

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA  
RECHERCHE SCIENTIFIQUE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

ECOLE NATIONALE SUPERIEURE VETERINAIRE – ALGER

المدرسة الوطنية العليا للبيطرة - الجزائر

PROJET DE FIN D'ETUDES  
EN VUE DE L'OBTENTION  
DU DIPLOME DE DOCTEUR VETERINAIRE

*Effet du champignon entomopathogène  
Métarhizium anisopliae sur un aspect  
histologique du rat (wistar)*

Présenté par : CHETTAH SOHAIB EL MEHDI

MEDJADER ABDELKARIM

Soutenus le : juillet 2011

**Jury :**

**Président** : Melle MILLA A. (Maitre de conférence B, ENSV)

**Promotrice** : Mme HADDADJ F. (Maitre assistance A, ENSV)

**Examinatrice** : Mme SAADI H. (Maitre assistance A, ENSV)

**Examinatrice** : Melle SMAI A. (Maitre assistance A, ENSV)

**Année universitaire : 2010/2011**

## **Dédicace**

*Au nom de dieu le tout puissant et le très miséricordieux par la  
grâce duquel j'ai pu réaliser ce travail que je dédie à :*

*Mes chers parents, mon frère, mouhamed et ma sœur, sarah  
et ketkouta ma grande mère*

*Mes oncles et tantes, leurs épouses et époux ainsi qu'à leurs  
enfants.*

*Ma future épouse inchallah*

*Tous mes amis sans exceptionnelle*

*A Mme Haddadj et sa sœur Mme hamdi (inpv) et toute personne  
qui nous aide*

*Dans notre PFE*

*Tous nos confrères vétérinaires.*

*La 34<sup>ème</sup> promotion de l'Ecole Nationale Vétérinaire.*

*Abdelkarim.*



## DEDICACES

*Louange à Allah, maître de l'univers.*

*Paix et Salut sur notre Prophète Mohamed*

*A mes parents qui ont consenti d'énormes sacrifices pour me voir réussir, pour l'enseignement de la vie et pour l'éducation qu'ils m'ont donnée et tous les conseils et encouragements qu'ils n'ont cessé de me prodiguer durant mes études.*

*Je leur dois reconnaissance et gratitude.*

*A mes frères ayoub, mohamed, et mes sœurs, Amina et Hafida*

*Qu'ils trouvent ici le témoignage de mon affection et de mon respect.*

*A ma tente et ces fils qui ont supportés mon caractère durant toutes ces années*

*A tous mes amis : amine, Sid Ali, houcine, lakhdar, Issa, et tous s'eux que  
je connais*

*A mes camarades de promotion 2004 avec qui en a vécu des choses !*

*A vous tous, merci de votre amitié.*

*Chettah sohaib el mahdi*

## REMERCIEMENTS :

*Au seuil de ce mémoire de fin d'études, qu'il nous soit permis d'adresser nos sincères remerciements à tous ceux qui de près ou de loin ont participé à la réalisation de ce mémoire, particulièrement :*

*A notre promotrice Mme haddaj .f, maitre assistant A à l'ensv qu'on remercie vivement pour toutes les informations qu'elle nous a donné, ses efforts, sa disponibilité, ses précieux conseils et surtout sa gentillesse.*

*A Melle MILLA, maitre de conférence B à l'ensv, de nous faire l'honneur de présider le jury.*

*A, Mme Saadi maitre assistant A à l'ensv , d'avoir eu l'indulgence d'examiner ce mémoire.*

*A ,Melle Smai maitre assistant A à l'ensv , d'avoir eu l'indulgence d'examiner ce mémoire.*

*A tous les personnels de la salle d'informatique*

*A TOUFIQA chauffeur de tata a l'école national supérieure vétérinaire*

*A tous ceux On tient aussi à remercier l'ensemble des vétérinaires praticiens qui ont contribué à la réalisation de la partie pratique.*

# SOMMAIRE

page

## Partie bibliographique

### **I. Données bibliographiques sur les champignons entomopathogène *Beauveria bassiana* et *Metarhizium anisopliae***

<b>I.1.</b> Description .....	<b>1</b>
<b>I.2.</b> Classification .....	<b>1</b>
<b>I.3.</b> Infectivité des champignons .....	<b>2</b>
<b>1.3.1.</b> phase d'adhésion .....	<b>2</b>
<b>1.3.2.</b> phase de germination .....	<b>2</b>
<b>1.3.3.</b> Phase de pénétration .....	<b>2</b>
<b>1.4.</b> Les facteurs affectant l'efficacité des champignons entomopathogène .....	<b>3</b>
<b>1.4.1.</b> les facteurs intrinsèques : virulence et spécificité de l'hôte .....	<b>3</b>
<b>1.4.2.</b> les facteurs extrinsèques.....	<b>3</b>
<b>1.4.2.1.</b> la lumière .....	<b>3</b>
<b>1.4.2.2.</b> la température.....	<b>3</b>
<b>1.4.2.3.</b> l'humidité.....	<b>4</b>
<b>1.5.</b> Mode d'action .....	<b>4</b>
<b>1.6.</b> étude enzymatique comparatif entre les 2 champignons.....	<b>4</b>
<b>II. Données bibliographiques sur le rat wistar</b> .....	<b>4</b>
<b>II.1.</b> Classification .....	<b>4</b>
<b>II.2.</b> Caractéristiques et physiologie du rat wistar .....	<b>5</b>
<b>II.3.</b> Nutrition.....	<b>6</b>
<b>II.3.1.</b> Besoins nutritionnels.....	<b>6</b>
<b>II.3.2.</b> Nourriture et approvisionnement en eau.....	<b>6</b>

## Partie expérimentale

<b>I-Matériel et méthode</b> .....	<b>7</b>
<b>I.1. Matériel biologique</b> .....	<b>7</b>
<b>I.1.1. Matériel fongique</b> .....	<b>8</b>
<b>I.1.2. Techniques</b> .....	<b>8</b>
<b>I.1.2.a. Choix et préparation de milieu de culture</b> .....	<b>8</b>
<b>I.1.2.b. Repiquage et incubation des champignons</b> .....	<b>9</b>
<b>I.1.3. Matériel animal</b> .....	<b>10</b>
<b>I.1.4. Techniques</b> .....	<b>10</b>
<b>I.1.4.1. Préparation de l'inoculum (solution entomopathogène)</b> .....	<b>10</b>
<b>I.1.4.2. Gavage gastrique</b> .....	<b>11</b>
<b>I.1.4.3. Les injections sous cutané</b> .....	<b>11</b>
<b>II-Réalisation des coupes histologiques</b> .....	<b>12</b>
<b>II.1. La dissection</b> .....	<b>12</b>
<b>II.2. Microtomie</b> .....	<b>12</b>
<b>II.2.1. La fixation</b> .....	<b>12</b>
<b>II.2.2. L'inclusion et l'enrobage</b> .....	<b>13</b>
<b>II.2.3. La déshydratation</b> .....	<b>13</b>
<b>II.2.4. Le coulage du bloc ou enrobage dans la paraffine</b> .....	<b>13</b>
<b>II.2.5. La microtomisation et le collage des coupes sur lames</b> .....	<b>13</b>
<b>II.3. La coloration</b> .....	<b>15</b>
<b>II.3.1. Principe</b> .....	<b>15</b>
<b>II.3.2. Réactifs</b> .....	<b>15</b>
<b>II.3.3. Mode opératoire</b> .....	<b>15</b>



## LISTE DES FIGURES

	Page
Figure n°1 : morphologie de <i>B.bassiana</i> .....	2
Figure n°2 : Rat domestique, wistar .....	5
Figure n°3 : Aspect Figure : 4 Aspect cultural de <i>M.anisopliae</i> .....	7
Figure n°4 : Aspect cultural de <i>M.anisopliae</i> .....	8
Figure n°5 :préparation de milieu de culture.....	9
Figure n°6 : Matériel de repiquage.....	9
Figure n°7 : Etuve.....	10
Figure n°8 : Elevage des rats.....	10
Figure n°9 : Préparation de la solution entomopathogène(kadi et khames,2009).....	11
Figure n°10 : Gavage gastrique(kadi et khames,2009).....	11
Figure n°11 : Injection sous cutané(kadi et khames,2009).....	11
Figure n°12 : Cloche a ether(kadi et khames,2009).....	12
Figure n°13 : dissection du rat(kadi et khames,2009) .....	12
Figure n°14 : Équarrissage des blocs.....	13
Figure n°15 : Microtome.....	13
Figure n°16 : Bain marie.....	14
Figure n°17 : Porte lames.....	14
Figure n°18 : protocole de coloration (kadi et khames,2009).....	15
Figure n°19 : croissance mycélienne du <i>M.anisopliae</i> à 25°c.....	19
Figure n°20 : histologie de la rate chez rat témoin et traité au <i>M.anisopliae</i> .....	22.23
Figure n°21 : histologie de la peau chez rat témoin et traité au <i>M.anisopliae</i> .....	24.25
Figure n°22 : histologie du rein chez rat témoin et traité au <i>M.anisopliae</i> .....	26.27
Figure n°23 : histologie de l’ovaire chez rat témoin et traité au <i>M.anisopliae</i> .....	28

**Figure n°24 : histologie de la jonction gastro-oesophagienne chez rat témoin et traité au *M.anisopliae* .....28.29**

**LISTE DES TABLEAUX**

**Tableau n°1 : L'aspect cultural des deux souches au 8eme jours.....18**

**Tableau n°2 : Coupes histologiques du foie des rats traités et témoin.....22.21**

## INTRODUCTION

---

### **Introduction :**

Jusqu'à présent la lutte contre les ennemis naturels des différentes productions agricoles, n'a consisté qu'en épandage de produits chimiques qui s'avère néfastes pour l'environnement; mais une nouvelle stratégie de lutte est apparue, qui utilise des produits biologiques à savoir: insectes, microorganismes (champignon, bactéries, virus, ....).

D'après GREATHED *et al* (1994) ces derniers semblent offrir les meilleures perspectives surtout ceux qui sont formulés et multipliés pour être épandus comme bio-pesticides.

En Algérie plusieurs travaux ont fait l'objet de l'utilisation de ces microorganismes pour lutter contre les sauterelles citons ceux de HALOUANE ; (1997), TAIL ; (1998) ; BISSAAD ;(1998). Parmi ces agents biologiques, nous avons choisi deux champignons entomopathogènes *Beauveria bassiana* et *Métarhizium anisopliae* qui ont fait l'objet de nombreuses recherches et études dans la lutte antiacridienne.

C'est dans ce sens que nous avons apporté notre contribution par l'étude de son innocuité vis-à-vis de l'environnement.

Et cela en l'appliquant sur le rat wistar, qui est un animal modèle utilisé dans les essais expérimentaux à laboratoire.

A cet effet notre travail est divisé en deux grandes parties. La première est consacrée aux données bibliographiques sur les champignons entomopathogènes *Beauveria bassiana* et *Métarhizium anisopliae* ainsi que le rat wistar. La seconde partie présente l'ensemble du matériel et les méthodes utilisées ainsi que les résultats obtenus. Notre étude est clôturée par une conclusion générale et perspective.

# INTRODUCTION

---

## PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

### I. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LES CHAMPIGNONS ENTOMOPATHOGENE

*Beauveria bassiana* et *Métarhizium anisopliae*.

#### I.1. Description:

Les deux champignons poussent naturellement dans les sols à travers le monde et causent des maladies chez une gamme variée d'insectes en agissant comme un parasite ; ils appartiennent ainsi aux champignons entomopathogènes.

Du faite de leurs pouvoirs Ils ont été utilisés comme insecticide biologique pour luttaiient contre certains insectes nuisibles.

La maladie causée par ces champignons est appelée la muscardine verte pour *M.anisopliae* à cause de sa couleur verte et muscardine blanche pour *B.bassiana* cause de sa couleur de sa couleur blanche

#### I.2. Classification :

##### A. *Métarhizium anisopliae*

**Règne** Fungi  
**Division** Ascomycota  
**Classe** Sordariomycetes  
**Sou classe** hypocreomycetadae  
**Ordre** Hypocreales  
**Famille** Clavicipitaceae  
**Genre** Métarhizium  
**Espèce** *Metarhizium anisopliae*

##### B. *Beauveria bassiana*

**Règne** Fungi  
**Division** denteromycotina  
**Classe** Sordariomycetes  
**Sou classe** hypocreomycetadae  
**Ordre** Hypocreales  
**Famille** Cordycipitaceae  
**Genre** Beauveria  
**Espèce** *Beauveria bassiana*

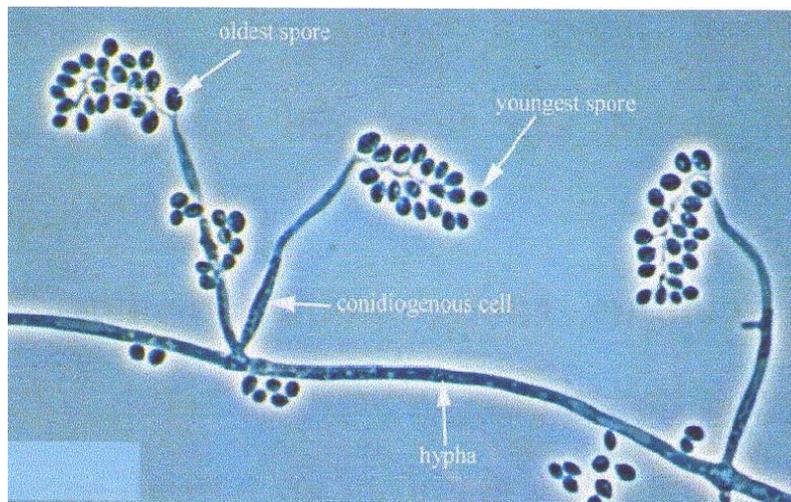


Figure n° 1 : morphologie de *B.bassiana*

### I.3. Infectivité des champignons entomopathogène :

Le processus de pénétration dans l'hôte est l'étape la plus importante de la pathogénèse et il est divisé en trois phases (FERRON *et al*, 1991).

#### I.3.1. Phase d'adhésion :

La participation des récepteurs moléculaires spécifiques a pu être évoquée par plusieurs auteurs mais n'a jamais été clairement démontrée. Cependant des analyses microscopiques montrent l'existence de sites privilégiés de pénétration des conidies de *Beauveria bassiana* sur les larves des hannetons (FERRON *et al*, 1991).

#### I.3.2. phase de germination :

Certaines souches sont capables de germer à partir de leurs seules réserves alors que les conidies d'autres souches, pour ce faire doivent puiser les éléments nutritifs dans le milieu environnant, d'où l'extrême dépendance de cette phase avec les caractéristiques hydriques et thermiques du microclimat proche (AMOURIQ, 1973).

#### I.3.3. Phase de pénétration :

Divers auteurs ont évoqué l'existence de structure appressoria lors de la pénétration trans-tégumentaire de conidies de *metarhizium anisopliae*. Mais finalement le mode de pénétration des champignons entomopathogène est comparable à celui de la plupart des champignons phytopathogènes. Ce processus faisant intervenir des forces mécaniques et des hydrolyses enzymatiques. (FERRON *et al*, 1991).

#### **I.4. Les facteurs affectant l'efficacité des champignons entomopathogène :**

La pénétration et la multiplication des champignons entomopathogène dans l'organisme des insectes vivants sont soumises à l'influence directe ou indirecte de facteurs intrinsèques et extrinsèques.

##### **I.4.1. Les facteurs intrinsèques : virulence et spécificité de l'hôte :**

La virulence et la spécificité de l'hôte sont deux éléments essentiels dans le choix d'un bon candidat à la lutte microbiologique (FERRON *et al*, 1991).

(PICARD in PAILLOT, 1993) signale que la virulence des champignons pour Une espèce d'insecte déterminée est variable. Elle peut être atténuée par repiquage successif sur milieu artificiel, ou la renforcé par passage à travers l'organisme nuisible.

La capacité de survie a également une influence donc on réponse à des conditions défavorables du milieu telles que la température, l'humidité basse. De nombreux champignons entomopathogène formant des structures de résistance peuvent être important pour la survie et la régénération de la population du pathogène, (FERRON *et al*, 1991).

##### **I.4.2. Les facteurs extrinsèques :**

Parmi les facteurs qui ont un rôle important dans la conservation du pouvoir germinatif des spores, leur dissémination et leur germination nous avons :

###### **I.4.2.1. La lumière :**

Malgré que les ultras violets présentent des effets nocifs sur la persistance des spores fongiques, la lumière peut stimuler certaines étapes du cycle évolutif des champignons entomopathogène, c'est le cas de *Nomurae arileyi* dont la croissance est fortement inhibée par l'obscurité d'après (FERRON *et al*, 1991).

###### **I.4.2.2. La température :**

Sur milieu artificiel, *Beauveria bassiana* a montré un maximum de développement à la température de 27°C, les limites extrêmes de culture étant comprises entre 6° et 44°C. (PAILLOT, 1993).

Une souche de *B. bassiana* et une souche de *Pavaelomyces farinosus* arrivent à tuer les larves *Scolytu scolytus* sous une température de 2°C (FERRON *et al*; 1991).

**I.4.2.3.L'humidité :**

L'état hygrométrique de l'air joue un rôle prépondérant dans la germination des spores. Plus le degré hygrométrique est élevé et mieux le champignon se développe.

L'humidité est un facteur défavorable pour la conservation du pouvoir germinatif des spores. En milieu sec elles conservent très longtemps leur vitalité.

Les conidies de *B .bassiana* conservées à l'air sec ne perdaient leur pouvoir germinatif qu'au bout de trois ans environs (AMOURIQ, 1973).

**I.5. Mode d'action :(est le même pour les deux)**

TOUMANOFF in LEPESME (1938) affirment que les spores des champignons acridopathogènes germent sur la cuticule des insectes cibles. Les hyphes mycéliens pénètrent ensuite dans l'organisme des larves et des adultes, après digestion enzymatique de la cuticule par les chitinases, les lipases et les protéases, une fois à l'intérieur de l'hôte, ils sécrètent des toxines insecticides ou par digestion.

**II. DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES SUR LE RAT WISTAR :****II. 1. Classification :**

- **Règne :**           **Animal.**
- **Embranchement :** **Vertébrés.**
- **Classe :**           **Mammifères.**
- **Sous-classe :**   **Placentaires.**
- **Famille:**           **Muridés.**
- **Ordre :**           **Rongeurs.**
- **Genre :**           **Rattus.**
- **Espèce :**         **Rattus norvegicus.**

## II.2. Caractéristiques biologique et physiologie du rat wistar :

Le rat wistar est un rongeur nocturne, docile, intelligent, omnivore et coprophage.

Il possède une tête large, des petites oreilles, des yeux rouges globuleux et une petite queue écaillée.

Le pelage du jeune rat est d'un blanc soyeux mais il devient progressivement plus rugueux et décoloré avec l'âge. Les rats se reproduisent pendant toute l'année, la gestation dure 21 jours.

A la naissance, le raton qui pèse 5g environ est aveugle mais très actif. Le mâle adulte pèse 300 à 700g alors que la femelle environ 200 à 600g. L'âge moyen à la puberté chez le mâle  $27j \pm 1.1$  et chez la femelle est de  $34j \pm 2.4$ , le poids moyen à la puberté chez le mâle est de  $63.3g \pm 6.8$  et chez la femelle est de  $101.0g \pm 12.7$ , l'intervalle moyen entre la puberté et le premier œstrus est de  $4.2j \pm 1.1$ .

Le cycle œstral de 4j est de 60%, irrégulier est de 30% et de 5j est de 10%. L'âge et poids à l'accouplement chez le mâle est de 320-340g (10 à 11 semaines), chez la femelle est de 225-250g (11 à 14 semaines). Un rat en santé peut vivre de 2 ans et demi à 3 ans.



**Figure n°2 : Rat domestique, wistar**

## **II.3. Nutrition**

### **II.3.1. Besoins nutritionnels :**

Les quantités d'éléments nutritifs devant entrer dans la composition du régime alimentaire des rats sont :

- Un taux adéquat de protéines et d'acides aminés ~ 12% chez les jeunes rats et moindre chez les adultes.
- Une quantité minimale de graisse : >5% quoique les rations contiennent jusqu'à 15%.
- Les micro-éléments : vitamines et minéraux.

### **II.3.2. Nourriture et approvisionnement en eau :**

Les rats blancs sont nourris par un aliment sec, sous forme de granules.

La valeur énergétique pour 100g de granules est de 370 kcals.

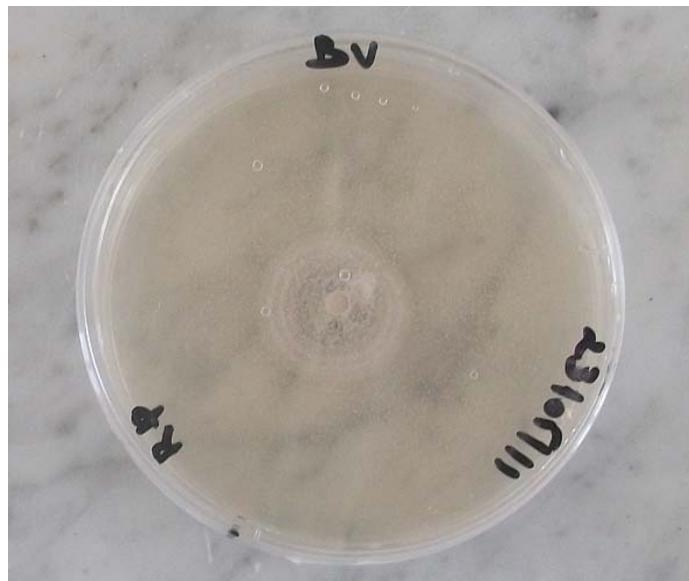
Les animaux reçoivent de l'eau avec des biberons.

Les rats mangent environ 12 à 30g d'aliments secs et boivent 140ml d'eau par kg de poids corporel quotidiennement à raison de 2 ml d'eau pour chaque gramme de nourriture sèche qu'ils mangent.

**I-Matériel et méthode :****I.1.Matériel biologique :****I.1.1.Matériel fongique :****a. beauveria bassiana :**

La souche de *B.bassiana* est une souche locale isolée d'un criquet pèlerin *schistoserca gregaria* provenant de la station Zaouit Kounta de la région d'Adrar en Décembre 1996. (HADDADJ, 2001) Elle a été retenue pour son large spectre d'action, sa virulence et sa pathogénicité contre plusieurs ordres d'insectes.

Les recherches actuelles confirment son efficacité vis-à-vis des acridiens (JARONSKI et GOETTEL, 1997).



**Figure n° 3: Aspect cultural de *B.bassiana* (Original)**

**b. Metharisium anisopliae :**

*Metarhizium anisopliae* var. *acidum*. Cette souche a été obtenue du département de lutte antiacridienne de l'institut National de la protection des végétaux (INPV) d'El Harrach, sous forme d'un biopesticide appelé "Green muscle" formulé en concentration huileuse de spore.

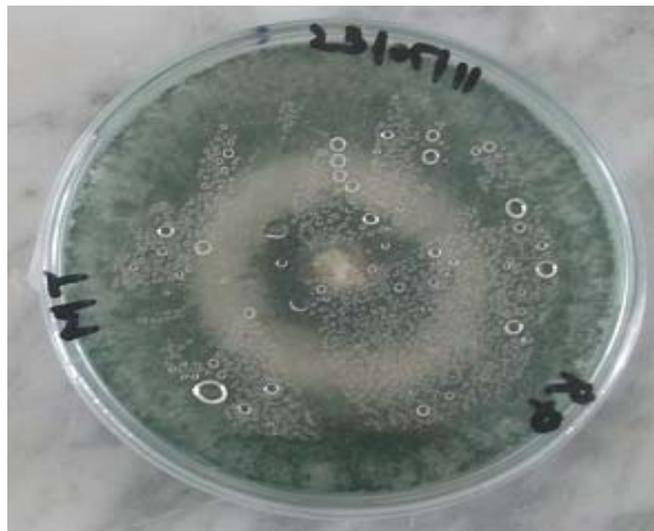


Figure : n° 4 Aspect cultural de *M.anisopliae* (original)

### I.1.2. Techniques :

#### 1.1.2.a. Choix et préparation de milieu de culture :

Pour toutes les espèces fongiques, le choix du milieu de culture dépend des exigences nutritionnelles de champignons (NEERGARD, 1979), notre objectif est de maitre au point une substance nutritif sur le quel, la croissance pondérale est importante, a cette effet nous avons travaillé sur le milieu de **PDA** (milieu potato dextrose agar) qu'on a préparé au niveau de l'INPV. La composition de milieu est la suivante :

- 200g pomme de terre + 500ml d'eau distillé, faire bouillir pendant 40 minutes et récupérer le jus.
- 20 g d'AGAR
- 20g glucose
- 500 ml d'eau distillé, pour obtenir 1 litres
- autoclave à 120°C pendant 20 min.



Figure n° 5 :préparation de milieu de culture (*original*)

### I.1.2.b. Repiquage et l'incubation des champignons:

\_Le repiquage est effectué dans un milieu stérile, à proximité d'un bec benzène sous une hôte pour éviter toute sorte de contamination.

\_L'ensemencement des champignons dans ces boîtes et fermeture de ces dernières par un parafilm.

\_L'incubation des champignons à des températures différents : 4 , 18 , 25 , 32°C et température ambiante .



Figure n° 6 : Matériel de repiquage. (*Original*)



**Figure n° 7 -Etuve. (Original )**

### **I.1.3. Matériel animal :**

Les animaux proviennent de l'institut pasteur d'Alger, ils sont répartis dans des cages en polypropylène de volume de 30 cm x 20 cm x 13 cm, placées dans un local à ambiance contrôlée à savoir: température 24°C, un éclairage de 10 heures par jour et une humidité de 50%. Les animaux sont nourris par une alimentation granulie.



**Figure n°8 : Elevage des rats**

### **I.1.4. Technique :**

#### **I.1.4.1. Préparation de l'inoculum (solution entomopathogène) :**

Après 8 jours d'ensemencement du champignon, on prélève quelques fragments de la culture qu'on met dans un Erlens mayer contenant 250 ml d'eau distillée stérile. On agite cette suspension énergiquement pendant 10 minutes afin de libérer une quantité maximale des spores.



**Figure n° 9: Préparation de la solution entomopathogène(kadi et khames,2009)**

#### **I.1.4.2. Gavage gastrique :**

Pour réaliser ce test nous avons utilisé 5 rats de sexe confondu. Et un rat comme témoin. Pour ce faire nous avons procédés comme suite :

- mise à jeun les animaux la veille du test.
- administration intra-gastrique (gavage) de 0,5ml d'une solution de *M.anisopliae* a chaque rat.
- suivie des animaux durant 07 jours.



**Figure n° 10 : Gavage gastrique(kadi et khames,2009)**

#### **I.1.4.3. Les injections sous cutané :**

Sur les animaux qui reçoivent le gavage gastrique et en même temps, on a fait des injections sous cutané :

De 0,025 ml de l'inoculum à chaque rat, le rat témoin 0,025ml d'eau distillée stérilisée.



**Figure n° 11: Injection sous cutané (kadi et khames,2009)**

## II-La réalisation des coupes histologiques :

### II.1. La dissection :

La dissection doit être réalisée 21 à 28 jours après la réalisation des testes, nous avons réalisé la dissection des sujets au laboratoire de l'autopsie (ENSV), par la technique suivante :

-euthanasier des animaux par l'inhalation de l'éther éthylique dans une cloche à éther.

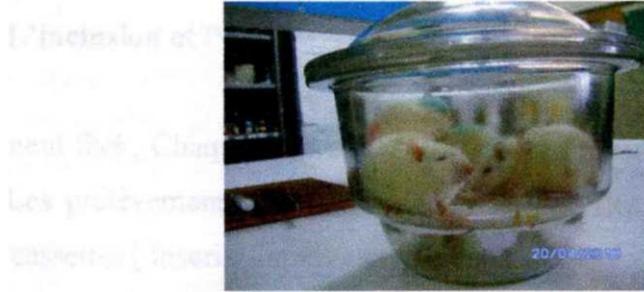


Figure n° 12 : Cloche à éther (kadi et khames,2009)

-l'animal repose sur le dos sur une plaque de liège fixée, les pattes sont écartées et fixées par des épingles, la peau est incisée, disséquée et rabattue à droite et à gauche. La paroi abdominale est ouverte, puis la cavité thoracique.

Nous avons prélevé : le foie, la rate, le rein, la peau, la jonction gastro-œsophagienne et l'ovaire. On met toute dans un fixateur (formol) afin de la réalisation des coupes histologique.



Figure n° 13 : dissection du rat (kadi et khames, 2009)

### II.2. Microtomie : au niveau de laboratoire d'anatomopathologie :

#### II.2.1. 1a fixation : Procédure :

La fixation doit être immédiate après le prélèvement au laboratoire, pour empêcher une putréfaction du tissu par autolyse et par altération microbienne. Le volume du fixateur doit être de 20 à 50 fois celui du prélèvement. En routine, les pièces séjourneront de 12 à 24 heures dans le fixateur et

y seront totalement immergées, aucune pièce ne doit flotter au dessus du fixateur car la fixation sera ni bonne ni homogène. Ce temps est toutefois à adapter selon la consistance et la taille du tissu (vitesse de pénétration de formol 10% est de 1 à 2 mm/h).

### II.2.2. L'inclusion et l'enrobage :

#### Procédure :

Les prélèvements fixés, Chaque morceau est bien identifié par un code ( association de lettres et d'un nombre ).

Les prélèvements sont ensuite déposés dans des cassettes avec leur identification sur le bord des cassettes (inscription avec un crayon).

### II.2.3. La déshydratation :

Le prélèvement est d'abord déshydraté (immersion dans des bains successifs d'alcool à Concentrations croissantes jusqu'à l'alcool absolu).

- Deux bains d'alcool 70° pendant une heure chacun
- Deux bains d'alcool 90° pendant une heure chacun
- Deux bains d'alcool 100° pendant une heure chacun
- L'utilisation d'un solvant de la paraffine (éclaircissement).
- Cet solvant de la paraffine est destiné à chasser l'alcool par deux bains successifs de toluène.
- L'inclusion proprement dite dans la paraffine fondue qui prend la place du solvant.

### II.2.4. Le coulage du bloc ou en crobage dans la paraffine :

La préparation du bloc de paraffine (encrobage) se fait au moyen d'un petit moule préalablement chauffé dans lequel on verse de la paraffine fondue grâce à un distributeur de paraffine .Dans celle-ci en place rapidement la pièce en l'orientant convenablement suivant les coupes transversales ou longitudinales pré-envisagées, puis on laisse refroidir la paraffine.

Après refroidissement complet, le bloc de paraffine est démoulé, la durée totale de l'opération d'inclusion est de 24 à 48 heures suivant l'épaisseur du prélèvement.

### II.2.5. La microtomisation et le raclage des coupes sur lames :

#### Procédure :

L'équarrissage par l'enlèvement à l'aide d'un couteau, de l'exsudat de paraffine. Il ne doit rester



Figure n°14 : Équarrissage des blocs

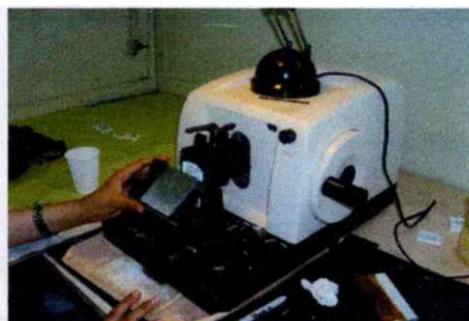


Figure n° 15 : Microtome

(kadi et khames, 2009)

qu'environ 5mm de paraffine autour de la pièce.

-Le montage du bloc sur son support :

Vous devez prêter une attention particulière au montage du bloc sur un support. Sa bonne orientation par rapport à la lame est primordiale. Le bloc doit rester parallèle à la lame. La lame est extrêmement tranchante. Suivez bien son installation par le moniteur sur le microtome.

- Le bloc obtenu est taillé au scalpel jusqu'à éliminer l'excédent de paraffine environnant l'organe. Il est commode de donner à la surface des coupes la forme d'un trapèze ou d'un raclage dont au moins deux cotés soit parallèle.

- La coupe proprement dite s'obtient par passage régulier de la pièce à coupé devant le rasoir ou couteau du microtome. A chaque passage, celui-ci enlève une tranche d'épaisseur réglable.

- On peut effectuer des coupes isolées ou bien pour la reconstitution totale d'un prélèvement, réaliser des coupes sériées, disposées en forme de ruban.

-Le collage des coupes sur une lame de verre :

Sur chaque lame de verre porte-objet est gravé le numéro d'identification du bloc. Pour l'étalement de la coupe, on la met dans un bain marie pendant 1 minute ( $T^{\circ} 41^{\circ} C$ ), on la dépose sur un la lame puis l'utilisation de la platine chauffante pour assécher, veiller à laisser la paraffine se détendre. Les coupes égouttées et mises dans des portoirs.



**Figure n° 16 : Bain marie**



**Figure n°17 : Porte lames**

(kadi et khames, 2009)

**II.3. La coloration : coloration topographique HEMALUN EOSINE :****Figure n° 18 : protocole de coloration (kadi et khames,2009)****II.3.1. Principe :**

La coloration des noyaux par une laque aluminique l'hémalum, et des fonds par un seul colorant acide : l'éosine.

**II.3.2. Réactifs :**

Hématoxyline de Harnis

Eosine à 1%

**II.3.3. Mode opératoire :**

**Déparaffiner** : par le toluène

-1 bain pendant 5 min

-2 bain pendant 7 min

**\* Réhydrater :**

- Alcool 100 ..... 60 à agitation
- Alcool 90 ..... 60 à agitation
- Alcool 70 ..... 60 à agitation
- Eau distillé .....3 min

**\* Coloration :**

- L'hématine 1 min et 15
- laver pendant 3 min à l'eau courante
- Colorer 3 min à l'éosine (pour la différence se fait par l'alcool 70 et 90)

**\* Déshydrater :**

- .....Alcool 70      30 à agitation
- .....Alcool 90      30 à agitation
- ..... Alcool 100      1 min à agitation

**\* Eclaircir :**

- 1- bain au toluène pendant 5 min
- 2- bain au toluène pendant 5 min

**\* Monter :****Procédure :**

Après coloration, on dépose sur chaque coupe d'un milieu permanent, iso-réfringent avec le verre (résine) à l'aide d'une aiguille puis on recouvre la coupe d'une lamelle couvre-objet. Lors de la manipulation, aucun bulle d'air ne doit s'insérer entre la lame et la lamelle.

Après le montage, les coupes sont rangées dans des boîtes à l'abri de la poussière, puis on fait la lecture en microscope.

**II.3.4. Résultat de la coloration :**

Les noyaux apparaissent colorés en violet et le fond est coloré en rose.



### III. Résultats et discussions :

#### III.1. Résultats concernant l'effet de température sur la croissance mycélienne des champignons *M.anisopliae* et *B.bassiana* :

Après l'incubation des champignons ensemencés à des températures différents : ambiante, 4 , 18 , 25 , 32°c , nous avons obtenu les résultats suivants :

**Au 4eme jour** ni l'aspect cultural ni la croissance mycélienne des deux champignons ne se sont manifestés à 4°c , par contre à 18 ,25,30 il ya un début de croissance pour les deux avec même apparition de spores à 25°c.

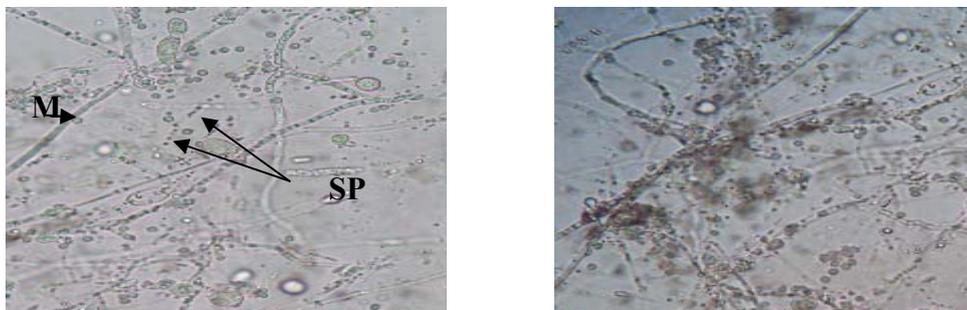
**Au 8eme jour** L'aspect cultural des deux souches est représenté dans le tableau (1) :

Tableau n° 1 : L'aspect culturel des deux souches au 8 eme jour

température	<i>B.bassiana</i>	<i>M.anisopliae</i>
4°c		
18 °c		
25 °c		
32 °c		
Température ambiante		

**En effet à 4°C** on observe un début de croissance pour *M.anisopliae* par contre cette dernière est absente pour *B.bassiana*.

**Par contre à 18,32 et température ambiante**, la croissance mycélienne est plus rapide, avec un maximum de croissance à 25°C et une apparition de spores plus importante.



**Figure n°19 : croissance mycélienne du *M.anisopliae* à 25°C**

**M:** mycelium

**SP:** spores

#### **Discussion:**

La plupart des champignons, surtout les moisissures, sont mésophiles c'est à dire qu'ils se développent autour de 20-25°C, températures moyennes habituelles de leur aires d'installation. Cependant il peut y avoir des particularités pour certaines espèces et c'est ainsi que l'on définit des températures cardinales qui sont les températures minimales, optimales et maximales de croissance (Samson et Reenen-Hoekstra 1988).

En effet des travaux antérieurs ont montré le rôle de la température dans le développement des hyphomycètes en général et de *B.bassiana* en particulier. Parmi eux ceux de **Bissaad (1998)** en Algérie qui a enregistré une augmentation régulière de la croissance mycélienne de *Beauveria bassiana* de 5°C à 10°C avec un optimum de croissance à 20°C.

**Inglis et al. (1993)** situent les optimums de développement de *B.bassiana* entre 25°C et 30°C suivies de 40°C. Par contre **Inglis et al. (1997)** ont montré des meilleures croissances mycéliennes entre 15°C et 20°C. Par ailleurs, **Fargues et al. (1997)** travaillant sur l'effet de la température sur la croissance mycélienne de plusieurs souches de *B. bassiana* ont souligné une meilleure croissance à 25°C pour l'isolât de l'Afrique de sud. **Hassani (2000)**, **Hallsworth et Magan (1999)** et **Vidai et al. 1997** ont obtenu un meilleur développement de l'hypoomycète *Paecilomyces fumosoroseus* entre 25°C et 28°C. **Welling et al (1994)**, ont souligné que les souches de *Metarhizium anisopliae* et *M. flavoviride* ont pu croître à des températures atteignant les 40°C. Dans le climat tropical de l'Est de l'Asie la croissance de mycélium des champignons hyphomycètes est optimale entre 25°C et 30°C comme l'ont rapporté **Fargues et al. (1992)**.

Nos résultats sont assez comparables à ceux obtenus par , **Fargues et al. (1997)** , Hallsworth et **Magan (1999)** et **Vidai et al. 1997** précisant que pour ces deux espèces de champignons la température optimal est de 25° C

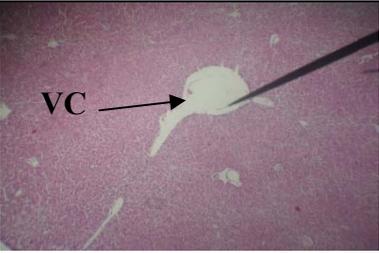
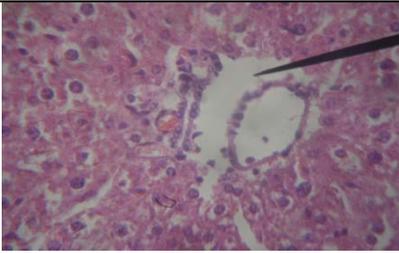
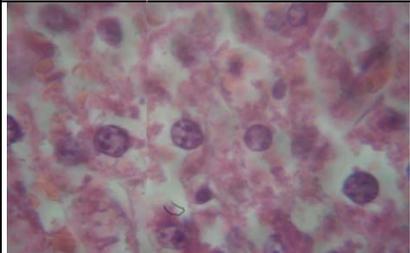
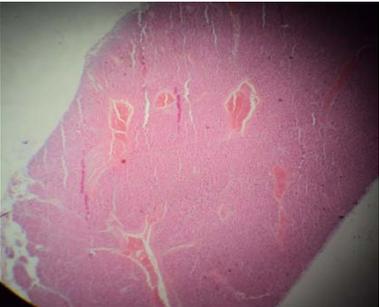
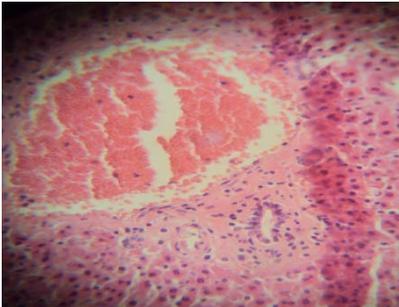
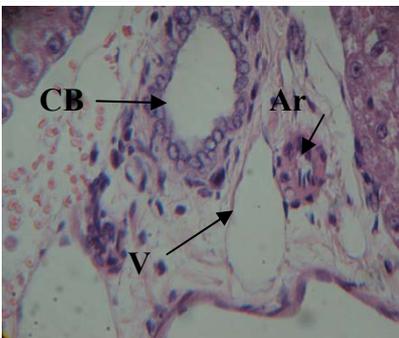
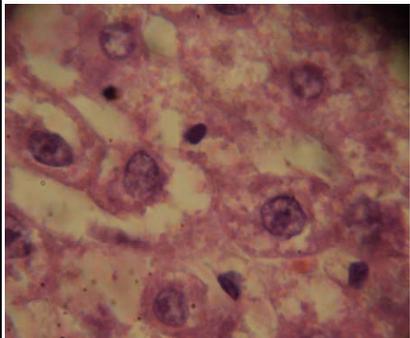
**Conclusion :**

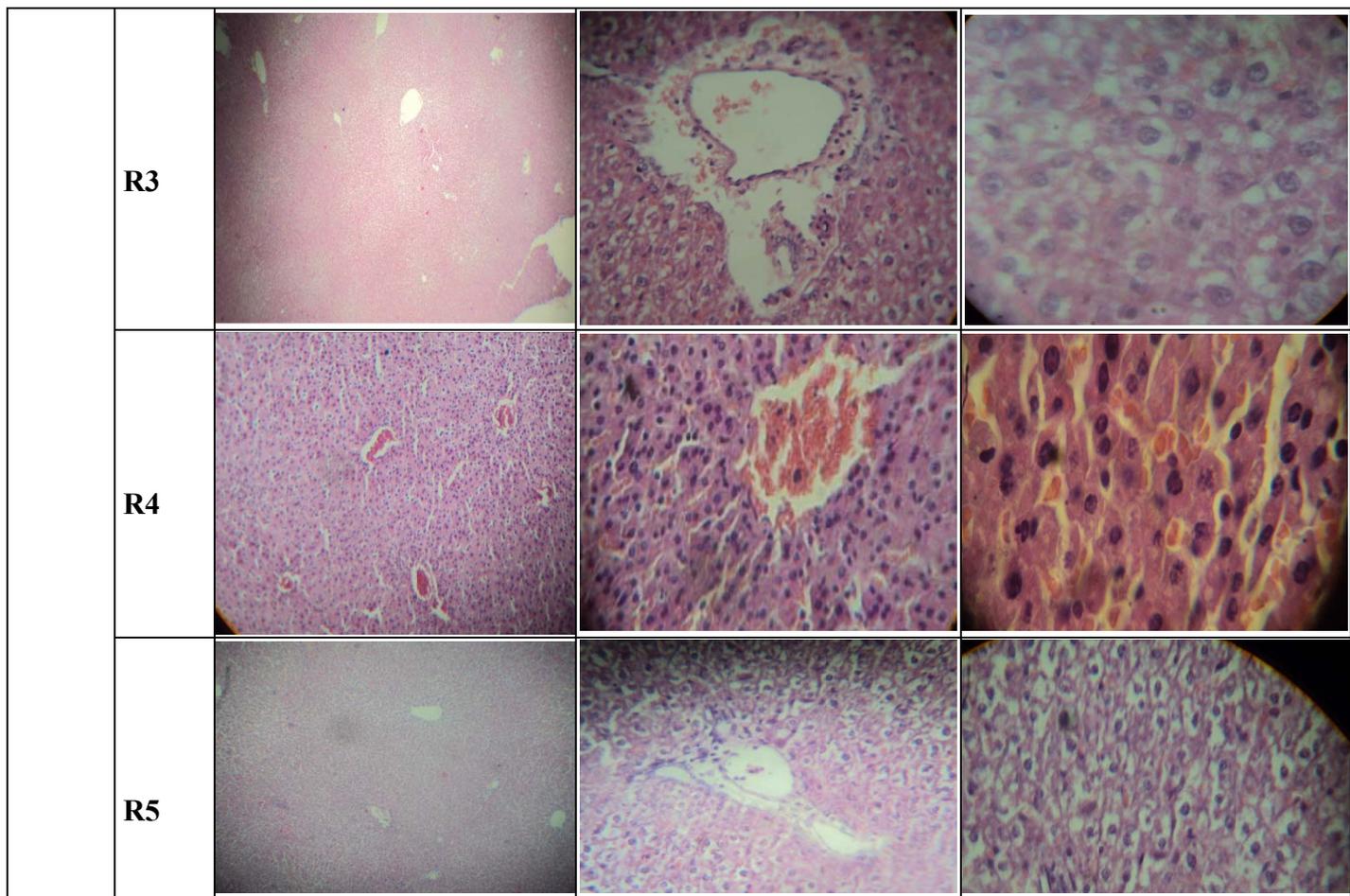
L'étude de l'influence de la température sur le comportement de *B. bassiana* et *M.anisopliae* nous a permis d'avoir plus d'informations concernant ces hyphomycète. En effet nous avons obtenus un meilleur taux de germination à température 25° C par rapport aux quatre autres.

**III.2. Effet du champignon *M.anisopliae* sur l'aspet histologique du rat :**

**III.2.1. Sur la structure du foie**

**Tableau n° 03 : Coupes histologiques du foie des rats traités et témoin (original)**

es rats		P.hépatique GR 40	triade GR400	cellule hépatique GR1000
témoin				
Les rats traités	R1			
	R2			



**VS** :veine centro-lobulaire. **V** :veine. **Ar** :artère. **CB** :canal biliaire.

-Au grossissement (x40), la structure histologique du foie traitée apparait centrée sur une veine centrale ou Centro-lobulaire.

- Au grossissement (x400), on observe la triade portes qui contient : une veine, artère, canal biliaire, canal lymphatique.

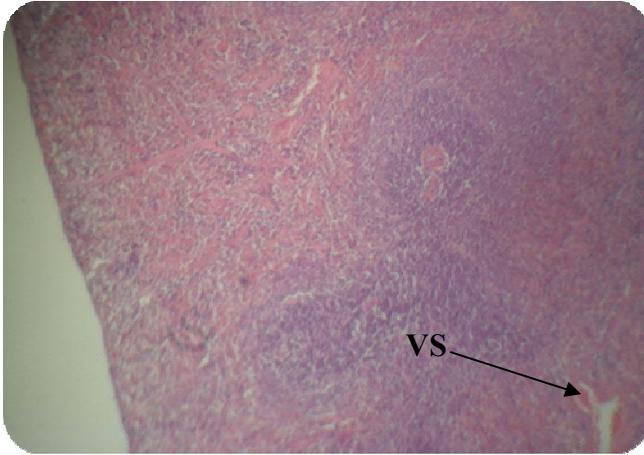
- Au grossissement (x1000), on observe le parenchyme hépatique, les hépatocytes qui sont de grandes cellules polyédriques, contiennent des gros noyaux et leurs cytoplasmes présentent une forte Eosinophilie due à la présence de nombreux organites.

-Certains hépatocytes présentent un cytoplasme non coloré due à la quantité de glycogène et de lipide .

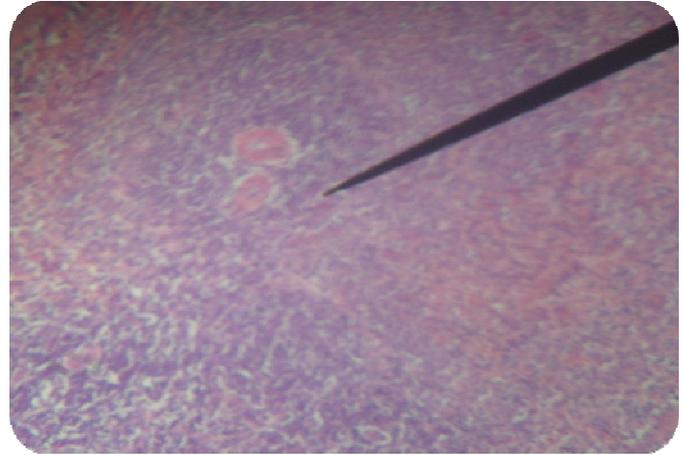
-la structure histologique du foie des rats témoins montre une structure semblable à celle du foie traité

III.2.2. La rate :

➤ Témoin : (originale)

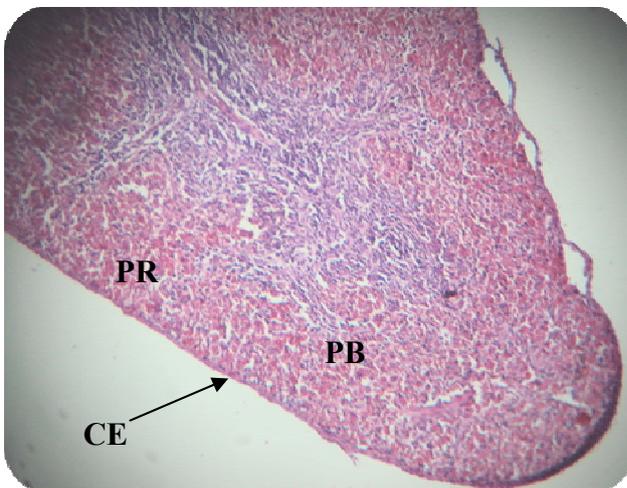


GR X40

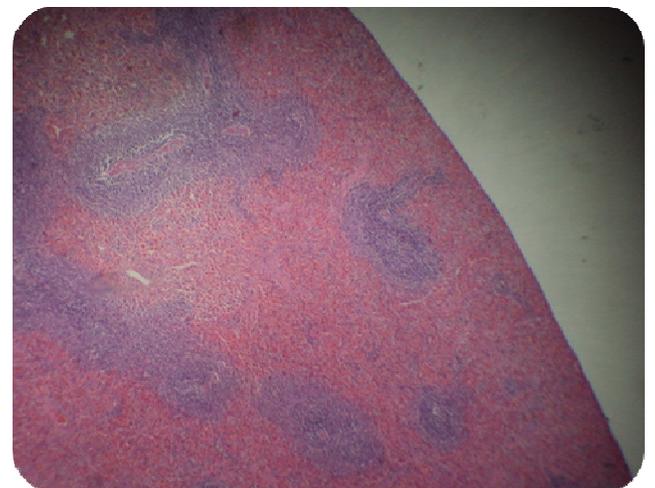


GR X40

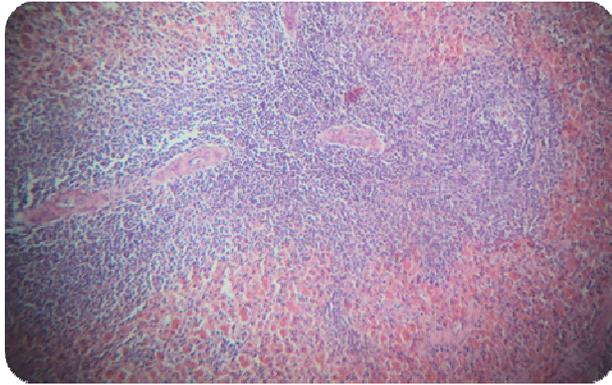
➤ Rats traités : (originale)



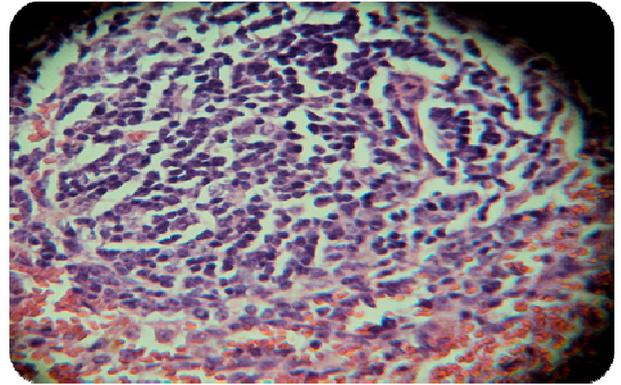
GR X10



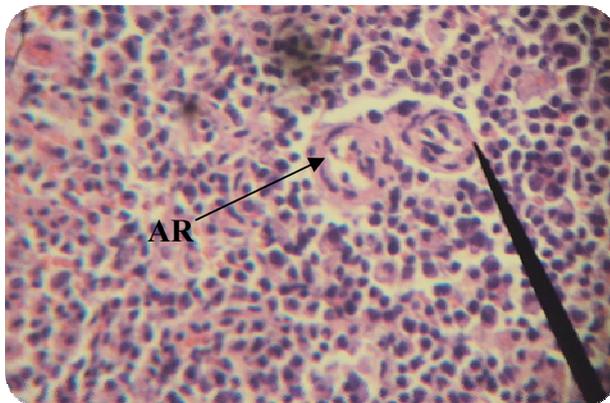
GR X40



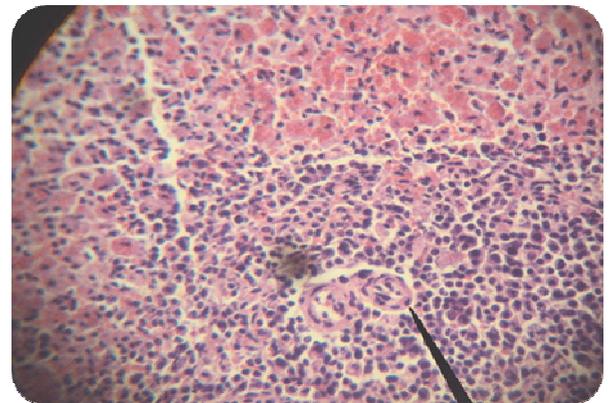
GR X100



GR X400



(A) GR X400



(B) GR X400

Figure n° 20: histologie de la rate chez rat témoin et traités au *M.anisopliae*

(A) : artériole

(B) : follicule primaire et secondaire

CP : capsule externe. PB : pulpe blanche. PR : pulpe rouge. VS : vaisseaux sanguins

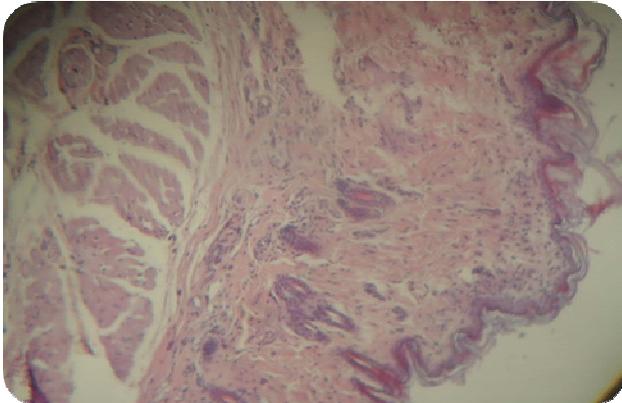
-Au grossissement (X100), la structure histologique de la rate apparait entourée d'une capsule externe de tissu conjonctif dense fibreux et constitue de deux zones : une zone claire, qui est la pulpe blanche constitue d'agrégats lymphoïde et une zone rouge, qui est la pulpe rouge, richement vascularisée.

-On remarque deux grands vaisseaux sanguins dans le parenchyme splénique avec quelques travées éparpillées.

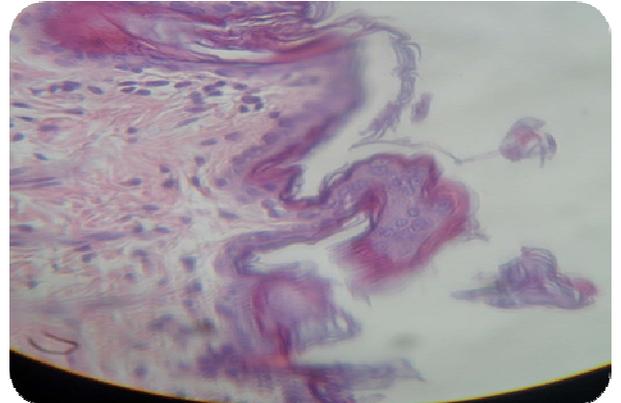
-Au grossissement (X400), la coupe montre la structure microscopique d'une pulpe rouge constituée de cordon des cellules anastomosées dite : les cordons de billroth, séparés par de vaste veineux anastomosés.

III.2.3. La peau:

➤ Témoin: (originale)

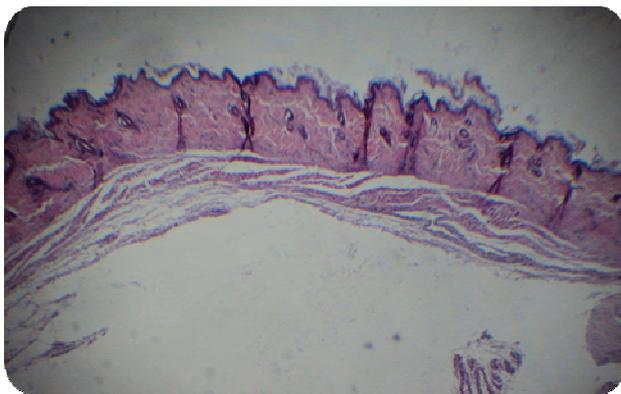


GR X40

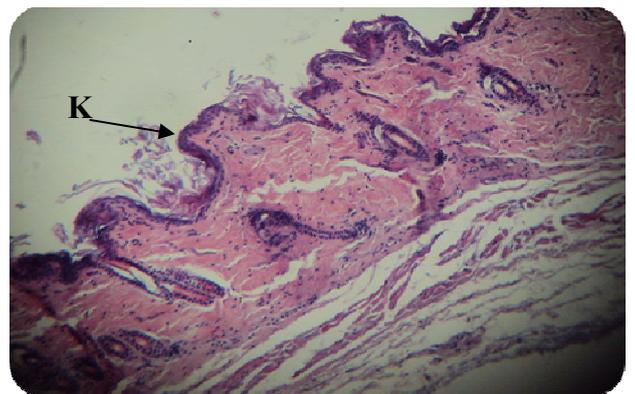


GR X400

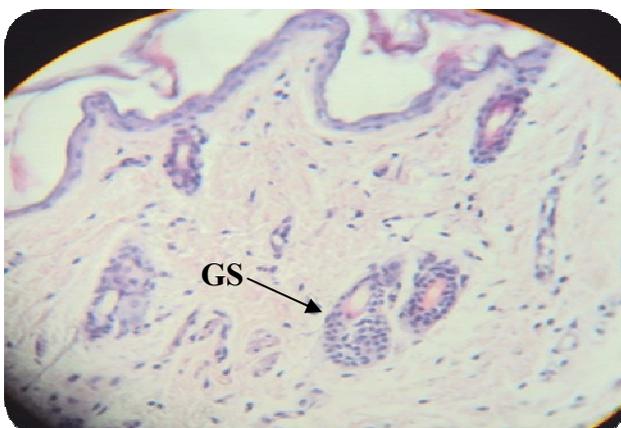
➤ Les rats traités : (originale)



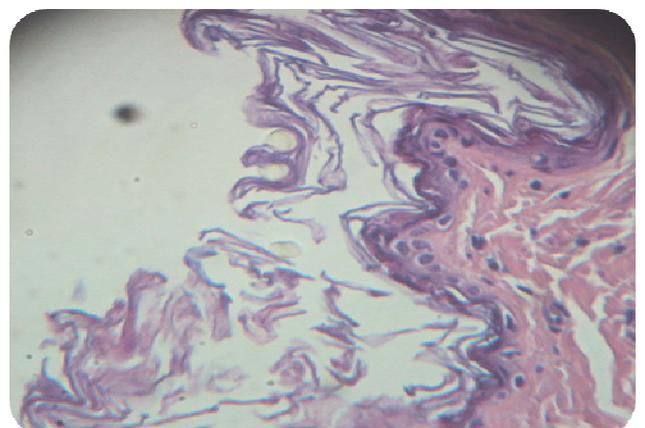
GR X40



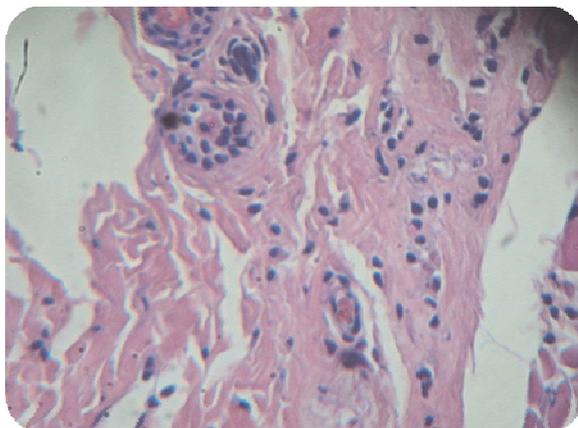
GR X100



GR X400



(C) GR X400



**(D) GR X400**

**Figure n° 21: histologie de la peau chez rat témoin et traités au *M.anisopliae***

**(C) : Hyperkératose**

**GS : glandes sébacée**

**(D) : Infiltra lymphoïde derme**

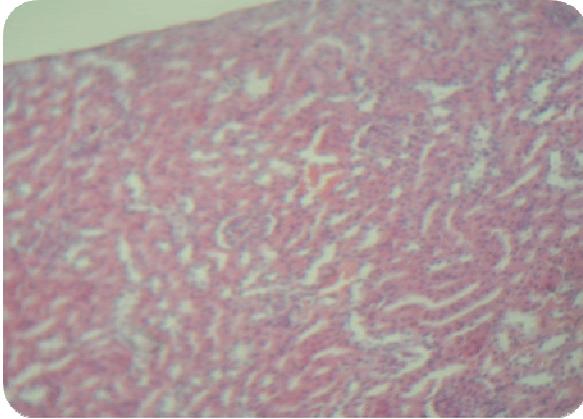
-Au grossissement (X100), les coupes montrent la structure de la peau qui est formée de l'épiderme, constitué d'un épithélium pavimenteux stratifié kératinisé, le derme est formé d'un tissu conjonctif dense fibro-élastique, de glandes sébacées ; et de l'hypoderme, constitué d'un tissu conjonctif lâche qui contient normalement des fibres de collagène, des adipocytes, des bulbes pileux, follicules pileux et des vaisseaux sanguine.

-an grossissement (X400), l'apparition d'une glande sébacée qui excrète son sébum dans le follicule pileux, cette glande est formée d'un amas des cellules arrondies dont le cytoplasme est rempli de Vacuoles lipidiques.

-La structure de la peau des rats témoins, ne présente en général aucune différence comparativement à celle des traités, sauf qu'au niveau de la coupe (C) qui montre une hyperkératose et la coupe (D) un infiltra lymphoïde du derme.

**III.2.4. Rein :**

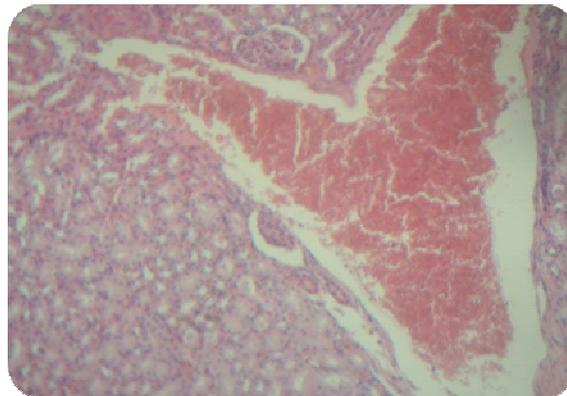
➤ **Témoin : (originale)**



**Cortical GR X40**

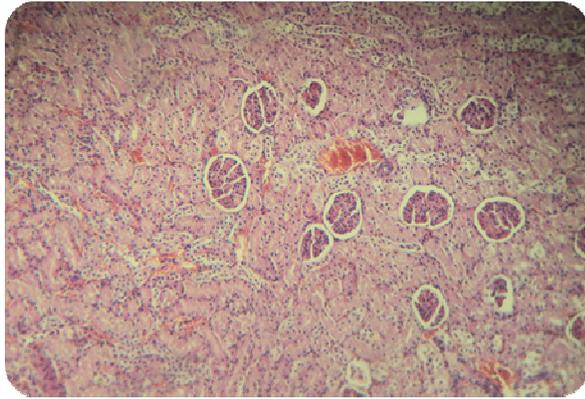


**Médullaire GR X40**

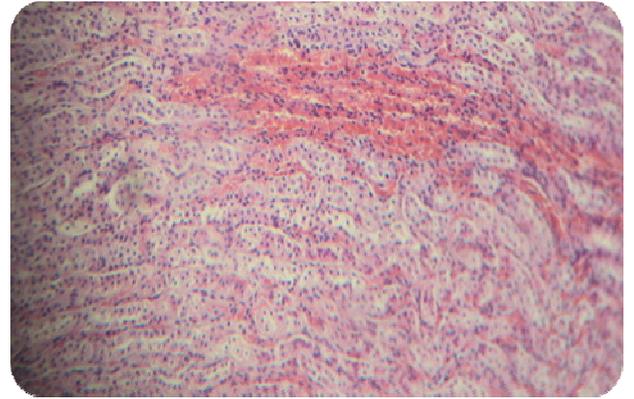


**Veine jonction médullaire GR X100**

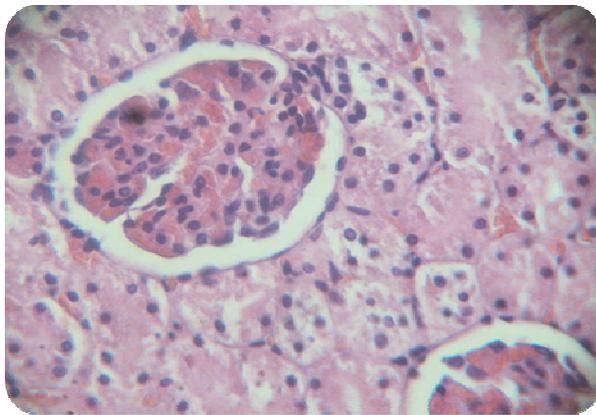
➤ **Les rats traités : (originale)**



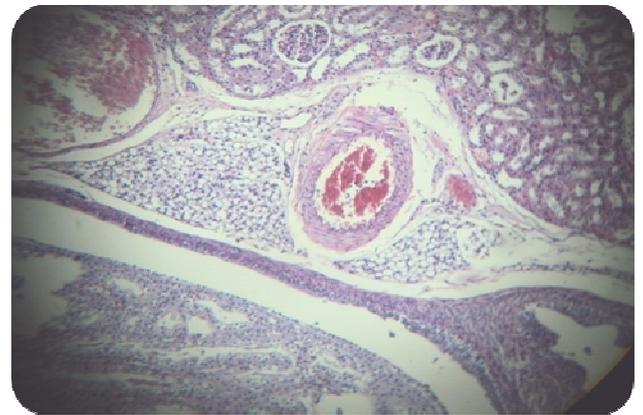
**Cortical GR X100**



**Médullaire GR X100**



**Glomérule GR X1000**



**Bassinets GR X1000**

**Figure n° 22: histologie du rein chez rat témoin et traité au *M.anisopliae***

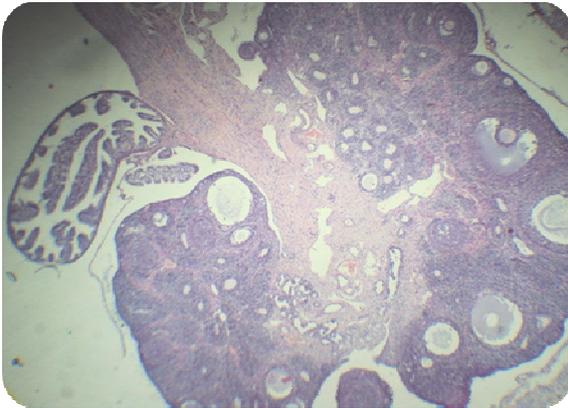
-Au grossissement (X100), les coupes montrent la structure du rein qui est formée de : cortical, médullaire et la veine de la jonction médullaire.

-Au grossissement (X1000), les coupes montrent le glomérule au niveau du corticale et cellules de bassinet au niveau de médullaire.

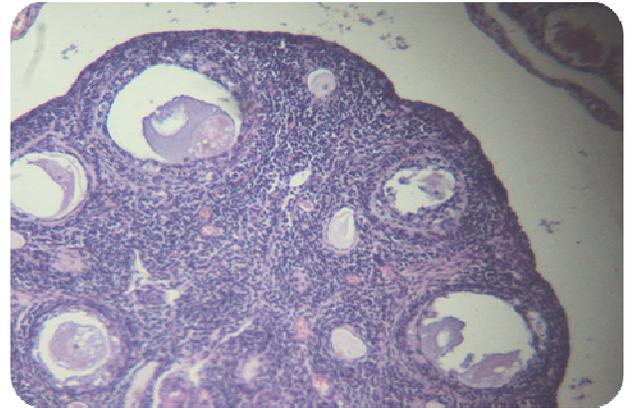
-La structure du rein des rats témoins, ne présente aucune différence comparativement à celle des traités

III.2.4. Autres organes des rats traités :

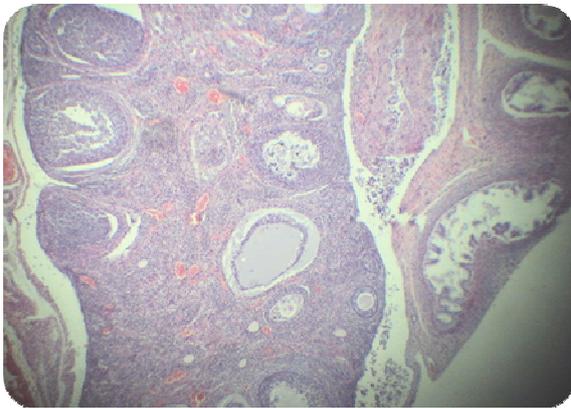
➤ L'ovaire : (originale)



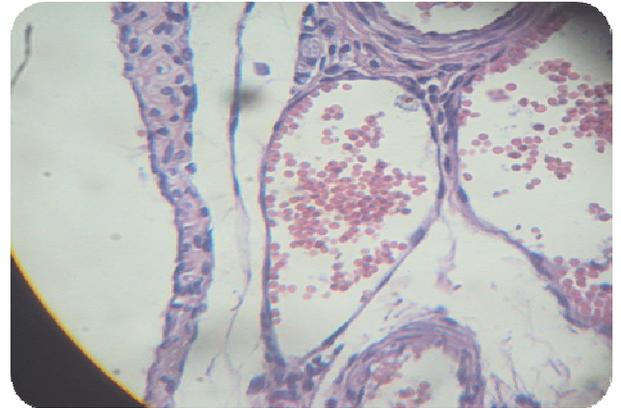
GR X40



GR X100



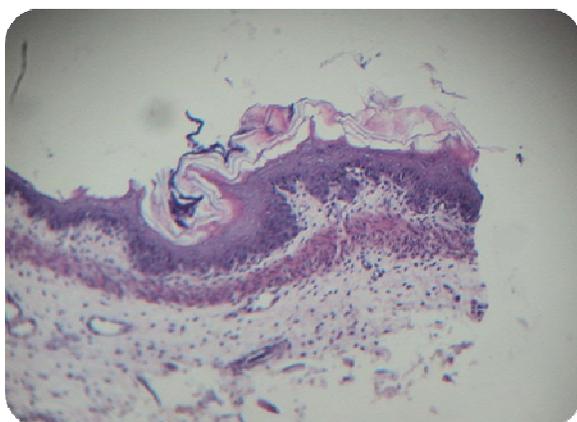
GR X400



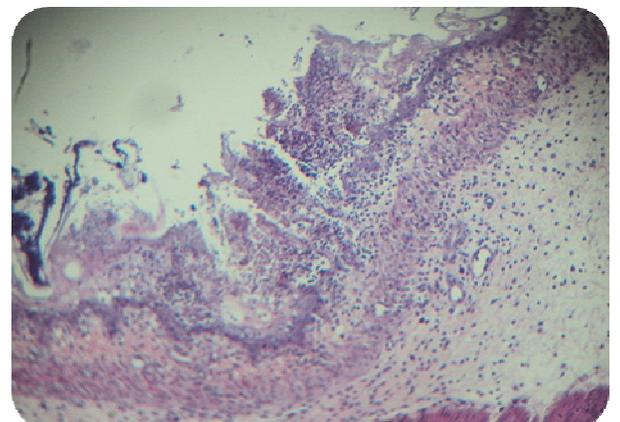
(E) GR X400

Figure n° 23: histologie de l'ovaire chez rat témoin et traité au *M.anisopliae*

➤ Jonction œsophage gastrique : (originale)



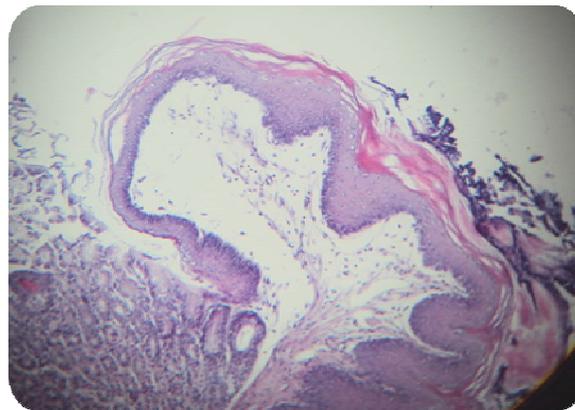
(F) GR X40



(G) GR X40



(H) GR X100



GR X40

**Figure n° 24: histologie de la jonction gastro-oesophagienne chez rat témoin et traité au *M.anisopliae***

**(E) : Vascularisation**

**(F) : œsophage fortement kératinisé**

**(G) : ulcération de jonction gastro-œsophage**

**(H) : Estomac glandulaire**

#### **DISCUSSION :**

L'organisme résiste aux pathogènes de deux manières: par la réponse immunitaire innée ou l'immunité naturelle et par l'immunité adaptative ou l'immunité acquise. Les mécanismes de l'immunité innée sont les premiers à être mis en jeu. Cette immunité est assurée par le système défensif de la peau et des muqueuses constituant une barrière physique et chimique qui empêche les micro-organismes d'accéder aux cellules et tissus. Quand cette barrière est rompue les germes pénètrent dans les tissus mous et déclenchent l'infection qui se traduit alors par des lésions et inflammations (Benzar, 1999).

L'étude de l'effet du champignon entomopathogène *M.anisopliae* utilisés sur l'histologie du rat, démontre que ce dernier n'a engendré aucune perturbation au niveau des différentes structures étudiées à savoir : le foie, la rate, la peau, le rein, l'ovaire et la jonction œsophage-gastrique, comparativement à celle des sujets témoins chez lesquels cette structure apparaît identique.

Nos résultats sont en accord avec ceux de beaucoup de travaux traitant les perturbations causées par les champignons. En effet (HALOUANE. F., 2008) signale que l'acridopathogène *M.anisopliae* s'est montré peu agressif vis-à-vis du mammifère choisi (le rat), le champignon

---

n'a causé aucun effet sur la structure des organes, sauf une légère modification au niveau de la peau par une hyperkératose et un infiltrat lymphoïde du derme.

Selon (Macdonnell *et al.* 1985 ; Bifrare et Wolfensberg, 2007) chez l'homme plusieurs affections et troubles allant même jusqu'au décès ont été tributaire d'une exposition à des propagules fongiques. En effet deux semaines après l'infection à *Aspergillus versicolor*, et de des micro-perforations et des inflammations de la corné ont été observés chez des patients adultes.

Par contre Ward *et al.*,(1988) et Ward *et al* ,(2000) ;Greg *et al* ,(2005) ont signalé que des individus exposés à des fortes doses de *B.bassiana* et de *M.anisopliae* ont présenté des signes d'allergie au niveau de la peau et des poumons. Il en est de même pour Ribes *et al*, (2000), qui déclare que plusieurs genres de zygomycètes étaient responsables des cas de morbidité chez l'homme notamment ceux appartenant à l'ordre des mucorales (Rhizopus ; Rhizomucor....).

---

**CONCLUSION**

Ce travail a été entrepris dans le but d'approfondir quelques connaissances sur l'utilisation des champignons entomopathogènes et leur effet sur l'environnement à savoir : faune, flore et notamment l'être humain, *M.anisoplia* fait partie de cette large gamme d'entomopathogène, utilisé surtout dans la lutte antiacridienne pour son efficacité prouvée.

Notre travail visait une contribution à l'étude de l'effet de *M.anisoplia* sur l'histologie du rat, un petit animal très étudié ; dit organisme modèle qui sert à réaliser de nombreuses expériences permettant de faire avancer la recherche.

L'étude de l'effet de *M.anisoplia* sur l'aspect histologique du rat prouve que ce dernier ne manifeste aucun effet sur la structure des organes étudiés à savoir : le foie, la rate, le rein, la peau, l'ovaire et la jonction gastro-oesophagienne.

En perspective, il serait intéressant d'approfondir les recherches sur *M.anisoplia*, afin de minimiser les traitements chimiques dont les conséquences sont fâcheuses pour l'environnement.

Il serait souhaitable d'évaluer le degré de toxicité pour le rat et son effet sur d'autres paramètres physiologiques de ce mammifère.

## Références Bibliographiques

- 1-ALEXOPOULOS C. J et MINS C.W., 1979-*introductory mycology* .Ed.Wilegand sous **New York**, 632 p.
- 2-AMOURIQ L., 1973 - *Elément sur la relation entre les insectes et champignons* .Ed. Herman. Paris, 135 P.
- 3-BARNETT H L., 1972 - *Illustrated genera of imperfect fungi*. Ed. Bingers publishing -company, England, 215 p.
- 4-BENSSAAD H.,1999- *Activité biologique de **BEAVERIA BASSIANA** , **BALS(HYPHOMYCETE, DEUTEROMYCOTINE)** sur **LOCUSTA MIGRATORIA** Linné, 1775 (**ORTHOPETRA, ACRIDIDAE**). Etude de l'influence de la température sur la croissance mycélienne, la sporulation et le cycle biologique de cet hyphomycète.*
- 5-BISSAD F.Z. ,1998 - *Etude de l'activité biologique de Beauveria bassiana sur Schistocerca gregaria (Orthoptera, Acrididae). Efficacité et effet sur la respiration et le rythme cardiaque de cet acridien* Mem. Ing. Agro ; Inst.Mat. Agro ; Elharrach, 94p.
- 6-BOTTON,1990- *Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle*. Ed. Masson, Paris, 364p.
- 7-FERRONS P., FARGUES J. et RIBA G., 1991-*Les champignons agents de lutte microbiologique contre les ravageurs* .Dost .Cell.Env., pp.55-76.
- 8-GREATHED D.J,1994 - *Les ennemis naturels des criquets au Sahel*. Col. Acrid. Opérât ; n°8,Ed, CIRAD- GERDAT - PRIFAS, France, 147p.
- 9-HADDADJ F, 2001 : *Evaluation de l'activité biologique de l'Entomopathogène **BEAVERIA BASSIANA** Bals. ( **HYPHOMYCETE, DEUTEROMYCOTINA**) : efficacité et effet sur la cuticule des L5 de **SCHISTOCERCA GREGARIA** (Forskol, 1775) (**ACRIDIDAE, CYRTACANTHACRIDINAE**).*  
*Thèse, magister, Sci, Agro ; Inst. Nat. Agro. EL Harrach.*
- 10-HALOUANE ; 1997 : *Cycle biologique de **SCHISTOCERCA GREGARIA** (Forskal, 1797) et de **LOCUSTA MIGRATORIA** (Linné, 1758) (**ORTHOPETRA, ACRIDIDAE**), Efficacité de **METARHIZIUM ANISOPIIAE** (Metch) (**HYPHOMYCETE, DEUTEROMYCOTINA**) et effet sur quelques paramètres physiologiques de **SCHISTOCERCA GREGARIA**. Thèse, magister, Sci, Agro, Inst. Nat. Agro, ELHarrach.*

- 11-** INGLIS G.D., JOHNSON D.L. and GOETTEL M.S., 1997 - Field laboratory evaluation of two conidial batches of *Beauveria bassiana* (Balsamo) against grasshoppers. Canadian entomologist, Vol. 29, pp. 171-186 INPV : *département de mycologie*.
- 12-**JARONSKI S.T.et GOETTEL M.S., 1997-*development of **BEAUVERIA BASSIANA** for control of grasshoppers and locusts .Memoirs of the Entomological society of Canada, n°171,pp.225-237.*
- 13-** KHAMES.M et KADIA.A : l'effet de champignon entomopathogène (*Beauveria bassiana*) sur l'aspect histologique du rat.pfe 2009 ensv
- 14-**MARTOJA R et MARTOJA M .,1967 - *Techniques d'histologie animal, Ed. Masson et Cie, Paris V, 331p.*
- 15-** MOREAU F., 1953-*Les champignons physiologiques, développement et systématique .Ed .Le Chevalier, Paris, Vol.2, pp. 941-2120.*
- 16-**NEERGARD P., 1979-*Seed pathology.Ed.London, Basingstake the Mac William Press, T.l, 839*
- 17-**OUDDRAOGO A., 1996 - *Condition d'infection des acridiens par l'hyphomycète entomopathogène, **METARHIZIUM FLAVOVIRIDE** et variabilité de tolérance aux conditions climatiques des isolats fongiques candidats à la lutte antiacridienne .Sécheresse, n°2, Vol.7, p. 187.*
- 18-**PAILLOT A., 1933- *L'infection chez les insectes immunité et symbiose .Ed. Pâtissier, Paris, 471 P.*
- 19-**POPOV G.B., LAUNIS -LUNG M.H et VANDRE WEEL J.J., 1990 - *Les oothèques des criquets du sahel.Ed.CIRAD-P.R.I.F.A.S., Départ G.E.R.D.A.T.,Paris ,153 p.*
- 20-**PRIOR C., 1990 -*Surveillance des acridiens au sahel .Lettre S.A.S., n°2, pp.9-10.*
- 21-**BIFRARE Y.D & Wolfensberg T.j., 2007- *protracted **ASPERGILLUS VERSICOLOR** Endophthalmis caused by corneal microperforation. Klin Monatsbl Augenheilkd. 224(4): 314-6. Greg S*
- 22-**BENZARE A.B., 1999-*pour comprendre l'immunologie. Ed. Dés. Iris, Paris, 192p.*

### Références électroniques

[http : //vwww.invasive.org/image/192x128](http://vwww.invasive.org/image/192x128)

[http: //caf.iisc.ernet.in/ photo gallery/Wistar.jpg.](http://caf.iisc.ernet.in/photo_gallery/Wistar.jpg)

**Titre :**

Effet du champignon entomopathogène *Métarhizium anisopliae* sur un aspect histologique du rat (wistar).

**Résumé :**

Notre travail a eu pour première objectif l'étude de l'influence de la température sur la croissance mycélienne des champignons entomopathogènes *M.anisopliae* et *B.bassiana* et déterminer la température optimale pour ces derniers.

Pour le deuxième objectif, l'influence de *M.anisopliae* sur la structure histologique de différents tissus et organes après gavage et injection sous cutanée de ce dernier.

**Titrate:**

Effect of the mushroom entomopathogenic *Métarhizium anisopliae* on a histological aspect of the rat (wistar).

**Summary:**

Our work had for first objective the study of the influence of the temperature on the mycelial growth of the mushrooms entomopathogenic *M.anisopliae* and *B.bassiana* and to determine the optimal temperature for the latter.

For the second objective, the influence of *M.anisopliae* on the histological structure of different fabrics and bodies after crumming and injection under cutaneous from this last.