

Mise en évidence de facteurs humoraux dans la défense immunitaire du criquet pèlerin *Schistocerca gregaria*

D. DAKOUO *
S. ESSUMAN**
S.K. RAINA**

Résumé

L'hémolymphe du criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria* contient des facteurs humoraux, une lectine et un système phénoloxydase. Ces facteurs ont été mis en évidence par des tests *in vitro*. La lectine présente dans le plasma agglutine les hématies de lapin et les protozoaires *Malamoeba locustae*, *Leishmania major* et *Trypanosoma brucei*. Quant au système phénoloxydase, il peut être activé par des substances d'origine microbienne (LPS, laminarine, suspension de kystes de *M. locustae*), par la trypsine ou le méthanol. Les inhibiteurs de ces deux facteurs humoraux ont été également étudiés. Dans le cas de la lectine, il s'agit d'un sucre inhibiteur, le nitrophényl D-galactopyranoside et l'antisérum antilectine. Des inhibiteurs du système phénoloxydase ont été identifiés dans le plasma. Le rôle de ces facteurs humoraux dans la défense immunitaire et les perspectives d'utilisation de leurs inhibiteurs en lutte biologique sont discutés.

Mots-clés : lectine, système phénoloxydase, agglutination, activation, inhibition, immunité, biopesticides, lutte biologique.

Identification of some humoral factors in the immunity of the desert locust, *Schistocerca gregaria*

Abstract

Haemolymph from the Desert locust *Schistocerca gregaria* contains humoral factors such as Lectin and Phenoloxidase system. In vitro studies demonstrated haemolymph agglutination activity for mammalian erythrocytes and protozoa (*M. locustae*, *Leishmania major* and *Trypanosoma brucei*). Phenoloxidase system can be activated by LPS, laminarin, *Malamoeba locustae* cysts, trypsin and methanol. Lectin activity was inhibited by nitrophenyl D-galactopyranoside and by lectin antiserum. Inhibitors of the Phenoloxidase system were found in plasma. The role of such humoral factors in insect immunity and the prospect in use of their inhibitors in biological control are discussed.

Key words: lectin, phenoloxidase system, agglutination, activation, inhibition, immunity, biopesticides, biological control.

*Institut de l'environnement et de recherches agricoles (INERA),
Centre régional de recherches environnementales et agricoles de l'ouest,
B.P. 910 Bobo-Dioulasso, Burkina Faso.

**International centre of insect physiology and ecology (ICIPE) P.O. BOX 30772 Nairobi, Kenya.

Introduction

Le système immunitaire chez les Invertébrés, à l'inverse des Vertébrés, ne possède ni immunoglobulines ni système complément ; il repose sur une stratégie différente basée sur la stimulation de cellules immunocompétentes par une variété de facteurs chimiques et physiques présents à la surface des organismes envahisseurs (GOTZ et BOMAN, 1985 ; LACKIE, 1988 ; PATHAK, 1993). Chez les insectes, les stratégies de défense immunitaire relèvent aussi bien de barrières physico-chimiques mécaniques (cuticule) que de mécanismes cellulaires et humoraux. Les différentes réactions de défense comme la phagocytose (RATCLIFFE et ROWLEY, 1983 ; SHARON, 1984), la formation de nodules (GAGEN et RATCLIFFE, 1976) et l'encapsulation (PATHAK, 1993) sont liées aux hémocytes. Les facteurs humoraux sont produits à la fois par les corps adipeux, les cellules épidermales et les hémocytes (LACKIE, 1988). Parmi les facteurs humoraux, le système Phénoloxydase et la Lectine sont considérés comme jouant un rôle important dans le système immunitaire des insectes.

La phénoloxydase (PO) est une enzyme présente sous sa forme inactive, la prophénoloxydase (proPO). Son activation conduit à la production de l'enzyme responsable de la mélanisation en réponse à l'invasion par des corps étrangers ou lors de la cicatrisation des blessures (LEONARD *et al.*, 1985 ; RATCLIFFE *et al.*, 1991). De nombreux auteurs suggèrent son intervention dans les réactions de défense des arthropodes (SODERHALL et SMITH, 1986 ; BRÉHÉLIN *et al.*, 1989). Le rôle de la PO est mis en évidence lors de l'encapsulation des champignons entomopathogènes (BREY *et al.*, 1988 ; St LÉGER *et al.*, 1988) et des oeufs de parasitoïdes (STOLTZ et GUZO, 1986).

Les agglutinines (hémagglutinines ou lectines) sont des protéines ou glycoprotéines d'origine non immune qui adhèrent aux hydrates de carbone et glycoconjugués en causant leur précipitation ou leur agglutination (Renwrantz, 1986). L'agglutination des érythrocytes ou des parasites ou des agents pathogènes par les lectines est due à une interaction spécifique des protéines avec les sucres situés à la surface des organismes infectants (RENWRANTZ, 1986 ; WHEELER *et al.*, 1993). Ces lectines sont en général rencontrées en solution dans l'hémolymphe et sur la membrane plasmique des hémocytes. Leur fonction biologique serait d'agglutiner des micro-organismes envahisseurs présentant à la surface des sucres ayant des affinités avec ces lectines et constitueraient une étape importante dans les réactions de défense cellulaire (NATORI, 1986 ; MIRANPURI et KHACHATOURIANS, 1993). La purification de la lectine à partir de l'hémolymphe a été obtenue chez *L. migratoria* par DRIF et BRÉHÉLIN (1994) et chez *S. gregaria* par DAKOUO *et al.*, (1993). Il s'agit dans les deux cas d'une glycoprotéine de 650 kD composée de sous unités de 80 kD.

Nous nous intéressons dans le présent travail à la mise en évidence et au rôle de ces deux facteurs humoraux dans l'hémolymphe du criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria* dans la défense immunitaire, ainsi qu'aux mécanismes de leur inhibition.

Matériels et méthodes

Matériels

Le criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria*, provient de l'insectarium du Centre international de recherches en physiologie et écologie des insectes (ICIPE) ; il est élevé à une température de 30 - 35° C avec 12 h de photopériode. Trois espèces de protozoaires ont été utilisées dans nos expérimentations: la première, *Malamoeba locustae*, parasite des criquets, provient de la Section de lutte biologique du Programme de recherches sur les criquets à l'ICIPE.

Les deux autres espèces, *Trypanosoma brucei* et *Leishmania major* souche 236, parasites de Vertébrés, non nuisibles aux criquets, sont utilisées à titre de comparaison. *T. brucei* et *L. major* ont été fournies respectivement par le Programme de Recherches sur les Glossines et l'Unité de Biochimie et Biologie Moléculaire à l'ICIPE. Les protozoaires sont lavés plusieurs fois dans du tampon phosphate de sodium, PBS 0,1 M pH 7,2 (NaCl 0,14M, KCl 2,7 mM, Na₂HPO₄·2H₂O 0,01 M, NaH₂PO₄·1H₂O 1 mM, KH₂PO₄ 1,5 mM) par centrifugation (3000 x g, 10 min, 4° C) et remis en suspension dans le même tampon. La concentration en nombre de cellules x ml⁻¹ a été effectuée par comptage à l'aide de la chambre de TAUBER.

Les érythrocytes de chèvre, de lapin et de mouton ont été obtenus à partir de prélèvements de sang de ces différents animaux dans des tubes imprégnés d'héparine, et lavés au moins cinq fois dans du tampon phosphate de sodium (PBS 0,1 M, pH 7,2) par centrifugation (2000 x g, 10 min, 4° C) pour éliminer les résidus cellulaires. Le culot final est récupéré et dilué à 3 % volume/volume dans du tampon (PBS, pH 7,2) contenant du Calcium (CaCl₂ 0,9 mM) et du Magnésium (MgCl₂·6H₂O 0,5 mM).

Méthodes

Obtention des différentes fractions de l'hémolymphe. Les différentes fractions de l'hémolymphe constituées par le plasma, l'extrait d'hémocytes et le sérum sont obtenus selon les techniques mises au point par BRÉHÉLIN (1979) chez *L. migratoria*. Les larves de stade V sont placées dans une enceinte à -18° C pendant 5 à 10 minutes jusqu'à l'immobilisation complète ; l'hémolymphe est recueillie dans un tube Eppendorff après section d'une patte, à raison de deux individus par tube. Après une centrifugation rapide (900 x g, 20 s, 4° C), le surnageant constituant le plasma est récupéré dans des tubes et congelé à -20° C. Le culot d'hémocytes est rincé deux fois dans du tampon cacodylate de sodium (CH₃)₂AsO₂Na 0,01M pH 6,9) pour éliminer les restes de plasma ; il est ensuite récupéré dans le même tampon, broyé et centrifugé (100 x g, 10 min., 4° C) ; le surnageant récupérée constitue l'extrait d'hémocytes et congelé en petites fractions. Pour le sérum, l'hémolymphe est prélevée de la même façon mais à la température ambiante. Après formation d'un coagulum, l'hémolymphe est centrifugé (100 x g, 15 min., 25° C) et le surnageant constituant le sérum est récupéré et congelé en petites fractions.

Mise en évidence d'une lectine dans le plasma ou le sérum par des tests d'agglutination et d'inhibition de l'agglutination. Des tests d'agglutination ont été réalisés avec les hématies de mammifères et avec des protozoaires pour la mise en évidence de la lectine contenue dans le plasma des criquets. Ces tests sont réalisés dans des plaques de titration à 96 puits à fond en forme de V pour les hématies et à fond plat pour les parasites selon la méthode décrite par DRIF et BRÉHÉLIN (1989). Un volume (50 µl) de plasma ou de sérum subit des dilutions successives dans du tampon phosphate de sodium, PBS 0,1 M pH 7,2 (NaCl, 0,14 M KCl, 2,7 mM, Na₂HPO₄·2H₂O 0,01 M NaH₂PO₄·1H₂O 1 mM KH₂PO₄ 1,5 mM) allant du 1/2 au 1/4096 (rangée de douze puits de la plaque). Puis chaque puits reçoit un volume équivalent de suspension d'érythrocytes ou de parasites contenue dans du tampon PBS contenant du Calcium (CaCl₂ 0,9 mM) et du Magnésium (MgCl₂·6H₂O 0,5 mM). La lecture se fait par simple visualisation après deux heures d'incubation à la température ambiante (25° C) ou après une nuit à 4° C. Le titre de l'agglutination est exprimé par l'inverse de la dilution la plus forte pour laquelle une agglutination est encore observée. L'inhibition de l'activité agglutinante est obtenue par l'action de divers sucres et glycoprotéines ou de l'antisérum anti-lectine selon la méthodologie des mêmes auteurs. A cet effet, la substance à tester est pré-incubée 30 minutes avec la solution inhibitrice à la température ambiante ; après cette incubation, 50 µl d'érythrocytes ou de protozoaires sont rajoutés. La lecture et le titre d'agglutination s'effectuent selon la même procédure que pour l'agglutination.

Préparation d'un immunosérum contre la lectine purifiée. L'immunosérum contenant des anticorps antilectine est préparé sur un lapin par injections sous cutanées d'une solution de lectine purifiée du plasma de criquet selon une procédure décrite par DUNBAR (1990). A cet effet, trois injections d'un soluté contenant 1 ml de lectine purifiée de *S. gregaria* (concentration de 100 µg/ml de protéine) sont réalisées ; lors de la première injection la lectine est contenue dans un millilitre d'adjuvant de Freund complet ; le soluté lors des deux autres injections (18 et 24 jours après) est constitué d'un millilitre de lectine et d'un volume équivalent d'adjuvant de Freund incomplet. L'immunosérum obtenu au bout de quatre semaines après la première injection, est reparti en petites fractions et congelé à -20° C.

Mise en évidence du système phénoloxydase et étude des conditions de son activation et inhibition. Les études sur les conditions d'activation de la phénoloxydase ont été réalisées selon la méthodologie décrite par BRÉHÉLIN *et al.* (1989). Les activateurs suivants ont été testés : méthanol, trypsine, laminarine, et la suspension des kystes de *M. locustae*. Pour l'activation, 10 µl de la fraction à tester sont incubés avec un volume égal de l'activateur. Dans le cas de la trypsine, 10 µl de la fraction d'hémolymphe à tester sont dilués dans 100 µl de Cacodylate de Na (Sigma, Grande Bretagne) et rajoutés à 10 µl de trypsine. Les temps d'incubation varient de 5 à 90 minutes et de 20 secondes avec le méthanol. Lorsque le temps d'incubation désiré est atteint, la PO libérée est mise en réaction avec 1 ml d'une solution de DOPA 20 mM (Sigma, Grande Bretagne). L'activité phénoloxydase est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre BECKMAN DU-50^R à 470 nm. Les mesures portent sur l'évolution de la densité optique (formation du dopachrome), toutes les minutes sur une période de 5 minutes.

Une unité PO correspond à une évolution de la densité optique de 0,001 par minute et par mg de protéine. L'inhibition de l'activation de la proPO est effectuée de la même manière, les extraits d'hémocytes sont d'abord pré-incubés avec le plasma.

Résultats

Agglutination par la lectine contenue dans l'hémolymphe de *S. gregaria*

La présence d'une lectine dans l'hémolymphe est détectée par les réactions positives d'agglutination. En effet, l'agglutination est observée avec les cellules de lapin avec un titre de 1024. Par contre aucune réponse positive n'est obtenue avec les hématies de mouton ou de chèvre (tableau I) tandis que les trois espèces de protozoaire, *L. major*, *T. brucei* et *M. locustae*, sont agglutinées par le plasma et le sérum de *S. gregaria* (tableau II et Planche I). Les titres d'agglutination sont sensiblement plus élevés avec le sérum qu'avec le plasma. Les titres d'agglutination les plus élevés sont obtenus avec *L. major* et *T. brucei* (tableau II) soit respectivement 256 et 512 pour le plasma et le sérum contre 128 et 256 lorsque *M. locustae* est utilisé. En plus de l'agglutination par le sérum, une mélanisation des premiers puits est observée sur la plaque d'agglutination.

Tableau I. Agglutination des érythrocytes de mammifères par les plasma du criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria*

Espèces	Titre d'agglutination du plasma chez <i>S. gregaria</i>
Lapin	1 024
Chèvre	0
Mouton	0

Tableau II. Agglutination des protozoaires par les plasma et le sérum du criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria*

Protozoaires	Titre d'agglutination	
	Plasma	Sérum
<i>Malamoeba locustae</i>	128	256 (*)
<i>Leishmania major</i>	256	512(*)
<i>Trypanosoma brucei</i>	256	512(*)

N.B.(*). Agglutination et mélanisation des deux premiers puits de la plaque d'agglutination

Inhibition de l'activité agglutinante de la lectine

Les résultats des tests d'inhibition de l'activité agglutinante de la lectine sont présentés dans les tableaux III, IV et V. La plupart des sucres testés réduisent, de façon significative, le pouvoir agglutinant de la lectine présente dans le plasma (tableau III). Le stachyose et le mélibiose (1 et 2) sont des inhibiteurs intéressants car permettant de réduire le titre d'agglutination à 8 et 16 respectivement. Cependant l'inhibition totale est obtenue avec le sérum antilectine et avec les D-galactopyranoside de configuration Alpha (sucres 5 à 7). Ces mêmes sucres en configuration Bêta ont un pouvoir inhibiteur limité (sucres 8 et 9) avec des titres d'agglutination se situant entre 128 et 256.

Tableau III. Effets des sucres inhibiteurs sur l'activité agglutinante du plasma du criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria*

Sucres inhibiteurs	Titre d'agglutination après inhibition
Témoin (Plasma)	1 024
Anticorps Antilectine	0
1- Stachyose	8
2- Alpha D (+) Mélibiose	16
3- Alpha D (+) Fructose	32
4-D (+) Raffinose	0
5-m-Nitrophenyl α -D galacto-pyranoside 0,05 M)	0
6-o-Nitrophenyl α -D galacto-pyranoside (0,05 M)	0
7-p-Nitrophenyl α -D galacto-pyranoside (0,05 M)	128
8-o-Nitrophenyl β -D galacto-Pyranoside	256
9-p-Nitrophenyl β -D galacto-Pyranoside	

N.B. Concentration des sucres de 0,1 M sauf spécifiée

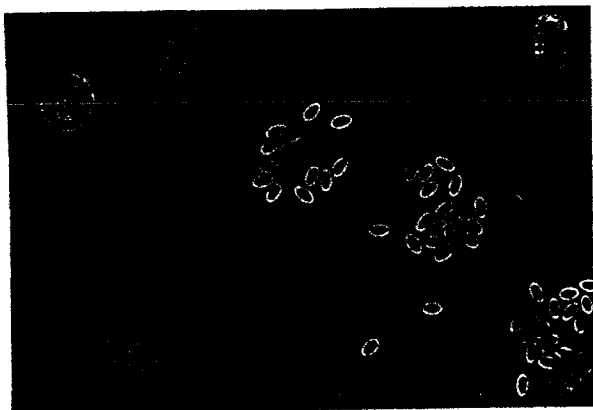
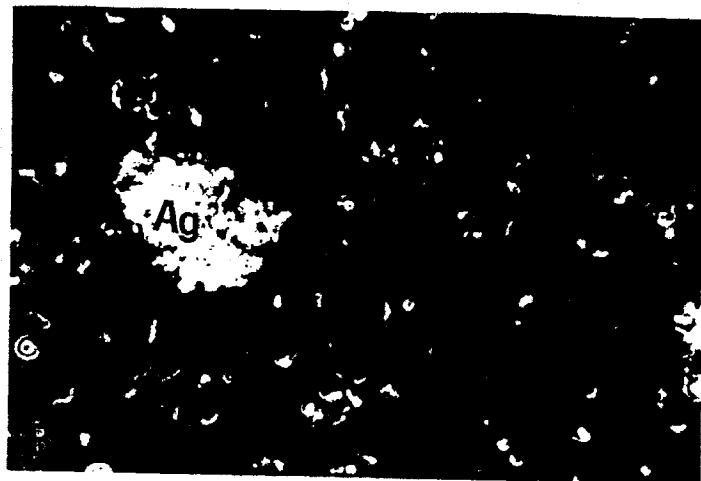
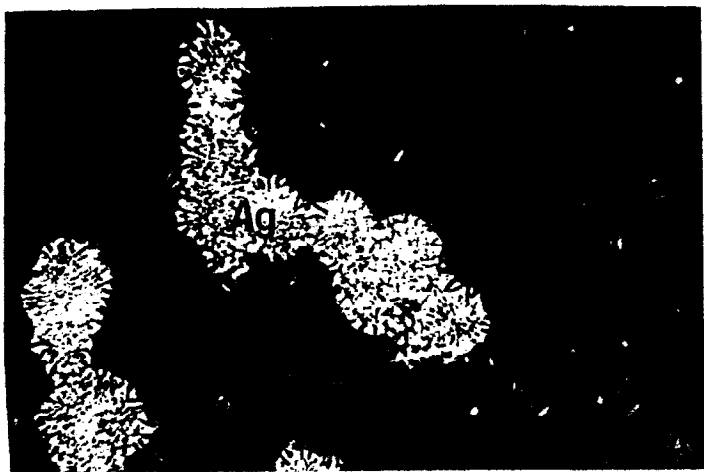


PLANCHE I

AGGLUTINATION DES 3 ESPECES DE PROTOZOAIRES PAR
LE PLASMA DU CRIQUET PELERIN, *S. GREGARIA*

- A = *Leishmania major*
 B = *Trypanosoma brucei*
 C = *Malamoeba locusta*
- Ag = Agglutination

L'effet inhibiteur de p-nitrophényl α D-galactopyranoside a été testé sur le plasma et la lectine purifiée de *S. gregaria*. L'examen du tableau IV montre que ce sucre provoque également une inhibition totale de l'agglutination de tous les organismes testés à l'exception des kystes de *M. locustae*. Des tests d'inhibition de l'activité agglutinante par l'antisérum ont été également effectués sur le plasma, le sérum et la lectine purifiée de *S. gregaria*. Les résultats présentés dans le tableau V permettent d'observer que les anticorps antilectine provoquent une inhibition totale de l'agglutination de tous les organismes testés, à l'exception des kystes de *M. locustae*.

Tableau IV. Effet du sucre inhibiteur p-Nitrophényl α -D galactopyranoside sur l'activité agglutinante du plasma et de la lectine purifiée du criquet pèlerin, *Schistocerca gregaria*

Organismes	Inhibition de l'agglutination	
	Plasma	Lectine purifiée
Hématies de lapin	+	+
<i>Trypanosoma brucei</i>	+	+
<i>Leishmania major</i>	+	+
<i>Malamoeba locustae</i>	-	-

N.B. (+) Inhibition totale
(-) Inhibition non observée

Tableau V. Effet inhibiteur de l'antisérum antilectine sur l'activité du plasma, du sérum et de la lectine purifiée de *Schistocerca gregaria*

Organismes	Inhibition de l'agglutination		
	Plasma	Sérum	Lectine purifiée
Hématies de lapin	+	+	+
<i>Trypanosoma brucei</i>	+	+	+
<i>Leishmania major</i>	+	+	+
<i>Malamoeba locustae</i>	-	-	-

Activation *in vitro* de la phénoloxydase dans les différentes fractions de l'hémolymphe de *S.gregaria*

L'analyse des résultats illustrés par la figure 1 indique que des cinq activateurs utilisés (méthanol, LPS, trypsine laminarine et *M. locustae*), seul le méthanol permet d'activer l'enzyme dans les trois fractions de l'hémolymphe constituées par les extraits d'hémocytes, le plasma et le sérum. La valeur des activités enzymatiques est comprise entre 60 et 120 unités PO / min. L'activité la plus importante est observée avec le sérum quelque soit l'activateur, à l'exception des LPS qui ne semblent pas avoir d'effet sur la PO dans le sérum.

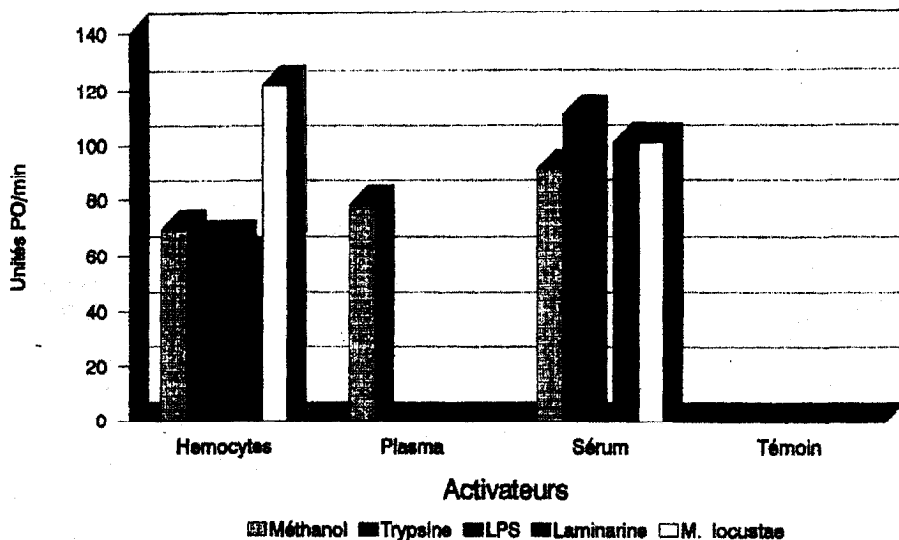


Figure 1. Activation de la proPO dans les 3 fractions de l'hémolymphe chez *Schistocerca gregaria*

L'activation de l'enzyme dans le plasma par les LPS, la trypsine, la laminarine ou les kystes de *M. locustae* semble absente ou inhibée. Une exception est cependant observée dans l'activation de la proPO par la suspension de kystes de *M. locustae*. En effet, l'activité enzymatique maximale est enregistrée avec les extraits d'hémocytes (120 unités PO/min.) avec cette suspension de kystes.

Effet inhibiteur du plasma sur l'activation de la proPO chez *S. gregaria*

L'effet inhibiteur croisé d'une pré-incubation des extraits d'hémocytes de *S. gregaria* avec du plasma de *S. gregaria* ou de *L. migratoria* sur l'activation de la PO a été étudié.

L'examen du tableau VI fait ressortir que le plasma de *S. gregaria* provoque une inhibition totale de 100 % en présence des extraits d'hémocytes issus de la même espèce. Une inhibition partielle de 90,9 % est obtenue lorsque le plasma de *L. migratoria* est pré-incubé avec les extraits d'hémocytes de *S. gregaria*. Le témoin constitué par les extraits d'hémocytes de *S. gregaria* présente une activité de 180 unités PO/min. en présence des LPS.

Tableau VI. Effet inhibiteur du plasma de *Locusta migratoria* et de *Schistocerca gregaria* sur l'activation de la proPO des extraits d'hémocytes chez *S. gregaria*

Milieu dépré-incubation	Activateurs	Activité PO/min.	% inhibition
Témoin (EH)*	LPS	180 ± 4,08	-
Plasma Sg	LPS	0	100,00
Plasma Lm	LPS	66,70 ± 2,90	90,90

N.B. Lm : *Locusta migratoria* ; Sg : *Schistocerca gregaria* EH : Extraits d'hémocytes

Discussion

Notre travail a permis de démontrer que l'hémolymphe de *S. gregaria* contient une lectine qui agglutine les hématies de mammifères et les protozoaires. Ces réactions d'agglutination sont donc liées à une interaction spécifique de cette lectine avec les sucres présents à la surface des membranes de ces organismes. L'absence d'agglutination observée dans le cas des hématies de chèvre et de mouton laisse suggérer une non spécificité de ces composés vis-à-vis de la lectine. Des résultats similaires ont été enregistrés chez plusieurs espèces d'Acridiens (HAPNER, 1983 ; DRIF et BRÉHÉLIN, 1994).

Le rôle de la lectine dans les mécanismes de défense a été déjà rapporté chez le Diptère *Sarcophaga peregrina* (TAKAHASHI *et al.*, 1986), le Lépidoptère *Spodoptera exigua* (PENDLAND *et al.*, 1988) et chez les Orthoptères, *Locusta migratoria* (DRIF et BRÉHÉLIN, 1989), *Melanoplus differentialis* (WHEELER *et al.*, 1993). En plus de son rôle opsonique, la lectine exerce également une activité lytique sur les corps étrangers (INGRAM et MOLYNEUX, 1983 ; KOMANO et NATORI, 1985). La lectine purifiée de *M. differentialis* accroît l'association des hémocytes avec des spores du champignon entomopathogène, *Beauveria bassiana*. L'inhibition de l'activité agglutinante est obtenue avec le sucre affine de la lectine, l'alpha D-méthyl galactoside (WHEELER *et al.*, 1993).

La spécificité des lectines du plasma vis-à-vis des D-galactosides a été déjà signalée chez d'autres espèces d'Acridiens (HAPNER, 1983 ; DRIF et BRÉHÉLIN, 1994) ou d'insectes (LACKIE et VASTA, 1988).

Les résultats obtenus sur l'activation de la phénoloxydase ont établi que la proPO est localisée dans les hémocytes de *S. gregaria*. Ils sont en accord avec les travaux de HUXHAM et LACKIE, 1989, et de BRÉHÉLIN *et al.*, 1989). Selon ASHIDA (1990), les sérines protéases, dont la plus importante, la « prophenoloxidas activating system (Pro-AS) », agiraient directement sur la proPO et seraient responsables de son activation chez les insectes. Ces sérines protéases, stockées également à l'état de proenzyme, doivent être activées par des molécules d'origine microbienne tels les LPS provenant de bactéries ou les 1,3 Glycanes issues de champignons (LEONARD *et al.*, 1985) ou par les kystes de *M. locustae* dans notre étude. Les kystes présenteraient à leur surface, des composés similaires à ceux des parois bactériennes ou fongiques et seraient donc responsables du déclenchement de la cascade de réactions conduisant à la production de l'enzyme active. Celle-ci est alors capable d'oxyder les phénols en quinones qui vont former la mélanine connue pour sa toxicité vis à vis des micro-organismes (St LÉGER *et al.*, 1988). Cette enzyme serait donc associée à la déposition de la mélanine et à l'encapsulation des kystes souvent observées dans nos tests.

L'absence d'activation de l'enzyme ou son activation partielle dans le plasma par les composés d'origine microbienne laisse suggérer la présence d'inhibiteurs dans cette fraction de l'hémolymphe. L'inhibition partielle, lorsqu'il s'agit du plasma d'une autre espèce de criquet (*Locusta migratoria*) ou totale avec le plasma de la même espèce laisse supposer des similarités entre les inhibiteurs chez les deux espèces de criquet. Des inhibiteurs du système phénoloxydase (anti-protéases) ont été isolés de l'hémolymphe de *Bombyx mori* (SASAKI, 1984), de *Sarcophaga bulleta* (SAUL et SAUGUMARAN, 1986) et de *L. migratoria* (BRÉHÉLIN *et al.* 1991 ; BOIGEGRAIN *et al.*, 1992).

Nous avons pu ainsi mettre en évidence, au cours de cette étude, des inhibiteurs de la lectine et du système phénoloxydase. L'on devrait approfondir nos connaissances de ces inhibiteurs dans une perspective d'utilisation en lutte biologique contre les insectes en général, les criquets migrants en particulier. En effet, l'orientation nouvelle en matière de lutte contre les ravageurs repose sur l'utilisation de biopesticides produits à partir de champignons, bactéries ou de virus entomopathogènes (PRIOR, 1993).

Les inhibiteurs des facteurs humoraux pourraient être incorporés dans la formulation de biopesticides afin de bloquer certaines séquences du système immunitaire chez les insectes cibles et les rendre plus vulnérables aux agents de lutte biologique (BRÉHÉLIN, 1991 ; CORLISS, 1991).

Remerciements

Nous remercions les Drs M. BRÉHÉLIN et Latifa DRIF du Laboratoire de pathologie comparée INRA/CNRS de l'Université de Montpellier II (France) pour leur contribution dans la mise au point des protocoles expérimentaux. Nos remerciements vont également aux Drs N. MASSAMBA et S. MYOKE de l'ICIPE pour nous avoir fourni respectivement les souches de *Trypanosoma brucei* et de *Leishmania major*.

Références bibliographiques

- ASHIDA M., (1990). The prophenoloxidase cascade in insect immunity. Res. Immunol 141-9, 908-910.
- BOIGEGRAIN R. A., MATRAS H., BREHELIN M., PAROUTAUD P. & COLLETTI-PREVIERO M. A., (1992). Insect immunity : two proteinase inhibitors from hemolymph of *Locusta migratoria*. Biochem. Biophys. Res. Comm. 189, 2 790-93.
- BRÉHÉLIN M., (1979). Role of hemocytes in hemolymph coagulation in *Locusta migratoria*. Experientia, 35, 270.
- BRÉHÉLIN M., (1991). Depression of immune reactions in insects. Res. Immunol., 141, 9, 935-938.
- BRÉHÉLIN M., BOIGEGRAIN R.A., DRIF L. & COLETTI-PREVIERO M.A. (1991). Purification of a protease inhibitor which controls prophenoloxidase activation in hemolymph of *Locusta migratoria* (Insecta). Biochem. Biophys. Res. Comm., 179, 2, 841-846
- BRÉHÉLIN M., DRIF L., BAUD L. & BOEMARE N., (1989). Activation of prophenoloxidase in insect haemolymph: cooperation between humoral and cellular factors in *Locusta migratoria*. Insect Biochem., 19, 301-307.
- BREY P.T., LEBBUN R.A., PAPIEROK B., VENNAVALLI S. & HAFEZ J. (1988). Defense reactions by larvae of *Aedes aegypti* during infection by the aquatic fungus *Lagenidium giganteum* (Oomycete). Cell Tiss. Res., 253, 245-250.
- CORLISS J. (1991). Blocking insect immune response. Agricultural Res., 39, 8, 26.
- DAKOUO D., BRÉHÉLIN M., ESSUMAN S. & RAINA S.K. (1993). Isolation and characterization of some humoral factor in *Schistocerca gregaria* against infection by the protozoon, *Malamoeba locustae*. In : ICIPE Annual Report 1992. (Mengech A. N. & Chaudhury, Eds.), 72, ICIPE Science Press, Nai-robi.
- DUNBAR B.S. (1990). Two-dimensional electrophoresis and immunological techniques. Plenum Press, New-York, 2nd Edition. 372 pages.
- GAGEN S.J. & RATCLIFFE N.A. (1976). Studies on the in vivo cellular reactions and fate of injected bacteria in *Galleria mellonella* and *Pieris brassicae* larvae. J. Invertebr. Pathol. 28, 1, 17-2
- GÖTZ P. & BOMAN H.G. (1985). Insect Immunity. In : Comprehensive Insect Physiology, Biochemistry and Pharmacology. 3, 453 (G.A. Kerkut and L.I. Gilbert, Eds.) Pergamon Press, New York.
- HAPNER K.D. (1983). Hemagglutinin activity in the hemolymph of individual acrididae grasshoppers specimens. J. Insect Physiol., 29, 1, 101-106.
- HUXHAM K.D. & LACKIE A.M. (1988). Behaviour of separated fractions of locust haemocytes in vitro. Cell Tiss. Res., 251, 677-681.
- INGRAM G.A., EAST J. & MOLYNEUX D.H. (1983). Agglutinins of *Trypanosoma*, *Leishmania* and *Crithidia* in insect haemolymph. Dev. Comp. Immunol., 7, 181-188.
- KOMANO H. & NATORI S. (1985). Participation of *Sarcophaga peregrina* humoral lectin in the lysis of sheep red blood cells injected in the abdomen. Dev. Comp. Immunol, 9, 31-40.
- LACKIE A.M. (1988). Immune mechanisms in Insect. Parasitology To-day, 4, 4, 88-105.
- LACKIE A.M. & VASTA G.R. (1988). The role of galactosyl-binding lectin in the cellular immune response of the cockroach *Periplaneta americana* (Dictyoptera) Immunology, 64, 353-357.
- LEONARD C., RATCLIFFE N.A. & ROWLEY A.F. (1985a). The role of prophenoloxidase activation in non self recognition and phagocytosis by insect blood cells J. Insect Physiol., 31, 10, 789-792.

- MIRANPURI G.S. & KHACHATOURIANS G.G. (1993).** Hemocytes surface changes in the migratory grasshopper, *Melanoplus sanguinipes* in response to wounding and infection with *Beauveria bassiana*. *Entomol. Exp. Appl.*, 68, 157-164.
- NATORI S. (1986).** The role of lectins in immune reactions in insects. In: *Fundamental and Applied Aspects of Invertebrate Pathology* (R. A. Samson, M. Vlack, D. Peters Eds.), p 411 Proc. 4th Int. Colloq. Invertebr. Pathol., Veldhoven (The Netherlands), August 1986. S.I.P. Wageningen.
- PATHAK J.P.N. (1993).** Cell-mediated defense reactions in insects In: *Insect Immunity*. (Pathak J.P.N. Ed.), 47-58. Oxford & IBH Publishing Co. Pvt. Ltd. New Delhi.
- PENDLAND J.C., HEATH M.A. & BOUCIAS D.G. (1988).** Function of a galactose binding lectin *Spodoptera exigua* larval haemolymph : opsonization of blastospores from hyphomycetes. *J. Insect Physiol.* 6, 533-540.
- PRIOR C. (1993).** Les biopesticides contre les criquets. *La Recherche*, 251, 24, 219-221.
- RATCLIFFE N.A., BROOKMAN L. & ROWLEY A. (1991).** Activation of the prophenoloxidase cascade and initiation of nodule formation in locusts by bacterial lipopolysaccharides. *Devel. and Comp. Immunol.* 15, 33-39.
- RATCLIFFE N. A & ROWLEY A. F. 1983** Recognition factors in insect hemolymph. *Dev. and Comp. Immunol.* 7, 653-656
- RENWRANTZ L. (1986).** Lectins in molluscs and arthropods: their occurrence, origin and roles in immunity. *Symp. Zool. Soc. London*, 56, 81-93.
- SAINT LEGER R.J., COOPER R.M. & CHARNELY A.K. (1988).** The effect of melanization of *Manduca sexta* cuticle on growth and infection by *Metarhizium anisopliae*. *J. Invertebr. Pathol.* 52, 459-470.
- SASAKI T. (1984).** Amino acid sequence of a novel Kunitz type chymotrypsin inhibitor from hemolymph of silkworm larvae, *Bombyx mori*. *FEBS Lett.* 168, 227-230.
- SAUL S.J. & SUGUMARAN M. (1986).** Protease inhibitor controls prophenoloxidase activation in *Manduca sexta*. *FEBS Lett.*, 208, 1, 113-116.
- SHARON N. (1984).** Surface carbohydrates and surface lectins are recognition determinants in phagocytosis. *Immunol. Today*, 5, 143-147.
- SÖDERHÄLL K. & SMITH V.J. (1986).** The prophenoloxidase system : the biochemistry of its activation and role in Arthropod cellular immunity with special references to crustaceans. In : *Immunity in Invertebrates*, (Bréhélin, M. Ed.), 208-223. Springer-Verlag, Berlin.
- STOLZ D.B. & GUZO D. (1986).** Apparent hemocytic transformation associate with parasitoid induced inhibition of immunity in *Malacosoma distria* larvae. *J. Insect Physiol.*, 32, 377-388.
- TAKAHASHI H., KOMANO H. & NATORI S. (1986).** Expression of the lectin gene in *Sarcophaga peregrina* during normal development and under conditions where the defense mechanism is activated. *J. Insect Physiol.*, 32, 9, 771-780.
- WHEELER M.B, STUART G.S. & HAPNER K.D, (1993).** Agglutinins mediated opsonisation of fungal blastospores in *Melanoplus differentialis*. *J. Insect Physiol.*, 39, 6, 477-483