

Efficacité comparée de *Metarhizium anisopliae* (Hypocreale : Clavicipitaceae) sur les différents états biologiques du criquet sénégalais : *Oedaleus senegalensis* (Orthoptères : Acrididea)

Mamour TOURE* et Mady NDIAYE

Unité d'Entomologie, Laboratoire Biologie de la Reproduction, Département de Biologie Animale, Faculté des Sciences et Techniques, Université Cheikh Anta Diop de Dakar, BP 5005 Dakar Fann, Sénégal.

* Correspondance, courriel : touresnfst@yahoo.fr

Résumé

Une souche locale de *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff Sorokin) est testée sur les œufs, sur les larves et adultes de *Oedaleus senegalensis* (Krauss, 1877). i- Des œufs secs, réhydratés sont infectés avec une formulation huileuse ; des œufs secs sont infectés avec la même formulation huileuse que le premier lot, un autre lot d'œufs secs réhydratés est infecté avec des spores sèches, enfin des œufs dans de l'eau distillée servent de témoin. ii- Les larves et les adultes sont infectés avec une formulation huileuse. Les insectes infectés et les témoins non traités sont placés dans des cages et les constats sont faits quotidiennement. Six jours après infection, 90 % des œufs réhydratés sont détruits contre 40 % des œufs secs. Les œufs secs infectés avec la formulation huileuse commencent à éclater tardivement. Les témoins n'ont pas montré de destruction importante. La mortalité des larves et des adultes débute entre le sixième et le huitième jour post traitement. Le temps létal pour 50 % des insectes (TL50) est de 7,9 jours en moyenne. Les larves sont plus sensibles au biopesticide que les adultes.

Mots-clés : lutte biologique, *Oedaleus senegalensis*, *Metarhizium anisopliae*

Abstract

Comparative efficacy of *Metarhizium anisopliae* (Hypocreale: Clavicipitaceae) on different biological status of senegalese grasshopper: *Oedaleus senegalensis* (Orthoptera: Acrididea)

A local strain of *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff Sorokin) is tested on eggs, larvae and adults of *Oedaleus senegalensis* (Krauss, 1877). i- Dry eggs, rehydrated are infected with oil formulation of fungus; dry eggs are infected with the same oil formulation that the first batch; another batch of eggs rehydrated is infected with dry formulation; the eggs in distilled water are to control. ii- The larvae and adults are infected with oil formulation. Insects infected and controls are placed in cages and observations are made daily.

Six days after infection, 90 % rehydrated eggs are destroyed against 40 % of dry eggs. Dry eggs infected with oil formulation beginning to reach late. The controls did not show any significant destruction. The mortality of larvae and adults begins between the sixth and eighth days post treatment. The lethal time for

50 % of insects (TL50) is 7.9 days on average. The larvae are more sensitive than adults with the biopesticide.

Keywords : *Biological control, Oedaleus senegalensis, Metarhizium anisopliae.*

1. Introduction

Le criquet sénégalais : *Oedaleus senegalensis* (Krauss, 1877) est un ravageur de culture capable de provoquer des dégâts considérables sur les céréales. Il menace l'équilibre alimentaire souvent fragile des populations surtout celles d'Afrique. Le dernier épisode d'explosion démographique date des années 1985 et 1986. Cependant, des pullulations par endroit sont observées dans certains pays comme au Sénégal.

Plusieurs méthodes sont utilisées dans la lutte contre ce ravageur. La lutte chimique est la plus employée et offre plus de résultats [1]. Cependant cette méthode est entachée de conséquences très néfastes sur les écosystèmes naturels et par rétroaction sur l'homme lui-même. Certaines pathologies mettent en évidence les potentialités cancérigènes de certains insecticides en particulier ceux du groupe des cyclopentadiènes chlorés [2].

L'utilisation des biopesticides à base de microorganismes pathogènes peut être une alternative. L'intérêt porté aux entomopathogènes dans la lutte biologique contre des ravageurs de culture date depuis longtemps mais l'application à grande échelle est peu développée [3]. Des souches virulentes de *Metharizium* (Metschnikoff, Sorokin) appliquées sur des criquets ravageurs et moins offensives à l'environnement que les produits conventionnels ont donné de bons résultats [4,5]. Sous la formulation liquide les spores de *M. anisopliae* infectent principalement leur hôte par contact suite à une pénétration cuticulaire [3]. En zone sahélienne, les contraintes environnementales (exposition aux fortes radiations solaires, chaleur, aridité) et le temps de développement de la maladie sont des conditions qui limitent l'efficacité de ces biopesticides.

Pour résoudre ce problème lié au climat, nous avons isolé une souche de champignon hyphomycète : *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, Sorokin) dans les conditions du climat sahélien. Dans le présent travail, la sensibilité du stade hypogé (œufs) et des stades épigés (larves et adultes) du criquet sénégalais à cette souche locale de *Metarhizium anisopliae* est étudiée. Il s'agit de mener une étude comparative de l'efficacité du champignon sur les différents stades biologiques (œufs, larves et adultes) de *O. senegalensis* pour essayer de déterminer le stade le plus vulnérable pour y accentuer la lutte.

2. Matériel et méthodes

2-1. Formulation du champignon

Le champignon est isolé à partir de criquets sénégalais trouvés morts sur le terrain dans les champs de la localité de Mbar (centre du Sénégal). Ces insectes sont amenés au laboratoire et sont mis en incubation dans des boîtes de Pétri avec une couche de coton imbibée d'eau distillée. Deux semaines après, les insectes dont le corps est recouvert de spores de champignon sont retirés et ces dernières sélectionnées. La production en masse du champignon est faite avec la culture dans un milieu nutritif (agar : plant cell culture type M). Le champignon est identifié avec l'appui du centre de recherche de Lethbridge au Canada. La formulation est faite dans l'huile consommée dans les ménages. L'huile permet une meilleure adhésion du champignon sur la cuticule des insectes. La concentration qui joue un rôle très important dans la formulation du produit est déterminée en utilisant une lame d'hématimétrie. Elle est de 34000 spores/mm³ c'est-à-dire 340×10⁵ spores/mL.

2-2- Tests sur les stades hypogés

Les œufs de *O. senegalensis* utilisés sont issus de l'élevage monté au laboratoire. Les criquets sénégalais utilisés proviennent des champs de la localité de Mbar (centre du Sénégal). Les insectes capturés au terrain sont placés dans des cages en grillage métallique (50×50×60 cm). Ces dernières sont déposées dans la salle d'expérimentation où règne une température de 26°C, une humidité de 80 % et un éclairage de 12 à 13 heures comme dans les conditions naturelles. Les sauteriaux sont nourris quotidiennement avec de l'herbe fraîche et les cages sont nettoyées chaque deux jours. Un bocal en plastique (10×10×7 cm) rempli de sable tamisé et mouillé une fois est déposé dans les cages pour servir de pondoir. Quelques semaines plus tard, les oothèques sont retirées et conservées dans des boîtes de Pétri.

- mécanismes d'infection de la souche sur les œufs

Pour les mécanismes d'infection, les œufs sont infectés avec une formulation des spores à l'huile à une concentration de 340×10^5 spores/mL. Les œufs sont déposés dans les boîtes de Pétri contenant 10 ml de la formulation. Les boîtes sont ensuite placées dans l'étuve réglée à une température de 26°C, une humidité relative de 80 % et à l'absence de la lumière. Les constats sont faits à des temps différents.

- efficacité de la souche sur les œufs

Différentes conditions sont utilisées pour tester l'efficacité de cette souche sur l'éclosion des stades hypogés. Des œufs conservés secs, réhydratés dans de l'eau distillée sont infectés avec une formulation à l'huile. Les œufs sont déposés dans une boîte de Pétri contenant 4 mL de la formulation (lot 1). Des œufs conservés secs sont infectés avec la même formulation à l'huile de même concentration que dans le traitement des œufs réhydratés (lot 2). Un lot d'œufs conservés secs et réhydratés sont infectés avec des spores sèches. Ils sont déposés dans la boîte de Pétri puis les spores (lot 3). Un dernier lot d'œufs placés uniquement dans de l'eau distillée est utilisé comme témoin (lot 4). Les œufs infectés et témoins sont déposés dans un milieu sans lumière où règne une température de 26°C et une humidité de 80 %. Les constats sont faits quotidiennement avec la loupe reliée à un microordinateur. Trois répétitions sont opérées.

2-3- Test sur les stades épigés

Les larves et les adultes du criquet sénégalais sont capturés au terrain grâce au filet fauchoir. Ils sont amenés au laboratoire pour l'infection. Les insectes sont pulvérisés avec une formulation huileuse des spores du champignon à la concentration de 340×10^5 spores/mL. Ces sauteriaux sont ensuite retirés et mis dans des cages en grillage métallique (50×50×60 cm). Des insectes introduits directement après capture dans deux cages sont utilisés comme témoins. Les cages des insectes infectés et non traités sont placées dans la salle d'expérimentation. La température est de 26°C, l'humidité 80 % et l'éclairage de 12 à 13 heures comme dans les conditions naturelles. Les sauteriaux sont nourris avec de l'herbe fraîche qui est renouvelée quotidiennement. Les cages sont nettoyées chaque deux jour pour éviter une éventuelle attaque des autres champignons et des fourmis. Cette manipulation est reprise trois fois.

3. Résultats

3-1. Sur les œufs

A douze heures après l'infection, trois œufs ont présenté une adhésion. La pénétration et la germination sont observées au 2^{ème} jour et atteignent 100 % au 7^{ème} jour. La sporulation des œufs observée au 5^{ème} jour atteint 100 % au 8^{ème} jour après infection (*Tableau 1, Figure 1*).

Tableau 1 : Nombre et pourcentage d'œufs de *Oedaleus senegalensis* (Krauss, 1877) présentant une adhésion, une pénétration, une germination et une sporulation de *Metarhizium sp* (Metschnikoff, Sorokin) en fonction du temps après infection. VA : valeur absolue.

Temps après infection	Nombre d'œufs	Adhésion (VA/%)	Pénétration (VA/%)	Germination (VA/%)	Sporulation (VA/%)
1h	80	0	0	0	0
12h	76	3 / 3,95	0	0	0
2 jours	72	-	25 / 34,75	25 / 34,75	0
3 jours	68	-	28 / 41	28 / 41	0
4 jours	64	-	45 / 70,5	45 / 70,5	0
5 jours	60	-	36 / 60	36 / 60	6 / 18
7 jours	54	-	54 / 100	54 / 100	20 / 37
8 jours	34	-	-	-	34 / 100

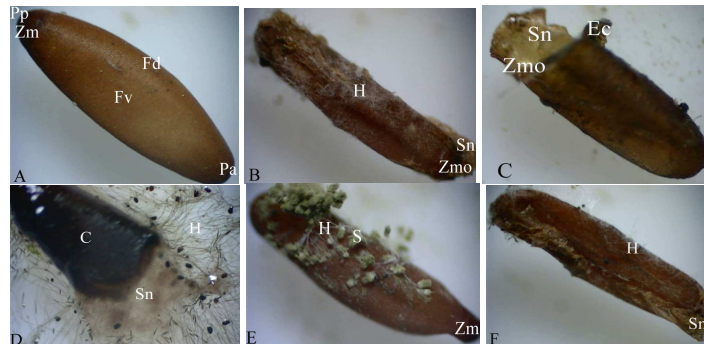


Figure 1 : Œufs d'*Oedaleus senegalensis* (Krauss, 1877):

A : Témoin, **B, C, D, E, F :** Traités avec *Metarhizium sp* (Metschnikoff, Sorokin), **C :** chorion, **Ec :** enveloppe chorionique, **Fd :** face dorsale, **Fv :** face ventrale, **H :** hyphe, **Pa :** pôle antérieur, **Pp :** pôle postérieur, **Sn :** substance nutritive, **Zmo :** zone micropylaire ouverte.

Les œufs réhydratés et infectés avec la formulation liquide (lot 1) commencent à éclater au 3^{ème} jour et le maximum est atteint au 7^{ème} jour (**Figure 2**). Les œufs secs traités avec la formulation à l'eau distillée (lot 2) débutent leur éclatement au 4^{ème} jour après infection qui se poursuit jusqu'au 7^{ème} jour (**Figure 3**). Les œufs réhydratés et infectés avec la formulation sèche (lot 3) éclatent à partir du 3^{ème} jour et jusqu'au 5^{ème} jour avec quatre œufs éclatés (**Figure 4**). Les témoins (lot 4) eux, ont montré un œuf éclaté au 6^{ème} jour (**Figure 5**).

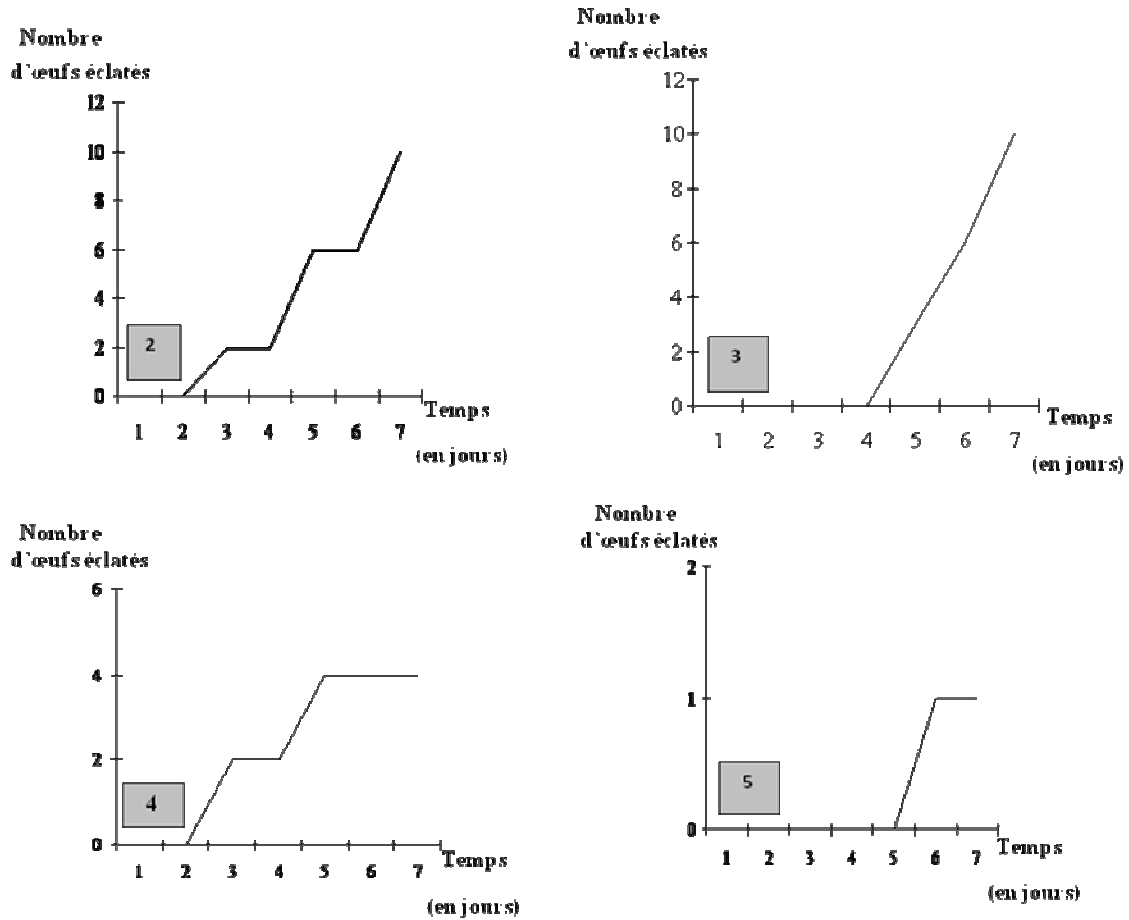


Figure 2 : Œufs secs réhydratés de *Oedaleus senegalensis* infectés avec la formulation à l'huile

Figure 3 : Œufs secs de *Oedaleus senegalensis* infectés avec la formulation liquide

Figure 4 : Œufs secs réhydratés de *Oedaleus senegalensis* infectés avec la formulation sèche

Figure 5 : Œufs secs de *Oedaleus senegalensis* dans de l'eau distillée pour témoin

3-2- Sur les larves et adultes

Pour le premier test, la mortalité débute au 7^{ème} jour après infection et est terminée au 9^{ème} jour avec un maximum de mortalité au 8^{ème} jour. Les témoins n'ont montré de mortalité qu'au 5^{ème} et 8^{ème} jour avec respectivement 1 et 2 insectes morts (**Figure 6**).

Au deuxième test, les insectes commencent à mourir au 8^{ème} jour. La fin de la mortalité est observée au 11^{ème} jour. Des témoins morts sont observés au 8^{ème} et au 11^{ème} jour (**Figure 7**).

Le troisième test montre un insecte mort au 2^{ème} jour après infection. Cette mortalité reprend au 6^{ème} jour après une interruption de 3 jours et se termine au 10^{ème} jour. Deux insectes témoins sont morts au 9^{ème} jour (**Figures 8**).

Le temps léthal pour 50 % des insectes (TL50) pour le premier, le deuxième et le troisième traitement est de respectivement 7,2 jours, 9 jours et 7,5 jours (**Figure 9**).

Ces insectes montrent une sporulation et des modifications au niveau de leur corps : changement de couleur, perte des appendices et des membres (**Figures 10 et 11**).

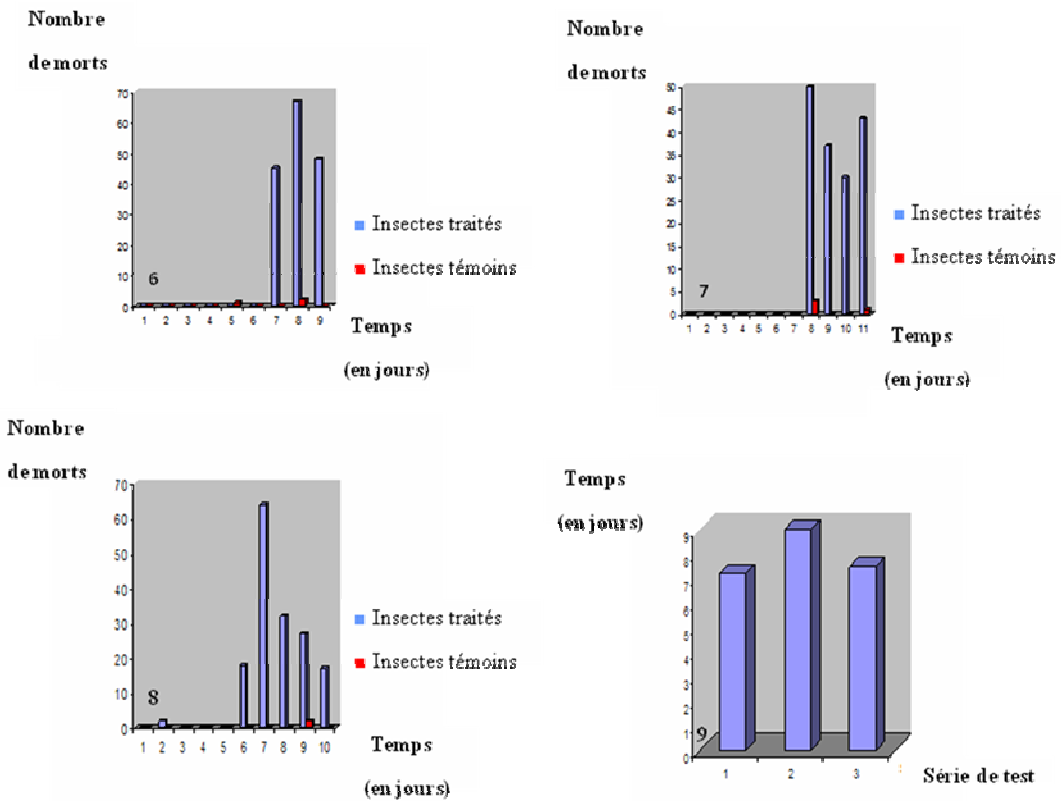


Figure 6 : Mortalité des insectes au test 1
Figure 7 : Mortalité des insectes au test 2
Figure 8 : Mortalité des insectes au test 3
Figure 9 : Temps léthal pour 50 % des insectes



Figures 10 et 11 : *Dedaleus senegalensis* (Krauss, 1877) mort infecté par le champignon
 Ps : patte détachée et recouverte de spores, S : spores.

4- Discussion

La faible adhésion des spores sur les œufs à 12 h s'explique par un début de transformation chimique et biochimique des spores avant leur contact avec le chorion. Les mycéliums exercent une pression sur la membrane chorionique de l'œuf et provoquent son éclatement. La zone micropylaire éclate plus rapidement parce que les canaux hydropylaires situés dans ce pôle permettent une entrée massive d'eau et des spores du champignon. La sporulation apparaît plus tôt que chez les autres stades de développement de l'insecte. Cependant, *Garcia et al.* [6] en travaillant sur le *Metarhizium anisopliae* (Metschnikoff, Sorokin) et des œufs de tiques *Rhipicephalus sanguineus* (Latreille) ont trouvé 67 % de germination à 18h, 92,6 % de pénétration au 5^{ème} jour et 87 % de sporulation qui atteint 100 % au 9^{ème} jour après infection.

L'éclatement des œufs est en fonction de leur humidité avant et après l'infection. Il apparaît que plus l'œuf est humide avant l'infection, l'effet du champignon est vite décelé. Les œufs conservés secs puis infectés avec la formulation liquide ont commencé à éclater tardivement du fait que le champignon attend la réhydratation de l'œuf pour attaquer l'enveloppe. Des auteurs ont travaillé sur le champignon et des œufs d'insectes autres que les acridiens. Ainsi, *Angel-Sahagun et al.* [7] ont trouvé une réduction de 84 à 97 % d'adultes de *Haematobia irritans* (L.) émergés quand les œufs sont infectés avec des souches de *Metarhizium anisopliae*, de *Beauveria bassiana* (Vuillemin) et de *Paecilomyces fumosoroseus* (Wize Brown and Smith). *Marranino et al.* [8] soutiennent que deux souches de *Beauveria bassiana* parmi les huit testées sont prometteuses pour la lutte contre *Capnodis tenebrionis* (L.) après avoir obtenu une réduction de 84,5 à 94,5 % d'éclosion normale. *Kaya et al.* [9] ont testé des souches de *M. anisopliae* et *B. bassiana* sur des œufs de *Rhipicephalus appendiculatus* (Neumann) et de *Amblyomma variegatum* (Fabricius) et ont obtenu des résultats similaires.

Les résultats sur l'infection du champignon nous permettent de dire que les conditions thermohydriques du laboratoire ont permis au champignon d'infecter et de tuer les larves et les adultes. *Kane et al.* [10], *Ouedraogo* [11] sont parvenus avec des températures variant entre 25 et 32°C aux mêmes résultats. Cependant, ces températures sont différentes avec la température optimale de 15°C pour la germination de *M. anisopliae* trouvée par *Stathers et al.* [12]. La souche utilisée ou la formulation pourrait-elle entraîner cette différence ? La température est un facteur important dans la pathogénicité du champignon. Les travaux de terrain de *Taleb et al.* [13] révèlent des résultats similaires avec une température de 25°C. En travaillant sur une gamme de température allant de 5 à 50°C, *Stephan et al.* [14] trouvent que les températures comprises entre 25 et 32°C permettent une bonne manifestation de l'effet biologique de *M. anisopliae*. Nos températures entrent dans cette gamme de température. *Peveling et al.* [15] trouvent des humidités qui corroborent nos résultats. *Taleb et al.* [13] ont montré sur le terrain qu'une humidité relative de 23 % entraîne une mortalité. *Launois* [16] trouve que l'amplitude optimale pour l'acridien est comprise entre 60 et 70 % d'humidité ce qui est compatible avec celle du champignon.

La mortalité des insectes commence entre le sixième et le huitième jour après traitement. Nos résultats sont comparables avec ceux de *Wilps et al.* [17] qui ont enregistré des insectes morts au 8^{ème} jour après avoir traité des adultes de *S. gregaria* avec du *M. anisopliae*. La mortalité observée au deuxième jour pour le deuxième test n'est pas due à l'effet du champignon mais probablement à d'autres facteurs comme le stress, la fatigue. *Bateman and Thomas* [18] en faisant une application à grande échelle révèlent qu'il leur était impossible de trouver sur le terrain des insectes tués par le champignon avant 7 jours après traitement. La mortalité des insectes est plus importante au jour où le mycélium est au maximum de sa croissance.

Pour évaluer l'efficacité de la souche nous avons cherché le temps létal pour 50 % des insectes (TL50) pour chaque traitement. *Zimmerman et al.* [4] en travaillant sur des larves de stade 3 (L3) et des souches de *M. anisopliae* trouvent un TL 50 variant entre 4,3 et 10,7 jours. *Prior* [5] rapporte que la dose utilisée par LUBILOSA (Lutte Biologique contre les Locustes et les Sauteriaux) et appliquée sur des larves de *O. senegalensis* tue 50 % des insectes au bout de 4 à 5 jours. *Bateman and Thomas.* [18] trouvent une moyenne de 4,4 jours de TL50 pour 26 souches testées.

Si beaucoup de travaux sont menés pour étudier la toxicité générale des biopesticides, on constate que l'on ne se préoccupe guère de la pathogénicité.

Le changement de couleur intervient après que l'insecte soit neutralisé. Ceci s'explique par l'action combinée des réactions de l'insecte et des effets du champignon. *Kleespies et al.* [19] décrivent ce changement de couleur et que *Freimoser et al.* [20] quant à eux isolent la substance active de dégradation de la cuticule dans le *M. anisopliae*. L'atteinte des antennes par l'infection entraîne une perte du sens de l'orientation et l'animal finira par mourir. Les pattes touchées par le champignon montrent des anomalies et peuvent disparaître entraînant une difficulté pour la recherche de nourriture. L'attaque de *M. anisopliae* avant la mort de l'insecte se manifeste par des événements distincts comme dans le cas des insecticides chimiques. *Sandoz et al.* (1991) découvrent quatre phases chez *Locusta migratoria migratorioides* (Reiche et Fairmaire. 1850) traité avec la lindiane : une phase prodromique, une phase choréo-ataxique, une phase clonique et le dernier stade psérique ou paralytique (cité par *Latchininsky et al.* [21]).

Cependant nos observations nous ont permis de constater une phase où l'insecte repose sur le dos et est incapable de se relever, alors que les appendices et les segments abdominaux sont animés de mouvements convulsifs. Une deuxième phase où tous les muscles sont tétanisés et paralysés suivie de la mort de l'insecte. Ces phases correspondent respectivement aux deux dernières phases de *Sandoz et al.* (1991). Les symptômes d'un criquet atteint par *Beauveria tenella* (Deher, Siem) sont décrits par *Nourzhanov et al.* [22]. La sporulation est décrite par de nombreux auteurs : *Taleb et al.* [13], *Kleespies et al.* [19], *Ouedraogo et al.* [23]. Elle découle d'une prise de la biologie de l'insecte. La production des spores est intéressante car elle permet la protection de longue durée de la zone traitée. Ainsi, il n'est pas nécessaire de renouveler le traitement. D'autre part, la sporulation indique l'état biologique du champignon et son absence indique sa disparition suite à sa dégradation.

5. Conclusion

Les résultats obtenus montrent que le *Metarhizium* peut être utilisé contre le criquet sénégalais. Il est à noter aussi que les œufs sont plus sensibles ensuite les larves et enfin les adultes. Seulement les larves sont les stades qui sont les plus faciles à atteindre avec le produit. C'est ce qui explique que la plupart des luttes sont menées sur ces dernières. Pour obtenir des résultats satisfaisants dans la lutte contre les attaques du criquet sénégalais dans le sahel la pulvérisation du *Metarhizium* doit tenir compte des conditions d'humidité.

Remerciements

Les auteurs remercient Monsieur M. S. GOETTEL du Centre de Recherche de Lethbridge au Canada pour son aide à l'identification du champignon et Asiyla Gum Company pour leur contribution financière.

Références

- [1] - N. V. D. GRAAFF, Une arme respectueuse de l'environnement permet de lutter contre les acridiens. *www.fao.org/newsroom/fr/news*, (2005).
- [2] - C. VINCENT et D. CODERRE, La lutte biologique. *Plenum Press*, New York, (1992) 95-103.
- [3] - C. PRIOR, R. J. MILNER, G. L. BAKER and G. H. S. HOOPER, Development of a mycoinsecticide for the Australian plague locust In: *New Strategies in Locust Control*, Birkhäuser Verlag, Basel, (1997) 177-183.
- [4] - G. ZIMMERMANN, B. ZELAZNY, R. KLEESPIES and M. WELLING, Biological control of African locust by entomopathogenic microorganisms. *New Trends in Locust control*, (1994) 127-138.
- [5] - C. PRIOR, Susceptibility of target acridoids and non-target organisms to *Metarhizium anisopliae* and *M. flavoviride*. *New Strategies in Locust control*, (1997) 369-375.
- [6] - M. V. GARCIA, A. C. MONTEIRO, M. J. P. SZABO, N. PRETTE and G. H. BECHARA, Mechanism of infection and colonization of *Rhipicephalus sanguineus* eggs by *Metarhizium anisopliae* as revealed by scanning electron microscopy and histopathology. *Brazilian Journal of Microbiology*, 36 (2005) 368-372.
- [7] - C. A. ANGEL-SAHAGUN, R. LEZAMA-GUTIERREZ, J. MOLINA-OCHOA, E. GALINDO-VELASCO, M. LOPEZ-EDWARDS, O. REBOLLEDO-DOMINGUEZ, C. CRUZ-VAZQUEZ, W.P. REYES-VELAZQUEZ, S. R. SKODA and J. E. FOSTER, Susceptibility of biological stages of the horn fly, *Haematobia irritans*, to entomopathogenic fungi (Hyphomycetes). *Journal of Tropical Insect Science* 4 (2005) 50-53.
- [8] - P. MARRANINO, C. SANTIAGO-ALVAREZ, L. E. De and E. QUESADA-MORAGA, A new bioassay method reveals pathogenicity of *Metarhizium anisopliae* and *Beauveria bassiana* against early stages of *Capnodis tenebrionis* (Coleoptera; Buprestidae). *Journal of Invertebrate Pathology*, 93 (2006) 210-213.
- [9] - G. P. KAAYA, E. MWANGI and E. OUNA, Prospects for biological control of livestock ticks, *Rhipicephalus appendiculatus* and *Amblyomma variegatum*, using the entomogenous fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae*. *Journal of Invertebrate Pathology*, 67 (1996) 15-20.
- [10] - C. M. H. KANE et E. H. B. L. SAKHO, Effets de *Metarhizium flavoviride* (Deutéromycète, Hypomycète) sur *Schistocerca gregaria* (Forskäl, 1775) (Orthoptère Acridoidae). Projet Lutte Biologique et intégrée contre les acridiens GTZ, (2000).
- [11] - A. OUEDRAOGO, Conditions d'infection des acridiens par l'hyphomycète entomopathogène, *Metarhizium flavoviride* et variabilité de la tolérance aux contraintes climatiques des isolats fongiques candidats à la lutte antiacridienne. *Thèse de Doctorat es Science*, Université de Paris 11, 125 p.
- [12] - T. E. STATHERS, D. MOORE and C. PRIOR, The effect of Different Temperatures on the Viability of *Metarhizium flavoviride* Conidia Stored in Vegetable and Mineral Oils. *Journal of invertebrate pathology*, 62 (2) (1993) 111-115.
- [13] - E. M. O. TALEB and A. DIALLO, Field Demonstration of the use of *Metarhizium anisopliae* for Desert Locust Control Using Release-Spray-Method. *www.fao.org/NEWS/LOCUSTS*(2001).
- [14] - D. STEPHAN, M. WELLING and G. ZIMMERMAN, Locust control with *Metarhizium flavoviride*: new approaches in the development of a biopreparation based on blastospores. *New Strategies in Locust Control*, (1997) 151-158.
- [15] - R. PEVELING, S. ATTIGNON, J. LANGEWALD and Z. OUAMBAMA, An assessment of the impact of biological and chemical grasshopper control agent on ground-welling arthropods in Niger, based on presence/absence sampling. *Crop Protection*, 18 (1) (1999) 323-339.

- [16] - M. LAUNOIS, Modélisation écologique et simulation opérationnelle en acridologie, Application à *Oedaleus senegalensis*. Ed. Imprimerie Laboureur et Cie, Issoudun, (1978) 212 p.
- [17] - H. WILPS, O. NASSEH, S. KRALL et O. KABO, Lutte contre les *Shistocerca gregaria* Adultes au Moyen de Nouvelles Préparations et Méthodes. *Form Protect Vegetaux UCTR/PV*, (1992).
- [18] - R. BATEMAN and M. B. THOMAS. Pathogen application against locust and grasshoppers: insecticide or biological control. *Antenna* 20 (1) (1996) 10-15.
- [19] - R. G. KLEESPIES, A. M. HUGER and D. STEPHAN, Diagnosis and pathology of diseases from locusts and other orthopterans. *GTZ (Eschborn, Germany) and BBA (Darmstadt, Germany)*, (2000).
- [20] - F. M. FREIMOSER, S. SCREEN, S. BAGGA, G. HU and S. J. R. LEGER, Expressed sequence tag (EST) analysis of two subspecies of *Metarhizium anisopliae* reveals a plethora of secreted proteins with potential activity in insect hosts. *Microbiology*, 149 (2) (2003) 239-247.
- [21] - A. V. LATCHININSKY et M. H. L. LUONG, Le criquet marocain, *Dociostaurus maroccanus* (Thunberg, 1815), dans la partie orientale de son aire de distribution. Presse de l'imprimerie DEHAN (1992) 95-114.
- [22] - A. A. NOURZHANOV et A. V. LATCHINININSKY, Les micro-organismes pathogènes des acridiens grégariaptés en Ouzbékistan in : *SHUMAKV E. M. (Ed. Sc.)*. (1987).
- [23] - R. M. OUEDRAOGO, M. CUSSON, M. S. GOETTEL and J. BRODEUR, Inhibition of fungal growth in thermoregulating locust, *Locusta migratoria*, infected by the fungus *Metarhizium anisopliae* var *acidum*. *Journal of Invertebrate pathology*, 82 (2) (2003) 103-109.