة في العلوم البيولوجية، والدراسات التي أجريت تزودنا بثروة من المعلومات والتفسيرات حول الكيمياء الحيوية وعلم وظائف الأعضاء لهذه الحشرات.

في هذا السياق، تم إجراء اختبار كمي لبروتينات مستقيمت الأجنحة في منطقة تبسة بواسطة طريقة BRADFORD1976 الهدف من دراستنا هو معرفة ما إذا كان التحديد الكمي لبروتينات مستقيمت الأجنحة سيكون قادرًا على شرح الاختلافات في التركيزات بين الأنواع التي تم جمعها من ناحية وبين أفراد نفس النوع من ناحية أخرى. توضح نتائجنا أن الاختلافات في تركيزات البروتين لدى مستقيمت الأجنحة يمكن أن تكون بتأثير كبير إلا بين أفراد البيئات المختلفة وذلك لتأثير عامل الطعام على التراكم، كذلك الاختلاف واضح بين جنسين الحشرات، عموماً الإناث تمتلك تراكم أكبر من الذكور وذلك راجع لحصول عملية التكاثر عند الأنثى بينما التراكم يبقى في معدلات ثابتة بعد النضوج عند الذكور.

في حين أن الاختبار الكمي لبروتينات الدم لمف لا تعطي معلومات حول تصنيف الحشرات إلى أنواع مختلفة، وعليه يجب في هذه الحالة استعمال تقنية كهترهجير *électrophorèse* حيث يمكننا الفصل النوعي للبروتينات وتحديد خصائص كل نوع من أنواع مستقيمت الأجنحة وعليه يمكن الاعتماد عليها في تأكيد أو اقتراح تصنيف جديد للحشرات.

الكلمات المفتاحية: مستقيمت الأجنحة، تبسة، دملف، تراكم البروتينات، فحص كمي، طريقة BRADFORD

Liste des figures :

Figure	Titre	Page
01	Répartition des êtres vivants	06
02	Morphologie générale des orthoptères	07
03	Morphologie générale d'une Caelifère	09
04	Acridien ; <i>Tropidacris collaris</i> (Stoll, 1813)	11
05	Tetrigoidae	11
06	Tridactyloidae <i>Ellipes minuta</i> (Scudder, 1862)	11
07	Morphologie générale des Ensifères. Decticelle	12
08	Tettigoniidae, Conocephalidae	14
09	Gryllidae, <i>Nemobius sylvestris</i> (Bosc d'Antic, 1792)	14
10	Sténopelmatidae, <i>Stenopelmatus pictus</i> (Scudder, 1899)	14
11	Cycle de vie des orthoptères	15
12	Accouplement chez les Orthoptères	16
13	Spermatophore d'une sauterelle verte	16
14	La ponte chez les Orthoptères	17
15	Développement larvaire chez les criquets	18
16	Mue des orthoptères	19
17	Circulation de l'hémolymph	22
18	Variation du volume d'hémolymph au cours de la vie chez <i>Schistocerca gregaria</i>	23
19	Vue générale des hémocytes chez quelques espèces des orthoptères	24
20	Biosynthèse du tréhalose	25
21	Phagocytose d'un champignons par les hémocytes chez <i>L. migratoria</i>	32
22	Localisation de la wilaya de TEBESSA	36
23	Région de Bekkaria (milieu forestier)	38
24	Champ du blé (site agricole)	39
25	Site naturel	39
26	Filet a papillons	40
27	Boites et flacons de conservation	40
28	Orthoptères collectés	41
29	Micro-seringue 1ml	42
30	Tubes Eppendorf et portoire	42
31	Prélèvement de l'hémolymph	43
32	Préparation du réactif de BRADFORD	45
33	Dosage des protéines	47
34	Montage des plaques	49
35	Ecoulement du gel de concentration et de séparation	50
36	Dépôt des échantillons	51
37	Lancement de la migration	52
38	Gel après la migration	53
39	Identification des espèces collectées et détermination du sexe des orthoptères	54
40	Courbe d'étalonnage exprimant les absorbances à 595 nm en fonction des Concentration de BSA en µg/ml.	59

41	Présentation graphique des moyennes des concentrations protéiques des espèces collectées	62
42	Comparaisons des moyennes de concentrations des femelles et mâles	63
43	Comparaison des concentrations moyennes des femelles	64
44	Comparaison des concentrations moyennes des mâles	64
45	Présentation graphique de la comparaison des concentrations des espèces communes dans les 03 sites	65

Liste des tableaux :

TAB.	Titre	Page
01	Taux des cations chez des espèces d'orthoptères	25
02	Acides aminés chez les insectes	28
03	Les principales catégories des protéines de l'hémolymphe	30
04	Les produits chimiques et matériels utilisés pour le dosage quantitatif	80
05	Préparation des solutions pour la courbe d'étalonnage et échantillons	46
06	Produits chimiques et matériels utilisés pour l'électrophorèse SDS PAGE	80
07	Solutions préparées pour l'électrophorèse	81
08	Composition des gels (séparation et concentration)	49
09	Composition du tampon des échantillons	50
10	Composant du tampon de migration	51
11	Composition des solutions de coloration	52
12	Composant de la solution de décoloration	53
13	Outils utilisés pour l'identification	54
14	Photos des espèces collectées	82
15	Répartition des espèces par sites	58
16	Répartition des individus selon le sexe	58
17	Répartition des espèces selon le sexe	86
18	Concentrations de BSA en $\mu\text{g/ml}$ et les absorbances correspondantes	86
19	Résultats de d'absorbance et de concentration de différents échantillons du site : agricole	60
20	Résultats de d'absorbance et de concentration de différents échantillons du site : agricole	60
21	Résultats de d'absorbance et de concentration de différents échantillons du site : agricole	61
22	Analyse de la variance a un critère de comparaison (espèce)	84
23	Résultats du test de Student (mâle/femelle)	86
24	Résultats du test de Student	63
25	Analyse de la variance a un critère de comparaison (femelle)	87
26	Analyse de la variance a un critère de comparaison male	87
27	Analyse de la variance a deux critères de comparaison	88

Lexique



Arthropode : du grec *arthron* « articulation » et *podos* « pied », aussi appelés « articulés » — sont un embranchement d'animaux protostomiens dont le plan d'organisation est caractérisé par un corps segmenté



Corps gras : occupe une partie souvent importante de la cavité générale (ou hémocèle). Il est formé de masses irrégulières dont la distribution est variable selon les espèces mais assez reproductible à l'intérieur d'une espèce donnée. Sa fonction s'apparente à celle du foie chez les Vertébrés : c'est un organe de stockage.



Cuticule : c'est la partie la plus externe du système tégumentaire; elle recouvre toute la surface du corps d'insecte

Elytres : C'est l'une des deux ailes antérieures, durcies et cornées (partiellement ou totalement sclérifiées), qui recouvrent au repos les ailes postérieures de certains insectes.



Fémur : La première partie des pattes des insectes.



Graminivores : qui se nourrit principalement d'herbes graminoides, et plus particulièrement de graminées (plantes de la famille des *Poaceae*)



Imago: c'est un stade imaginal désigne le stade final d'un insecte dont le développement se déroule en plusieurs phases (en général œuf, larve, imago)



Lectines : sont des protéines qui se lient spécifiquement et de façon réversible à certains glucides. Elles interviennent dans divers processus biologiques, au niveau de la reconnaissance entre les cellules (par exemple lors de réponses immunitaires, d'infections).



Mélanisation : chez les insectes, un dépôt de mélanine se forme rapidement à l'endroit d'une blessure, ou au cours de réactions d'encapsulation.

Métamorphose : est une période qui correspond au passage d'une forme larvaire à une forme juvénile ou adulte. Elle se manifeste le plus souvent par d'importants changements (histologiques, physiologique, comportementaux)

Mue : c'est le renouvellement de la cuticule, l'enveloppe externe plus ou moins rigide et inextensible de l'insecte



Omnivores : espèces s'adopter a une alimentation « opportuniste », variable en fonction de la disponibilité des aliments

Oothèque : membrane rigide qui enveloppe la ponte de certains insectes.

Ovipare : un insecte qui pond des œufs et dont la croissance de l'embryon se déroule dans ce dernier.



P

Pronotum : Sur la face dorsale, on distingue seulement la tête avec des pièces buccales broyeuses

Ptérygote: sous classe d'insecte primitivement ailés a métamorphoses plus ou moins complètes



S

Sclérotinisation : est un procédé par lequel un arthropode obtient une cuticule rigide. c'est l'imprégnation des arthropodiens par des sels, chez les crustacés, où le tannage par les phénols entraîne le durcissement du tégument

Sinus : est une poche ou une cavité dans un organe ou un tissu, ou une cavité anormale ayant pour origine une destruction tissulaire

Spermatophore : est une capsule ou une masse créée par les mâles de nombreux animaux, invertébrés comme les arachnides ou les insectes, ou vertébrés comme les tritons, et qui contient des spermatozoïdes.

Stridulation : est le mécanisme principal de communication acoustique chez les insectes. Il permet d'émettre un signal sonore via l'utilisation de différentes structures.



T

Tagma : une région morphologiquement distincte et spécialisée dans des fonctions, région qui résulte du regroupement de segments (comme dans la tête d'un insecte soit par la jonction de segments articulés qui restent mobiles et indépendants (par exemple comme dans l'abdomen de la plupart des insectes).

Listes des Abréviations

A : Adulte

ANOVA : Analysis of variance

APS : Persulfate d'ammonium

BBC : Bleu brillant de Coomassie

BSA : Albumine de sérum bovin

BVP : plasmocyte vacuolé basophile

C° : Degrée Celsius

Ca⁺ : Calcium

CG : granulocyte coagulocyte

Cl⁻ : Chlore

Cm : Centimètre

DAG : diacylglycérol

E : Est

EDTA : Acide éthylène diamine-tétra-acétique

EG : granulocyte éosinophile

F : Femelle

G-6-P : Glucose 6 phosphate

G : Granulocyte

GH : granular hematocytes

H : Heure

HDLp : High density lipoprotein (lipoprotéine de haute densité)

HJ : Hormone juvénile

HP : plasmocyte homogène

K⁺ : Potassium

L : Larve

LDLp : Low density lipoprotein (lipoprotéine de basse densité)

M : Mâle

M.eq. : Milli équivalent

Min : Minute

Mg : Milligramme

Mg⁺ : Magnésium f

P : Plasmocyte

Pr : Prohémocyte

O : Oenocytoide

Table des matières

Résumé	i
Abstract	ii
ملخص	Iii
Liste des figures	Iv
Liste des tableaux	Vi
Lexique	Viii
Abréviations	Viii
Introduction	02
Partie théorique	
Chapitre I : Généralité sur les orthoptères	
I-Description générale des orthoptères	06
I-1- Morphologie générale	07
I-2-Position systématique et classification	08
I-2-1- Califères	08
I-2-2-Ensifères	12
II-Biologie des orthoptères	15
II-1-cycle de vie	15
II-2- Mode de déplacement	19
II-3-Habitat	20
Chapitre II : définition composition et rôle de l'hémolymphe	
I-Définition	22
II-Composition de l'hémolymphe	23
II-1-Hémocytes	23
II-2-Plasma	24
II-2-1- Composant inorganique	24
II-2-2- Composant organique	25
II-2-2-1-Glucides	25
II-2-2-2-Lipides	26
II-2-2-3- Acides aminées libres	27
II-2-2-4-Proteines	28
III-Rôle de l'hémolymphe	31
III-1- Transport	31
III-2- Défense immunitaire	31
III-3- Réparation	31
Partie pratique	
Chapitre I : Méthodologies de travail	
I-Présentation de la région d'étude	36
I-1-Situation géographique de la région d'étude	36
I-2-Présentation des sites d'échantillonnage	37
I-2-1- Région Bekkaria	37
I-2-2- Champ de blé	37

I-2-3- Site naturel	37
II- Travail sur le terrain	40
II-1- Outil d'échantillonnage et conservation	40
II-2- Technique de la collecte	41
III- Travail au laboratoire	42
III-1- Prélèvement de l'hémolymphe	42
III-1-1-Matériels	42
III-1-2-Technique du prélèvement	43
III-2- Dosage quantitatif et qualitatif des protéines de l'hémolymphe	44
III-2-1-Dosage quantitatif	44
III-2-1-1-Matériels et produits	44
III-2-1-2-Principe de la méthode	44
III-2-3-Préparation des solutions	45
III-2-4- Lecture des absorbances	46
III-2-2- Dosage qualitatif	48
III-2-2-1-Matériels et produits	48
III-2-2-2- Principe de la méthode	48
III-2-2-3-Protocole de la technique	48
IV-Identification morphologique des orthoptères	53
IV-1- Outils d'identification	53
IV-2 Méthode d'identification	54
V-Analyses statistiques	55
Chapitre II : Résultats et discussion	
I-Résultats	57
I-1- Présentation générale des espèces d'orthoptères dans la région d'étude	57
I-2- Détermination des concentrations des protéines totales de l'hémolymphe des orthoptères :	59
I-3- Caractérisations biochimiques des concentrations protéiques	62
I-3-1- Test du <i>facteur espèce</i> sur les concentrations protéiques	62
I-3-2- Test du <i>facteur sexe</i> sur les concentrations protéiques	62
I-3-3- Test du <i>facteur milieu</i> sur les concentrations protéiques	65
II-Discussion	66
II-1- variations des concentrations protéiques dans l'hémolymphe des orthoptères sous l'influence d'espèces	66
II-2-Variations des concentrations protéiques dans l'hémolymphe sous l'effet du sexe des orthoptères	66
II-3- Relation entre le milieu et les variations des concentrations protéiques des espèces	69
Conclusion et perspectives	72
Références bibliographiques	73
Annexes	77



Introduction

Introduction

L'hémolymphe ou sang des insectes notamment des orthoptères possède des propriétés qui ont attiré l'attention des biochimistes et physiologistes d'insecte. La recherche sur ce fluide a commencé par des enquêtes entre 1864 et 1915 par Landois qui a établi des propos généraux sur les propriétés de l'hémolymphe. Ses premiers travaux sont évalués par Schulz, à partir de 1925 par l'utilisation des méthodes quantitatives, principalement empruntés de l'analyse clinique du sang, est appliqué systématiquement sur l'hémolymphe des insectes. Il est devenu évident que l'hémolymphe d'insecte diffère profondément du sang humain et que ces méthodes développées pour ce dernier sont devenues inadéquates.

Timon-David Rapp , Wigglesworth et Buck et Chauvin ont réalisé les premiers travaux quantitatifs sur l'hémolymphe de ver à soie, ces études ont été compilées par Yamafuji qui a permis la découverte de plusieurs caractéristiques pas généralement reconnus ; il a démontré le rôle de l'oxygène dans le phénomène d'assombrissement, la présence d'amylase et de catalase, l'abondant magnésium et la prépondérance du potassium sur le sodium, et la présence des niveaux élevés de plusieurs acides organiques, et il a isolé cristallin tyrosine et leucine.....

Bito en 1927, a contribué aux premières analyses quantitatives sur l'hémolymphe de vers à soie et a montré des changements dans et les fractions inorganiques accompagnant le développement et la famine.

Ces dernières années, des nouvelles méthodes d'analyses ont accompagné les travaux sur l'hémolymphe est ont permis de révéler certain nombre de composant (parfois à concentration faible) ainsi a donné des connaissances quantitatives plus précises sur plusieurs constituants de l'hémolymphe parmi ces constituants « les protéines ».

Les protéines de l'hémolymphe des insectes ont une place importante dans les études biochimiques car leurs synthèses est sous la dépendance directe du génome, c'est-à-dire qu'elles varient en fonction des espèces. De plus, il existe une liaison directe entre le sexe génétique et la composition qualitative et quantitative en protéines de l'hémolymphe **(38)**.

Il peut être étudiée pour les raisons suivantes ;

- 🐛 Etablir une systématique liée aux protéines
- 🐛 Etudier les variations des protéines de l'hémolymphe en fonction de la physiologie de l'individu ; dont une partie dépendant du milieu extérieur : photopériode, thermo période.
- 🐛 Etablir des cartographies des profils protéiques chez diverses espèces **(16)**.

Introduction

- 🦗 L'étude des protéines de l'hémolymphe permettre de savoir aussi ; l'état physiologique par exemple, phase de différenciation, de mue, d'intermue, de maturation
- 🦗 Saisir l'influence interne des facteurs écologiques, tout au moins une partie de leurs effets en fonction des différentes positions des organismes par rapport à l'environnement, positions qui sont fondamentales en écologie, où l'on doit s'efforcer d'intégrer aussi bien l'état interne que le milieu externe (38).

Pour ces raisons nous sommes intéressés a réalisé ce travail qui consiste à effectuer un dosage qualitatif (par électrophorèse SDS PAGE) et quantitatif (par méthode de BEADFORD 1976) des protéines totales de l'hémolymphe des orthoptères collectés dans la région de TEBESSA dont l'objectif est de répondre aux questions suivantes :

- 🦗 Le dosage quantitatif des protéines totales est-il capable de refléter l'influence des différent facteurs (espèces, sexe, milieu) chez les orthoptères ?
- 🦗 Le dosage qualitatif de chaque espèce peut-il confirmer ou non la systématique morphologique ?

Le travail sera organisé autour d'un plan comportant les grandes parties suivantes :

- ✓ Une première partie représente la recherche bibliographique
- ✓ Une deuxième partie qui contient ; la méthodologie du travail, résultats et leurs discussions
- ✓ Enfin une conclusion et perspectives.



Partie théorique



Chapitre I :

Généralités sur les orthoptères

Généralités sur les orthoptères

Les êtres vivants sont différents, très variés et très nombreux ; les biologistes ont décrit près d'1,7 millions et ont estimé qu'il existe entre 13 et 14 millions d'êtres vivants (visibles) sur Terre (**Fig. 01**). Le plus grand nombre de ces créatures sont les insectes (**55**).

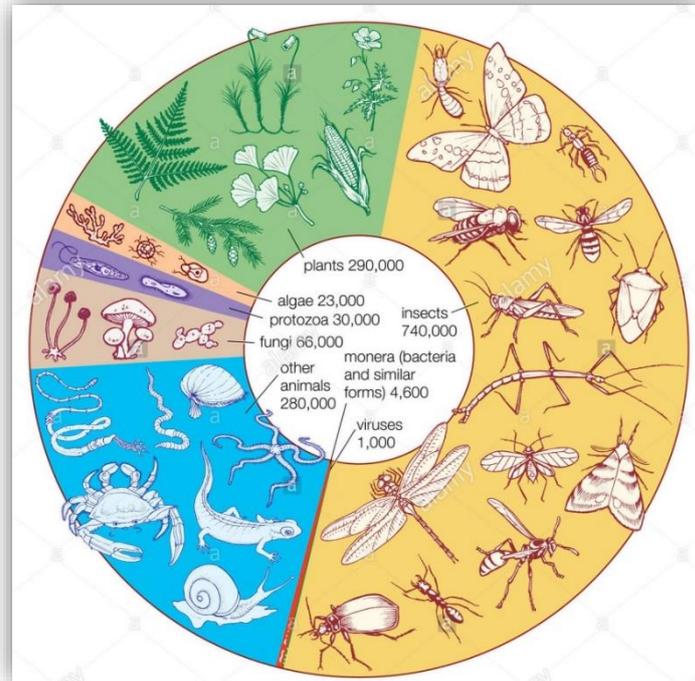


Fig.01: Répartition des êtres vivants (61).

Les insectes appartiennent à l'embranchement des **Arthropodes** ; ils constituent la classe la plus nombreuse du règne animal ; il y a environ plus d'un million d'espèces et chaque année ce nombre s'accroît de 6000 à 7000 espèces en moyenne (**06**).

I- Description générale des Orthoptères :

Le mot Orthoptère du grec **Orthoptera** se compose de deux mots (**ortho** : droit, **ptéron** : aile) (**05**).

Ils se reconnaissent facilement à leurs pattes postérieures très développées, ainsi une forte aptitude au saut ; caractéristique de cet ordre d'insectes. Suivant les espèces, leur taille varie beaucoup : entre 3 et 50 mm. Elles sont souvent ornées de couleurs parfois très variables, même entre les individus d'une même espèce (**12**).



Généralités sur les orthoptères

Ces insectes sont capables de produire des chants appelés **stridulations**, nécessaire à la rencontre des sexes. Ces sons rentrent également dans les critères d'identification des espèces (12).

I-1 Morphologie générale :

Le corps des Orthoptères se compose de trois parties ou tagmes (**Fig. :02**) qui sont de l'avant vers l'arrière : la tête, le thorax et l'abdomen.

🦗 **La tête** porte les principaux organes sensoriels :

- ✓ Les yeux composés, les ocelles ou yeux simples,
- ✓ Les antennes et les pièces buccales.

🦗 **Le thorax** est spécialisé dans la locomotion et le vol, il se subdivise en trois parties ;

- ✓ Le prothorax,
- ✓ Le mésothorax,
- ✓ Le métathorax.

Chaque segment thoracique porte une paire de patte dont la troisième est développée et adaptée au saut. Le 2ème et 3ème segments thoraciques portent respectivement les ailes antérieures ou élytres et les ailes postérieures ou ailes membraneuses

L'abdomen formé de plusieurs segments porte à son extrémité postérieure les pièces génitales externes mâles ou femelles permettant une reconnaissance facile des sexes (37).

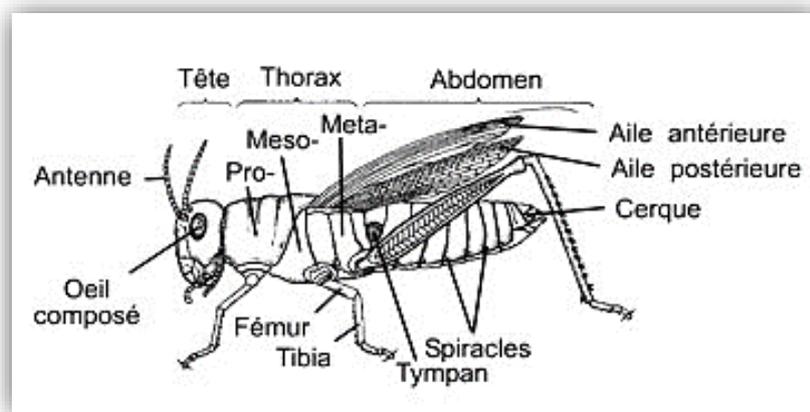


Fig. :02 : Morphologie générale des orthoptères (65).

Généralités sur les orthoptères

I-2 Position systématique et classification :

Selon **05** au sein de la classe des insectes ; les orthoptères sont les plus riches de tout le règne animal. Ils appartiennent à l'embranchement Arthropoda, au sous embranchement des antennates a la classe des ptérygotes et à l'ordre des Orthoptères.

L'ordre des orthoptères comprend deux sous- ordre : les **ensifères** et les **caelifères (05)**.

I-2-1 Caelifères ou Caelifera :

Les **caelifères** sont des insectes sauteurs qu'on retrouve un peu partout sur le globe. Ce sont des insectes diurnes généralement herbivores qui se nourrissent des feuilles des plantes, ce qui est désagréable pour les cultivateurs. Ils agissent comme des animaux à sang froid, et ont besoin de chaleur pour que leurs métabolismes soit actif (**60**).

Ils sont de taille variable 7 mm pour les plus petits, à 12 cm, avec une envergure alaire de 23 cm pour les plus grands.

En général, leurs caractères morphologiques sont (**Fig. :03**)

-  Des antennes courtes bien que multiarticulées,
-  Un **pronotum** et des élytres bien développés et ils présentent une grande diversité de taille, de forme et de couleur
-  Des Valves génitales des femelles robustes et courtes, chez le mâle, la plaque sous-génitale forme un capuchon (parfois pointu) recouvrant l'extrémité de l'abdomen
-  L'organe de **stridulation** du mâle est constitué par une crête du fémur postérieur frottant sur une **nervure** intercalaire des élytres.
-  Les **organes tympaniques** sont situés sur les côtés du premier segment abdominal.
-  Les œufs sont pondus en masse, enrobées ou surmontées de matière spumeuse, et enfouis dans le sol par la pénétration presque totale de l'abdomen, quelques espèces de forêts déposent leurs œufs sur les feuilles (**12**).



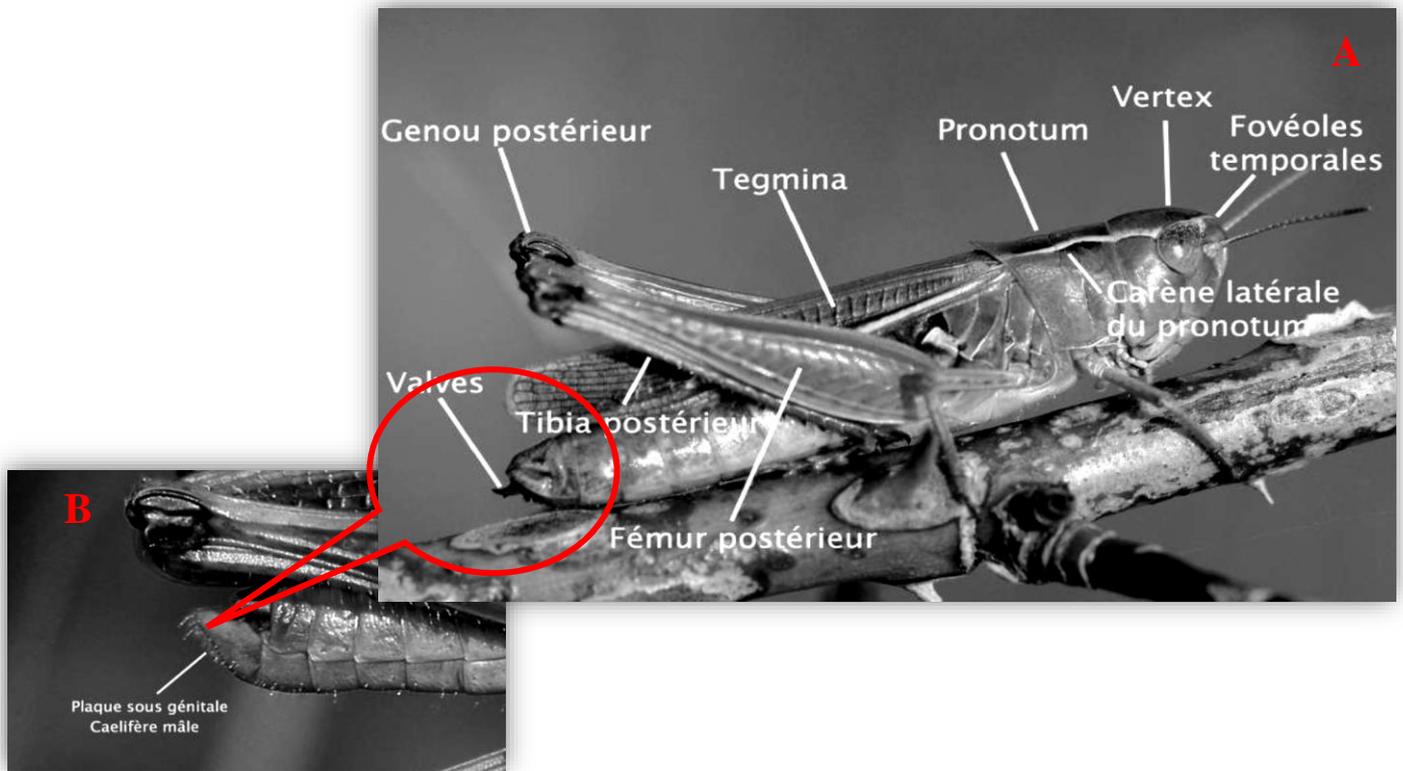


Fig. 03 : Morphologie générale d'une Caelifère (17).

A : Femelle, *Stenobothrus*

B : Mâle, *Stenobothrus*

Le sous-ordre des Caelifères est divisé en **trois familles** (21) :

Famille : Tridactyloidae (Fig. :06).

Famille : Tetrigoidae (Fig. :05).

Famille : Acridoidae (Fig. :04)



Caeliféra



Acrididae : Leurs tailles, formes et couleurs du corps sont très variables. Ils ont un pronotum court, élytres bien développés **(06)**



Tetrigoidae : De petite taille et de couleur sombre. Ils ont un pronotum prolongé en arrière, des élytres réduits et des petites écailles latérales **(06)**.



Tridactyloidae : De taille réduite, portent sur les tibias postérieurs des expansions tégumentaires en lames. Les fémurs postérieurs sont développés **(06)**.



Généralités sur les orthoptères

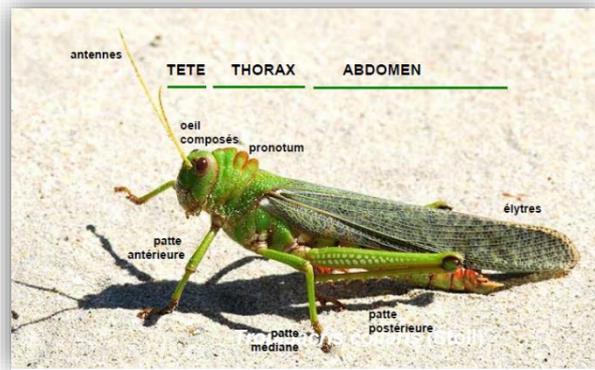


Fig. :04 : Représentant d'un Acridoidea ; *Tropidacris collaris* (Stoll, 1813) (30)



Fig. :05 : Représentant d'un Tetrigoidea (67)



Fig. :06 : Représentant d'un Tridactyloidea *Ellipes minuta* (Scudder, 1862) (62)



Généralités sur les orthoptères

I-2-2 Ensifères ou Ensifera :

Ce sont des insectes généralement herbivores pour les sauterelles, et omnivores pour les grillons, qui vont se nourrir d'insectes comme des pucerons, et d'invertébrés. Ils agissent comme des animaux à sang froid, et ils ont besoin de chaleur pour que leurs métabolismes puissent fonctionner normalement (59).

Selon 39 ; (Fig. :07) ils se caractérisent par :

- ☛ Des antennes longues et fines, exception faite des Gryllotalpidae,
- ☛ Des valves génitales des femelles bien développées et se présente comme un organe de ponte en forme de sabre,
- ☛ Un organe de stridulation du mâle occupe la face dorsale des élytres et l'émission sonore est produite par le frottement des deux élytres l'un contre l'autre,
- ☛ Des organes tympaniques pour la réception des sons sont situés sur la face interne des tibias des pattes antérieurs,
- ☛ Les œufs sont pondus isolément dans le sol ou à sa surface.

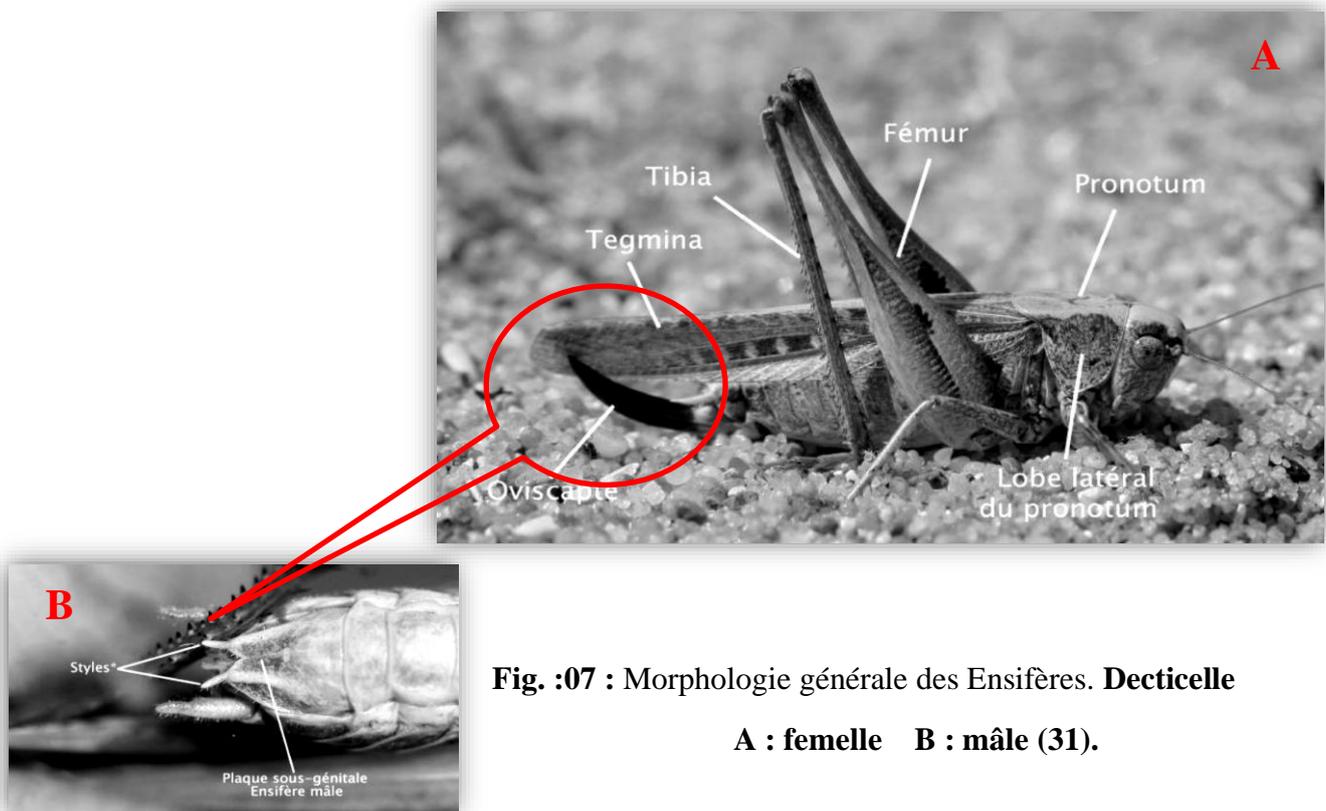


Fig. :07 : Morphologie générale des Ensifères. **Decticelle**

A : femelle B : mâle (31).



Généralités sur les orthoptères

Selon 14 ; le sous-ordre des Ensifères est constitué de trois familles :

Famille : Tettigoniidae (Fig. :08)

Famille : Gryllidae (Fig. :09)

Famille : Stenopelmatidae (Fig. :10)



Tettigoniidie : sont des sauterelles vertes, ont un corps en trois parties, tête, thorax et abdomen, ils ont six pattes, et quatre ailes. Leurs antennes qui sont en général plus longues que leur corps (54).



Gryllidie : Le grillon est noir et brillant, il a une grosse tête surmontée de deux antennes. C'est en frottant ses ailes l'une contre l'autre qu'il émet un son strident et répétitif surtout le soir et la nuit. Se nourrit des feuilles, des plantes et de produit de la boulangerie (54).



Sténopelmatidie: Elle est intermédiaire entre les Tettigonnidae et les gryllidae .Les antennes sont séparées à la base par la longueur du premier segment antennaire ou plus et les femelles postérieures ne s'étendent pas au-delà de l'extrémité de l'abdomen(06).



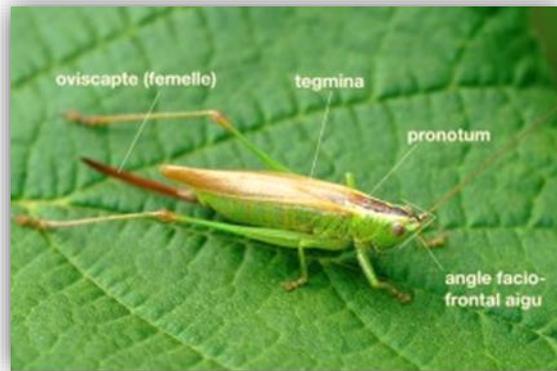


Fig. :08 : Représentant d'un Tettigoniidae, Conocephalidae (67)

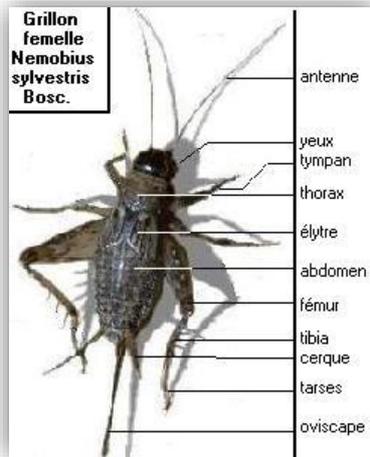


Fig. 09 : Représentant d'un Gryllidae, *Nemobius sylvestris* (Bosc d'Antic, 1792) (53)



Fig. : 10 : Sténopelmatidae, *Stenopelmatus pictus* (Scudder, 1899) (62)



Généralités sur les orthoptères

II- Biologie des orthoptères :

II-1 cycle de vie :

Tous les orthoptères sont ovipares et réalisent leurs cycles de vie en une année complète ; la plupart des individus sont matures seulement en été (37).

Leurs cycles de vie comprennent trois états biologiques successifs (Fig. :11) :

- 🐛 L'état embryonnaire : l'œuf,
- 🐛 L'état larvaire : larve,
- 🐛 L'état imaginal : l'ailé ou l'imago.

Il faut préciser que selon (25) le terme adulte désigne un individu sexuellement mûr.

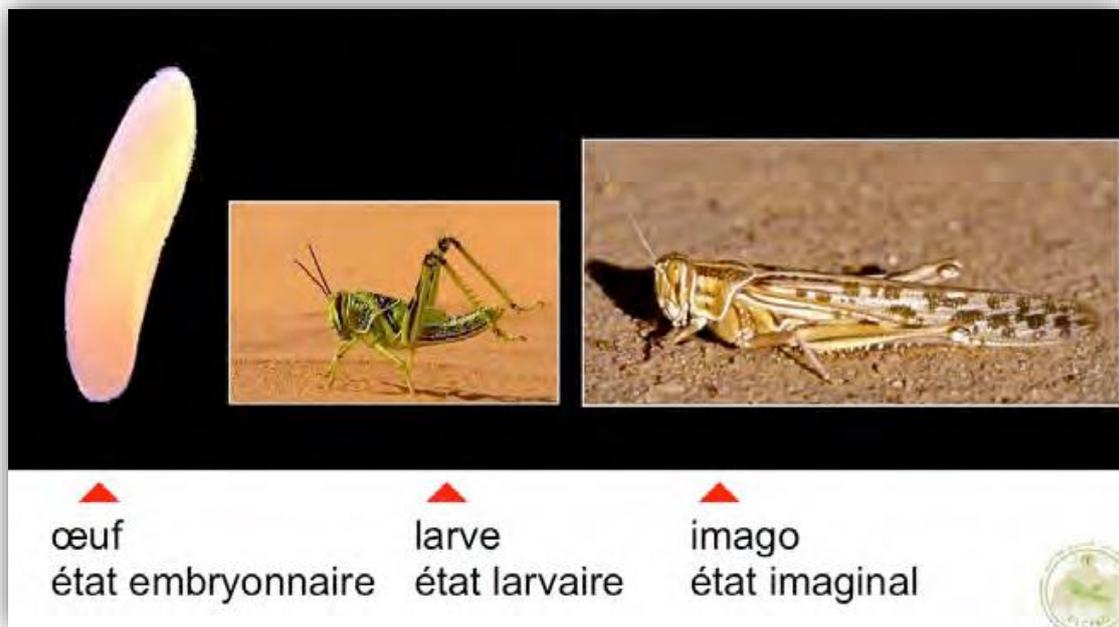


Fig.11 : Cycle de vie des orthoptères (32).

Pour l'accouplement, le mâle fabrique le spermatophore « sac à spermatozoïde ». Le spermatophore est muqueux plus ou moins volumineux. La femelle positionne verticalement tandis que le mâle devient au bout de l'abdomen de la femelle et va rabaisser le spermatophore, ce dernier reste fixé pour vider son contenu les spermatozoïdes dans les voies génitales de la femelle et ainsi la femelle est fécondée (Fig. :12). Cette opération a besoin plusieurs heures (05).





Fig. 12 : Accouplement chez les Orthoptères

A : Criquet pèlerin (Forskål, 1775) (32)

B : sauterelle verte (03)

Chez les grillons, le spermatophore est formé avant l'accouplement, alors que, chez les tettigonides, il l'est pendant l'acte sexuel. La partie essentielle du spermatophore est une petite vésicule qui contient les spermatozoïdes et se prolonge par un canal d'évacuation. Le spermatophore des criquets est peu volumineux, son fonctionnement semble très différent de celui des ensifères, puisqu'il reste fixé dans les voies génitales des deux partenaires durant la totalité de l'accouplement (**Fig. :13**) (25).

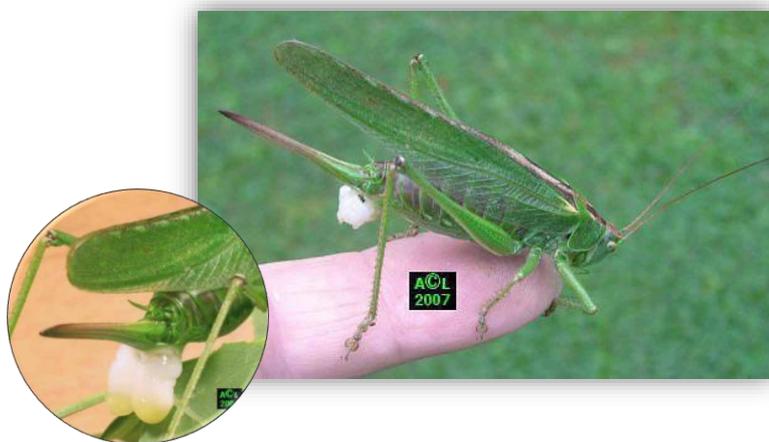


Fig.13 : Spermatophore d'une sauterelle verte (59)



Généralités sur les orthoptères

La ponte ; quelques jours après la fécondation ; sauterelles, criquets et grillons vont pondre des œufs dans le sol. Là encore, il existe des différences entre Ensifères (sauterelles et grillons) et les Caelifères (criquets) ; chez ces derniers les œufs sont pondus en enfonçant l'abdomen dans la terre et ils sont englobés dans une **oothèque** en forme de banane. Chez les sauterelles et les grillons, les œufs sont pondus un par un à différents endroits et ils sortent par l'oviscapte planté dans le sol (**Fig. :14**) (**64**).

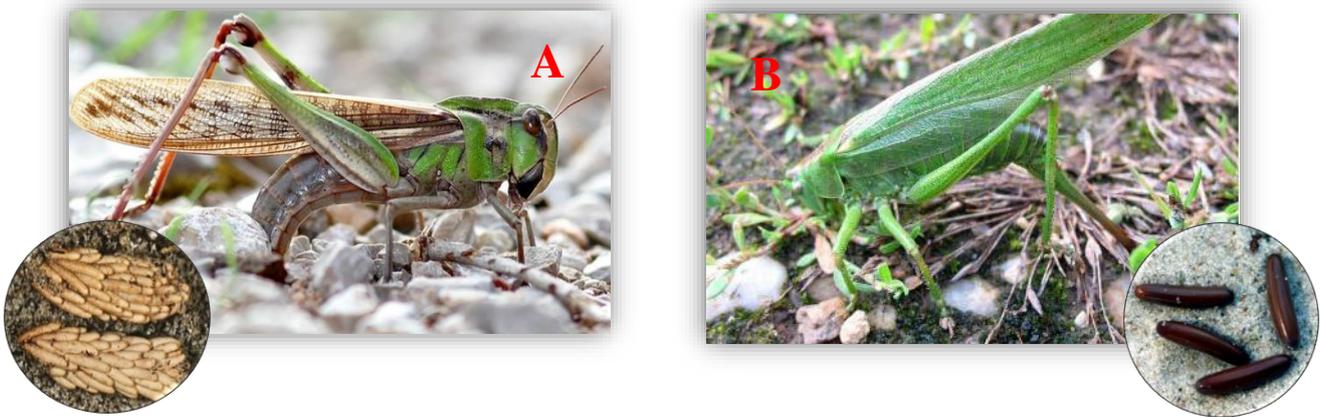


Fig.14 : La ponte chez les Orthoptères

A : chez les criquets (**61**)

B : chez les sauterelles vertes (**56**)

Les **éclosions** ont lieu généralement au lever du soleil ou durant les heures qui suivent l'aube. Toutes les larves d'une même oothèque éclosent dans un délai de 2 à 3 jours. La larve du premier stade quoique minuscule, ressemble déjà à l'insecte adulte dont il lui manque seulement les ailes (**Fig. :15**). La larve va passer d'un stade à un autre séparé par des mues. En général, il y a cinq stades larvaires mais ce nombre peut varier en fonction des espèces. La larve augmente de taille et double son poids (**21**).



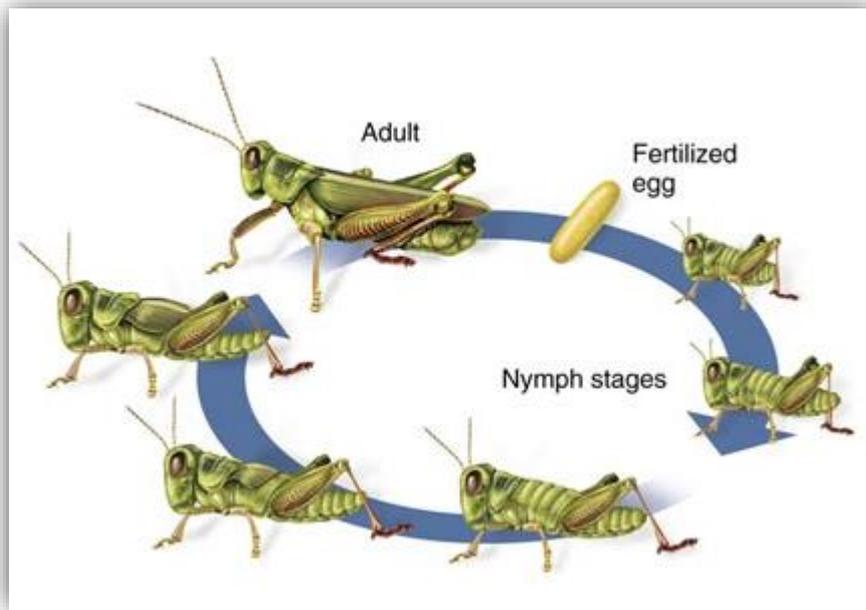


Fig.15 : Développement larvaire chez les criquets (64)

L'apparition de jeune imago dont les téguments sont mous surgit directement après la dernière mue larvaire (**Fig. :16**). Quelques jours après s'effectuera le durcissement cuticulaire (**06**).

La vie imaginale est consacrée à la recherche d'un biotope favorable et à l'alimentation ; mâles et femelles augmentent de poids dans des proportions notables, accumulant du corps gras, puis le poids des mâles se stabilisent alors que celui des femelles continuent à augmenter. Cette deuxième prise de poids est en rapport avec la maturation ovocytaire préparant la future première ponte, lorsque les ailés sont en période de reproduction, on parle d'adulte (**21**).

L'ensemble des trois états : œufs, larves et imagos correspond à une génération.

25 ; ont montré que le nombre de génération pour une même espèce peut être variable selon la région dans laquelle la population se développe en fonction des caractéristiques météorologiques annuelles.

D'après les mêmes auteurs, il existe des espèces qui ont besoin de deux années au moins pour effectuer un cycle particulièrement dans les régions froides et très arides.



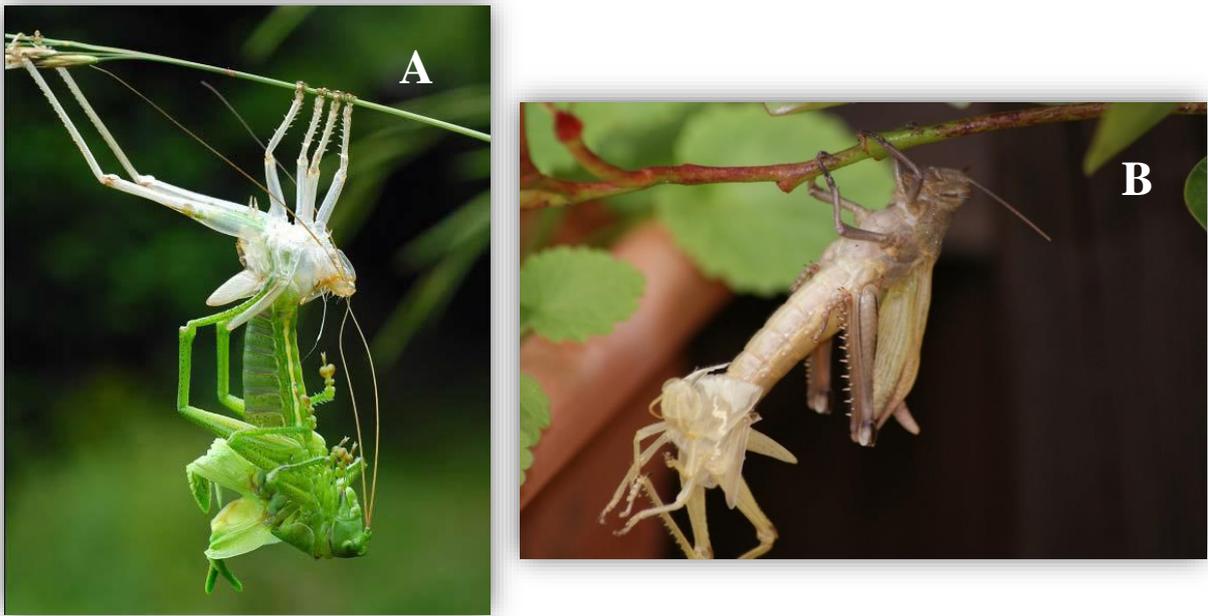


Fig.16 : Mue des orthoptères

A : chez les sauterelles (03)

B : chez les criquets *Criquet égyptien* (Linnaeus, 1764) (57).

II-2- Mode de déplacement :

Les orthoptères ont 6 pattes. Les pattes de derrière sont très longues, elles peuvent se replier et se détendre pour faire de grands bonds. Ils peuvent aussi voler, ils ont 2 paires d'ailes. Celles de devant (les tegmina) sont étroites et dures.

Au repos, elles protègent celles de derrière qui sont membraneuses et repliées dessous. Pour le vol, les tegmina s'écartent et les ailes de derrière se déploient comme des éventails. Parmi les criquets, certains ont de belles couleurs sur leurs ailes, qu'on ne voit qu'au dernier moment, lorsqu'ils s'envolent. Ce sont les oedipodes

Certains autres orthoptères n'ont pas d'ailes du tout, ou si petites qu'ils ne peuvent pas voler (55).



Généralités sur les orthoptères

II-3- Habitat :

Les orthoptères sont majoritairement des espèces des milieux ouverts, chauds et secs. La répartition géographique est conditionnée par la température et par les précipitations. Ces deux facteurs climatiques influent directement sur la végétation. A titre d'exemple une végétation desséchée limite la présence des orthoptères car ils préfèrent dans leurs alimentations en général des plantes fraîches **(10)**.





Chapitre II :

Définition, composition et rôle de l'hémolymphe

Définition, composition et rôle de l'hémolymphe

I-Définition :

Hémolymphe est un fluide qui joue le rôle du sang chez les insectes ; selon **51** il circule dans tout le corps et en contact avec tous les cellules et organes de l'insecte. Chez les **Criquets** ; Lorsque le corps se contracte, l'hémolymphe est pulsée dans le sinus péricardique, elle pénètre dans le vaisseau par les ostioles, ces contractions propulsent l'hémolymphe dans tout le corps de l'insecte (**Fig. :17**).

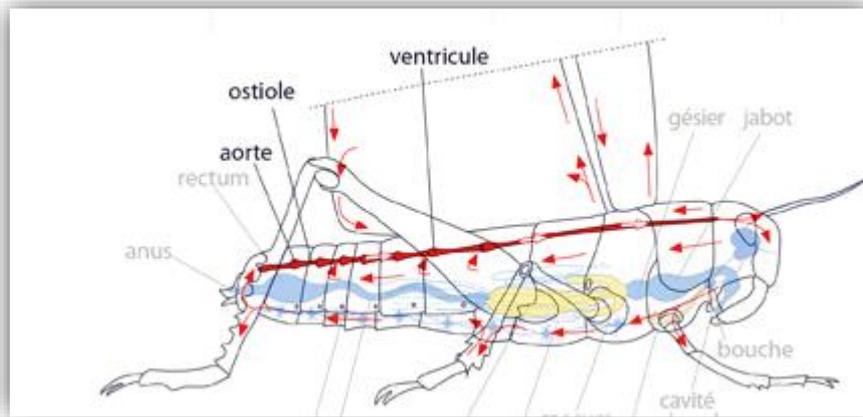


Fig.17 : Circulation de l'hémolymphe (**69**).

D'après **22** et **44**, l'hémolymphe n'est pas rouge et peut avoir plusieurs couleurs (jaune, brun, vert). Selon **42** ; l'hémolymphe est généralement blanchâtre, jaune ou verte chez les criquets.

Selon **49** le volume de l'hémolymphe est extrêmement variable ; il peut représenter plus de 50 % du poids total de l'acridien. Le rapport du volume de l'hémolymphe à l'unité de poids subit des variations cycliques régulières en fonction des mues larvaires ; il diminue durant les deux jours qui suivent la mue et augmente ensuite dans des proportions comparables d'un stade au suivant. Par contre, il diminue régulièrement pendant le début de la vie imaginaire (**fig. :18**).



Définition, composition et rôle de l'hémolymphe

49 & 42 ; ont précisé que :

- 🐛 La pression osmotique oscille entre 4 et 13 atmosphères.
- 🐛 La densité est supérieure à celle de l'eau : 1,02 à 1,03 g/ml
- 🐛 **pH** se varie de 6,0 à 7,5 chez les acridiens.

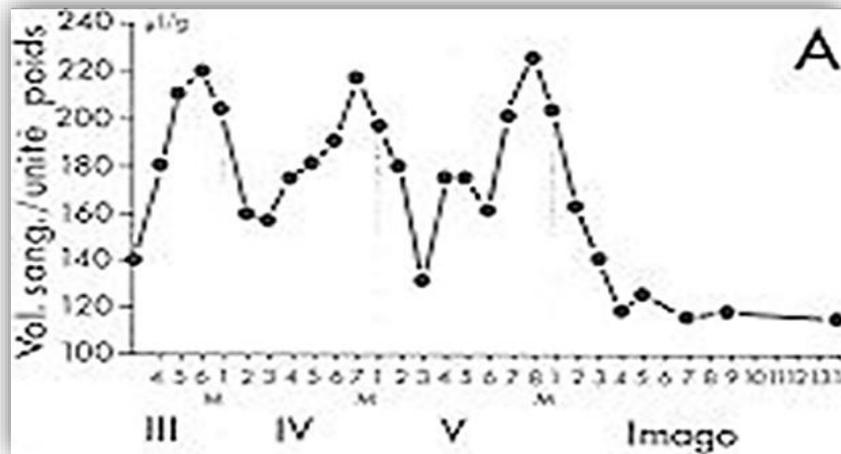


Fig.18 : Variation du volume d'hémolymphe au cours de la vie chez *Schistocerca gregaria*

En abscisse : l'âge en jours, M : mue, III-IV-V : stades larvaires.

En ordonnée : volume sanguin (hémolymphe) par unité de poids exprimé en l/g. (57)

II- Composition de l'hémolymphe :

L'hémolymphe des insectes, comprend le plasma et des hémocytes.

II-1-Les hémocytes :

D'après 42 ; les hémocytes sont des cellules nucléées leurs densités varient de 7000 à 20000 cellules par mm^3 de plasma, ils interviennent essentiellement dans la réponse immunitaire, 52 ont pu identifier 04 types d'hémocytes chez *L. migratoria* se sont : les **granulocytes**, les **plasmatoctes**, les **prohémocytes** et **œnocytoïdes** (fig. :19).



Définition, composition et rôle de l'hémolymphe

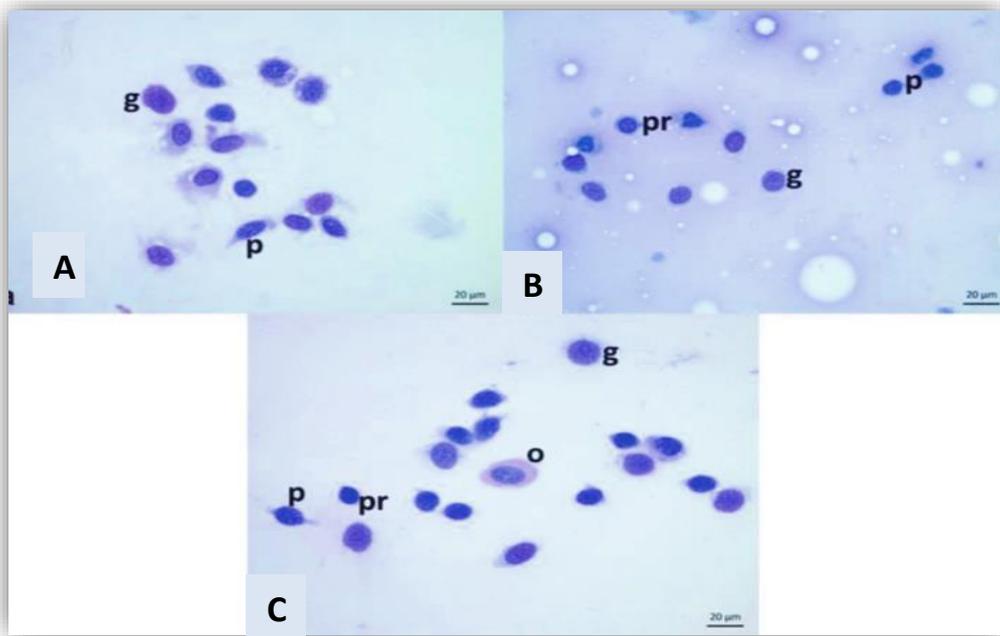


Fig.19 : Vue générale des hémocytes chez quelques espèces des orthoptères :

A) *Decticus verrucivorus*,

B) *Eupholidoptera smyrnensis*,

C) *Glyptotmethis* spp.

pr: Prohemocyte, p: Plasmatocyte g: Granulocyte, o: Oenocytotide (43)

II-2-Plasma :

42 ; ont défini le plasma de l'hémolymphe comme une solution biochimiquement riche ; elle est considérée comme un mélange d'eau et des métabolites et contient aussi des éléments non organiques.

II-2-1- Composants inorganiques : Selon 46 : Les composants inorganiques contribuent à la pression osmotique de l'hémolymphe de nombreux insectes est surtout les herbivores (concentrations du potassium d'une ampleurs relativement grandes dans l'hémolymphe). Les composants inorganiques chez les Orthoptères sont (Na^+ - K^+ - Ca^+ - Mg^+ - cl^-) (Tab. :01).



Définition, composition et rôle de l'hémolymphe

Tab.01 : Taux des cations chez des espèces d'orthoptères d'après les travaux du : 41

Insectes	Stade	M. éq. par litre			
		Na+	K+	Ca+	Mg+
<i>Grpilotalpa gryllotalpa (I.)</i>	a.	237.7	7.3	28.0	10.4
<i>Anabrus simplex (HALD.)</i>	a.	21.9	15.4	3.0	1.4
<i>Locusta migratoria (L.) migratorioides R. et F.</i>	a./l.	67.4	9.0	15.2	27.0
<i>Locusta migratoria (L.) migratorioides R. et F.</i>	l.	60.0	12.0	17.2	24.8
<i>Schistocerca gregaria (forsk)</i>	l.	81.3	5.3	17.8	34.6

II-2-2- Composants organiques :

Les composants organiques de l'hémolymphe incluent : glucides, lipides, acides aminés libres et protéines

II-2-2-1-Glucides :

23 ont montré que le tréhalose (Fig. :20) est le glucide le plus abondant et qui caractérise l'hémolymphe des insectes. C'est un *disaccharide α 1-1 de deux résidus de glucoses.*

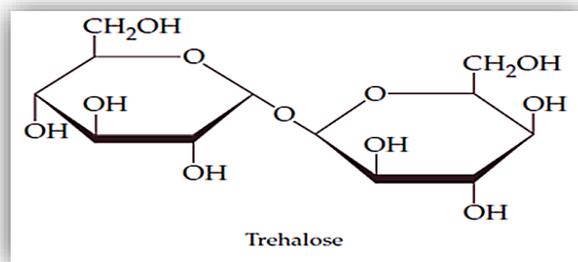


Fig.20 : Structure chimique de tréhalose (29).

Selon 29, le tréhalose est considéré comme source d'énergie, employé par les tissus. Il n'est pas apporté par l'alimentation, mais il est synthétisé par l'insecte ;

🦗 Il donne vers deux fois plus d'énergie que le glucose.



Définition, composition et rôle de l'hémolymphe

🦗 Il est présent aux concentrations 5-50 fois plus hautes que le glucose ; leur maintien à des concentrations élevées dans l'hémolymphe facilite la diffusion du tréhalose dans les cellules des insectes.

🦗 Chez le *Schistocerca gregaria*, l'hémolymphe peut contenir jusqu'à 2% de tréhalose (13).

Les monosaccharides : D'après 18 : Le glucose, le maltose, le fructose et le saccharose sont des monosaccharides présents dans les tissus végétaux ; ils sont absorbés à travers la paroi intestinale grâce à une diffusion facilitée. Des oxydations de ces monosaccharides conduiront ensuite à la production d'énergie disponible pour le vol et pour les différentes voies de biosynthèses.

II-2-2-2-Lipides :

Selon 26 les acides gras, (mono-, di- et triglycérides), stérols ; représentent une source d'énergie chez les insectes, ils sont considérés comme la principale source d'énergie pour la production d'œufs, la métamorphose et pour vol et assurent une activité musculaire.

Chez *Schistocerca*; les 2/3 de l'énergie dépensée pendant un vol prolongé provient du catabolisme des lipides.

Dans l'hémolymphe, les lipides sont transportés par des lipophorines (01).

40 ont montré que : Chez les criquets ; *Acheta domesticus* :

La concentration des lipides dans l'hémolymphe montre un grand changement avec l'âge ;

🦗 Les niveaux des lipides sont bas pendant les deux dernières étapes larvaires, augmentation rapide durant la mue finale atteignant un maximum dans les adultes, plus tard les concentrations des lipides diminuent une fois l'insecte est mature.

🦗 Une baisse chez les femelles semble être plus grande et plus rapide est cela est expliquée par les changements des maturations sexuelles, activités et consommations d'énergie chez l'insecte durant le cycle de leur vie.

De plus, la diminution rapide des niveaux des lipides dans le sang des criquets femelles peut être expliquée par utilisation des lipides dans la production d'œufs.



Définition, composition et rôle de l'hémolymphe

II-2-2-3- Les acides aminés libres :

L'hémolymphe est caractérisée par une concentration élevée des acides aminés ; ils atteignent 150 mmol/l chez moustiques ; parmi les 20 acides aminés couramment rencontrés (tab. :02) ;

-  10 acides aminés essentiels et provient de l'alimentation dans la plupart des insectes,
-  Les autres acides aminés sont considérés comme non indispensables car les insectes peuvent les synthétiser par interconversion (18).

Tab. 02 : Acides aminés chez les insectes (19).

Acides aminés essentiels	Acides aminés synthétisés par l'insectes
Arginine	Alanine
Histidine	Asparagine
Isoleucine	Acide aspartique
Leucine	Cystéine
Lysine	Acide glutamique
Méthionine	Glutamine
Thréonine	Glycine
Tryptophane	Proline
Valine	Sérine
Phénylalanine	Tyrosine

Selon 29 & 17 les acides aminés contribuent à ;

-  Environ 30% dans la régulation de pression osmotique,
-  Production d'énergie exemple ; la proline,
-  Joue un rôle dans la neurotransmission comme glutamate
-  Les acides aminés sont utilisés pour la synthèse des composés de structures (muscles, tégument...), des enzymes et des hormones qui participent aux différentes voies métaboliques.



Définition, composition et rôle de l'hémolymphe

 La tyrosine est par exemple, nécessaire à la sclérotinisation et à la mélanisation de la cuticule.

29 ont montré que Chez les Criquets ; *Acheta domesticus* les teneurs en acides aminés libres dans l'hémolymphe sont considérés :

- ✓ De différence fortement significative de sexe ; la concentration dans l'hémolymphe femelle faisant plus haut que dans les mâles.
- ✓ La concentration des acides aminés changent avec l'âge ; les valeurs sont plus élevées au stade larvaire ; Cela est expliqué par : le passage des criquets au métamorphose, développement et maturation.

II-2-2-4- Les protéines :

Les protéines de l'hémolymphe sont essentiellement synthétisées par le corps gras sous contrôle des cellules neurosécrétrices. Les protéines ne sont pas toutes présentes en même temps, mais il y a des changements progressifs au fur et à mesure des cycles de vie de l'insecte **(49)**.

Les principales protéines qui existent dans l'hémolymphe sont résumées dans le tableau suivant :



Définition, composition et rôle de l'hémolymphe

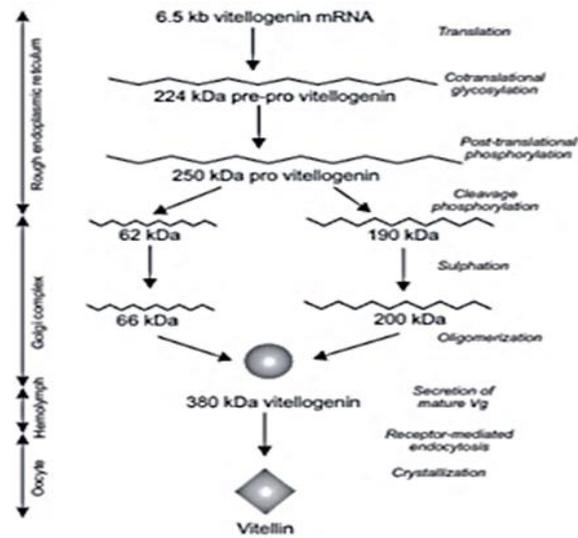
Tab. 03 : Les principales catégories des protéines de l'hémolymphe

Les enzymes	
<p>Tréhalase : hydrolyse le tréhalose en deux glucoses</p>	
<p>Amylases : Dégradent les glycogènes; jouent un rôle essentiel dans la survie des insectes en fournissant de l'énergie</p>	
<p>Estérases : hydrolysent les liaisons ester et permettent d'empêcher l'insecticide de pénétrer et de circuler dans l'organisme de l'insecte.</p>	
<p>Phénol oxydases : interviennent à la cascade de mélanisation qui participent également à la sclérotisation des cuticules et à la cicatrisation des plaies</p>	
<p>Les Protéines liées à la reproduction</p>	



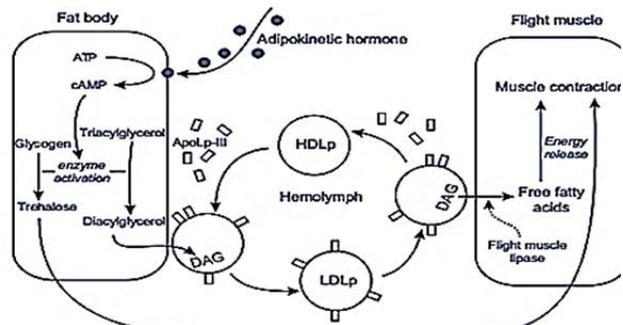
Définition, composition et rôle de l'hémolymphe

Vitellogénines : Protéines trouvées exclusivement dans l'hémolymphe des femelles ; Synthétisées dans le corps gras et véhiculées par l'hémolymphe jusqu'aux follicules des ovocytes, passent entre les cellules folliculaires puis sont incorporées dans l'ovocytes par pinocytose



Les Protéines de transports

Protéines de transport : lipophorine véritable molécule de transport des divers lipides, y compris diacylglycérol DAG, cholestérol, caroténoïde et hydrocarbure ainsi les hormones tel que : hormone juvénile HJ et l'ecdysone, il y a deux types : HDLp et LDLp, , elles transportent ces molécules des sites de stockage vers les organes cibles



Proteines de colorations

Chromoprotéines : protéines qui donnent à l'hémolymphe une coloration et sont issues de l'alimentation des insectes



Définition, composition et rôle de l'hémolymphe

III-Rôles de l'hémolymphe : Selon 49 ; le rôle de l'hémolymphe se résume dans les points suivants :

III-1-Transport : l'hémolymphe distribue les métabolites résultant de la digestion ou stockés dans le corps gras aux tissus et organes qui les utilisent. Transporte aussi les hormones des organes producteurs aux organes cibles.

III-2- Défense immunitaire:

Les insectes n'ont pas un système d'immunité acquise, ils ont une réponse innée bien développée (43). Leur stratégie immunitaire repose sur des mécanismes cellulaires et humoraux. Parmi ces réponses : la phagocytose ; la formation des nodules et l'encapsulation sont liées aux hémocytes.

Les facteurs humoraux sont produits à la fois par les corps adipeux, les cellules épidermales et les hémocytes. Parmi ces facteurs humoraux, le système phénoloxydase et la lectine sont considérées comme jouant des rôles clés (19). L'hémolymphe des criquets migrateurs *Schistocerca gregaria* et *Locusta migratoria* contient des facteurs humoraux : **la lectine et le système phénoloxydase.**

La phagocytose est le processus par lequel les agents pathogènes tels que les bactéries et de petites particules (1 µm de diamètre) sont englouties par les hémocytes hôtes, aboutissant à la mort de l'envahisseur. La membrane de la cellule invagine et l'agent pathogène est englouti dans une membrane liée à la vésicule dans laquelle les enzymes lytiques sont libérées, provoquant leur disparition(52) (Fig. :21).

III-3-Réparation : En cas de lésion où production d'hémorragie ils sont arrêtés par la coagulation de l'hémolymphe. Les cellules impliquées sont des coagulocytes (49).



Définition, composition et rôle de l'hémolymphe

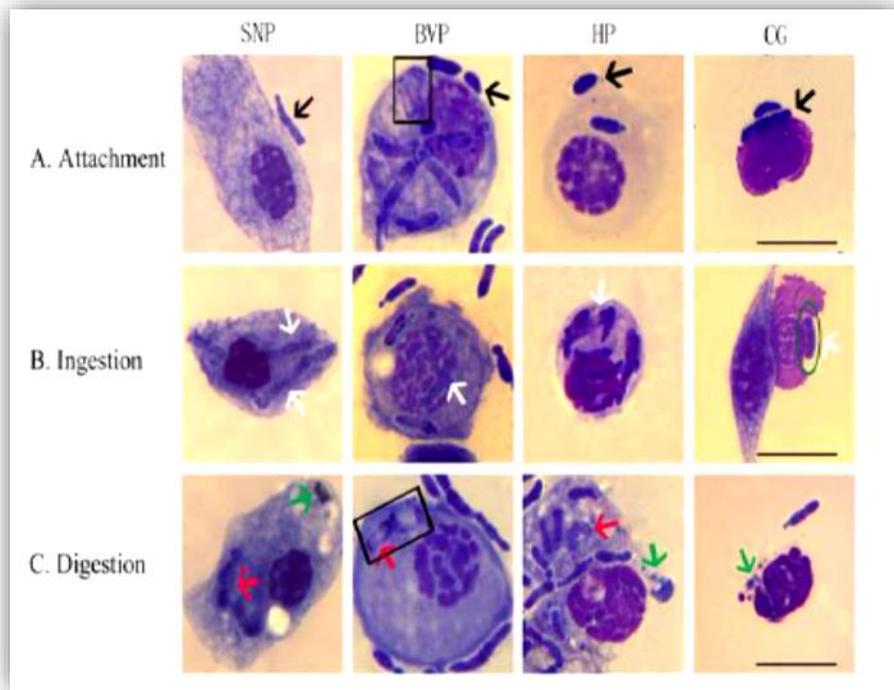


Fig.21: Phagocytose d'un champignons par les hémocytes chez

L. migratoria (52).

Le processus de phagocytose comprend trois étapes : l'attachement, l'ingestion et la digestion :

A. SNP, BVP, HP et CG : Reconnaittent et se fixent au champignon.

B. La membrane s'étend pseudopodes et ingère les corps fongiques.

C. SNP, BVP, HP et CG digèrent les hyphes, former des vésicules sécrétoires pour emballer le fragment détruit, puis libérer le fragment dans le milieu extracellulaire. Les flèches noires montrent les cellules attachées au champignon sur la surface ;

Les flèches blanches : montrent le champignon phagocyté ;

Flèches rouges : montrer le fragment digéré ; les **Flèches vertes :** montrent les vésicules sécrétoires avec emballé.



Partie pratique



Chapitre I :

Méthodologie de travail

Méthodologie de travail

Cette étude a été réalisée suivant 03 étapes ; dont chaque étape est caractérisée par son matériels et méthodes spécifiques.

- 🦗 **1^{ère} étape appliquée sur le terrain** ; consiste à collecter les orthoptères.
- 🦗 **2^{ème} étape effectuée au laboratoire** où se déroule :
 - ✓ Prélèvement de l'hémolymphe
 - ✓ Dosage quantitatif et qualitatif des protéines totales de l'hémolymphe.
 - ✓ Identifier morphologiquement les orthoptères collectés.
- 🦗 **3^{ème} étape c'est les analyses statistiques** des données obtenues.

Avant de détailler ces différentes méthodes, nous allons présenter la région de **TEBESSA** ainsi que les différents sites choisis pour capturer les espèces d'orthoptères.

I-Présentation de la région d'étude :

I-1- Situation géographique de la région d'étude :

La wilaya de **TEBESSA** se situe au nord-est de l'Algérie. Elle s'élève à environ 960 m d'altitude au niveau de la mer avec une superficie : 13878km², s'étendant entre 34,75° et 36° de latitude Nord et entre 7,25° et 8,5° de longitude Est (**Fig. :22**).

Elle est limitée au nord par la wilaya de SOUK AHRAS, Sud par la wilaya d'EL OUED, de l'Ouest wilaya d'OUM BOUGHI et KHANCHLA, tandis qu'à l'Est par les frontières ALGERO-TUNISIENNE (**10**).

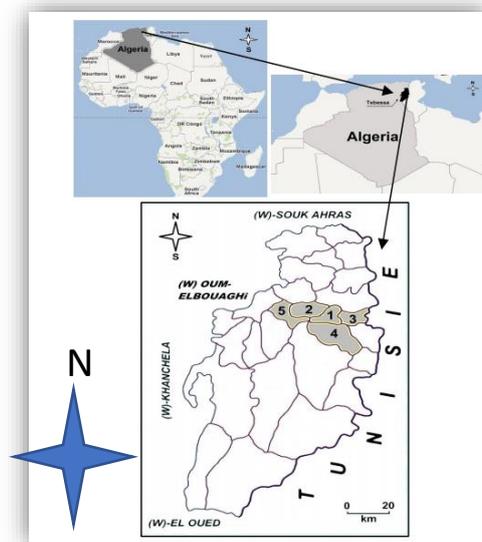


Fig. 22 : Localisation de la wilaya de TEBESSA (**09**).



I-2 -Présentation des sites d'échantillonnages :

La collecte des orthoptères a été effectuée dans 03 sites différentes :

- **BEKKARIA** qui représente le milieu forestier.
- **CHAMP DE BLE** qui représente le milieu agricole
- Le 3^{ème} site qui est un **MILIEU NATUREL**.

I-2-1- Région de BEKKARIA (site forestier) :

La région de Bekkaria est liée par la route nationale n° 01, cette commune s'inscrit entre les coordonnées suivantes : **35° 25' N et 8° 15' E**.

Elle est limitée comme suit : au nord par la commune d'El Kouif, au sud par la commune d'El Houdjbet à l'ouest par le chef-lieu wilaya de Tébessa et à l'est par la frontière Tunisienne (10).

Le site d'étude représente un milieu forestier où il y a des arbres telle que : les arbres d'Alp *Pinus halepensis* et une variété des plantes comme : *Salvia Rosmarinus* L. , *Stipa tenassissima* L. (Fig. :23).

I-2-2- Champ de blé (site agricole) :

Le deuxième site se situe à proximité de la route national N° :10 ; (évitement de Tébessa) correspond aux coordonnées suivants : **35°26'09'N 8°03'10'E**.

Ce site d'étude représente un milieu agricole constitué principalement des restes des épis du blé après sa récolte (Fig. :24).

I-2-3- Site naturel :

Ce site représente une zone verte à côté du champ de blé ; ce site représente le milieu naturel pour cette étude, il est constitué de quelque plantes herbacés comme : *Stipa tenassissima* L. (Fig. :25).



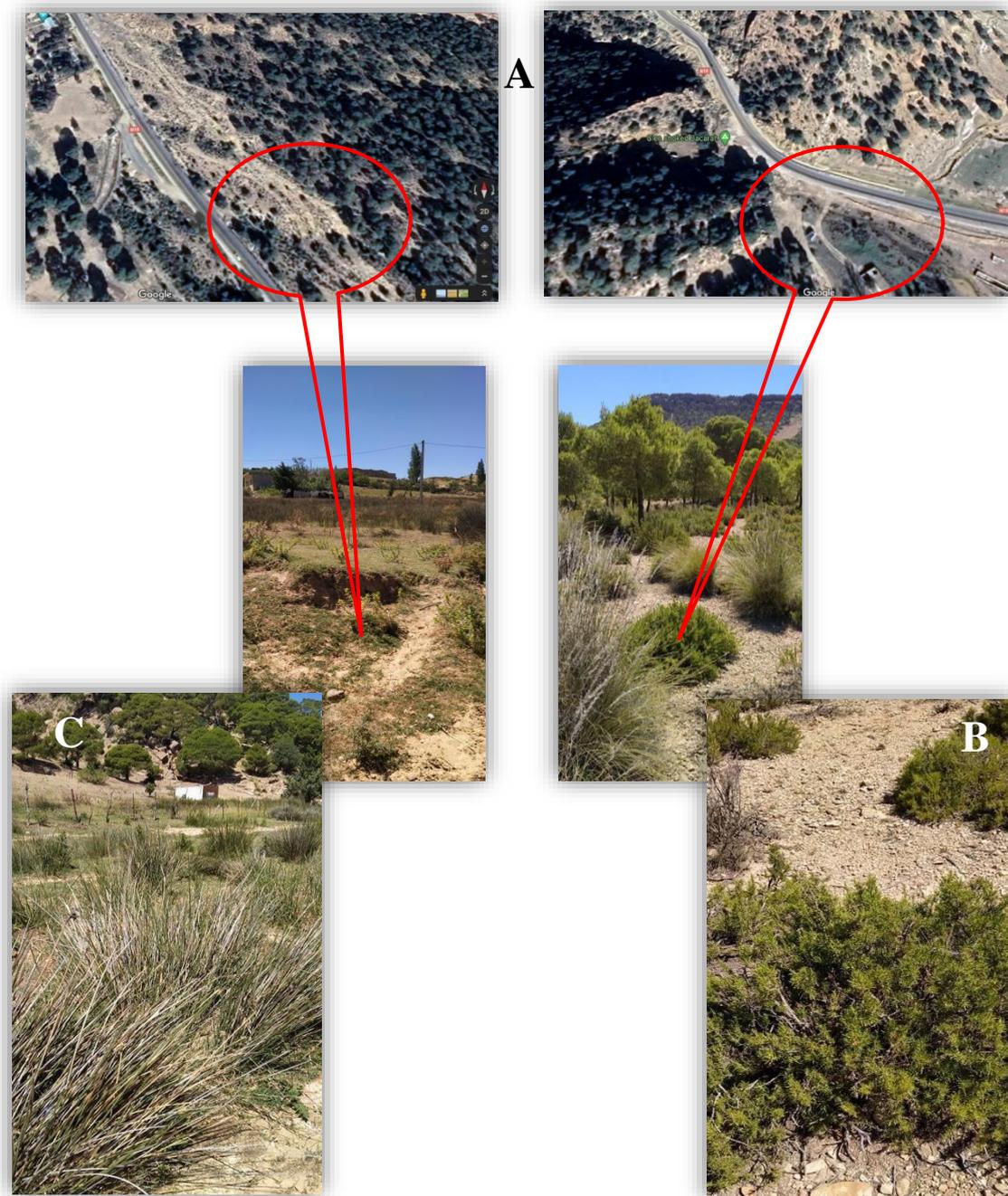


Fig. 23 : Région de Bekkaria (milieu forestier) (photos personnelles, juillet2020)

A : Localisation de la région d'étude (58).

B : *Salvia Rosmarinus* L (Photos personnelles, juillet 2020)

C : *Stipa tenassissima* L (Photos personnelles, juillet 2020)





Fig. 24 : Champ du blé (site agricole) (photo personnelle juillet,2020)

A : localisation du milieu (58)

B : champs de blé (photo personnelle juillet 2020)



Fig. 25 : Site naturel (photos personnelle, juillet 2020)

A : localisation du milieu (58).

B : *Stipa tenassissima* L (photo personnelle, juillet 2020)



Méthodologie de travail

II- Travail sur le terrain : collecte des orthoptères :

Le sujet biologique de notre étude sont des insectes d'ordre : orthoptère, donc il été nécessaire de faire des sorties aux 03 sites d'étude mentionné précédemment pour les collectés.

II-1-Outils d'échantillonnage et conservation :

Pour la capture des orthoptères on a utilisé :

- **Filet a papillons** : qui dois d'être léger, long et avec un cerceau large ; à un diamètre minimum 30cm pour permettre une capture réussite (**Fig. :26**).



Fig.26 : Filet a papillons
(Photos personnelles, juillet 2020)

La conservation des orthoptères nécessite :

- **Boites et Flacons de collectes** : les flacons doivent être bien airés pour assurer la survie des individus (**Fig. :27**).

Chaque flacon doit porter un étiquetage avec les informations nécessaires tel que ; le site d'échantillonnage.



Fig. 27 : Boites et flacons de conservation (photo personnelle, juillet 2020).



Méthodologie de travail

II-2- Technique de la collecte :

La collecte des orthoptères a été effectuée le matin entre 10h et 13h où la chaleur et l'éclairage sont optimales et les orthoptères sont très actives.

L'échantillonnage a été réalisé aléatoirement lors de nos prospections sur le terrain, les captures ont été faites à l'aide d'un filet à papillons.

Les orthoptères collectés ont été mis dans des flacons bien aérés pour assurer leurs survies (**Fig. :28**).



Fig. 28 : Orthoptères collectés.

(Photos personnelles, juillet2020)



III- Travail au laboratoire :

Les orthoptères collectés sont transférés au laboratoire de biochimie où a déroulé la 2eme étape de notre étude :

III-1-Prélèvement de l'hémolymphe :

III-1-1-Matériels :

Le prélèvement de l'hémolymphe des orthoptères a été effectué par :

- Une micro-seringue : qui permettre l'aspiration de l'hémolymphe (**Fig. :29**).

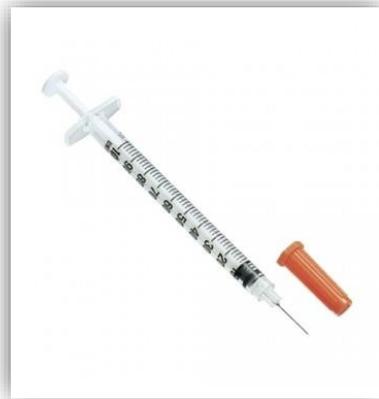


Fig. 29 : Micro-seringue 1ml (63)

- Tube Eppendorf et portoire : L'hémolymphe recueillie est transmis dans les Eppendorf portant des étiquettes où on a mentionné le numéro de l'insecte et le site de collecte (**Fig. :30**).

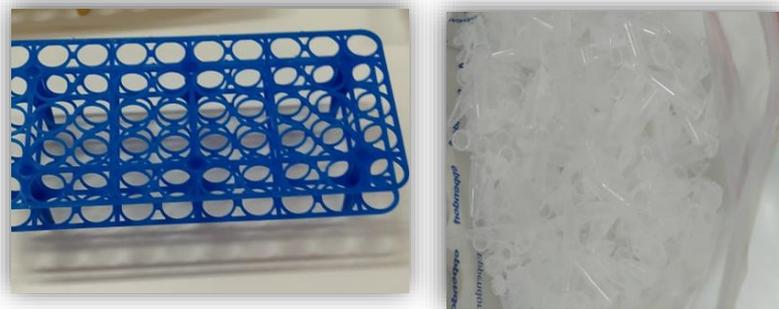


Fig.30 : Tubes Eppendorf et portoire (photos personnelles, juillet 2020).



Méthodologie de travail

III-1-2-Technique du prélèvement :

L'insecte est immobilisé entre le pouce et l'index, puis on introduit le micro seringue sous le pronotum entre la patte postérieure et le thorax. L'incision permet de prélever de l'hémolymphe fraîche (**Fig. :31**).

L'hémolymphe recueillie est déposée dans des tubes Eppendorf portant des étiquettes qui indique le numéro de l'échantillons et site de collecte de l'insecte.

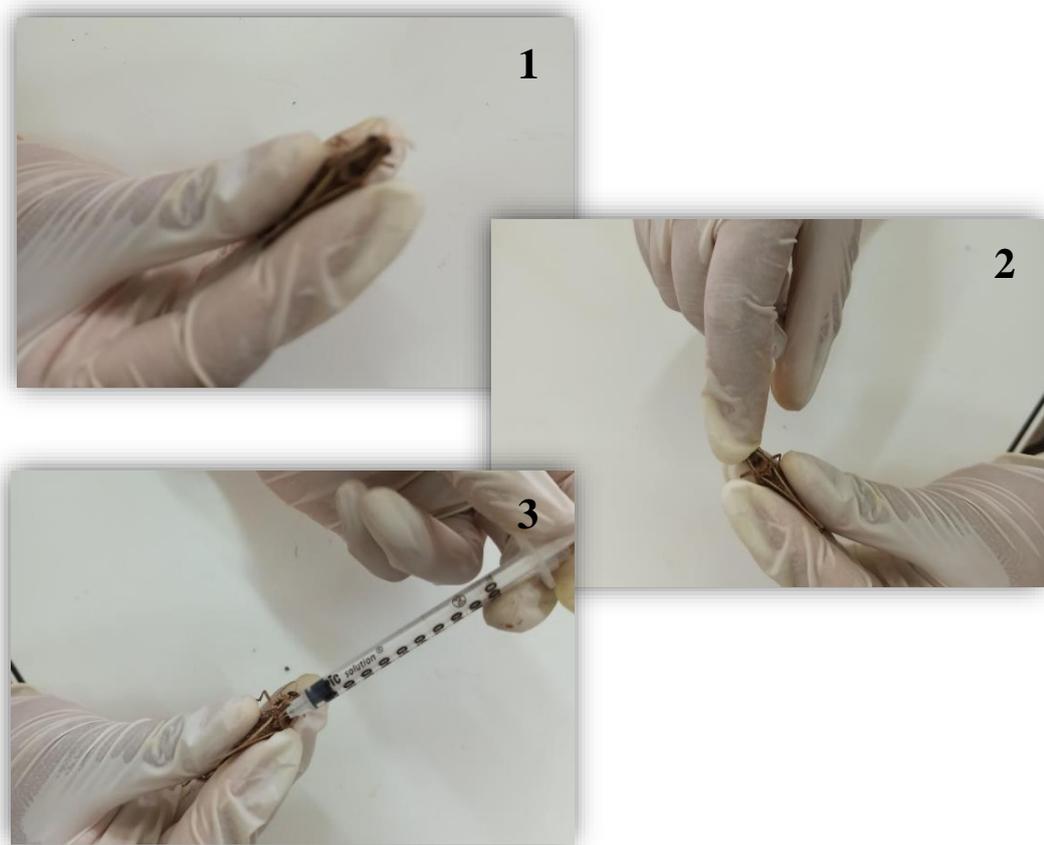


Fig. 31 : Prélèvement de l'hémolymphe (photos personnelles, juillet2020).

Remarques : l'hémolymphe obtenu ; soit est utilisé directement après le prélèvement soit est conservé au congélateur a -20C° jusqu'à leur utilisation.



III-2- Dosage quantitatif et qualitatif des protéines totales de l'hémolymphe des orthoptères :

III-2-1-Dosage quantitatif :

Le but de cette étude est de mesurer les concentrations des protéines totales dans l'hémolymphe des Orthoptères à l'aide des réactions colorimétriques spécifiques réalisées par la méthode de BRADFORD.

Pour réaliser cette analyse biochimie on a utilisé :

III-2-1-1-Matériels et produits chimiques :

L'ensemble du matériels et produits utilisés pour la réalisation du dosage sont présentés dans **tableau :04, annexe.**

III-2-1-2- Principe de la méthode du dosage :

C'est une méthode spectrophotométrique, elle est utilisée pour déterminer les concentrations de protéines en solution; elle est basée sur le changement d'absorbance observé dans une solution acide de colorant Coomassie Blue G-250.

Une fois ajouté à une solution de protéine, le colorant se lie à la protéine, ce qui donne une couleur qui passe d'un *marron rougeâtre au bleu.*

Les protéines liées sont principalement par les résidus d'arginine, mais le colorant aussi se lie à des moins degré avec l'histidine, la lysine, la tyrosine, le tryptophane et phénylalanine **(08)** L'absorbance maximale de la solution de colorant acide passe de 465 à 595 nm.

Par conséquent, mesurer l'absorbance *du complexe protéine-colorant* à 595 nm permet une quantification précise de la teneur en protéine d'un échantillon **(08)**.

La liaison du colorant aux protéines est *un processus rapide*, étant pratiquement terminé en environ 2 min. La couleur complexe protéine-colorant est *très stable* ; les complexes se dispersent dans la solution pendant environ 1 h. Ce donne suffisamment de temps pour lire un grand nombre d'échantillons, évitant ainsi le « temps critique de mesure » d'autres méthodes (par exemple, Lowry, 1951).

Après 1 h., les complexes commencent à s'agréger et la solution souffre d'une diminution de la couleur **(08)**.



Méthodologie de travail

III-2-1-3-Préparation des solutions : Pour le dosage il faut préparer deux réactifs essentiels ;

➤ **Le réactif de BRADFORD : pour préparer 200ml de réactif :**

On pèse 40 mg le bleu de Coomassie puis on ajoute 20ml d'éthanol ; la solution est soumise sous agitation pendant un 1 heure dans l'obscurité.

Ensuite en ajoute 40 ml d'acide orthophosphorique et on laisse la solution sous agitation pour une autre heure. Enfin en complète le volume avec de l'eau distillé (Fig. :32).



Fig. 32 : Préparation du réactif de BRADFORD

(Photos personnelles, juillet2020)

Remarque : La préparation du réactif doit être effectuée dans un flacon marron foncé enveloppé avec du papier aluminium pour éviter sa détérioration suite à son contact avec la lumière.



Méthodologie de travail

➤ La solution BSA (Bovin Serum Albumin) :

La solution BSA est utilisée comme une solution de référence pour réaliser une courbe d'étalonnage par un spectrophotomètre UV/visible, après avoir diluée la solution de BSA à différentes concentrations croissantes : à 20, 40, 60, 80 et 100 µg/ml.

Dans des tubes à essais numérotés de 1 à 6 pour les solutions étalonnages de **BSA** ;

- Les autres tubes designent pour les échantillons à analyser et portant toutes les indications nécessaires.
- Le réactif de Bradford est ajouté selon les indications du tableau suivant (tab. :05)

Tab.05 : Préparation des solutions pour la courbe d'étalonnage et échantillons.

Tubes	1	2	3	4	5	6	Échantillons
BSA µl	0	20	40	60	80	100	10µl (hémolymphe)
Eau distillé µl	100	80	60	40	20	0	90µl
BBC ml	4	4	4	4	4	4	4

- Les tubes des différentes solutions sont incubés à une température ambiante pendant 5mn à l'obscurité avant la lecture des absorbances (**Fig. : 33**).

III-2-1-4- Lecture de l'absorbance :

- La lecture des densités optiques est effectuée à l'aide d'un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 595 nm en utilisant une cuve de 1 cm d'épaisseur.
- Nous avons commencé par la Gamme étalon (BSA) suivant les étapes suivantes :
 - ✓ Prendre la cuve du spectrophotomètre et la remplir avec les solutions de la BSA en commençant par la faible concentration jusqu'à la forte concentration.
 - ✓ La cuve doit être remplie au moins aux 2/3.
 - ✓ Avant de faire passer les solutions à analyser, on doit les agiter dans le but de les homogénéiser.
 - ✓ Pendant l'analyse des solutions de la BSA à travers le spectrophotomètre, il faut à chaque passage de chaque solution, vider le contenu de la cuve et la rincer avec un peu de la solution qui suit et qui va être mise à analyser.



Méthodologie de travail

- ✓ Il faut tracer la courbe de référence, qui exprime les densités optiques en fonction des concentrations du BSA.
- Après l'établissement de la courbe de référence, il faut lire les échantillons en suivant les mêmes étapes que précédemment. Dans ce cas les cuves vont être rincées avec de l'eau distillée après les avoir vidés de leur contenu, après le passage de chaque échantillon.

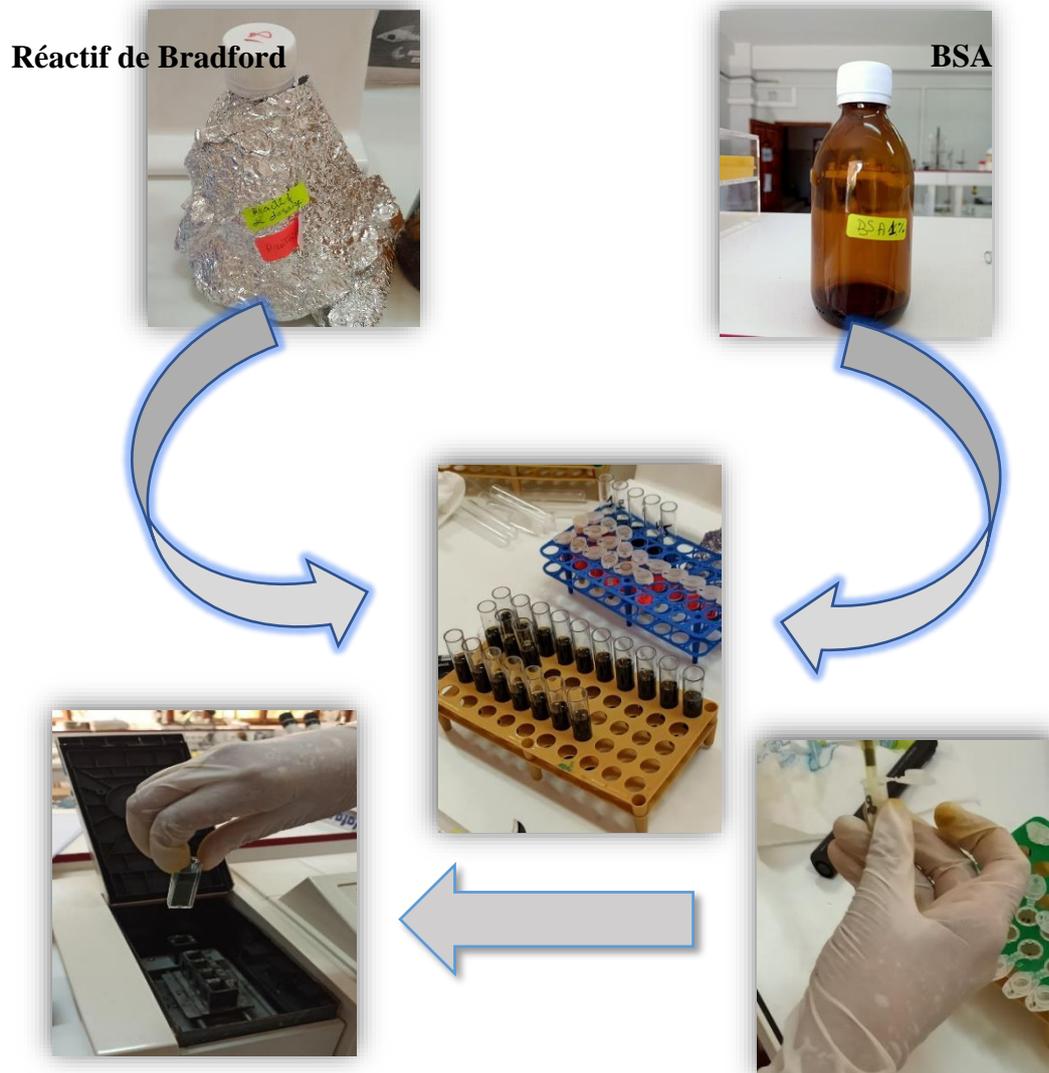


Fig. 33 : Dosage des protéines (photos personnelle, juillet2020).



III-2-2- Dosage qualitatif des protéines de l'hémolymph des orthoptères :

Le but d'utiliser de cette méthode s'est :

- Obtenir un profil protéique pour chaque espèce collectée.
- Comparer les résultats obtenus avec celle de la systématique classique (morphologique).

III-2-2-1- Matériels et produits : Les matériels et produits utilisés sont résumés dans le **tab. :06 annexe**.

III-2-2-2- Principe de la méthode :

L'électrophorèse est une technique de séparation fondée sur le fait que les molécules portant des charges électriques différentes migrent à des vitesses différentes lorsqu'elles sont placées dans un champ électrique. La vitesse de migration dépend également du poids moléculaire, de la configuration de la protéine (**Lemoine, 1980 ; Mauer, 1991**).

Le support de migration est le gel de **polyacrylamide-dodécyl-sulfate-sodium** SDS PAGE. Il est constitué de deux gels superposés (gel de séparation et gel de concentration).

Selon **42**, l'électrophorèse en gel de polyacrylamide-dodécyl-sulfate sodium, permet la migration des protéines uniquement sous l'effet de leur poids moléculaire, en éliminant leur configuration spatiale et leur charge électrique. La séparation des protéines est réalisée dans un gel de degré de polymérisation fixe sous l'effet d'un champ électrique. Les protéines occupent après leur migration des emplacements variés. Il est alors possible de les fixer et de les colorer.

III-2-2-3-Protocole de la technique : Avant de préparer les gels et les couler on doit assurer :

- ✓ La propreté des plaques
- ✓ L'emplacement correcte des séparateurs entre les plaques
- ✓ Bien fixer les plaques sur le support avant l'écoulement du gel de séparation pour éviter la fuite (**Fig. : 34**).



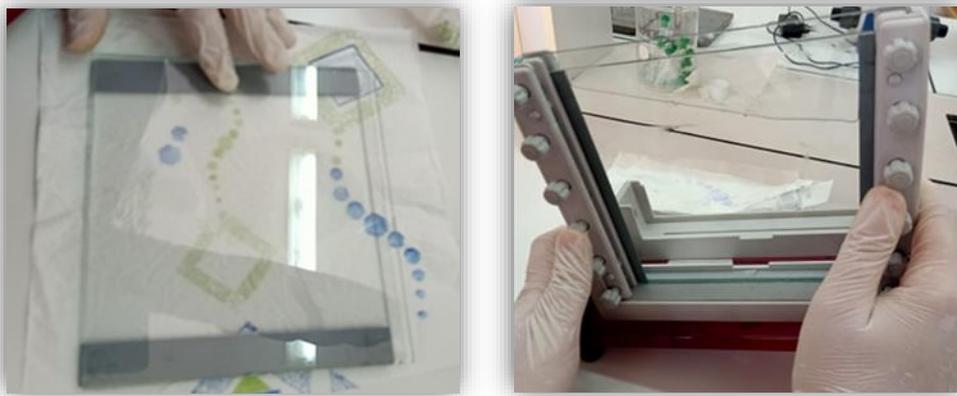


Fig.34 : Montage des plaques (photos personnelle, juillet 2020)

La manipulation de l'électrophorèse sur gel poly acrylamide passe par plusieurs étapes :

➤ **Ecoulements des gels :**

Les gels sont préparés extemporanément (**Tab. :08**). Le gel de séparation est coulé en premier entre les deux plaques à l'aide d'une seringue. On ajoute ensuite l'eau distillée en dessus et après la polymérisation de ce gel, on verse l'eau distillée. Le gel de concentration est déposé sur le premier gel. Après l'écoulement du second gel, un peigne de 1,5 mm d'épaisseur est immédiatement introduit entre les deux plaques afin de créer les puits dans lesquels seront placés les différents échantillons (**Fig. :35**).

Tab. 08 : Composition des gels (séparation et concentration)

Produits	Gel de séparation	Gel de concentration
Acrylamide-bis 30%	5,3ml	1,5ml
Eau distillée	6,8ml	5,7ml
Lower buffer pH 8.8 *	05 ml	-
Upper buffer pH6.8*	-	1,2ml
SDS 10%	0.2ml	
APS	0.2 ml	0,3ml
Temed	30µl	30µl

Remarques :

- ✓ APS doit se préparer le jour même de la manipulation de l'électrophorèse
- ✓ Le TEMED on l'ajoute juste avant de couler le gel entre les plaques
- ✓ * voir tab.:07 annexe





Fig.35 : Ecoulement du gel de concentration et de séparation

(Photos personnelles, juillet2020)

➤ **Dépôt des échantillons :**

On introduit pour chaque 10 μ l d'échantillon :100 μ l du tampon d'échantillons (Tab. :09). Le mélange est déposé dans un bain Marie thermostaté réglé à 100°C pendant 5 mn. Après leurs refroidissements, on dépose à l'aide d'une micro seringue ; 20 μ l de chaque échantillon dans un puit (Fig. :36).

Tab. 09 : Composition du tampon des échantillons

Produit	Quantité
Upper buffer pH 6.8	6.25 ml
Mercaptoéthanol	2.5 ml
SDS 14%	10 ml
Glycérol	05 ml
EDTA	16.8 mg
Eau distillée	2.5 ml
Bleu de bromophénol	05ml



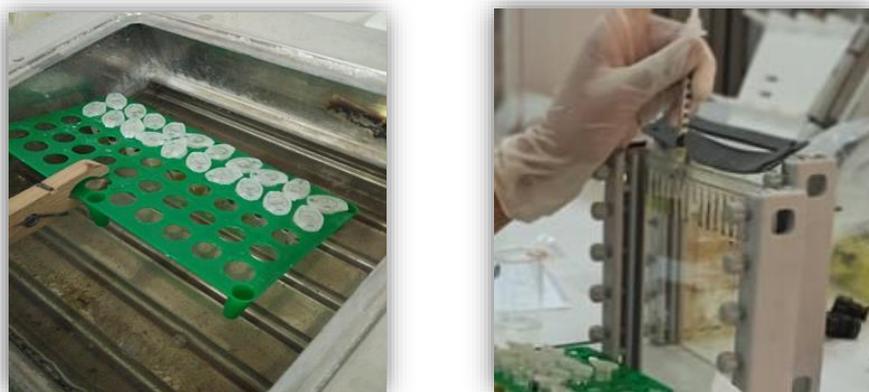


Fig.36 : Dépôt des échantillons (photos personnelles, juillet2020)

➤ **Migration :**

La plaque est placée dans la cuve, on verse le tampon de migration (**Tab. :10**). Ensuite on place le couvercle puis on branche les électrodes au générateur. La migration est lancée au début avec un voltage de 50 volts pendant une heure puis augmenter à 400 volts et laisser la migration s'effectue pendant 06 heures (**Fig. :37**).

Tableau 10 : Composant du tampon de migration

Produit	Quantité
Tris	06 g
SDS	02 g
Glycine	28.2 g
Eau distillée	1000 ml





Fig. 37 : Lancement de la migration (photo personnelle, juillet2020)

➤ **Coloration de décoloration :**

Une fois la migration est finie, c'est l'étape de la coloration (**Tab. :11**), après avoir retirait le gel des plaques, il est mis dans un 1er colorant sous agitation pendant 1heure, puis il subit une 2ème coloration sous agitation pendant 24 heures (**Fig. :38**).

Tab.11 : Composition des solutions de coloration

Produits	Quantité
Solution 01 de la 1ere coloration	
Propanol 2	250 ml
Acide acétique	100 ml
Bleu de Coomassie R-250	0.25 g
Eau distillée	1000 ml
Solution 02 de la 2 -ème coloration	
Propanol 2	100ml
Acide acétique	100ml
Bleu de Coomassie R-250	0.025ml
Eau distillée	1000ml





Fig. 38 : Gel après la migration (photo personnelle juillet,2020)

La décoloration du fond du gel est effectuée avec deux bains de solution décolorante (1heure pour chacune). La procédure prend fin lorsque la solution devienne claire (**Tab. :12**).

Tab.12 : Composant de la solution de décoloration

Produit	Quantité
Méthanol	45ml
Acide acétique	100ml
Glycérol (5,5%)	25ml
Ethanol	100ml
Eau distillé	1000ml

IV- Identification morphologique des orthoptères :

Après la détermination des concentrations protéiques de chaque échantillon, il est nécessaire de connaître l'espèce et le sexe de chaque individu collecté pour permettre de réaliser les différentes comparaisons voulues.

IV-1-Outils d'identification :

Pour faire l'identification morphologique on a utilisé les outils présentés dans le tableau suivant :



Tab.13 : Outils utilisés pour l'identification

Les outils utilisés	Binoculaire
	Clé d'identification de Chopard (1943)
	Boite de pétri
	Aiguille

IV-2-Méthode d'identification :

L'identification des espèces et détermination du sexe des orthoptères collectés est réalisé selon une examination sous binoculaire des critères morphologiques (couleur des ailles, formes et couleurs des fémurs postérieurs) de chaque insecte collecté du site d'étude (**Fig. :39**).

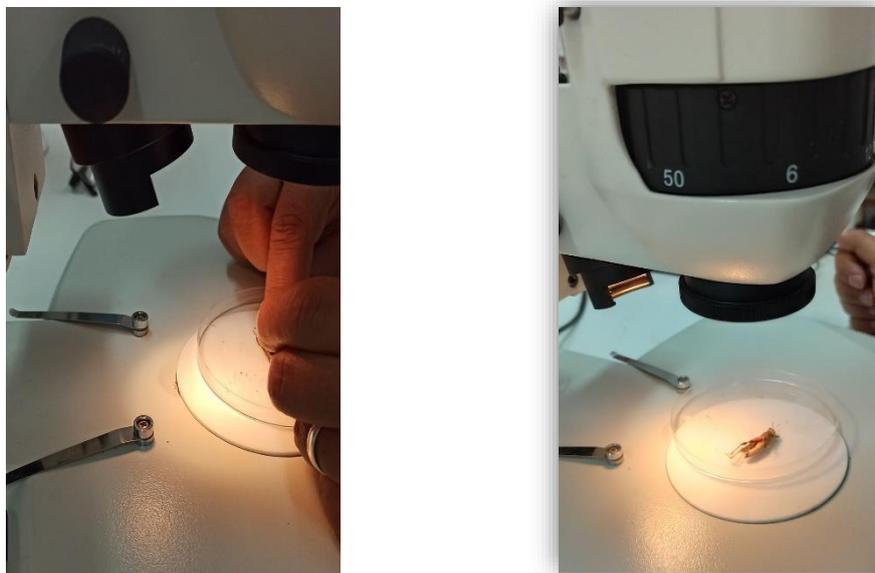


Fig.39 : Identification des espèces collectées et détermination du sexe des orthoptères

(Photos personnelle juillet,2020)



Méthodologie de travail

V- Analyses statistiques :

Les analyses statistiques des résultats obtenus ont été réalisées à l'aide du logiciel MINITAB

Version 19. Les différents tests qui ont été utilisés sont :

- Test « t » de **Student** avec un seuil de signification $\alpha=0.05$, pour la comparaison des femelles et males des 09 espèces et aussi pour les espèces suivantes : *Acrotylus patruelis*, *Aipolus strepens*, *Ailopus thalassinus*, *Oedipoda fuscocincta* et *Sphingonotus caerulans*
- **ANOVA** : l'analyse de la variance à intervalle de confiance de 95%
 - ANOVA à un critère a été utilisé pour comparer les concentrations protéiques des trois sites
 - ANOVA à deux critères a été utilisé pour comparer (espèces/ sites).





Chapitre II :

Résultats et discussion

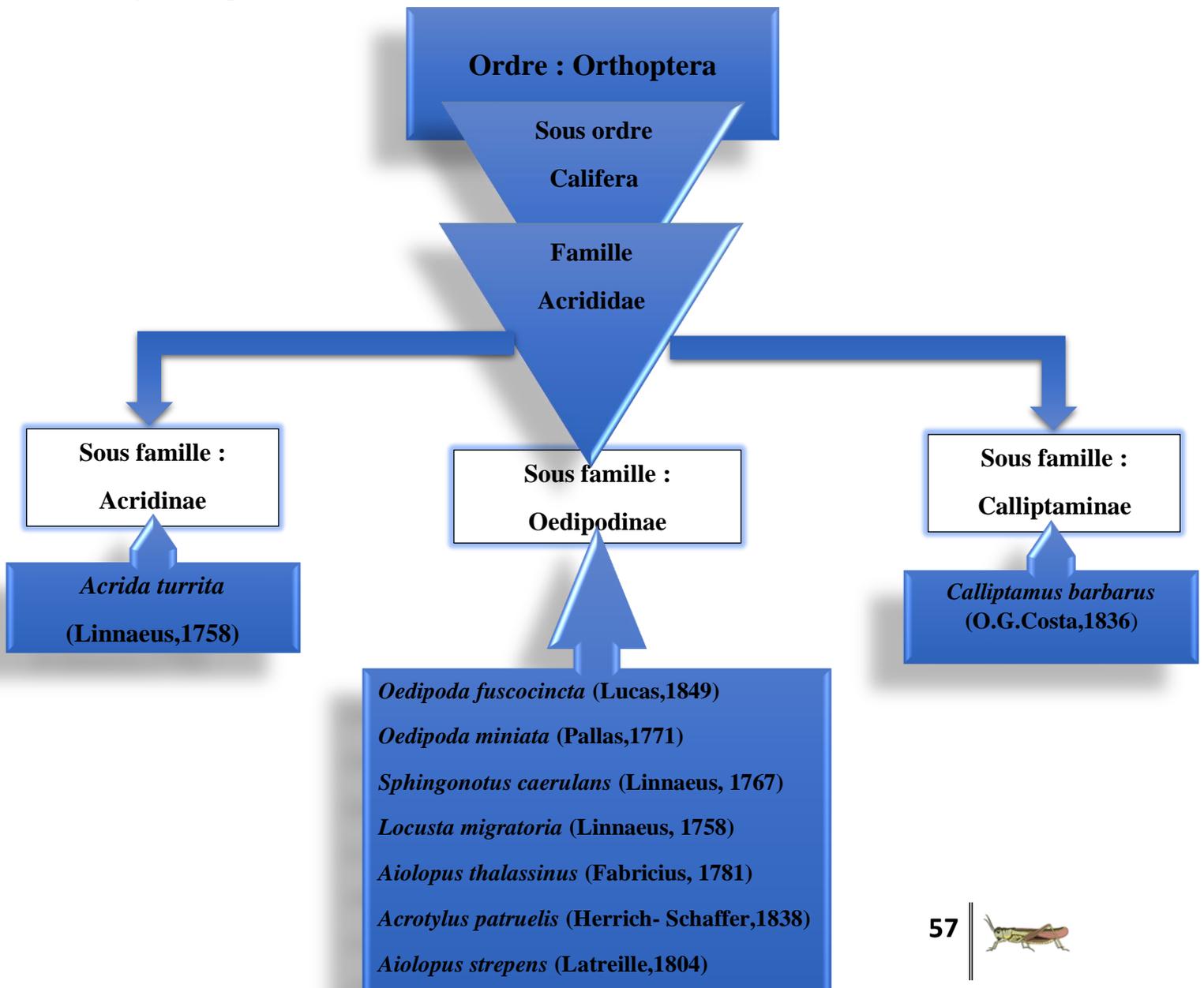
I-Résultats :

Les différentes sorties aux 03 sites d'études nous a permis de collecter 42 échantillons

(20 échantillons dans le milieu forestier, 13 échantillons dans le milieu naturel et 09 échantillons dans le milieu agricole) dont chaque échantillon correspond à une espèce (Tab. :14 ; annexe)

I-1- Présentation générale des espèces d'orthoptères de la région d'étude :

Les orthoptères capturés dans les 03 sites ont été identifiés en utilisant une clé d'identification de **Chopard (1943)** se basant sur les critères morphologiques, cette identification nous a permis de recenser 09 espèces (annexe dont leurs présentations systématiquement :



Résultats et discussion

La répartition de ces 09 espèces par sites est présentée dans le tableau suivant dont *Acrotylus patruelis* et *Oedipoda fuscocincta* sont les deux espèces les plus dominantes.

Tab.15 : Répartition des espèces par sites

	Site agricole	Site forestier	Site naturel
<i>Acrida turrata</i>	00	01	00
<i>Acrotylus patruelis</i>	02	06	03
<i>Aiolopus strepens</i>	00	05	00
<i>Aiolopus thalassinus</i>	02	02	01
<i>Calliptamus barbarus</i>	00	00	04
<i>Locusta migratoria</i>	02	01	01
<i>Oedipoda fuscocincta</i>	01	05	01
<i>Oedipoda miniata</i>	01	00	00
<i>Sphingonotus caerulans</i>	01	00	03
09 espèces	09 individus	20 individus	13 individus

Le second tableau montre la répartition des échantillons selon leurs sexe dans chaque site d'étude : (Tab. :16 ; annexe)

Tab. 17 : Répartition des individus selon le sexe

Nombre total	42 individus		
Nombre par site	Site agricole	Femelle	03
		Mâle	06
	Site forestier	Femelle	09
		Mâle	11
	Site naturel	Femelle	08
		Mâle	05



Résultats et discussion

I-2- Détermination des concentrations des protéines totales de l'hémolymphe des orthoptères :

Les concentrations des protéines totales de l'hémolymphe des orthoptères collectés a été déterminées à partir d'une courbe de référence (**Fig. : 40**) exprimant l'absorbance en fonction de la concentration du BSA (**albumine de sérum de bœuf**) ($\mu\text{g/ml}$) (**Tab. :18 ; annexe**).

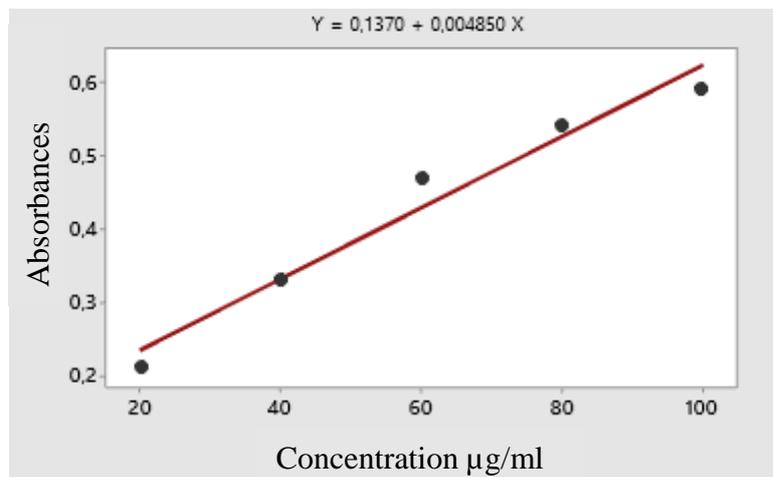


Fig.40 : Courbe d'étalonnage exprimant les absorbances à 595 nm en fonction des Concentration de BSA en $\mu\text{g/ml}$.

La calcul se fait en utilisant la formule de la courbe qui est de type : $Y=0,00485X + 0,137$

- **Y** c'est l'absorbance mesuré
- **X** c'est la concentration protéique a calculé

Les résultats obtenus sont présentés dans les tableaux suivants :



Résultats et discussion

Tab.9 : Résultats des absorbances et des concentrations de différents échantillons du site : agricole

N°	Espèces	Sexe	Absorbance	Concentration µg/ml
A1	<i>Acrotylus patruelis</i>	F	0,59	93,40
A2		M	0,39	52,16
A3	<i>Aiolopus thalassinus</i>	M	0,36	45,97
A4		F	0,5	74,84
A5	<i>Locusta migratoria</i>	F	0,59	93,40
A6		M	0,45	64,53
A7	<i>Oedipoda fuscocincta</i>	M	0,4	54,22
A8	<i>Oedipoda miniata</i>	M	0,39	52,16
A9	<i>Sphingonotus caerulans</i>	M	0,52	78,96

Tab20 : Résultats des absorbances et des concentrations de différents échantillons du site : forestier

N°	Espèce	Sexe	Absorbance	Concentration µg/ml
F1	<i>Acrotylus patruelis</i>	F	0,51	76,12
F2		M	0,42	57,75
F3		M	0,55	84,28
F4		M	0,52	78,16
F5		F	0,49	72,04
F6		M	0,53	80,20
F7		M	0,47	67,95
F8		<i>Aiolopus strepens</i>	M	0,53
F9	F		0,64	102,65
F10	F		0,63	100,61
F11	M		0,49	72,04
F12	F		0,66	106,73
F13	<i>Aiolopus thalassinus</i>		F	0,58
F14		M	0,42	57,75
F15	<i>Oedipoda fuscocincta</i>	F	0,66	106,73
F16		M	0,5	74,08
F17		M	0,56	86,32
F18		F	0,62	98,57
F19		M	0,49	72,04
F20	<i>Locusta migratoria</i>	F	0,68	110,81



Résultats et discussion

Tab 21 : Résultats des absorbances et des concentrations de différents échantillons du Site : naturel

N°	Espèce	Sexe	Absorbance	Concentration µg/ml
N1	<i>Acrotylus patruelis</i>	F	0,64	103,71
N2		M	0,41	56,28
N3		M	0,424	59,17
N4	<i>Aiolopus thalassinus</i>	F	0,6	95,46
N5	<i>Calliptamus barbarus</i>	M	0,5	74,84
N6		F	0,67	109,89
N7		F	0,57	89,27
N8		F	0,59	93,40
N9	<i>Sphingonotus caerulans</i>	F	0,42	79,58
N10		F	0,63	101,64
N11		M	0,452	64,94
N12	<i>Locusta migratoria</i>	F	0,61	97,52
N13	<i>Oedipoda fuscocincta</i>	M	0,44	62,47



Résultats et discussion

I-3- Caractérisations biochimiques des concentrations protéiques :

Les concentrations protéiques obtenues vont subir des analyses et tests statistiques adéquates dont le but de vérifier l'influence des facteurs : **espèce, sexe, milieu** sur ses concentrations.

I-3-1- Test de l'effet du *facteur espèce* sur les concentrations protéiques :

Pour vérifier si le facteur espèce a une influence sur les concentrations protéiques de l'hémolymphe des orthoptères, une **analyse de la variance a un facteur** a été réalisée (voir **tableau :22 ; annexe**) (**Fig. :41**).

Le résultat indique ; **p=0.32** : c'est-à-dire que le facteur espèce n'a aucun effet significatif sur les concentrations.

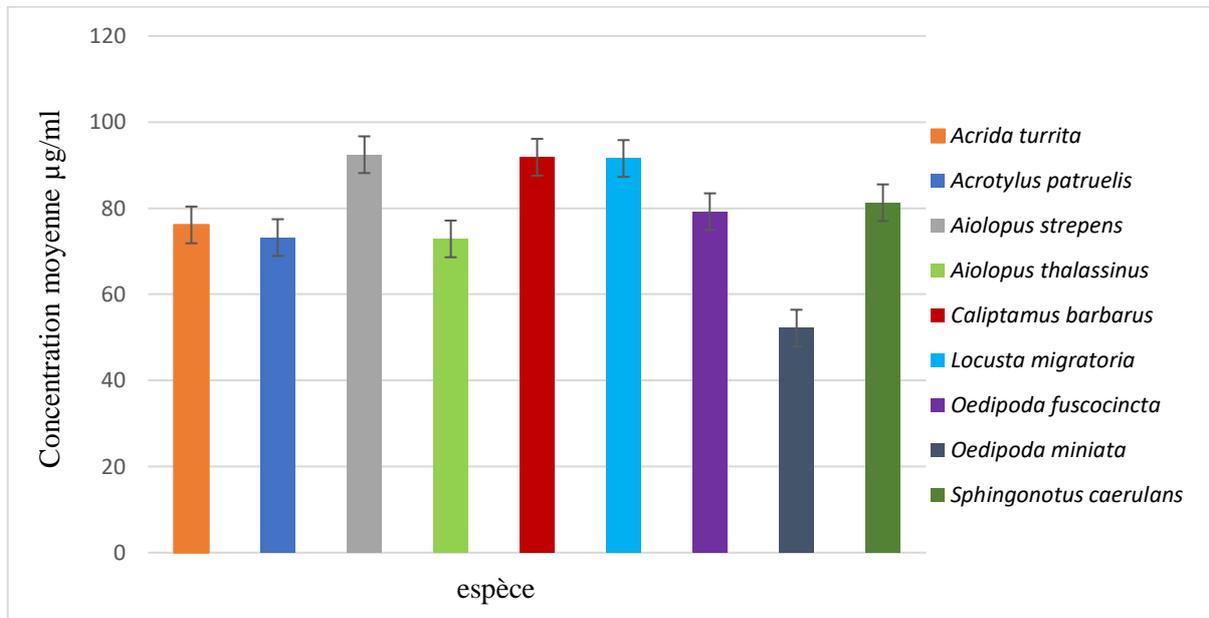


Fig. 41 : Présentation graphique des moyennes des concentrations protéiques des espèces collectées

I-3-2- Test de l'effet du *facteur sexe* sur les concentrations protéiques :

On cherche par ce test à vérifier si le deuxième facteur qui est **le sexe** a un effet sur les concentrations protéiques des orthoptères ; pour cela des comparaisons entre les femelles et mâles des espèces suivantes : *Acrotylus patruelis*, *Aipolus strepens*, *Ailopus thalassinus*, *Oedipoda fuscocincta* et *Sphingonotus caerulans*, a été effectué par un test de **Student** (**Tab. :23 ; annexe**), les résultats obtenus sont résumés dans le tableau en dessous :



Résultats et discussion

Tab.24 : Résultats du test de Student

Espèces*	<i>Acrotylus patruelis</i>	<i>Aipolus strepens</i>	<i>Ailopus thalassinus</i>	<i>Oedipoda fuscocincta</i>	<i>Sphingonotus caerulans</i>
P	0,03*	0,006*	0,03*	0,01*	0,29

* : Ce test a été réalisé uniquement pour les espèces qui possèdent des femelles et des mâles

Les résultats du test de **STUDENT** ont relevé que (**Fig. :42**) :

- ✓ Pour les espèces suivantes : *Acrotylus patruelis*, *Aipolus strepens*, *Ailopus thalassinus*, *Oedipoda fuscocincta* ; le sexe a un effet significatif sur les concentrations protéiques.
- ✓ Pour *Sphingonotus caerulans*, le facteur sexe n'a aucun effet significatif sur les concentrations protéiques ; **p=0.29**.

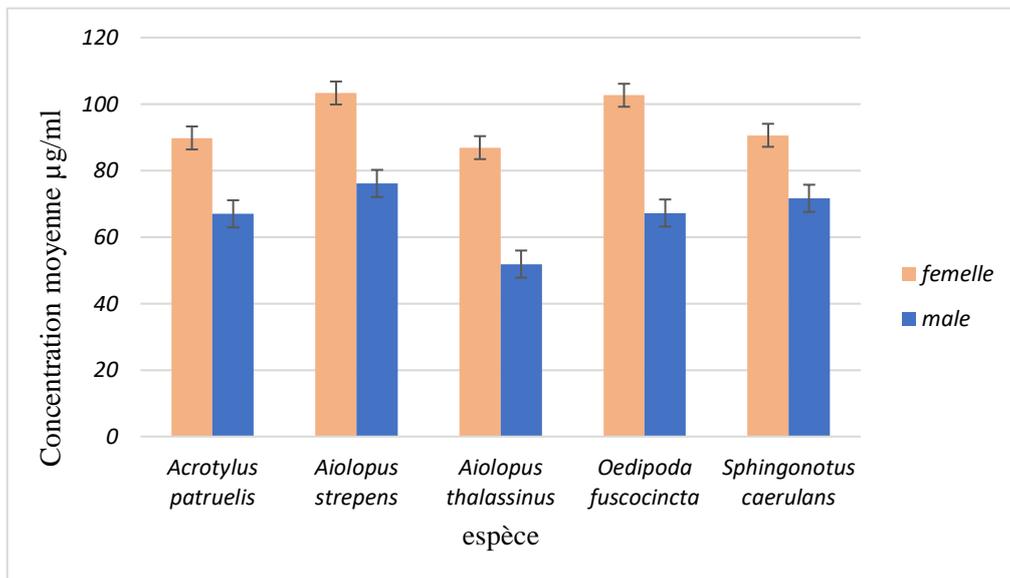


Fig. 42 : Comparaisons des moyennes de concentrations des femelles et mâles

Une autre comparaison a été réalisée entre les femelles de la même espèce et une autre entre les mâles dont le but de vérifier l'influence du facteur sexe sur les concentrations protéiques des orthoptères du même sexe. L'analyse de la variance a un facteur (**Tab. :25,26 ; annexe**) a donné les résultats suivantes (**Fig. :43,44**) :



Résultats et discussion

Aucune différence significative entre les femelles de la même espèce des orthoptères ;
 $p = 0,32$ Ainsi pour les mâles ; $p = 0,43$.

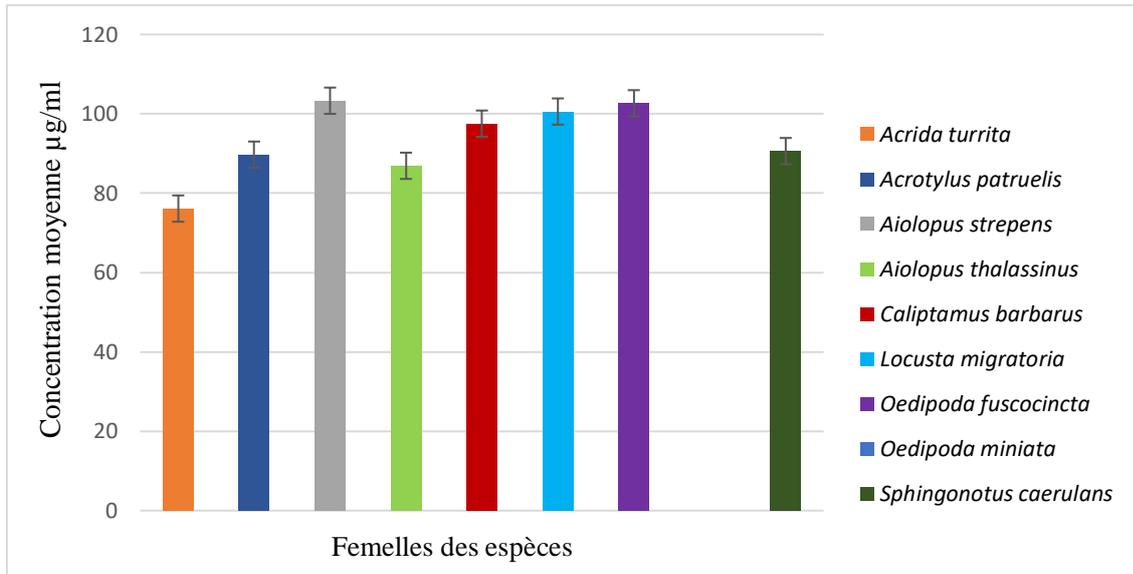


Fig.43 : Comparaison des concentrations moyennes des femelles

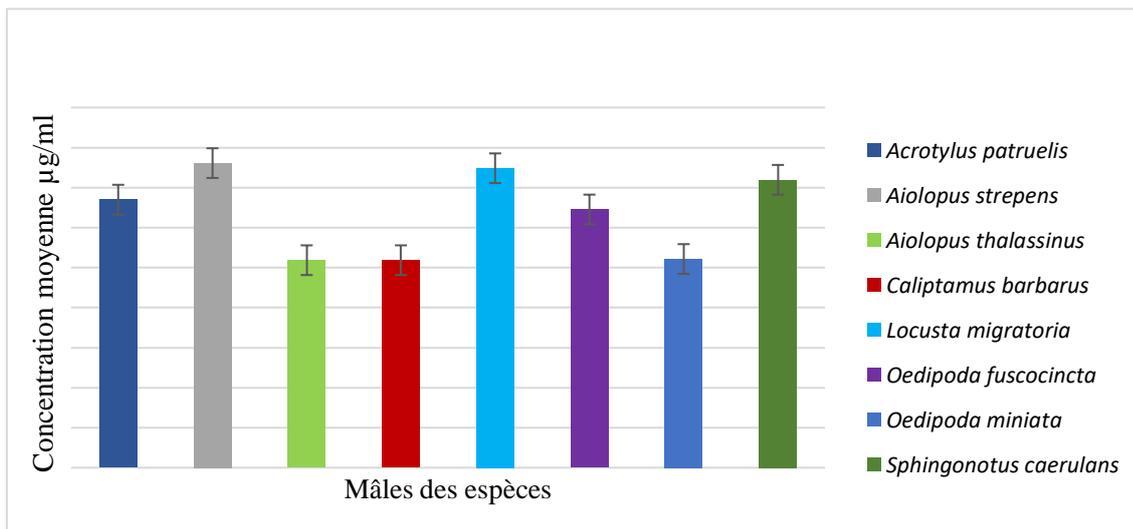


Fig.44 : Comparaison des concentrations moyennes des mâles



Résultats et discussion

I-3-3- Test de l'effet du *facteur milieu* sur les concentrations protéiques :

Puisque ces insectes sont collectés de différent site et que chaque site a ses caractérisations écologiques différentes, dans ce cas une comparaison des concentrations des espèces en fonction du milieu s'appose pour vérifier si le facteur milieu peut influencer ou non sur les concentrations des espèces.

Une analyse de la variance a deux facteurs (site/espèce) voir annexe a été réalisé, pour les espèces qui sont présent dans les trois sites : *Acrotylus patruelis*, *Aiolopus thalassinus*, *Locusta migratoria*, *Oedipoda fuscocincta* (Tab. :27 ; annexe) (Fig. : 45).

Les résultats indiquent :

Les concentrations des protéines totales des espèces d'orthoptères de la sous famille **Oedipodinae**; diffèrent significativement **p=0,000**. Le facteur milieu a un effet sur la concentration des protéines.

Les concentrations protéiques ont une différence significative **p =0,000**. Le facteur espèce influe sur la concentration des protéines

L'interaction des de facteurs(espèce*site) est significative ; elle a un effet sur les concentrations protéiques pour les espèces communes ; **p=0,000**.

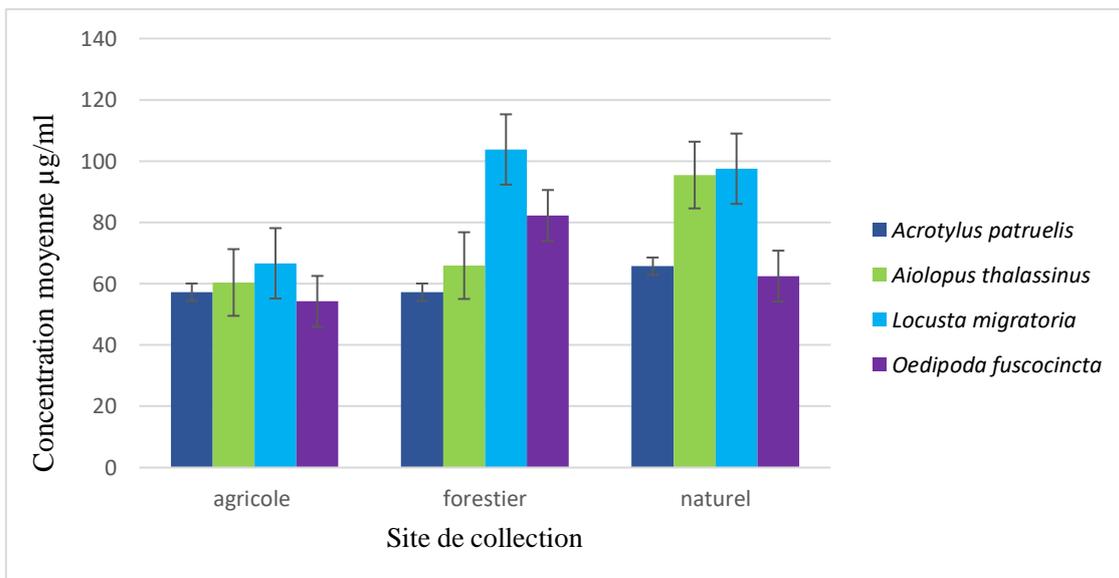


Fig. 45 : Présentation graphique de la comparaison des concentrations des espèces communes dans les 03 sites



II-Discussion

L'ensemble des résultats de notre travail nous a prouvé que les concentrations des protéines dans l'hémolymphe des orthoptères n'est pas stable mais subit des variations qui dépendent de plusieurs facteurs ;

Une étude réalisée par **40** chez *Acheta domesticus* ont montré que les concentrations hémolympatiques des protéines diminuent progressivement au cours de la vie adulte ainsi il semble peu douteux que les conditions d'élevage, l'état nutritionnel, ainsi que l'âge exercent une grande influence sur la teneur en protéine.

II-1- variations des concentrations protéiques dans l'hémolymphe des orthoptères sous l'influence d'espèces :

L'analyse statistique de nos résultats indique que le facteur espèce n'a aucun effet significatif sur le dosage quantitatif ; cela est justifier car la distinction entre les espèces pourra se faire qu'avec un dosage qualitatif (par électrophorèse) avec un profil qui caractérise les protéines de l'hémolymphe.

Dans ce contexte une étude réalisée par **04**;sur le un dosage quantitatif des protéines totales de deux espèces *Schistocerca gregaria* et *Locusta migratoria* pendant les changement phasaire (passage de la phase solitaire a la phase grégaire), ils ont constaté la présence chez *L. migratoria* et *S. gregaria* d'un facteur hémolympatique régulant la synthèse de la protéine grégarisant chez les deux espèces acridiennes et par conséquent il provoque une différence et une variations dans les concentrations protéiques pendant le passage de la phase solitaire a la phase grégaire.

II-2-Variations des concentrations protéiques dans l'hémolymphe sous l'effet du sexe des orthoptères :

Les comparaisons effectuées entre les concentrations protéiques des femelles et mâles de chaque espèce d'orthoptères, ont montré qu'il y a un effet significatif du facteur sexe. Ces résultats sont prouvés et expliqué par plusieurs études :

Les travaux de **27 & 45**qui ont montré que l'hémolymphe de nombreux insectes femelles matures contient des protéines qui



Résultats et discussion

ne sont pas détectées ou qui ne sont pas facilement détectées dans l'hémolymphe des mâles. Celles-ci constituent l'essentiel des protéines de l'œuf suggéré **50** est nommé «vitellogénine» par **34**.

Ainsi que les études de **14** ont montré que pendant l'activité ovarienne, chez *PERIPLANETA AMERICANA* il peut y avoir non seulement un changement dans la concentration protéiques, mais aussi des différences dans la composition chimique des principales protéines.

26 ont suggéré ; que les protéines de l'hémolymphe peuvent être utilisées pour la croissance somatique chez *Schistocerca gregaria* est que une grande quantité de protéines ont été déposés dans la cuticule et les muscles de vol pendant la phase de croissance somatique et une fois le dépôt de jaune commence une augmentation significative de la concentration de protéine hémolymphe chez la femelle ; cependant, pendant les étapes finales de la vitellogenèse, l'inverse semble être vrai car les niveaux de protéines dans l'hémolymphe est considérablement réduite. Une étude de **21** a montré aussi que la concentration des protéines hémolympatiques est sensiblement constante chez le mâle adulte alors qu'elle diminue chez la femelle pendant la vitellogenèse ainsi les études de **34** ont montré aussi que les concentrations des protéines de l'hémolymphe de *Locusta migratoria* migratoriodes du stade larvaire jusqu'au stade adulte chez le mâle comme chez la femelle les concentrations protéiques présentent une stabilité ; le métamorphose est marqué par une diminution de la concentration des protéiques. Ainsi à la fin de la vitellogenèse, la concentration des protéines diminue dans l'hémolymphe de la femelle. Par contre chez le mâle, les protéines augmentent jusqu'à la maturité sexuelle. Une autre étude de **33** a montré que les femelles d'*L. sexdentatus* ont une concentration en protéines supérieure à celle des mâles pris aux mêmes stades, ses différences analogues en ce qui concerne les protéines ont déjà été rapportés dans d'autres familles ou d'autres ordres d'insectes ; par exemple chez des Chrysomélidae, des Hyménoptères Vespides, ou des Lépidoptères (**35**). Ce phénomène est sans doute est relié aux besoins supplémentaires des femelles pour la maturation de leurs ovaires.

Dans le même contexte **28** ont montré que ; la concentration quantitative des protéines dans l'hémolymphe pendant toute la durée de vie des insectes femelles et mâles de *GesonuJa punctifrons* subit des modifications ; la teneur totale en protéines de l'hémolymphe dans la femelle émergée était de 23 µg / ml et augmentée à un maximum de 48,9 µg / ml le 14e jour



Résultats et discussion

déclinant ensuite à 21 µg / ml le 26e jour. Au cours de la 2e gonadotrophie période (28-44e jour), une tendance à la hausse de la concentration en protéines d'hémolymphe de 28e au 36e jour 31, 2µg / ml et chuté à 21,5µg / ml le 44e jour. À partir du 44e jour (deuxième ponte) au 52e jour (période sénescence), le taux de protéine hémolymphe progressivement diminué à 10, 5µg / ml. La concentration d'hémolymphe du mâle était de 12,1 et 10,2µg / ml aux 1er et 38e jours respectivement, et n'ont pas montré d'autres variations.

Les analyses statistiques des comparaisons entre les femelles ou bien entre les mâles de la même espèce ont montré que le facteur sexe n'a aucun effet significatif ; cela peut être expliqué que tous les insectes sont de dans le même stade ; imaginal (des adultes);

26 ; a montré que chez la femelle adulte *Schistocerca gregaria*, la concentration des protéines augmentent après l'émergence et diminue à la fin du cycle de développement des ovocytes. Alors que **34** ont prouvé que la concentration protéique de l'hémolymphe à divers stades de *M. americanurna* possède des modifications au cours des cinq premiers stades larvaires, la concentration est restée entre 2 et 3%. Au cours du sixième stade, il y avait une augmentation rapide de la concentration de protéines. La concentration plus élevée a persisté au stade nymphal mais progressivement tombe une fois de plus au cours de la seconde moitié de la vie nymphale. Dans la même année **40** ont montré que la concentration de protéines totales dans l'hémolymphe est élevée, environ 6%, au cours des deux derniers stades larvaires et chez le grillon adulte fraîchement mué. Peu de temps après la mue adulte, le taux de protéines diminue, de sorte que le quinzième jour de vie adulte, la concentration s'est avérée être d'environ 4%. Au trentième jour un niveau d'environ 3,5% est atteint et la concentration est maintenue à environ ce niveau jusqu'au soixantième jour.

14 ont réalisé des travaux sur les *Phormia regina* ; et ont trouvé une énorme augmentation de la concentration des protéines dans l'hémolymphe au cours du développement larvaire : la concentration moyenne est inférieure à 1% à la fin du deuxième stade et augmente à près de 20% à la fin du troisième stade larvaire. Une situation totalement opposée a été trouvée lors de la métamorphose, une nette baisse de la concentration protéique : pendant la transformation de la larve en chrysalide blanche, et au moment de l'adulte émergence. Entre ces deux périodes, la concentration protéique reste à un niveau assez constant la valeur moyenne pour la mouche nouvellement émergée s'élève à 3,5%, ce qui n'est qu'environ un sixième de cela pour la larve



Résultats et discussion

complètement développée. La concentration des protéines augmente rapidement chez la larve en croissance, diminue chez la chrysalide et chez l'adulte diminue fortement au moment de l'émergence des adultes.

II-3- Relation entre le milieu et les variations des concentrations protéiques des espèces :

Dans notre étude le facteur milieu semble avoir un effet significatif sur les concentrations protéiques de l'hémolymphe des orthoptères ;

L'étude réalisé par 48 a prouvé que la concentration en protéine chez la femelle adulte *P. apterus* a augmenté pendant la période d'alimentation intensive et a diminué de manière significative avant la ponte. Une autre étude réalisée par 07 sur *Musca domestica* L. a montré que la concentration de protéines de l'hémolymphe des femelles laitières a augmenté de 47,4% le troisième jour, tandis que les femelles d'eau sucrée ont montré une diminution de 54,7% le même jour alors que les mâles laitiers ont montré seulement 27,8 % d'augmentation le troisième jour, tandis que les mâles d'eau sucrée ont montré un 33,4 % diminution. D'un autre part, du troisième au quatrième jour, la concentration de protéines a chuté de 6,3% femelles nourries au lait. Un grand pourcentage de femelles examinées le quatrième jour avaient pondu des œufs.

La concentration protéique des mâles laitiers est restée constante, tandis que les mâles et les femelles ont nourri de l'eau sucrée, d'autres diminutions se sont produites. La concentration de protéines la plus élevée s'est produit à peu près au moment de la vitellogenèse la plus active dans le développement ovaire (26).

Chez la mouche domestique, une augmentation substantielle de la protéine hémolymphe s'est produite après 1 jour d'alimentation lactée, indiquant que les protéines alimentaires seront disponibles sous forme de protéines hémolympatiques. La vitellogenèse chez la mouche domestique semble être précédée par une accumulation progressive de protéine hémolymphe qui commence peu après la protéine est nourrie, tandis que dans l'hémolymphe de la mouche, l'accumulation de protéines se produit plutôt soudainement après 2 jours d'alimentation avec un régime alimentaire approprié. Contrairement à l'étude précédente 28 suggèrent que la teneur en protéines hémolymphe de *Locusta migratoria* ne change pas de manière significative sous conditions de privation alimentaire. bien que la protéine d'hémolymphe totale de la femelle les



Résultats et discussion

insectes fluctuent de manière cyclique (Engelmann, 1970). Cela est expliqué par **33 ; Locusta** et **Schistocerca** sont des espèces migratrices de sauterelles qui constituent des réserves alimentaires pour les besoins des reproducteurs et les activités de migrations. Une autre étude par les mêmes auteurs est effectuée sur l'effet de la famine sur la concentration protéique sur une espèce non migratrice *Oxya japonica* qui n'ont pas une réserve de nourriture a montré qu'il une diminution significative dans la concentration des protéines dans l'hémolymphe de l'insecte.





Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Les protéines de l'hémolymphe des insectes ont été et ils sont toujours pris l'attention et l'intérêt dans beaucoup d'études biochimiques et systématiques, ceci nous a encouragé à réaliser ce travail dont le but d'élucider les significations biochimiques des différents concentrations protéiques chez les espèces collectés et notamment de comparer les profils protéiques de chaque espèce avec la systématique classique morphologique.

Nous avons pu réaliser que le dosage quantitatif des protéines de l'hémolymphe des 09 espèces collectées dans les trois sites dans la région de Tébessa. Mais le dosage qualitatif n'a pas réussi et on n'a pas eu le temps de le refaire à cause des conditions de confinement imposé par la pandémie CONVID19.

Le dosage quantitatif des protéines de l'hémolymphe réalisé par la méthode de BRADFORD (1976) a permis de constater que les concentrations des protéines ne sont pas stables ; ils varient sous l'influence de nourriture disponible dans le milieu, aussi les concentrations protéiques se diffère entre les deux sexes et cela est expliqué par les différents phase de reproduction passé par les femelles alors que les mâles ces concentrations se stabilisent après la maturation.

La distinction entre les espèces ne peut pas se faire que par un dosage quantitatif. Seul le profil protéique « protéinogramme » établie par électrophorèse sur gel polyacrylamide pourra soit confirmé ou bien proposé une autre systématique.

Dans le même axe, pour l'avenir des travaux seraient plus utiles d'approfondir dans le dosage quantitatif notamment par l'électrophorèse SDS PAGE qui donnera une large gamme de connaissances et informations biochimiques sur les protéines de l'hémolymphe des insectes ainsi utilisé comme un nouveau support dans la systématique biochimique.





Références bibliographiques

- 1-Allais J.P. & Bergerard J.** (1964). Nature et évolution des lipides au cours de l'embryogenèse de *Locusta migratoria*. inst.physiol., vol.10, 20p.
- 2- Baehar J.C.** (1973). Contribution à l'étude des variations naturelle et expérimentales de la protéinémie chez les femelles de *Rhodnius prolixus* (stal), Générale comparative endocrinologie, Vol.22, 08p.
- 3- Barataud J.** (2012). Les orthoptères : introduction à la connaissance de leurs biologies et leur écologie. 24p.
- 4- Benhamouda A., Ammar M., De loof A. & Benhamouda M.** (2015). Identifie antigénique des facteurs contrôlant la grégation chez le criquet migrants et criquet pèlerin, Afrique science. Vol. 11, (04),11p.
- 5- Bendjemai S.** (2017). Contribution à l'étude de la faune orthoptérologique de la région d'Ain Youcef (Tlemcen) : Régime alimentaire de *Calliptamus barbarus*.(mémoire de master. faculté des sciences. Tlemcen).71p.
- 6- Benmabrouk S. & Delloul K.** (2015). Contribution a une étude comparative de la écologie des orthoptères principales proies d'un échassier le héron garde bœuf (**Ardeau ibis**) à El Mardja et Ain Zarga Tébessa. (Mémoire de master. Faculté des sciences. Tébessa) 98p.
- 7-Bodnaryk P.R. & Morrison P.E.** (1966). The relationship between nutrition hoemolymph proteins and ovarian developement in *Musca domestica* L., inst. Physiol., Vol.12, 16p.
- 8- Bonjochet & Tamayo** (2001). Protein content quantification by bradford method. Handbook of plant ecophysiology techniques. p14.
- 09- Bouabida H.** (2013) Inventaire des moustiques de la région de Tébessa et bioactivité du spiromesifène sur la reproduction de *Culiseta longiareolata* et *Culex pipiens* : aspects écologique et biochimique (thèse de magister faculté des sciences. Tebessa). 172p.
- 10- Bouguessa S.** (2017). Contribution à l'étude bioécologique des orthoptères de la région de Tébessa (thèse de doctorat, faculté des sciences. ANNABA). 165p.
- 11- Bounechada M.** (2007). Recherches sur les Orthoptères. Etude bioécologique et essais de lutte biologique sur *Ocneridia volxemi* Bol. (Orthoptera, Pamphagidae) dans la région de Sétif (thèse de doctorat, Faculté des Sciences, Sétif).177p.
- 12-Brahimi D.** (2015). Bio-écologie et régime alimentaire des principales espèces d'Orthoptères dans la région de Naâma (mémoire de master, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers, Naama).105p.
- 13-Candy D.J. & Kilby B.A.** (1960). The biosynthesis of trehalose in the locust fat body, biochi., vol.78, 06p.



- 14-Chopard L.** (1943). Orthoptéroïdes de l'Afrique du nord. Ed. Larousse, Paris, 540p.
- 15-Chen P.S. & Levenbook L.** (1966). Studies on the hoemolymph proteins of the blowfly *Phormia regina*, Inst. Physiol., Vol.12, 17p.
- 16-Cario M.L.** (1986). Systématique biochimique. Cahier de biologie marine, tome. xxvii. 13p.
- 17-Clemot M.**(s.d.). Identification des orthoptères de Vendée, Les naturalistes Vendée, 90p.
- 18-Cocio- costel M.E. & Mondy N.** (2013). Besoin nutritif des insectes, Interaction insectes-plantes, 11p.
- 19-Coles G.C.** (1965). Hoemolymph proteins and yolk formation in *Rhodnius prolixus* stal, Inst.biol., vol.43. 09p.
- 20- Dakouoi D., Essuman S., raina S.K., Brehfain M. et Drif L.,** (1997). Les inhibiteurs des facteurs humoraux chez les criquets migrateurs, *Schistocerca gregaria* et *Locusta migratoria* : perspectives d'utilisation dans la lutte biologique. Insect. Sci.. Appli. vol. 17, no. 3/4, pp. 379-388.
- 21-DANOUN M** (2016). Bio-écologie et régime alimentaire des principales espèces d'Orthoptères dans la région de Tlemcen (thèse de magister, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de l'Univers. Tlemcen) 140p.
- 22-Drif L. & Brehelim M.** (1993). Purification and characterization of agglutine from the hoemolymph of *Locusta migratoria*, Inst. Biol., Vol. 24, (03), 07p.
- 23-Favrel C.** (1998). Ecophysiologie de larve *Dinorthis cephalolus* (plécoptères, perlidé) exposé a un milieu acide (thèse de doctorat E.P.R.E.S. Metz). 256p.
- 24-Florkin M. & Jeuniaux CH.** (1965). Métabolisme du tréhalose et du glycogène chez le vers à soie en relation avec la mue, le filage et le métamorphisme, Bulletin de l'académie royale de la Belgique, 12p.
- 25-Gaumont R.** (2020), orthoptères et dermaptères, encyclopédie universalis. (En ligne).
- 26-Hill J. & Goldsworth F.** (1969). The utilization of reserves during starvation of larvae of migratory locust, Comp.biochim. physiol., Vol.36, 10p.
- 27-Hillyer J.F. & Pass G.** (2019). The insect circulatory system ; structure, fonction and evolution. Annul review of entomology, Vol. 65, 25p.



- 28-Jullien P., Gorrivant W. & Perron J.M.** (1976). Evolution comparative des protéines de l'hémolymphe et des corps gras de *Calliphora erythrocephala*, *Insect.bio*, vol. 07, 06p.
- 29-Klowden M.J.** (2013). *Physiological system in insect*, 3e ed, Elsevier, london .uk.
- 30-Le coq M.** (2010a). *Taxonomie et systématique des acridiens*, 109p.
- 31-Le coq M.**(2010b). *Morphologie des acridiens*, 75p.
- 32-Le coq M.** (2012). *Bio écologie du criquet*. FAO-CLC-PRO,217p.
- 33-Lim S.& Lee S.S.** (1980). The effet of straviation on hoemolymph metabolites, faty body and ovarian developement in *Oxya japonica* (acridae, orthopetera), *insect. Phusiol.*, vol. 27, 04p.
- 34-Loughton B.G. & West A.S.** (1964). The development and distribution of hemolymph proteins in lepidoptera. *Inst. Physiol.*, Vol.11,16p.
- 35-Loughton B.G.** (1965). An investigation of hemolymph proteins in lepidoptere. *Insect. Physiol.*, Vol.11,12p.
- 36-Lowrence G.** (2012). *Insect molecular biology and chemistry*. 1ere ed, Elservier, North Carolina. USA.
- 37-Maamri T. & Meddah D.** (2013). *Inventaire des orthoptères dans deux régions phoemicale (Ghardaia et Ouargla) (Mémoire de master, Faculté des sciences Ouargla)* 104p.
- 38- Marty R. & Zalta J.P.** (1967). Significations possibles des variations protéiniques de l'hémolymphe des orthoptères analysée par électrophorèse en gel de polyacrylamide J. *Insect Physiol.*, 1968, *Vol.* 14, pp. 861 to 868.
- 39-Meni mahzoum A.** (2013). *Initiation à la description morphologie et la systématique des orthoptères acridiens. (Mémoire de master, Université Fès)* 53p.
- 40-Nowseilski J.W. & Patton R.J.** (1964). Variation in the hoemolymph proteins, amino acid and lipid levels in adults house cricket, *acheta domesticus* L. of diggerence ages. *Insect. physiol.*, vol. 11,08p.
- 41-Naoumaff M. & Jeuniaux CH.** (1970). Modifications de la composante cationique inorganique de l'hémolymphe au cours du développement et des métamorphismes de quelque lépidoptères. *Archive internationale de physiologie et de biochimie*, Vol. 78, 9p.



- 42-Outtar F.** (2009). Utilisation de quelque bio insecticide sur le criquet migrateur *Locusta migratoria* (linnée 1758) Oedipodinae (Mémoire de magister, école nationale supérieur agronomique. Alger) 205p.
- 43-Ozturk G., Cakici O. & Arikan H.** (2018). Morphological characterization of hemocyte types in some species belonging to tettigonnidae and pamphagidae (insecta orthoptera). Turkich journal of zoology, Vol. 42, 06p.
- 44-Panchout R** (2007). Physiologie des insectes.
- 45-Paranjape S.V., Naidu N.M. & Godbale N.** (1987). Significance of hemolymph protein patterns in biosystematic studies of some groupe locust(tetrigidae). Sci.Vol. 96(05),06p.
- 46-Planlevin G.** (1967). Dosage Na^+ , K^+ , Ca^+ et Mg^+ de l'hémolymphe de *Calleria mellonella*. Insect.physiol., vol. 13,14p.
- 47-Ryelandt J.** (2004). Clé d'identification des orthopteres.132p.
- 48-Slama K.** (1964). Hormonal control of hemolymph proteins concentration in the adults of *Pyrrhocoris apterus* L(hemiptera). Insect.physiol., vol.10,10p.
- 49-Schoeller J.R.** (1980). Les insectes physiologie développement. 4eme ed., Masson, Paris, France.
- 50-Wang C.M. & Patton R.J.** (1968). The separation and characterization of the hemolymph proteins of several insects. insect. Physiol., vol. 14,07p.
- 51-Wyatt G.R.** (1978). Insect plasma proteins. Biochim., Vol.47,39p.
- 52-Ying Y., Cao Y., Xio Y. & Liu F.** (2016). Wright giesma staining to observe phagocytis in *Locusta migratoria* infected with (metarhizium acridium). Journal of pathology,37p.
- 53-** www.afbarthropodes.com
- 54-** www.alstudio1.pbworks.com
- 55-** www.animateur-nature.com
- 56-** www.aramel.free.fr
- 57-** www.ecrins-parcnational.fr
- 58-** www.google.maps.com
- 59-** www.insectes-net.fr



- 60- www.insecte.org
- 61- www.image.slidesharecdn.com
- 62- www.naturalista.mx
- 63- www.medi-as.com
- 64- www.passion-entomologie.fr
- 65- www.pleinderessources.gouv
- 66- www.p1.storage.canalblog.com
- 67- www.quelestcetanimal-lagalerie.com
- 68- www.universalis.fr/encyclopedie
- 69- www.zoologie-uclouvain.be





Annexes

Tab.04 : produits chimiques et matériels utilisés pour le dosage quantitatif

Produits chimiques	Matériels
Bleu de Coomassie G-250	Spatule
BSA (sérum albumine bovine)	Becher 200ml Éprouvettes gradués Flacon sombre
Acide orthophosphorique	Papier aluminium
Ethanol	Tubes à essais
Eau distillée	Portoire
	Pipettes et micropipettes réglables
	Spectrophotomètre
	Agitateur
	Cuves

Tab.06 : produits chimiques et matériels utilisés pour l'électrophorèse SDS PAGE

Matériels	Produits
Agitateur	Acrylamide
Ph mètre	Bis acrylamide Bis-acrylamide (N, N'-méthylènebisacrylamide)
Balance de précision	Hcl
Eprouvette gradué	Tris (2-hydroxyméthyl-2-méthyl-1,3-propanediol)
Becher	SDS (Sodium Dodecyl Sulfate)
Spatules	TEMED (N, N, N', N'-tetraméthylène-éthylènediamine)
Entonnoir	APS (Persulfate d'ammonium)
Micropipettes	Mercaptoéthanol
Arlen Meyer	Glycérol
Papier filtre	Bleu de bromophenol
Cuve d'électrophorèse	Bleu de Coomassie R-250
Plaques en verre	Glycine
Pinge	EDTA
Générateur	Propanol2
	Acide acétique
	Eau distillée

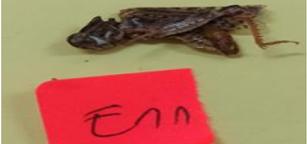


Tab.7 : Solutions préparées pour l'électrophorèse

Produit	Quantité
Solution01 : Acrylamide 30%	
Acrylamide	30 g
Bis acrylamide	0.6 g
Eau distillée	100 ml
Solution 02 : Lower buffer ph 8.8	
Tris	18.15 g
Eau distillée ajusté à un pH 8.8 avec HCL 6N	100ml
Solution03 : Upper buffer ph 6.8	
Tris	6 g
Eau distillée ajusté à un pH 6.8 avec HCL 6N	100ml
Solution 03 : Glycérol 5 ,5%	
Glycérol	5,5 ml
Eau distillée	100ml
Solution04 : SDS 10%	
SDS	10g
Eau distillée	100ml
Solution 05 : SDS 14%	
SDS	14g
Eau distillée	100ml
Solution 06 : APS 10%	
APS	1g
Eau distillée	10 ml



➤ Tab. 14 : photos des 42 échantillons collectés

 <p><i>Aiolopus strepens</i> FEMELLE</p>	 <p><i>Aiolopus thalassinus</i> FEMELLE</p>	 <p><i>Acrotylus patruelis</i> MALE</p>	 <p><i>Oedipoda fuscocincta</i> FEMELLE</p>
 <p><i>Oedipoda fuscocincta</i> MALE</p>	 <p><i>Aiolopus strepens</i> FEMELLE</p>	 <p><i>Aiolopus strepens</i> MALE</p>	 <p><i>Aiolopus strepens</i> FEMELLE</p>
 <p><i>Acrotylus patruelis</i> MALE</p>	 <p><i>Acrida turrita</i> FEMELLE</p>	 <p><i>Acrotylus patruelis</i> MALE</p>	 <p><i>Oedipoda fuscocincta</i> MALE</p>
 <p><i>Oedipoda fuscocincta</i> FEMELLE</p>	 <p><i>Oedipoda fuscocincta</i> MALE</p>	 <p><i>Acrotylus patruelis</i> MALE</p>	 <p><i>Aiolopus strepens</i> FEMELLE</p>



Annexes

			
<i>Aiolopus thalassinus</i> MALE	<i>Acrotylus patruelis</i> FEMELLE	<i>Locusta migratoria</i> FEMELLE	<i>Acrotylus patruelis</i> MALE

➤ **Milieu naturel :**

			
<i>Locusta migratoria</i> FEMELLE	<i>Oedipoda fuscocincta</i> MALE	<i>Acrotylus patruelis</i> FEMELLE	<i>Caliptamus barbarus</i> MALE
			
<i>Caliptamus barbarus</i> FEMELLE	<i>Aiolopus thalassinus</i> FEMELLE	<i>Sphingonotus caerulans</i> FEMELLE	<i>Acrotylus patruelis</i> MALE

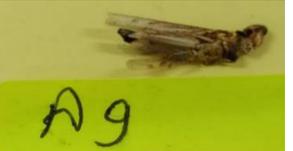


Annexes

 <p><i>Caliptamus barbarus</i> FEMELLE</p>	 <p><i>Caliptamus barbarus</i> FEMELLE</p>	 <p><i>Sphingonotus caerulans</i> FEMELLE</p>	 <p><i>Acrotylus patruelis</i> MALE</p>
 <p><i>Sphingonotus caerulans</i> MALE</p>			



➤ Champ de blé :

 <p><i>Aiolopus thalassinus</i> FEMELLE</p>	 <p><i>Oedipoda miniata</i> MALE</p>	 <p><i>Acrotylus patruelis</i> FEMELLE</p>
 <p><i>Aiolopus thalassinus</i> MALE</p>	 <p><i>Oedipoda fuscocincta</i> MALE</p>	 <p><i>Locusta migratoria</i> FEMELLE</p>
 <p><i>Acrotylus patruelis</i> MALE</p>	 <p><i>Locusta migratoria</i> MALE</p>	 <p><i>Sphingonotus caeruleus</i> MALE</p>



Tab.17 : Répartition des espèces selon le sexe

	Milieu agricole		Milieu forestier		Milieu naturel	
	Femelle	Mâle	Femelle	Mâle	Femelle	Mâle
<i>Acrida turrata</i>	-	-	+	-	-	-
<i>Acrotilus patruelis</i>	+	+	+	+	+	+
<i>Aiolopus strepens</i>	-	-	+	+	-	-
<i>Aiolopus thalassinus</i>	+	+	+	+	+	-
<i>Caliptamus barbarus</i>	-	-	-	-	+	+
<i>Locusta migratoria</i>	+	+	+	-	+	-
<i>Oedipoda fuscocincta</i>	-	+	+	-	-	+
<i>Oedipoda miniata</i>	+	-	-	-	-	-
<i>Sphingonotus caerulans</i>	-	+	-	-	+	+

Tab.18 : Concentrations de BSA en µg/ml et les absorbances correspondantes

	1	2	3	4	5	6
Concentration du BSA µg/ml	0	20	40	60	80	100
Absorbances	0	0,21	0,33	0,47	0,54	0,59

Tab.22 Analyse de la variance a un critère de comparaison (espèce)

Source	DDL	SCE	CM	F _{obs}	Valeur P
Espèces	8	3431	428,9	1,41	0,230
Erreur	33	10062	304,9		
Total	41	13494			



Tab. 23: Résultats du test de Student (mâle/femelle)

Hypothèse nulle $H_0 : \mu_1 - \mu_2 = 0$

Hypothèse alternative $H_1 : \mu_1 - \mu_2 \neq 0$

a- Pour l'espèce : *Acrotylus patruelis*

Valeur de T	DL	Valeur P
2,52	9	0,033*

b- Pour l'espèce : *Aipolus strepens*

Valeur de T	DL	Valeur P
7,11	3	0,006*

c- Pour l'espèce : *Ailopus thalassinus*

Valeur de T	DL	Valeur P
3,84	3	0,031*

d- Pour l'espèce : *Oedipoda fuscocincta*

Valeur de T	DL	Valeur P
3,69	6	0,010*

e- Pour l'espèce : *Sphingonotus caerulans*

Valeur de T	DL	Valeur P
1,43	2	0,290

Tab.25 : Analyse de la variance a un critère de comparaison (femelle)

Source	DDL	SCE	CM	F _{obs}	Valeur P
Espèce F	7	1113	158,9	1,31	0,323
Erreur	12	1452	121,0		
Total	19	2565			



Tab.26 : Analyse de la variance a un critère de comparaison (mâle)

Source	DDL	SCE	CM	F _{obs}	Valeur P
Espèce M	7	1001	143,0	1,07	0,431
Erreur	14	1874	133,9		
Total	21	2875			

Tab.27 : Analyse de la variance a deux critères de comparaison

(Espèce/site)

Source	DDL	SCE	CM	F _{obs}	Valeur P
Sites	2	8173	4086,44	57,87	0,000*
Espèces	3	7017	2338,89	33,12	0,000*
Sites*espèces	6	4778	796,30	11,28	0,000*
Erreur	60	4237	70,62		
Total	71	24205			

