

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



جامعة الإخوة منتوري قسنطينة I  
Frères Mentouri Constantine I University  
Université Frères Mentouri Constantine I

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie  
Département de Microbiologie

كلية علوم الطبيعة و الحياة  
قسم الميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biotechnologie

Spécialité : Mycologie et Biotechnologie Fongique

N° d'ordre :

N° de série:

Intitulé :

---

L'étude de l'activité antimicrobienne des bactéries entomopathogènes et leurs effets sur la croissance de *Fusarium*

---

Présenté par :

✚ DJEBLI Youstra

Le : 20/06/2022

✚ BENHARKOU Zeyneb

Jury d'évaluation :

Encadreur : Mme ABDELAZIZ Ouidad. (Maître de Conférence B- UFM, Constantine 1).

Examineur 1 : Mme BENKAHOUL Malika. (Maître de Conférence A - UFM, Constantine 1).

Examineur 2 : Mme BOUCHELOUKH Warda. (Maître de Conférence B- UFM, Constantine 1).

Année universitaire

2021 – 2022

## **Remerciements**

*Nous tenons à remercier en premier lieu le bon **Dieu** de nous avoir donnés la santé, la volonté, la foi et le courage pour réaliser ce travail.*

*Le travail de recherche présenté dans ce manuscrit n'aurait pu être accompli sans l'aide, le soutien et les encouragements de nombreuses personnes que nous sommes heureuse de pouvoir remercier ici.*

*Nous sommes particulièrement agréables d'adresser nos remerciements à Madame **Ouidad ABDELAZIZ**, pour nous guider et conseiller et pour ses précieux conseils qui nous ont toujours été fructueux. Madame **Ouidad**, merci pour votre soutien pendant cette petite période vous méritez Professeure notre profonde gratitude.*

*Nos remerciements vont également à tous les membres de jury Madame **Malika BENKAHOUL**, Maître de Conférence A et Madame **Warda BOUCHELOUKH**, Maître de Conférence B, faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine 1 pour l'intérêt qu'ils ont bien voulu porter à ce modeste travail.*

*Nos sincères, vifs et chaleureux remerciements pour tous les enseignant (e)s, qui ont contribué à notre formation Madame **Ihem MERIANE**, Madame **Warda BOUCHELOUKH** et bien sûr Monsieur **Khaled BOULAHROUF**, Maître de Conférence B, pour ses conseils et ses encouragements pendant deux ans.*

*Nous tenons de remercier les ingénieurs de Laboratoire de Microbiologie particulièrement Madame **Samira et Hanane**, Madame **Leila** l'ingénieure de Laboratoire d'Enzymologie et sans oublier Madame **Naima BENKENNANA**, la directrice de Laboratoire d'Arthropodes et Mademoiselle **Chahinez**.*

## ***Dédicace...***

*A mes parents, **Aicha hassani** et **Said Benharkou** qu'ils trouvent ici l'hommage de ma gratitude qui, si grande qu'elle puisse être, ne sera jamais à la hauteur de leur éloquence et leur dévouement, Aucune dédicace ne pourra exprimer la profondeur de mes sentiments.*

*Ce travail représente la fruit de votre soutien et de vos encouragements depuis ma tendre enfance.*

*Puisse **Dieu**, le très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.*

*A mon cher frère et ma chère sœur, pour votre soutien fraternel exceptionnel en vers moi tout au long de la réalisation de mon travail, j'espère bénédiction m'accompagner a toujours.*

*A mes chers amies, Yousra, Asma et tous ceux qui, par un mot, m'ont donné la force de continuer je vous remercie.*

***Zeyneb...***

## ***Dédicace...***

*Je dédie cet humble travail à ceux que j'aime trop*

*A l'homme qui m'a donné son cœur et son âme pour que je puisse être la personne que je suis aujourd'hui, celle qui m'a enseigné la patience et la sagesse, à mon père, **Ahmed**.*

*A la femme qui m'a donnée la vie, celle qui m'a donnée l'amour, qui m'a appris la force et le sens des responsabilités, à ma mère, **Hadria BOUHOUHOU**.*

*A celui qui s'est occupée de moi le plus et a eu mon dos chaque fois que j'étais dans le besoin, celui qui s'est assuré que je me levais chaque fois que je tombais, à ma sœur,  
**Khawla**.*

*A mes chers frères, **Ammar** et **Noureddine**, merci pour votre confiance et votre respect, j'espère que je vous ai rendu fier.*

*À la meilleure amie que je n'ai jamais eue et que je n'aurai jamais eue, **Zeyneb**, ni lieu ni heure ne peut jamais changer cela.*

***Yousra...***

# Table des matières

|                                    |   |
|------------------------------------|---|
| Remerciements                      |   |
| Dédicace                           |   |
| Liste des figures                  |   |
| Liste des tableaux                 |   |
| Liste des abréviations             |   |
| <b>Introduction générale</b> ..... | 1 |

## Chapitre I: les vers blancs

|  |   |
|--|---|
| <b>1. Introduction</b> .....   | 3 |
| <b>2. Vers blancs</b> .....  | 3 |
| 2.1 Position systématique.....   | 4 |
| <b>3. Description</b> .....  | 4 |
| <b>4. Cycle de vie</b> .....   | 5 |
| 4.1. Hanneton commun ( <i>Phyllophaga anxia</i> ).....   | 7 |
| 4.2. Hanneton européen ( <i>Rhizotrogus majalis</i> ) et Scarabée japonais ( <i>Popillia japonica</i> )..... | 7 |
| <b>5 Les dégâts des vers blancs</b> .....  | 7 |

## Chapitre II: les bactéries entomopathogènes

|   |    |
|---|----|
| <b>1. Généralités</b> .....   | 9  |
| <b>2. Les bactéries entomopathogènes les plus utilisées en lutte biologique</b> ..... | 9  |
| 2.1. Bacillaceae.....   | 9  |
| 2.2. Enterobacteriaceae.....  | 10 |
| 2.2.1. <i>Serratia</i> .....  | 10 |
| 2.2.2. <i>Xenorhabdus</i> .....   | 10 |
| 2.2.3. <i>Photorhabdus</i> .....  | 11 |
| 2.3 Pseudomonadaceae.....   | 11 |
| <b>3 Mode de vie des bactéries entomopathogènes</b> .....                             | 11 |
| 3.1. Processus d'infection.....   | 12 |

## **Chapitre III: la lutte biologique**

|  |    |
|--|----|
| <b>1. La lutte biologique</b> .....                    | 16 |
| <b>2. Les biopesticides</b> .....                      | 16 |
| 2.1. Les différentes catégories de biopesticides ..... | 16 |
| <b>3. Les types de lutte biologique</b> .....          | 18 |

## **Chapitre IV: les bactéries entomopathogènes contre Fusarium**

|   |    |
|---|----|
| <b>1. Introduction</b> .....                                    | 20 |
| <b>2. Le complexe fusarien</b> .....                            | 20 |
| <b>3. Le genre <i>Fusarium</i></b> .....                        | 20 |
| 3.1. Cycle de <i>Fusarium</i> .....                             | 21 |
| <b>4. La fusariose</b> .....                                    | 22 |
| 4.1. Conditions favorables au développement de la maladie ..... | 23 |
| 4.1.1. Les facteurs climatiques .....                           | 24 |
| 4.1.2. Les facteurs agronomiques .....                          | 24 |
| 4.1.3. Les facteurs physiologiques.....                         | 24 |
| 4.2. Symptômes de la maladie.....                               | 24 |
| <b>5. Les mycotoxines</b> .....                                 | 25 |

## **Matériels et méthodes**

|  |    |
|--|----|
| <b>1 Présentation de la zone d'étude</b> .....   | 27 |
| <b>2 La récolte des vers blancs</b> .....  | 28 |
| <b>3. Isolement, purification et identification des bactéries entomopathogènes</b> ..... | 29 |
| 3.1. Isolement des bactéries entomopathogènes.....                                       | 29 |
| 3.2. La purification .....   | 29 |
| 3.3. Identification .....  | 29 |
| 3.3.1. Caractérisation phénotypique des isolats .....                                    | 29 |
| <b>4. Test d'entomopathogénicité</b> .....   | 35 |
| 4.1. Préparation de l'inoculum .....   | 35 |
| 4.2. Injection.....  | 35 |
| 4.3. Analyse statistique.....  | 35 |

|  |    |
|--|----|
| <b>5. Activités antimicrobiennes</b> .....         | 36 |
| 5.1. Souches bactériennes.....                     | 36 |
| 5.2. Souches fongiques .....                       | 36 |
| 5.3. Milieux de culture .....                      | 36 |
| 5.4. Evaluation de l'activité antibactérienne..... | 36 |

## **Résultats et discussion**

|  |    |
|--|----|
| <b>1. L'insecte</b> .....                            | 37 |
| 1.1 Position systématique.....                       | 38 |
| <b>2. Partie Microbiologique</b> .....               | 38 |
| 2.1 Isolement , purification et identification ..... | 38 |
| <b>3. Test d'entomopathogénicité</b> .....           | 43 |
| <b>4. Activité Antimicrobienne</b> .....             | 45 |
| 4.1. L'activité antibactérienne.....                 | 45 |
| 4.2. L'activité antifongique.....                    | 48 |
| <b>Conclusion</b> .....                              | 51 |
| Références Bibliographiques .....                    | 53 |

Résumé en Français

Résumé en Arabe

Résumé en Anglais

Annexes

## Liste des abréviations

**Bt** *Bacillus thuringiensis*

**AND** Acide Disoxy-ribo Nucléotide

**pH** Potentiel d'Hydrogène

**UV** Ultraviolets

**IPs** *Insecticides Proteins*

**Bti** *Bacillus thuringiensis israelensis*

**Bs** *Bacillus sphearicus*

**Kb** Kilo base

**Km** Kilo mètre

**%** Pourcent

**GN** Gélose Nutritive

**BN** Bouillon Nutritif

**°C** Degrés Celcius

**h** heure

**mn** minute

**API 20E** Analytical Profile Index (E= Enterobacteriaceae)

**API 20NE** Analytical Profile Index (NE= Non Enterobacteriaceae)

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** Eau Oxygénée

**O<sub>2</sub>** Oxygène

**ml** millilitre

*Liste des abréviations*

|            |                               |
|------------|-------------------------------|
| <b>UFC</b> | Unité Formant Colonie         |
| <b>mm</b>  | millimètre                    |
| <b>MH</b>  | milieu Muller-Hinton          |
| <b>PDA</b> | milieu Potato-Dextrose-Agar   |
| <b>COV</b> | Composés Organiques Volatiles |

## Liste des figures

|  |    |
|--|----|
| <b>Figure 1:</b> forme en "C" des vers blancs..  | 5  |
| <b>Figure 2:</b> cycle de vie des vers blancs.....   | 5  |
| <b>Figure 3:</b> cycle vitaux, du hanneton commun, du hanneton européen et du scarabée japonais.....   | 6  |
| <b>Figure 4:</b> présence de vers blancs dans la pelouse; le système racinaire étant coupé, (à gauche) la pelouse se soulève facilement, (à droite) dommages causés par la présence des vers blancs..  | 8  |
| <b>Figure 5:</b> insecticide biologique à base de <i>Bacillus thuringiensis</i> .....  | 17 |
| <b>Figure 6:</b> cycle de vie du genre <i>Fusarium</i> . .....   | 22 |
| <b>Figure 7:</b> la fusariose de l'épi du blé..  | 23 |
| <b>Figure 8:</b> la situation géographique de la wilaya de Mila.....   | 27 |
| <b>Figure 9:</b> situation géographique de la commune d'Oued-El-Athmania (à gauche), la collection des vers blancs (à droite). .....   | 28 |
| <b>Figure 10:</b> la culture de céréales. ....   | 28 |
| <b>Figure 11:</b> quelques exemples de la galerie API 20NE et API 20E qu'on a déjà fait. ....  | 33 |
| <b>Figure 12:</b> le test oxydase de quelques souches.....   | 34 |
| <b>Figure 13:</b> (à gauche), partie postérieure de l'abdomen de la larve d'hanneton européen. (À droite), la partie postérieure de l'abdomen d'une larve de vers blancs de la région Mechri Salah sous une loupe optique du Laboratoire d'Arthropodes de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de Constantine. .... | 37 |
| <b>Figure 14:</b> le taux de mortalité des larves du vers blancs injectées par les 12 souches bactériennes par jour.....   | 44 |
| <b>Figure 15:</b> les zones d'inhibitions des 12 souches bactériennes sur les bactéries pathogènes. ....   | 47 |
| <b>Figure 16 :</b> les diamètres de la zone d'inhibition d' <i>E.coli</i> et de <i>Staphylococcus aureus</i> en présence des bactéries isolées, sélectionnées. ....  | 48 |
| <b>Figure 17:</b> effet positif du V12 sur <i>Fusarium oxysporum</i> . ....  | 49 |

## Liste des tableaux

|   |           |
|---|-----------|
| <b>Tableau I:</b> nomenclature des protéines des cristaux.....  | <b>14</b> |
| <b>Tableau II:</b> les principaux mycotoxines du genre <i>Fusarium</i> .Source .....  | <b>26</b> |
| <b>Tableau III:</b> résultats de l'examen macroscopique des souches bactériennes isolées à partir du vers blancs sur milieu GN..... | <b>39</b> |
| <b>Tableau IV:</b> coloration de Gram des 12 souches bactériennes observées sous microscope optique X 100. ....                     | <b>40</b> |
| <b>Tableau V:</b> identification des souches bactériennes à l'aide des galeries API 20E et NE. ....                                 | <b>42</b> |
| <b>Tableau VI:</b> résultats de test d'entomopathogénicité des vers blancs.....   | <b>44</b> |
| <b>Tableau VII:</b> l'étude de l'activité antibactérienne des colonies bactériennes entomopathogènes par la méthode directe.....    | <b>46</b> |
| <b>Tableau VIII :</b> tableau représentant le taux d'inhibition des 12 souches bactériennes contre <i>Fusarium oxysporum</i> . .... | <b>49</b> |

# Introduction

## **Introduction**

Il est bien connu que les ravageurs et les maladies des plantes causent des pertes importantes aux cultures partout dans le monde. C'est le risque agricole et il peut être défini comme tout un ensemble de facteurs contraires à une production stable et économiquement satisfaisante (**FAO, 1983**).

L'insecte ravageur des cultures est un de ces facteurs ; il peut, dans certains cas, devenir prépondérant. Ce risque constant de pertes alimentaires est perçu plus ou moins distinctement par chaque cultivateur, en pays industrialisé comme en pays en voie de développement. Cet agriculteur cherche à se prémunir contre le risque de perdre tout ou partie de sa récolte, ou des réserves qu'il constitue, en utilisant, s'il en a les moyens, toute une panoplie de méthodes de lutte, sophistiquées ou empiriques ; mais ce n'est qu'à ce stade que le cultivateur pourra intervenir. De ce point de vue selon **Eparvier (2018)**, les microorganismes entomopathogènes sont les ennemis naturels de ces ravageurs. Ils infectent leurs hôtes en pénétrant dans leurs corps et en excréant des composés insecticides (**Cochereau, 1989 ; Touré, 2018**).

Les dégâts causés par les infestations d'insectes sont importants et variés. En effet, les insectes peuvent provoquer l'affaiblissement ou la mort des cultures, la perte de production et la dépréciation de la valeur marchande des produits agricoles. Par conséquent, une protection efficace, abordable, respectueuse de l'environnement et réalisable doit être réalisée d'un point de vue socio-économique. Si cette perte n'est pas empêchée à temps, tous les efforts pour augmenter la production alimentaire seront vains (**FAO, 1983**).

Les vers blancs sont des ravageurs polyphages qui s'attaquent pratiquement à toutes les cultures. Les dommages occasionnés sur céréales sont localisés sur les racines qui sont rongées ou sectionnées complètement. Les plants endommagés se fanent puis se dessèchent, les dommages sont causés principalement par les larves qui sectionnent complètement les racines (**Yahiaoui et Bekri, 2014 ; Bakroune, 2021**).

La lutte biologique contre les insectes a débuté après la découverte de *Bacillus thuringiensis*, dont l'activité insecticide sur des chenilles de lépidoptères et les larves de coléoptères est maintenant bien connue. Cette technique de lutte est donc définie par l'utilisation d'organismes vivants dans le but de diminuer la densité de population d'un autre organisme vivant, généralement un ravageur. Ainsi l'utilisation de produits chimiques extraits de plantes (tels des insecticides d'origine végétale) ou de microorganismes (tels les formulations de Bt ne contenant que l'exotoxine du Bt et non plus de bactéries vivantes (**Nielsen-Le Roux, 1996 ; Guy Boivin, 2001**).

**Hawlitzky (1969)** a proposé, comme substitut des insecticides de synthèse pour lutter contre les vers blancs, l'emploi de deux germes pathogènes *Bacillus popilliae* et *Rickettsiella melolonthinae* dont l'effet se traduit par une diminution des échanges respiratoires et une diminution de la prise alimentaire chez les larves. La bactérie *Bacillus popilliae*, aussi appelé *Bp*, provoque une maladie mortelle (*Milky spore disease*) pour les larves du hanneton (**Duval, 1993**).

Notre objectif principal dans ce travail est l'isolement des bactéries entomopathogènes à partir des vers blancs et étudier l'activité antagoniste (antifongique et antibactérienne). Ainsi, notre travail s'articule sur :

- Isolement, purification et identification des bactéries à partir des vers blancs *Rhizotrogus majalis* ;
- Etudier l'activité anti-bactérienne et Anti fongique (contre *Fusarium*) ;
- Etudier la virulence des bactéries isolées contre les vers blancs *Rhizotrogus majalis*.

# Revue bibliographique

# Chapitre I : les vers blancs

## **1. Introduction**

Les dégâts des vers blancs sont parmi dans les cas les plus graves par une destruction complète du système racinaire. Ils sont souvent étudiés au niveau de certaines cultures, d'où causent des pertes à un large éventail de plantes, y compris les arbres fruitiers, les cultures annuelles comme le blé dont les couverts végétaux complètement desséchés se détachent par plaques entières ou ont disparu, laissant la terre à nu. Dans la majorité des cas sont les larves des « vers blancs » qui les provoquent. Ces derniers représentent depuis la plus haute antiquité un des principaux ennemis de l'agriculture, ils provoquent donc des dégâts aux cultures en détruisant le système racinaire du couvert végétal et apparaissant comme jaunissement des feuilles, flétrissement, diminution de la densité des plantes et réduction des rendements (**Madaci, 2017 ; Benseddik, 2021**)

Les vers blancs (Coleoptera : Scarabaeidae) sont les stades immatures des scarabées, qui vivent dans le sol et se nourrissent des racines ; ils sont des ravageurs polyphages ayant une vaste gamme d'hôtes, qui nuisent à la fois aux stades adulte et larvaire; cependant les larves sont une plus grande nuisance. L'étendue des dégâts causés par les vers blancs dépend uniquement des espèces concernées, des effectifs présents et de la culture hôte (**Dhoj, 2006**).

## **2. Vers blancs**

La famille des vers blancs, Scarabaeidae, est la deuxième plus grande famille omniprésente au sein de l'ordre des Coléoptères avec plus de 30 000 espèces. Le nombre maximum des espèces se produit dans les régions tropicales du monde, en particulier dans les régions africaines et orientales. Cet ordre appartient à l'un des plus importants embranchements du règne animal : L'embranchement des Arthropodes (**Mittal, 2000 ; Pesson, 1885**).

## 2.1. Position systématique

La position systématique des vers blancs selon **Bouklihacene (2012)**, est comme suit :

- Règne : Animalia
- Embranchement : Arthropoda
- Classe : Insecta
- Ordre : Coleoptera
- Famille : Scarabaeidea
- Sous-famille : Melolonthidae

Le développement des Coléoptères se découpe en quatre stades : l'œuf, la larve, la nymphe et l'adulte (ou imago) (**Bouklihacene, 2012**).

## 3. Description

Les hannetons passent par 3 stades larvaires et la taille de la larve augmente après chaque mue : 1er stade larvaire (L1) = 1 cm, 2ème stade (L2) = 2 cm et 3ème stade (L3) = 3 à 4 cm. Au moment de la mue, seule la largeur de la capsule céphalique permet de différencier les stades car la longueur du corps n'est pas encore significativement différente. Il est impossible dans la pratique de différencier les 2 espèces au stade larvaire (**Booth et al., 1990 ; Nageleisen et Cours, 2020**).

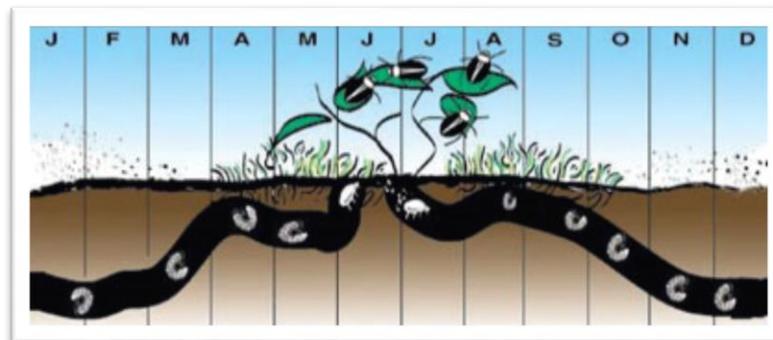
Les différentes espèces de vers blancs possèdent des caractéristiques communes au stade larvaire où ils sont très dodus de couleur blanche, recourbés en forme de « C » (Scarabaeiform) (**Figure 1**). Ces vers ont trois paires de pattes et une capsule céphalique brun roux portant d'importantes mandibules (pinces pour l'alimentation). La présence de deux rangées d'épines sur le raster (bout de l'abdomen), sa forme permet d'identifier à leur espèce les différents vers blancs. Ils sont assez petits quand ils éclosent, mais à maturité ils mesurent de 2 à 4 cm (0,75 à 1,5 pouces), selon les espèces (**Martineau et al., 2008**).



**Figure 1:** forme en "C" des vers blancs (Shetlar, 2012).

#### 4. Cycle de vie

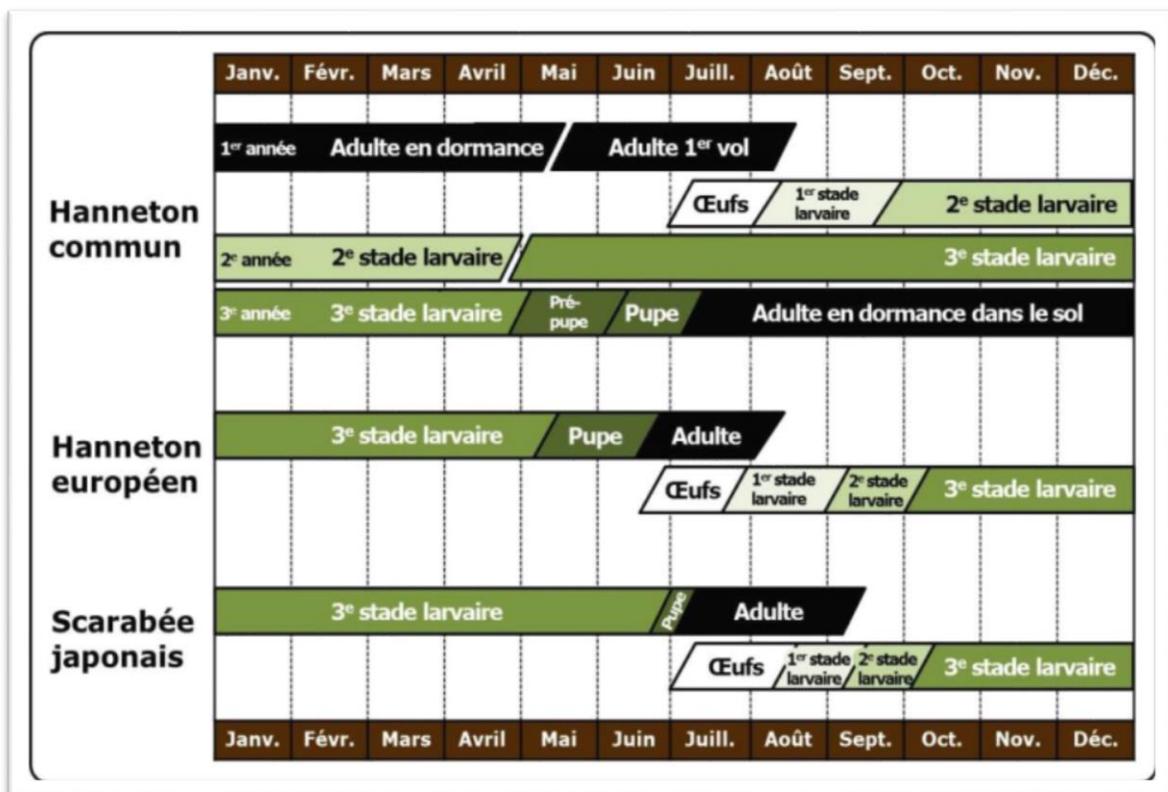
Les hannetons ont un cycle de vie qui se développe en deux phases : une phase souterraine longue durant laquelle se développent les œufs, les larves (03 stades successifs), le stade nymphal et le début de la vie imaginaire (adulte), suivie d'une phase aérienne courte au cours de laquelle les adultes se nourrissent et s'accouplent (**Figure 2**) (Nageleisen *et al.*, 2015).



**Figure 2:** cycle de vie des vers blancs (<https://mjardiner.com/2019>).

La biologie de l'insecte a été rapportée par **Veeresh (1977), Patil et Hasabe (1981) et Raodev et al., (1974)**. Différentes espèces de vers blancs ont des modèles de cycle de vie similaires, mais peuvent varier en fonction des facteurs climatiques au moment de l'émergence, de la ponte des œufs, de la période larvaire active, du moment de la nymphose et d'autres stades (**Sharma, 1989**). Ils hibernent au stade larvaire dans le sol à une profondeur variant entre 30 et 100 cm. Au printemps, lorsque le sol se réchauffe, ils s'activent et remontent en surface pour se nourrir, à une profondeur de 5 à 15 cm. Cette profondeur varie en fonction du type de sol, de l'humidité ainsi que de l'âge de la larve. En effet, la survie des larves est optimale dans les sols légers avec une humidité modérée. À l'inverse, les fortes pluies saturant le sol en eau sont néfastes pour la survie des larves et pour l'oviposition des adultes (**Légaré et al., 2015**).

La **figure 3**, représente un aperçu de cycles de vie des trois exemples qui sont connus depuis l'antiquité le plus reculés (hanneton commun, hanneton européen et scarabée japonais).



**Figure 3:** cycle vitaux, du hanneton commun, du hanneton européen et du scarabée japonais. (Tiré de Sears et Charbonneau, 1994).

#### 4.1. Hanneton commun (*Phyllophaga anxia*)

Le cycle vital du hanneton commun est généralement d'une durée de trois ans. La 1<sup>ère</sup> année à la fin du printemps jusqu'au début d'hiver, les adultes émergent du sol et se nourrissent de feuilles d'arbres, et les femelles creusent des trous pour y pondre leurs œufs à une profondeur de 5 à 10 cm, ces dernières éclosent après quelques semaines plus tard les larves de premier et ensuite de deuxième (début septembre) stade se nourrissent. Dans l'hiver, les larves s'enfoncent dans le sol pour toute la saison lorsque le froid s'installe. La 2<sup>ième</sup> année au printemps jusqu'au milieu d'hiver, les larves remontent à la surface pour débiter leur période la plus dévastatrice pour la pelouse et elles s'enfoncent dans le sol pour passer l'hiver. La 3<sup>ième</sup> année à partir au milieu du printemps jusqu'au début d'hiver, les larves refont surface pour alimenter pendant quelques semaines ensuite elles migrent dans le sol pour entamer leur pupaison, plus tard la transformation des larves en adultes, mais ceux-ci resteront dans le sol jusqu'au printemps suivant (Martineau *et al.*, 2008).

#### 4.2. Hanneton européen (*Rhizotrogus majalis*) et Scarabée japonais (*Popillia japonica*)

Pour ce qui est du hanneton européen et du scarabée japonais, ils produisent une génération par année. À la fin du printemps, les larves matures construisent une cellule dans le sol et se transforment en pupes. Les adultes émergent au courant de l'été, s'accouplent et pondent leurs œufs dans le sol. L'adulte du hanneton européen est nocturne, alors que celui du scarabée japonais est diurne. Les œufs éclosent dans les deux à trois semaines suivantes. Les nouvelles larves s'alimentent jusqu'à l'automne, puis s'enfouissent profondément afin d'hiberner à l'abri du gel (Légaré *et al.*, 2015).

## 5 Les dégâts des vers blancs

Les vers blancs sont souvent associés aux dommages observés sur les pelouses. En effet, il n'est pas rare que les dommages engendrés par ces insectes occasionnent des pertes économiques considérables. Ils sont figurent parmi les 9 ravageurs importants des cultures vivrières, des pâturages et même des jeunes plants d'arbres. Les adultes et larves peuvent s'attaquer aux racines jeunes tiges et feuilles de cultures telles que : canne à sucre, riz, maïs, cultures maraîchères. Leurs dégâts se traduisent sous différentes formes et dépendent du stade de l'insecte (Richard, 2010).

Les vers blancs endommagent un grand nombre de cultures fruitières et d'arbres forestiers en se nourrissant de bourgeons apicaux et de feuilles tendres, tandis que les larves se nourrissent des racines des plantes, provoquant un jaunissement. Ils provoquent un flétrissement qui se caractérise par un premier pourpre des feuilles, suivi de la mort des petites plantes et de la vigueur réduite ou de la verse des plus grosses. Parfois, les plantes atteintes produisent des cœurs morts. Dans les tubercules et autres cultures souterraines, les larves se nourrissent en y faisant des trous circulaires, les rendant ainsi impropres à la commercialisation. Certaines plantes flétrissent et finissent par mourir; ces plantes peuvent être facilement arrachées (**Dhoj, 2006**).

Les dommages causés à la pelouse par ces ravageurs se manifestent par l'apparition de plaques de gazon jauni et lors de conditions chaudes et sèches, ces dommages peuvent être irréversibles (**Figure 4**) (**Martineau et al., 2008**).



**Figure 4:** présence de vers blancs dans la pelouse; le système racinaire étant coupé, (à gauche) la pelouse se soulève facilement, (à droite) dommages causés par la présence des vers blancs (**Shetlar, 2012**).

# **Chapitre II : les bactéries entomopathogènes**

## 1. Généralités

Les bactéries entomopathogènes occupent une place particulière dans la régulation naturelle de nombreux insectes. L'utilisation de ces bactéries dans la lutte biologique contre les insectes est une très vieille histoire. Elles sont appartenent surtout à trois grandes familles qui sont les Bacillaceae, Enterobacteriaceae et Pseudomonadaceae (**Lecadet, 1996 ; Greathead et al., 1994**).

La plupart de bactéries entomopathogènes sont des agents pathogènes bénins qui infectent les insectes sous stress, mais un petit nombre sont très virulents (**Deka et al., 2021**).

À l'heure actuelle, *Bacillus thuringiensis* Berliner et *B. sphaericus* sont les bactéries les plus utilisées en lutte contre les ravageurs. Pour *B. sphaericus*, elle infecte l'insecte par la production de toxine. Cette dernière est localisée dans la paroi sporale et va être libérée par une digestion partielle dans le tube digestif de la larve de l'insecte. La toxine pénètre dans la membrane péritrophique du tube digestif et empoisonne la larve (**Burgess, 1981 ; Singer, 1981**).

## 2. Les bactéries entomopathogènes les plus utilisées en lutte biologique

Il y a peu de bactéries qui provoquent des maladies chez les insectes sains. Les plus importantes sont quelques espèces du genre *Bacillus*. D'autres bactéries n'infectent que des insectes blessés ou affaiblis pour d'autres raisons.

Les bactéries entomopathogènes se divise en trois familles Bacillaceae, Enterobacteriaceae et Pseudomonadaceae (**Greathead et al., 1994**).

### 2.1. Bacillaceae

Les Bacillaceae ont reçu le plus d'attention. Cette famille comprend des bactéries Gram positives (Gram<sup>+</sup>), rarement Gram négatives (Gram<sup>-</sup>), en forme de baguettes et possédant des flagelles répartis tout autour de la cellule (péritriches). Elles produisent souvent des endospores (**Greathead et al., 1994**).

Deux espèces sont très bien connues en lutte biologique : *Bacillus thurngiensis* et *B. sphaericus*. Ces deux bactéries entrent dans la composition de bio-insecticides destinés à tuer des chenilles et des larves de moustiques et de coléoptères.

*Bacillus thurngiensis* (Bacillales : Bacillaceae) (*Bt*) est un agent entomopathogène courant qui est utilisées pour lutter contre les chenilles et les scarabées. *Bt* est une bactérie qui produit des spores. La sporulation est généralement liée à la formation d'un cristal protéinique de protoxine

aux propriétés insecticides, tandis que *Bacillus sphaericus* (Bacillales : Bacillaceae) est une infection transmise par les moustiques (**Deka et al., 2021**).

Une troisième espèce, *B. popilliae*, provoque la maladie laiteuse des larves de certains coléoptères. Cette bactérie ne tue pas l'insecte malade mais elle produit d'une toxine qui se développe dans la cellule hôte. La mort de l'insecte résulte d'une inanition physiologique.

## **2.2. Enterobacteriaceae**

Cette famille comprend des bactéries Gram négatives (Gram<sup>-</sup>) qui ne produisent pas de spore. On y compte plusieurs espèces entomopathogènes, dont les plus importantes appartiennent aux genres *Serratia* et *Xenorhabdus*. Certaines ont été isolées à partir d'acridiens (**Greathead et al., 1994**).

### **2.2.1. Serratia**

Deux espèces ont été isolées à partir d'acridiens: *Serratia marcescens* et *S. liquefaciens*. *S. marcescens* provoque souvent des maladies dans les élevages de criquets, rarement dans les populations naturelles (**Stevenson, 1959**).

### **2.2.2. Xenorhabdus**

Ces bactéries sont toutes entomopathogènes. Elles se trouvent dans le sol, associées à certains nématodes des genres *Steinernema* et *Heterorhabditis*. Les bactéries tuent leurs hôtes qui se nourrissent des tissus en décomposition.

Jusqu'à récemment, deux espèces étaient reconnues : la bactérie *Xenorhabdus nematophilus* associée au nématode *Steinernema* et la bactérie *X. luminescens* associée au nématode *Heterorhabditis*.

Ces dernières années, d'autres espèces ont été décrites ; chacune est associée à une ou plusieurs espèces de nématodes. Leur identification reste délicate et doit être confiée à des spécialistes. Après la pénétration de l'hôte, les bactéries sont libérées des toxines et envahissent l'hémocoel de l'hôte (**Greathead et al., 1994**).

Parmi les Enterobacteriaceae, il existe aussi d'autres espèces appartiennent au genre *Photorhabdus*.

### 2.2.3. *Photorhabdus*

Les bactéries entomopathogènes de genre *Photorhabdus* sont des bacilles Gram négatives (Gram<sup>-</sup>) étroitement apparentés de la famille des Enterobacteriaceae ( $\gamma$ -protéobactéries). Ils établissent des associations mutualistes obligées avec des nématodes du sol du genre *Steinernema* et *Heterorhabditis* pour faciliter la pathogenèse des insectes (**Sajnaga, 2020 ; Kazimierczak, 2020**). Il se compose actuellement de trois espèces, *Photorhabdus luminescens*, *P.temperata* et *P.asymbiotica*.

Le *P.luminescens* et *P.temperata* ont été récemment divisées en sous espèces en raison de la parenté ADN-ADN et la ramification de l'ADNr 16S (**Stewart et al., 2010**).

### 2.3. Pseudomonadaceae

Cette famille comprend des bactéries Gram négatives (Gram<sup>-</sup>) en forme de baguette avec des flagelles sur un seul côté (flagelles polaires). Une seule espèce est connue comme pouvant provoquer de temps en temps des maladies chez les criquets, surtout en élevage. Il s'agit de *Pseudomonas aeruginosa* (**Greathead et al., 1994**).

## 3. Mode de vie des bactéries entomopathogènes

Les relations entre insectes et micro-organismes sont gouvernées par des interactions allant du mutualisme au parasitisme. Les concepts de ces dernières sont parfois difficilement définissables. De nombreux exemples illustrent l'idée selon laquelle les associations pourraient avoir débuté comme pathogènes pour ensuite évoluer vers une tolérance de l'hôte vis à-vis de son parasite conduisant à un échange réciproque aboutissant au mutualisme (**Touré, 2018**). Ce dernier est défini par **Dillon en 2004** comme une relation apportant un bénéfice mutuel aux deux membres ; par contre le parasitisme survient lorsqu'une espèce tire un avantage de la relation tandis que l'autre est lésée par l'association (**Dillon et al., 2004**).

### **3.1. Processus d'infection**

Pour être pathogène, une bactérie doit pouvoir pénétrer à l'intérieur de son hôte et échapper à son système immunitaire. Afin de s'établir de manière durable et coloniser l'insecte, elle doit altérer sa physiologie, notamment par la production de toxines (**Lemaitre *et al.*, 2008 ; Vallet-Gely, 2008**).

Des barrières physiques et chimiques empêchent les agents pathogènes d'envahir ou d'endommager le corps de l'insecte. La cuticule externe, le péristaltisme intestinal et la membrane péritrophique (couche interne de l'intestin moyen de l'insecte) sont des exemples de barrières physiques. A cela s'ajoute les principales défenses chimiques que sont le pH de l'appareil gastro-intestinal, les protéases, les peptides antimicrobiens, les récepteurs cellulaires du système immunitaire et le microbiote intestinal (**Lemaitre *et al.*, 2008 ; Vallet-Gely, 2008** ).

Le pathogène se multiplie dans l'hôte en lui causant des dommages par destruction des tissus, par septicémie ou toxémie entraînant sa mort plus ou moins immédiate. Tous ces micro-organismes possèdent des formes de résistance leur permettant de persister dans l'environnement et de perpétuer leur cycle de vie (**Jourdheuil *et al.*, 1992**).

Cependant, les micro-organismes ont des spectres d'action assez étroits à cause de certains facteurs abiotiques qui peuvent être limitant pour leur développement optimal. Par exemple les UV, les variations suboptimales de température et de l'humidité sont détritmentales pour la plupart des micro-organismes (**Kouassi, 2001**).

En générale, de nombreuses espèces de bactéries entomopathogènes partagent une pathogénèse similaire caractérisée par la production de multiples facteurs de virulence, parmi lesquels des protéines insecticides distinctes (IPs) ont un rôle majeur dans la létalité. Puisque les bactéries entomopathogènes commercialisées infectent les insectes par voie orale, ces IPs se lient aux récepteurs sur les cellules de l'intestin moyen, et sont ensuite internalisées ou forment des pores qui tuent la cellule. La perturbation de la barrière épithéliale de l'intestin permet aux bactéries d'avoir accès à l'hémolymphe riche en nutriments, où elles prolifèrent et causent la mort de l'hôte par septicémie (**Placidi and Jurat-Fuentesa, 2019**).

➤ **Processus d'infection pour *Bacillus thuringiensis***

*Bacillus thuringiensis* a la particularité de synthétiser un cristal protéique lors de la sporulation. Les cristaux ont, selon les souches, une activité larvicide sur différentes espèces d'insectes appartenant à trois ordres : Lépidoptères, Coléoptères et Diptères. Ces cristaux synthétisés sont constitués de protoxines, qui une fois ingérées par l'insecte, sont digérées à pH alcalin par les protéases digestives et transformés en toxines polypeptidiques actives.

Les  $\delta$ -endotoxines activées par les protéases de l'insecte se fixent sur des récepteurs spécifiques situés sur les cellules de l'épithélium intestinal. L'intoxication se manifeste très rapidement par d'importantes lésions au niveau de l'intestin et par une paralysie du tube digestif, entraînant un arrêt immédiat de l'activité d'alimentation. La mort de l'insecte intervient en 24 à 48 heures après l'ingestion des cristaux et peut être ou non accompagnée d'une septicémie. Les aspects moléculaires du mécanisme qui aboutissent à la mort des insectes ne sont pas encore clairement définis (**Tableau I**) (**Chaufaux, 1993**).

**Tableau I:** nomenclature des protéines cristaux synthétisé par *Bacillus thuringiensis*.

(D'après Hofte et Whiteley, 1989).

|   |
|---|
| <p><b>Protéines toxiques pour les larves de Lépidoptères:</b></p> <p>Cry IA(a)' 133 Kilodaltons (1)</p> <p>Cry IA(b) 131 Kda</p> <p>Cry IA(c) 133 Kda</p> <p>Cry IB 138 Kda</p> <p>Cry IC 135 Kda</p> <p>Cry ID 133 Kda</p> <p>Cry IE 133 Kda</p> <p>Cry IF 134 Kda</p> |
| <p><b>Protéines toxiques pour les larves de Lépidoptères et de Diptères :</b></p> <p>Cry IIA 71 Kda</p> <p>Cry IIB 71 Kda</p> <p>Cry IIC 69 Kda</p>   |
| <p><b>Protéines toxiques pour les larves de Coléoptères :</b></p> <p>Cry IIIA 73 Kda</p> <p>Cry IIIB 73 Kda</p>   |
| <p><b>Protéines toxiques pour les larves de Diptères :</b></p> <p>Cry IVA 134 Kda</p> <p>Cry IVB 128 Kda</p> <p>Cry IVC 78 Kda</p> <p>Cry IVD 72 Kda</p>  |
| <p><b>(1) Dalton : unité de masse atomique équivalent au douzième de la masse d'un atome neutre de carbone.</b></p>   |

➤ **Le système immunitaire des insectes**

L'étude de l'immunologie des insectes a été décrite comme la mauvaise relation de l'immunologie depuis qu'elle a été assumée que le grand nombre d'insectes et leurs taux rapides de reproduction a permis d'éviter la nécessité d'un système sophistiqué et système immunitaire bien ajusté. Cependant, nous commençons maintenant d'apprécier l'efficacité de la réponse de l'insecte à infection (**Salzet, 2001**).

**a) La cuticule**

La première ligne de défense des insectes contre la majorité de pathogènes est la cuticule est une barrière structurellement et chimiquement complexe conçue pour prévenir ou retarder l'entrée d'agents pathogènes dans l'hémocoèle (la cavité du corps). La cuticule elle-même consiste de fibrilles de chitine intégrées dans une matrice protéique, mais une fois qu'il est rompu par une blessure ou une dégradation, il y a une augmentation risque d'infection (**Clarkson *et al.*, 1998 ; Tector-Barsch et Roberts, 1983**).

**b) L'hémolymphe**

La cavité du corps de l'insecte ou l'hémocoèle contient de l'hémolymphe ce qu'il transporte des nutriments, des déchets et des molécules de signal. En outre, l'hémolymphe contient des cellules et peptides antimicrobiens capables d'immobiliser et tuer les micro-organismes envahissants. L'insecte est immunisé la réponse aux micro-organismes a été changement dans la population d'hémocytes en circulation et synthèse de nouvelles protéines de l'hémolymphe. L'hémolymphe est le site principal de la réponse immunitaire à micro-organismes (**Matha et Mracek, 1984 ; Vilmos et Kurucz, 1998 ; Morton *et al.*, 1987 ; Engstrom *et al.*, 1984**).

# **Chapitre III : la lutte biologique**

## **1. La lutte biologique**

La lutte biologique consiste en l'utilisation d'organismes vivants (auxiliaires de lutte) ou de leur produit (biopesticide inerte) pour combattre les ravageurs ou maladies des cultures ainsi que les mauvaises herbes (**Cloutier et Cloutier, 1992**).

Les auxiliaires de lutte peuvent être des arthropodes prédateurs et parasitoïdes, des nématodes ainsi que des microorganismes entomopathogènes tels que les virus, champignons, bactéries ou protozoaires.

## **2. Les biopesticides**

Les biopesticides, « organismes vivants ou produits issus de ces organismes ayant la particularité de supprimer ou limiter les ennemis des cultures » (**Thakore, 2006**) sont utilisés depuis des siècles par les fermiers et paysans.

### **2.1. Les différentes catégories de biopesticides**

Les produits considérés comme des biopesticides par les agences de réglementation européennes et mondiales sont d'origines diverses. Ils peuvent être classés en trois grandes catégories, selon leur nature : les biopesticides microbiens, les biopesticides végétaux et les biopesticides animaux (**Chandler et al., 2011 ; Leng et al., 2011**).

#### **2.1.1. Biopesticides microbiens**

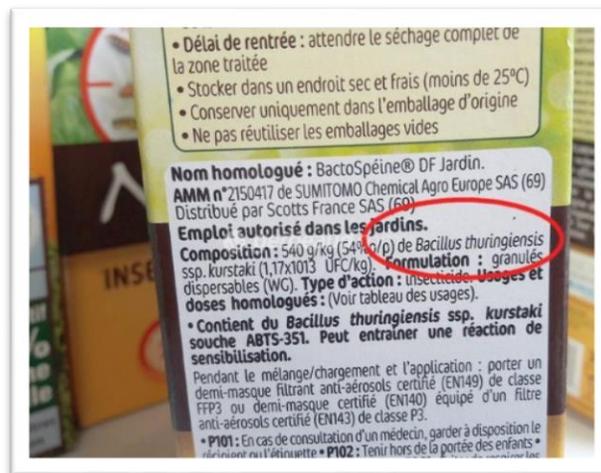
Cette catégorie comprend les bactéries, champignons, oomycètes, virus et protozoaires. L'efficacité d'un nombre important d'entre eux repose sur des substances actives dérivées des micro-organismes. Ce sont, en principe, ces substances actives qui agissent contre le bio-agresseur plutôt que le micro-organisme lui-même (**Deravel et al., 2014**).

L'utilisation de pesticides microbiens continue de croître en raison de la demande de produits biologiques et de leurs avantages par rapport aux pesticides synthétiques, y compris l'innocuité environnementale, l'efficacité et la facilité d'utilisation dans les programmes de lutte intégrée antiparasitaire (PI).

### a) Les bactéries

Les biopesticides à base de *Bacillus thuringiensis* sont les plus commercialisés (**Figure 5**). Ils ont une action insecticide et représentent plus de 70% des ventes. *Bacillus thuringiensis* est connu depuis le début des années 1900, mais le contrôle des espèces de diptères a été établi, seulement après la découverte de deux souches : *B. thuringiensis serovar israelensis* (*Bti*) en 1977 et *B.sphaericus* (*Bs*). D'autres espèces bactériennes du genre *Bacillus* utilisent des mécanismes d'action différents et peuvent également être utilisées pour protéger les plantes.

Ainsi *Bacillus amyloquelicifaciens* et *B. subtilis* sont capables de coloniser les racines des plantes et de produire des molécules lipopeptidiques, les surfactines, iturines et fengycines. Ces dernières peuvent activer les défenses des plantes ou avoir un effet antibactérien ou antifongique direct (Pérez-Garcia *et al.*, 2011).



**Figure 5:** insecticide biologique à base de *Bacillus thuringiensis*

(Source : [https://www.gerbeaud.com/jardin/jardinage\\_naturel/lutte-biologique,1946.html](https://www.gerbeaud.com/jardin/jardinage_naturel/lutte-biologique,1946.html)).

### b) Les virus

Les virus sont utilisés depuis longtemps en lutte biologique, particulièrement les Baculovirus (Smeesters *et al.*, 2001). Ces dernières sont des virus à double brins d'ADN circulaire, ayant un génome compris entre 100 et 180 kb, protégés par une paroi protéique (Chen *et al.*, 2002). Ils infectent les arthropodes insectes ou larves.

Ils représentent un faible risque sanitaire car aucun virus similaire n'a, à l'heure actuelle, été répertorié dans l'infection des vertébrés ou des plantes. Cette propriété les rend particulièrement intéressants pour une utilisation en qualité de bioinsecticide, d'autant plus qu'ils peuvent tuer leur hôte en quelques jours. Ces virus sont classés en fonction de la morphologie particulière de leur corps d'inclusion (Deraval *et al.*, 2014).

### c) Les champignons

Outre les bactéries et les virus, certains champignons présentent des activités contre les bio-agresseurs et sont exploités en tant que biopesticides. *Coniothyrium minitans* est connu pour parasiter les champignons du genre *Sclerotinia spp* (Deravel *et al.*, 2014).

Plusieurs souches du champignon filamenteux du genre *Trichoderma spp.* sont utilisées pour la protection biologique des plantes. Elles ont généralement une activité antifongique contre plusieurs pathogènes du sol ou contre des pathogènes foliaires (Dodd *et al.*, 2003).

### 2.1.2. Les biopesticides végétaux

Les plantes produisent des substances actives ayant des propriétés insecticides, aseptiques ou encore régulatrices de la croissance des plantes et des insectes. Le plus souvent, ces substances actives sont des métabolites secondaires qui, à l'origine, protègent les végétaux des herbivores. Le biopesticide d'origine végétale le plus utilisé est l'huile de neem, un extrait des graines d'*Azadirachta indica* (Schmutterer, 1990).

### 2.1.3. Les biopesticides animaux

Ces biopesticides sont des animaux comme les prédateurs ou les parasites, ou des molécules dérivées d'animaux, souvent d'invertébrés comme les venins d'araignées, de scorpions, des hormones d'insectes, des phéromones (Goettel *et al.*, 2001 ; Saidenberg *et al.*, 2009 ; Aquiloni *et al.*, 2010).

### **3. Les types de lutte biologique**

La lutte biologique peut être divisée en trois catégories bien distinctes : classique, par augmentation et par protection.

- La méthode classique vise l'implantation d'un antagoniste exotique dans un milieu où sévit un ravageur exotique (**Cloutier et Cloutier, 1992**).
- Dans le cas de la lutte biologique par augmentation, le but est de contrôler un ravageur indigène en augmentant l'occurrence de son ou ses ennemis naturels, naturellement présents mais en quantité insuffisante (**Cloutier et Cloutier, 1992**).
- La lutte par protection vise à augmenter l'occurrence des ennemis naturels en changeant le milieu et les pratiques culturales. C'est sans doute le mode de lutte biologique le plus important et facilement disponible car il demande souvent peu d'efforts et que les ennemis sont adaptés à l'environnement visé (**Weeden et al., 2007**).

**Chapitre IV : les bactéries  
entomopathogènes contre**

***Fusarium***

## 1. Introduction

En agriculture, les maladies fongiques sont l'une des contraintes les plus importantes pour la production de blé. Parmi ces maladies, on retrouve un cas particulier, la fusariose, qui affecte les rendements mais aussi la qualité sanitaire de la récolte par la présence de toxines dans les grains. Cette maladie endémique, est provoquée par un complexe d'espèces de champignons phytopathogènes, le « complexe fusarien », à large spectre d'hôtes (Miedaner, 1996).

La variabilité de cette maladie, au niveau de son incidence et de la production de mycotoxines, pose de nombreux problèmes en agriculture et agroalimentaire. D'une manière générale, les relations entre les niveaux de maladie observés au champ, les concentrations en mycotoxines à la récolte et la présence de champignon dans les grains sont complexes et très mal comprises (Siou, 2013).

## 2. Le complexe fusarien

La fusariose est associée à un complexe d'espèces regroupant deux genres de champignons phytopathogènes, *Fusarium* et *Microdochium* (Arseniuk *et al.*, 1999). Ces 2 genres regroupent environ 19 espèces capables d'induire la fusariose de l'épi de blé et d'orge (Liddell, 2003). Les espèces les plus fréquentes en Europe sont *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. avenaceum*, *F. poae*, *M. nivale* et *M. majus* (Xu et Nicholson, 2009 ; Xu *et al.*, 2005), avec une fréquence plus faible de *F. culmorum* et plus forte de *F. poae* depuis 2000 en France (Ioos *et al.*, 2004).

## 3. Le genre *Fusarium*

La première et véritable description du genre *Fusarium* a été réalisée par Link en 1809. Il doit son nom du latin *fusus* (fuseau) en rapport à la forme de ses macroconidies fusiformes et cloisonnées. Il appartient à la division des Ascomycètes et à la famille des Nectriacées.

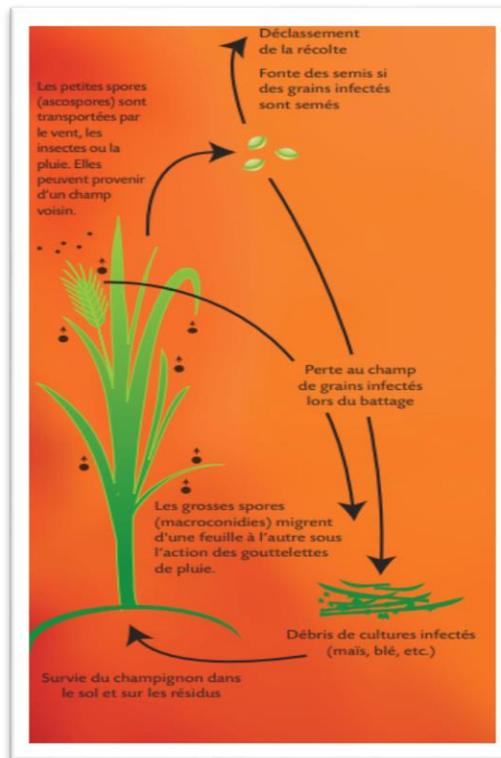
Les champignons du genre *Fusarium* appartiennent aux hyalo-hyphomycètes et présentent un mycélium septé et incolore en culture, les colonies présentent souvent des nuances roses, jaunes, rouges ou violettes (Booth, 1985 ; Alves-santos *et al.*, 1999 ; Katan et Ortoneda *et al.*, 2003). Les cellules conidiogènes se forment sur des hyphes aériens ou sur les conidiophores courts et densément branchés. Les conidies sont de trois types : macroconidies, microconidies et blastoconidies.

De nombreuses espèces fusariennes ont été identifiées dans la nature dont les principales capables d'induire la fusariose de l'épi de blé : *F. tricinctum*, *F. poae*, *F. langsethiae*, *F. graminearum*, *F. culmorum*, *F. arthrosporioides*, *F. avenaceum*, *F. sporotrichioides*, *F. equiseti* et *F. crookwellense* (Xu & Nicholson, 2009). Ces champignons présentent également la capacité de produire du biofilm en présence de matériaux étrangers tels que les lentilles oculaires ou les cathéters. (Dyavaiah *et al.*, 2007 ; Ahearn *et al.*, 2008 ; Imamura *et al.*, 2008 ; Mukherjee *et al.*, 2012).

### 3.1. Cycle de *Fusarium*

Les *Fusarium* survivent sur les résidus végétaux. Les spores de *Fusarium* produites sur ces résidus sont transporté par le vent ou la pluie jusqu'aux épis. Si les conditions climatiques sont favorables, les spores pourront germer et infecter les tissus de l'épi (Figure 6) (Tremblay *et al.*, 2012).

Les *Fusarium* sont assez communs dans les sols et peuvent y persister pendant de nombreuses années sous forme de spores très résistantes. Les rares formes sexuées qui existent produisent des ascospores et les formes asexuées se reproduisent par macroconidies (Markell ; Francl, 2003). Le cycle de vie le mieux connu actuellement est celui de *Fusarium graminearum*. Ce dernier peut se comporter comme saprophyte sur des déchets végétaux. Il peut également provoquer diverses pathologies sur de nombreuses céréales (blé, orge, maïs, riz) mais aussi sur d'autres plantes de grande culture comme le soja ou encore le coton (Desjardins, 2003).



**Figure 6:** cycle de vie du genre *Fusarium* (Source : Tremblay *et al.*, 2012).

#### 4. La fusariose

La fusariose est une maladie causée par des champignons du genre *Fusarium* qui vivent dans le sol, et attaquent de nombreuses plantes (Amzelloug, 1999).

La fusariose de l'épi a été décrite pour la première fois par W.G. Smith en 1884 et nommée « gale du blé » (wheat scab), terme modifié en 1920 par Atanasoff en « maladie de *Fusarium* » (*Fusarium* blight), puis « fusariose » par Douin en 1926 (Leonard & Bushnell, 2003).

C'est une maladie destructive du blé qui peut dévaster une culture quelques semaines avant la récolte. Elle peut être associée à la fois à de fortes pertes de rendement (avortement et faible poids des grains), une réduction de leur qualité germinative ou encore une diminution de leur qualité par la présence de toxines dans les grains (Figure 7) (Siou, 2013).

Outre le blé, elle est également retrouvée sur de nombreuses autres plantes comme l'avoine, l'orge, le riz, le maïs, le sorgho ou encore l'accacia, l'eucalyptus et l'œillet ce qui en fait une maladie à très fort impact agroéconomique au niveau mondial puisque des champignons du genre

*Fusarium* ont été retrouvés dans les sols de chaque continent excepté en Antarctique (**Miedaner, 1997**).

Il existe plusieurs espèces recensées de ce champignon dont à savoir *Fusarium oxysporum*. Ce dernier est un agent vasculaire qui se conserve dans le sol sous forme de chlamydospores et infecte les plantes via les racines qu'elles pénètrent directement ou par des blessures d'origine mécanique ou biologique (percées des racines secondaires, piqure de nématodes,...).



**Figure 7:** la fusariose de l'épi du blé (**Source : Arvalis.infos.fr (2016)**).

#### **4.1. Conditions favorables au développement de la maladie**

La sévérité de la fusariose est conditionnée par trois facteurs indépendants des champignons : les facteurs climatiques, les facteurs agronomiques et les facteurs physiologiques de la plante hôte (**Siou, 2013**).

#### **4.1.1. Les facteurs climatiques**

Les facteurs climatiques, en particulier l'humidité et la température, jouent un rôle primordial puisqu'ils vont conditionner la germination et l'infection du champignon. Si les conditions favorables sont discontinues, l'infection peut toujours avoir lieu mais avec une efficacité réduite (Siou, 2013 ; DeWolf *et al.*, 2003).

#### **4.1.2. Les facteurs agronomiques**

Ils jouent un rôle principalement dans la conservation de l'inoculum primaire. Par exemple, un précédent cultural sensible à la fusariose (maïs, blé, orge), c'est-à-dire potentiellement infecté lors de son cycle, est une source potentielle d'inoculum pour la culture suivante via ses résidus. Egalement, un travail du sol augmenterait la dégradation des résidus en favorisant l'activité microbienne et donc limiterait la colonisation des résidus par *F. graminearum* (Pereyra *et al.*, 2004).

#### **4.1.3. Les facteurs physiologiques**

Les facteurs physiologiques de la plante hôte sont nombreux et influencent plus ou moins le développement de la fusariose. L'intensité de la maladie dépend non seulement de la quantité d'inoculum initial et de la virulence des souches pathogènes, mais aussi des caractéristiques physiologiques de la plante (taille, densité d'épillets,...), son état de stress, son stade de développement, la date et la durée de la floraison et le niveau de résistance de la variété (Xu *et al.*, 2005 ; Champeil *et al.*, 2004 ; Bai & Shaner, 1994 ; Audenaert *et al.*, 2009).

#### **4.2. Symptômes de la maladie**

Chez le blé, le triticale et l'avoine, les épillets fusariés sont jaunes ou blanchis, comme s'ils avaient muris prématurément, alors que les autres sont verts. Ils peuvent aussi présenter une coloration rose ou orangée qui correspond aux fructifications du champignon (macroconidies). Les grains de blé fusariés se caractérisent normalement par des grains minces et ridés d'apparence crayeuse souvent appelés grains momifiés. Chez l'orge, les épillets fusariés peuvent aussi être jaunes ou roses, mais prennent le plus souvent une coloration brune qui n'est cependant pas unique à la fusariose. Ses grains fusariés présentent une coloration rose, orangée ou parfois noire (Tremblay *et al.*, 2012).

## 5. Les mycotoxines

Le genre *Fusarium* comprend des espèces capables de produire de nombreuses mycotoxines : les trichothécènes, la zéaralénone et les fumonisines,...etc (**Tableau II**).

Les mycotoxines synthétisées par les espèces du genre *Fusarium* leur confèrent un pouvoir pathogène important vis-à-vis des végétaux ou des mammifères (**Nucci et al., 2007**). Ces mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par certains champignons microscopiques (**Prandini et al., 2007**). Elles peuvent être produites avant la récolte dans les épis et donc retrouvées dans les grains, pendant le transport et le stockage des céréales. Elles diffusent dans le substrat qu'elles contaminent même après la destruction du champignon responsable de leur production.

Les fusariotoxines (produites par les *Fusarium*) sont des Trichothécènes. Ce sont des inhibiteurs de synthèse protéique des cellules eucaryotes (**Cumagun et al., 2004**) et de l'activation des gènes de défense de la plante (**Wagacha & Muthomi, 2007**). Par ce fait, les Trichothécènes sont responsables d'effets indésirables sur la santé humaine ou animale en cas de consommation d'aliments contaminés et peuvent ainsi provoquer une grande variabilité de symptômes comme des altérations du foie, des reins, du système nerveux central, des dérèglements hormonaux ou encore une réduction des défenses immunitaires (**Prandini et al., 2007**). Dans cette famille, 4 types de toxines ont été identifiés : le type A considéré comme le plus toxique (T2, HT2 et Diacétoxyscirpénol (DAS)), le type B (Déoxynivalénol (DON), Acétyldéoxynivalénol (ADON), Nivalénol (NIV), Fusarénone X (FX)), la Zéaralénone (ZEN), et les Fumonisines (FB1 et FB2) (**Asran et al., 2011**).

**Tableau II:** les principaux mycotoxines du genre *Fusarium* (Source : <https://www.feediatechna.com/fr/alimentation-nutrition/volaille/mycotoxines-volaille-pertes-economiques>).

| Principaux champignons  | Principales mycotoxines     |
|---|-----------------------------|
| <i>Fusarium graminearum</i> , <i>F. culmorum</i><br><i>F. crookwellense</i> .   | ZEA - Zéaralénone           |
| <i>Fusarium verticillioides</i> , <i>F. proliferatum</i>  | Fumonisines                 |
| <i>Fusarium langsethiae</i> , <i>F. sporotrichioides</i> ,<br><i>F. poae</i> ,<br><i>F. graminearum</i> , <i>F. culmorum</i> ,<br><i>F. crookwellense</i> , <i>F. tricinctum</i> , <i>F.</i><br><i>acuminatum</i> | Trichothécènes : DON, H2-T2 |

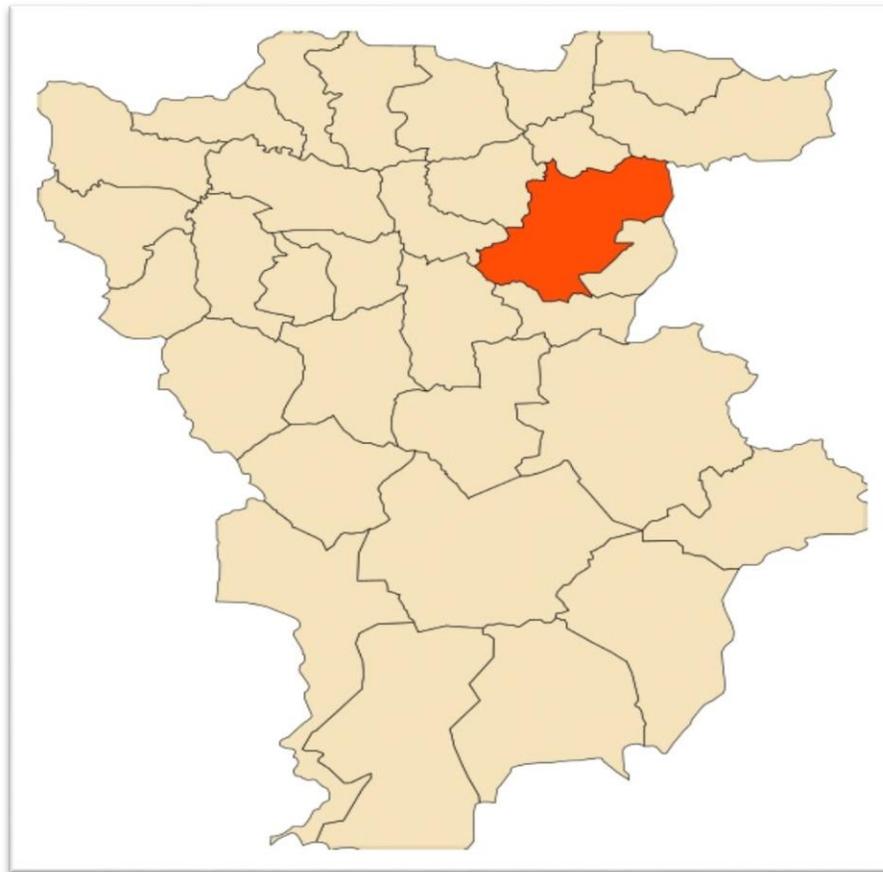
# Matériel et méthodes

## Matériel et méthodes

Le présent travail a été réalisé au sein du Laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine 01.

### 1 Présentation de la zone d'étude

Le lieu d'étude c'était à la wilaya de Mila, elle est située dans le Nord-Est Algérien à 464 m d'altitude, et à 33 Km de la mer Méditerranée. Elle s'étend sur une superficie de (3407.60 Km<sup>2</sup>), avec une latitude au Nord de 36° 26' 59'' et une longitude à l'Est de 06° 15' 51''. Elle est délimitée au Nord par les wilayas de Jijel et de Skikda, à l'Est par la wilaya de Constantine, au Sud par les wilayas de Batna et d'Oum-El-Bouaghi, et à l'Ouest par la wilaya de Sétif (**Figure 8**) (A.N.D.I, 2013).



**Figure 8:** la situation géographique de la wilaya de Mila (Source : [fr.wikipedia.org](http://fr.wikipedia.org)).

## 2 La récolte des vers blancs

Les vers blancs ont été collectés à l'est de wilaya de Mila, la commune de Oued-El-Athmania (**Figure 9**), plus précisément la ferme de Mechri Salah. Elle consiste à creuser à l'aide d'une pioche ou d'une bêche, un trou à une profondeur de 10 à 15 cm au-dessous de la surface du sol qui est loin d'une culture de céréales d'environ un mètre à un demi de distance (**Figure 10**), puis conservés dans le même sol ou ils ont été isolés dans une chambre noire.



**Figure 9:** situation géographique de la commune d'Oued-El-Athmania (à gauche), la collection des vers blancs (à droite).



**Figure 10:** la culture de céréales.

### **3. Isolement, purification et identification des bactéries entomopathogènes**

#### **3.1. Isolement des bactéries entomopathogènes**

Les vers blancs ont d'abord été désinfectés en trois étapes. Premièrement, ils ont été mis dans l'eau de javel (0,05%) pendant 10 minutes, puis ils ont été mis dans l'éthanol (70%) pendant 03 minutes, et enfin ils ont été séché par papier filtre stérile.

Les vers blanc stériles sontensemencées sur la Gélose Nutritive (GN) (**voir Annexe 1**), les boîtes de Petri ont recouvert par papier aluminium pendant 02 jours et incubé à 37°C pendant 07 jours.

#### **3.2. La purification**

La purification des souches est réalisée par plusieurs repiquages successifs. Le repiquage se poursuit jusqu'à l'obtention d'une culture homogène où toutes les colonies sont identiques entre elles et identique au type de bactéries initialement ciblées. Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h à 48h.

#### **3.3. Identification**

##### **3.3.1. Caractérisation phénotypique des isolats**

La caractérisation phénotypique est basée sur des critères macroscopiques sur milieu solide, et sur des caractères microscopiques comme la mobilité, coloration de Gram et la coloration de la spore. La caractérisation biochimiques et physiologique est basée sur la mise en évidence des enzymes respiratoires ; la catalase, les nitrates réductase et ainsi de suite (**Meddas et al., 2020**).

##### **3.3.1.1. Examen macroscopique**

L'observation macroscopique des colonies cultivées sur milieu GN, nous a permis de relever différents aspect morphologiques (forme, taille, couleur, contour, surface, opacité et relief) (**Johnson et al., 1980**).

### 3.3.1.2. Examen microscopique

#### ➤ La coloration de Gram

La coloration de Gram est l'une des techniques de coloration les plus cruciales en microbiologie. Il tire son nom du bactériologue Danois Hans Christian Gram qui l'introduit pour la première fois en 1882, principalement pour identifier les organismes responsables de la pneumonie (**Bartholomew ; Mittwer, 1952**). Souvent, le premier test effectué, la coloration de gram implique l'utilisation du violet de gentiane ou du bleu de méthylène comme couleur primaire (**O'Toole, 2016**).

Elle permet de colorer les bactéries et de les distinguer par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram<sup>+</sup>) ou la fuschine (Gram<sup>-</sup>). Les bactéries peuvent donc être groupées en 02 catégories selon la méthode de coloration de Gram.

#### a) Préparation du frottis

Avant toute coloration, il faut réaliser un frottis, c'est-à-dire un étalement et fixation des bactéries sur une lame. La technique de réalisation du frottis plus classiquement est fort simple, en effectuant une fixation simple à la chaleur :

- sur une lame, le prélèvement à l'aide de l'anse de platine une parcelle de l'échantillon à partir des colonies pures ;
- Réaliser le frottis en partant du centre de la lame, en décrivant avec l'anse des mouvements circulaires de façon à obtenir un étalement mince et homogène sur au moins  $\frac{2}{3}$  de la lame ;
- Sécher et fixer le frottis au-dessus de la flamme du bec Bénédict sans trop le chauffer ;
- Une fois sèche, poser la lame sur le porte-lames reposant sur un support de coloration.

Le frottis étant fixé, la lame ne présente plus de danger de contamination. On peut alors effectuer la coloration désirée (**Canler, 2005**).

#### b) Les étapes de la coloration de Gram

Voici les différentes étapes de cette coloration (**Balédent, 1997**):

- Coloration par le violet : recouvrir totalement la lame avec le violet de Gentiane et laisser agir pendant 05 minutes, puis rincer à l'eau distillée ;
- Mordançage : prendre la lame avec une pince et l'incliner légèrement. Eliminer le violet de Gentiane en faisant couler sur la lame la solution de Lugol ;

- Reposer la lame et la recouvrir de solution de Lugol et laisser agir environ 03 min puis rincer à l'eau distillée ;
- Décoloration rapide à l'alcool (Acétone) : cette étape est la plus importante de la coloration. Verser goutte à goutte l'alcool sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration qui doit être rapide. Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. L'utilisation abusive de l'alcool aura pour conséquence de rendre toutes les bactéries Gram négatif ;
- Recoloration à la Fuchine : verser quelques gouttes de Fuschine à chaque extrémité du frottis. Ne jamais verser la Fuschine directement sur le frottis (risque de dépôts, de coloration trop intense). Laisser agir pendant 03 minutes ;
- Rinçage et séchage : rincer à l'eau distillée et sécher entre deux feuilles de papier filtre ;
- Observer avec une goutte d'huile à immersion objectif 100 (Grossissement  $\times 100$ ) sous Microscope Optique.

### **3.3.1.3. Les galeries API 20E, API 20NE**

La Galerie API (Analytical Profile Index) est une galerie miniaturisée et standardisée de tests biochimiques, exploitable avec des bases de données d'identification complètes dont la plus connue est l'API 20E (20 tests biochimiques des Enterobacteriaceae).

#### **a) La galerie API 20 E**

Le système d'identification API 20E est utilisé pour l'identification des entérobactéries et d'autres bacilles Gram négatif qui poussent facilement. Il consiste en une galerie de 20 micro-tubes contenant les substrats déshydratés. Ces derniers sont inoculés avec une suspension bactérienne (**Diallo, 2010**).

#### **➤ Préparation de l'inoculum**

- Ouvrir une ampoule de Suspension Medium (ou un tube d'eau distillée stérile) ;
- Prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé ;
- Réaliser une suspension bactérienne faible (opacité 0,5 sur l'échelle Mc Farland).

➤ **Ensemencement de la galerie**

- Remplir les tubules et les cupules des tests du type CIT;
- Remplir les tubules des tests du type ADH et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour créer l'anaérobiose ;
- Remplir uniquement les tubules des tests restants Remplir uniquement les tubules des tests restants ;
- Incuber la galerie à 37°C pendant 18 à 24 heures (**Figure 11**) (**Debabza, 2015**).

Il est important de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation qui pourraient fausser le résultat. De plus l'apparition de bulles après incubation apportera un caractère d'identification supplémentaire (GAZ+).

➤ **Lecture de la galerie**

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire directement en se référant au tableau de lecture (**voir Annexe 3**). Pour les tests qui n'ont pas une lecture directe, on doit ajouter des réactifs :

- Test TDA : une goutte de réactif TDA ;
- Test IND : une goutte de réactif Kovacs ;
- Test VP : une goutte de réactif VP1 et VP2.

➤ **Interprétation**

L'identification a été réalisée à l'aide d'un logiciel d'identification (feuille Excel pour l'identification microbienne).

**b) La galerie API 20NE**

La galerie API 20NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non Entérobactéries et non fastidieux (par exemple : Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium...), combinant 08 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation et une base de données (**BioMérieux SA**).

La préparation de la galerie et de l'inoculum a été effectuée comme précédemment décrits pour l'API 20E.



**Figure 11:** quelques exemples de la galerie API 20NE et API 20E qu'on a déjà fait.

#### 3.3.1.4. Etude biochimique

Pour compléter l'identification morphologique, nous avons été amenés à déterminer l'activité biochimique des souches bactériennes.

##### a) Etude des enzymes respiratoires

##### ➤ Recherche de la catalase

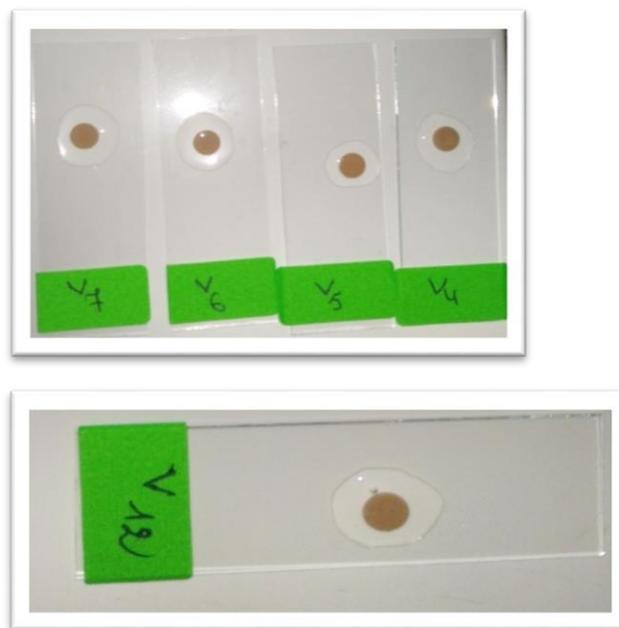
La catalase est une enzyme de haut poids moléculaire existant chez toutes les bactéries aérobies, elle leur permet de vivre en présence d'oxygène. En plus de la chaîne respiratoire des cytochromes, il existe en effet chez les aérobies une chaîne accessoire courte, fixant l'hydrogène sur l'oxygène en aboutissant à de l'eau oxygénée (peroxyde d'Hydrogène) selon la réaction :



La recherche de cette enzyme est effectuée simplement par mise en contact d'une colonie pure avec quelques gouttes d' $H_2O_2$ , un important dégagement gazeux traduit la présence d'une catalase (Richard *et al.*, 1982).

### ➤ Recherche de l'oxydase

Ce test est à la base de l'identification des bactéries Gram négatives. Intervenant à la fin de la chaîne d'oxydoréduction, l'oxydase est une enzyme qui catalyse la fixation d'Hydrogène et des électrons sur une molécule d'oxygène (Leveau et Bouix, 1991). Une colonie bactérienne est mise en contact avec un disque du réactif sur une lame stérile à l'aide d'une pipette pasteur stérile (instrument n'oxydant pas le réactif), observer les résultats avant quelques secondes. Une apparition d'une couleur violette sur le disque exprime un résultat positif (la bactérie possède une oxydase). Si le disque reste incolore le résultat est négatif (bactérie ne possède pas d'oxydase), (Figure 12) (Delarras, 2007).



**Figure 12:** le test oxydase de quelques souches.

## 4. Test d'entomopathogénicité

Ce test est effectué en conditions contrôlées par injection de suspension bactérienne en phase exponentielle de croissance à des larves d'insectes. Ces bactéries se multiplient dans l'hémolymph entraînant une septicémie létale pour la larve d'insecte. On peut donc étudier séparément la pathologie engendrée par ces seules bactéries sans l'appui de leur nématode hôte (**Pagès et Ginibre, 2006**).

### 4.1. Préparation de l'inoculum

À l'aide d'une spatule stérile de petites colonies des bactéries ont été prélevés par grattage de la surface de la boîte pour être introduits dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau distillée. La solution ainsi obtenue (solution mère) a été mise en agitation pendant 10 minutes. La concentration de la solution bactérienne  $10^7$  UFC/ml a été évaluée à l'aide d'une cellule hématimétrique « Cellule de Thoma ».

### 4.1. Injection

A l'aide d'une seringue stérile prélever une quantité de cultures pures des bactéries entomopathogènes à partir de l'inoculum de  $10^7$  UFC qui a déjà préparé, et injecté 0,1 ml de suspension dans la mine des larves (2<sup>ième</sup> et 3<sup>ième</sup> stade), juste au-dessus de la tête de ces dernières. Les vers blancs sont mis dans des béchers stériles contenant du sol du même site d'échantillonnage traité dans l'obscurité. 03 larves par traitement sont retenues y compris pour le témoin. La mortalité des individus traités est contrôlée journalièrement à partir du jour du traitement jusqu'à la mort de tous les individus (15<sup>ème</sup> jours). À chaque contrôle, les insectes morts sont éliminés pour éviter la transmission horizontale de l'infection dans une même boîte (**voir Annexe 2**).

### 4.2. Analyse statistique

Les propriétés insecticides des isolats ont été estimées par l'analyse de leur temps létaux moyens et le pourcentage de mortalité par la correction (**Abbot's ,1925**). Les différences entre les traitements utilisées sont déterminées en utilisant une analyse de variance à une variable de classification, à l'aide du logiciel statistique SPSS 23.0 (**SPSS.Inc.Chicago.il, USA**).

## 5. Activités antimicrobiennes

### 5.1. Souches bactériennes

Les souches bactériennes utilisées dans le présent travail proviennent de laboratoire de Microbiologie de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Frères Mentouri Constantine. Il s'agit de : *Escherichia coli* ATCC 8739, *Staphylococcus aureus* ATCC 5538, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027.

### 5.2. Souches fongiques

*Fusarium oxysporum*, *sp. albedinis* et *Fusarium culmorum* provoquent la maladie fusariose chez le blé.

### 5.3. Milieux de culture

Dans le but de l'évaluation de l'activité antibactérienne des extrait, nous avons utilisé deux milieux de culture : Mueller-Hinton (MH) pour les bactéries et Potato Dextrose Agar (PDA : voir Annexe 1) pour les moisissures.

### 5.4. Évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique

Nous avons utilisé la technique de diffusion sur milieu solide. C'est une méthode similaire à celle de l'antibiogramme qui consiste à déterminer la sensibilité d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un ou de plusieurs produits. Un disque stérile de papier filtre (Whatman n°1) de 6 mm de diamètre est imbibé de produits à tester (les extraits) (voir Annexe 6) et ce dernier est ensuite placé sur de la gélose coulée dans de boîtes de Pétri standard sur 4 mm d'épaisseur et préalablement inoculées avec les souches bactériennes et fongiques choisies. La concentration de l'inoculum utilisée est de l'ordre de  $10^8$  C.F.U/ml (voir Annexe 6). Les boîtes sont incubées à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures pour les bactéries et de 30°C pendant 3 jours pour les champignons. Si le produit est toxique pour l'espèce, il se forme une zone d'inhibition ou un halo transparent autour du disque. Plus grande est cette zone, plus l'espèce est sensible. Des disques témoins sont inclus dans les essais, Il s'agit de disques imprégnés de DMSO stérile l'expérimentation a été réalisé en triplicata.

# Résultats et discussion

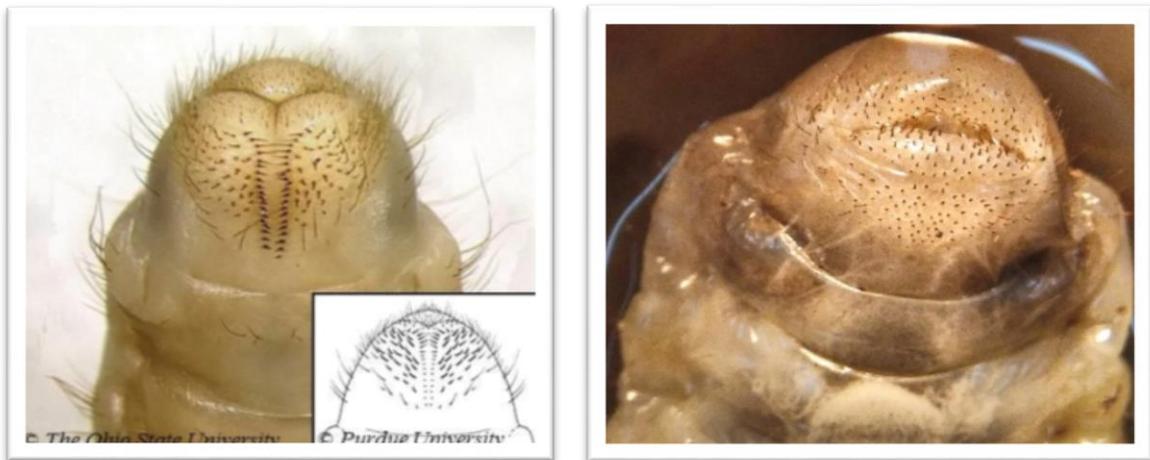
## Résultats et discussion

### 1 L'insecte

Les vers blancs sont identifiés de différentes manières; cependant, la disposition des soies et des poils sur la face inférieure de l'extrémité de l'abdomen, appelée motif raster (**Figure 13**), est également considérée comme une clé d'identification importante (**Dhoj, 2006**).

Cette étude, nous a permis de constater la présence du hanneton européen, de genre de *Rhizotrogus majalis*.

La larve du hanneton européenne à deux rangées d'épines disposées en lignes presque parallèles sur le raster (partie près de l'anus au bout de l'abdomen) qui s'éloignent en allant vers le postérieur. Elle ne possède pas la grande griffe typique des autres espèces de scarabées au niveau des pattes. Dimensions : 6 mm de large et 25-30 mm de long à maturité (**Martineau, 2008**).



**Figure 13:** (à gauche), partie postérieure de l'abdomen de la larve d'hanneton européen (**Légaré et al., 2015**). (À droite), la partie postérieure de l'abdomen d'une larve de vers blancs de la région Mechri Salah sous une loupe optique du Laboratoire d'Arthropodes de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de Constantine.

## 1.1. Position systématique

La position systématique de l'insecte qu'on a trouvée est établie comme suit :

Embranchement : Arthropoda

Classe : Insecta

Ordre : Coleoptera

Famille : Melolonthinae

Tribu : Rhizotrogini

Genre : *Rhizotrogus*

Espèce : *Rhizotrogus majalis*

Cette espèce s'appelait *Amphimallon majalis* (Razoumowsky) dans toutes les publications antérieures à 1978 (**Sutherland, 1978**).

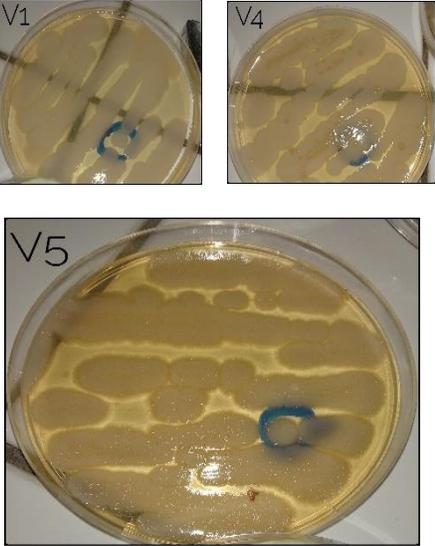
## 2 Partie Microbiologique

### 2.1 Isolement , purification et identification

12 isolats bactériens représentant 6 genres : *Aeromonas* , *Bacillus* , *Chryseomonas* , *Serratia*, *Stenotrophomonas* et *Vibrio* , ont été isolés à partir des vers blancs de genre *Rhizotrogus majalis*.

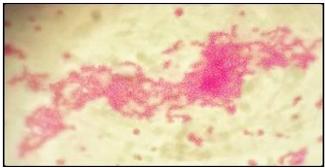
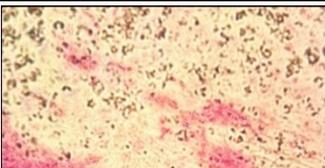
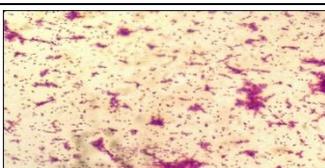
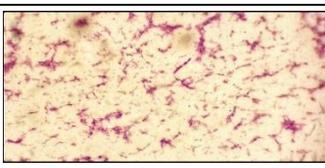
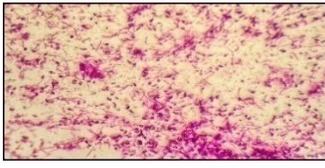
Le genre majoritaire est *Stenotrophomonas* avec une fréquence de 25% représenté par une seule espèce (*S. maltophilia*) , suivi par *Bacillus* avec 16,66 % représenté par deux espèces (*B. sphearicus* et *B. cereus*), *Vibrio*(16,66%) avec deux espèces (*V. metschnikovii* et *V. fluvialus*), *Chryseomonas* et *Serratia* représentent par une seul espèce (*S. odorifera*) et enfin le genre *Aeromonas* représente une seul espèce (*A. salmovicida*) et le genre le moins représentatif avec 8,32% (**Tableaux III, IV et V**).

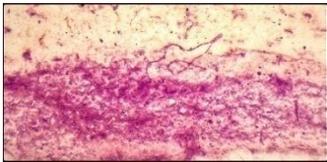
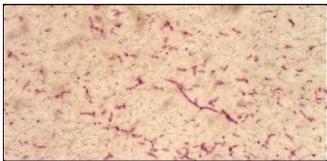
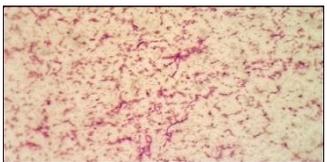
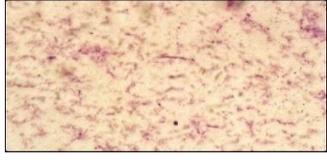
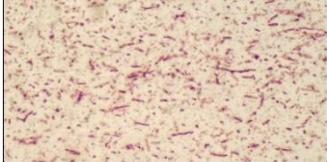
**Tableau III:** résultats de l'examen macroscopique des souches bactériennes isolées à partir du vers blancs sur milieu GN.

| Les isolats  | Description des colonies bactériennes  | Aspect macroscopique des colonies en boîte de Pétri                                  |
|--|--|--|
| <p><b>V1, V2, V3, V4, V5, V6, V7, V8, V9, V10, V11</b></p> | <p>Colonies larges, lisses, plates, fréquemment circulaires, avec des bords irréguliers, de couleur crème ou blanc ou rarement jaunâtre. V4, V7 et V11 ont dû consistance crémeuses.</p> |    |
| <p><b>V12</b></p>  | <p>Colonies lisses, brillantes, rondes, légèrement bombées, avec des bords réguliers, de couleur rouge, rose à violet.</p>   |  |

**Tableau IV:** coloration de Gram des 12 souches bactériennes observées sous microscope optique X 100.

**Rose :** Gram<sup>-</sup> ; **Violet :** Gram<sup>+</sup>

| Les isolats | Examen microscopique  | Observation microscopique prés coloration de Gram                                     |
|-------------|---|---|
| V1          | Forme des coccobacilles en amas de couleur rose (-)                           |    |
| V2          | Forme des cocci isolées de couleur violet (+)                                 |    |
| V3          | Forme des bacilles isolées de couleur rose (-)                                |   |
| V4          | Des cocci isolées, couleur rose (-)   |  |
| V5          | Des bacilles en chainettes, couleur rose (-)                                  |  |
| V6          | Des cocci et des bacilles isolées avec des spores rondes, de couleur rose (-) |  |

|            |   |   |
|------------|---|---|
| <b>V7</b>  | Des bacilles en chainettes, roses (-)                 |    |
| <b>V8</b>  | Des bacilles en chainettes, roses (-)                 |    |
| <b>V9</b>  | Des bacilles en chainettes de couleur roses (-)       |    |
| <b>V10</b> | Des bacilles roses (-)                                |    |
| <b>V11</b> | Des bacilles moyens, diplocoques de couleur roses (-) |  |
| <b>V12</b> | Des petits bacilles isolées en couleur roses (-)      |  |

**Tableau V:** identification des souches bactériennes à l'aide des galeries API 20E et API 20NE.

| Les isolats | Les genres et les espèces                    | Pourcentage % |
|-------------|--|---------------|
| V1          | <i>Bacillus sphearicus</i>                   | 91,2%         |
| V2          | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>          | 99,7%         |
| V3          | <i>Aeromonas salmovicida ssp salmovicida</i> | 81,5%         |
| V4          | <i>Bacillus cereus</i>                       | 96,5%         |
| V5          | <i>Serratia odorifera 1</i>                  | 70,7%         |
| V6          | <i>Chryseomonas luteola</i>                  | 95,5%         |
| V7          | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>          | 99,9%         |
| V8          | <i>Chryseomonas luteola</i>                  | 81,1%         |

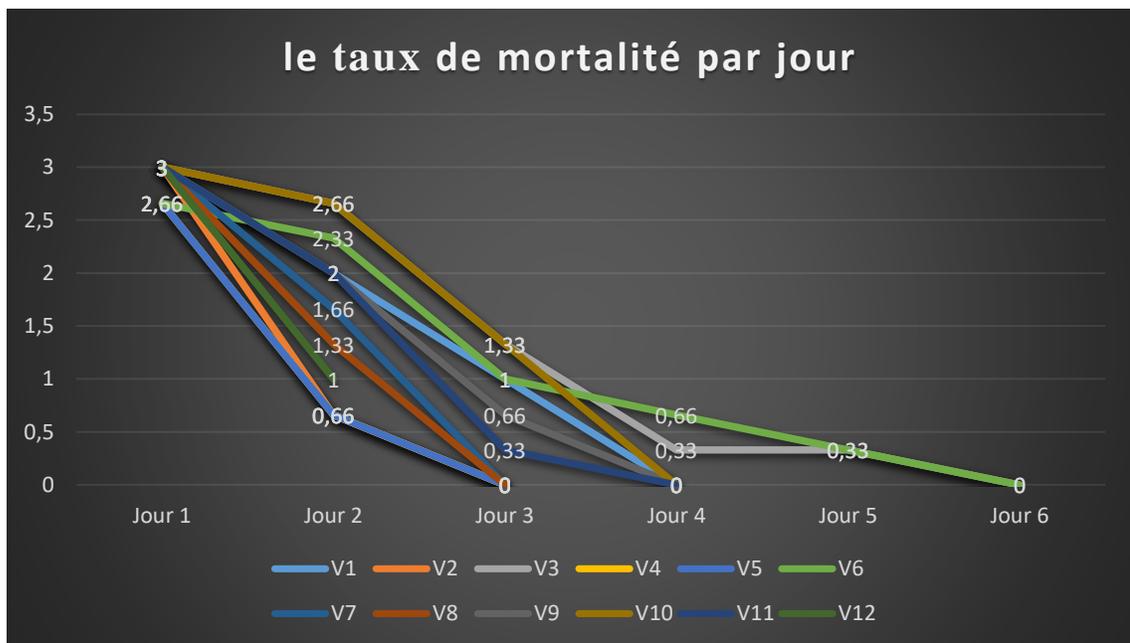
|            |                                     |       |
|------------|-------------------------------------|-------|
| <b>V9</b>  | <i>Vibrio fluviatus</i>             | 92,1% |
| <b>V10</b> | <i>Vibrio metschnikovii</i>         | 87,2% |
| <b>V11</b> | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> | 73,5% |
| <b>V12</b> | <i>Serratia odorifera</i>           | 99,8% |

### 3 Test d'entomopathogénicité

Les résultats obtenus dans le **tableau VI** et la **figure 14**, montrent que les taux de mortalité des *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus cereus*, *Serratia odorifera* et *Chryseomonas luteola* sont très importants sur les larves (mortalité totale après 3<sup>ème</sup> jour du traitement), suivie par *Stenotrophomonas maltophilia*, *Vibrio fluviatus*, *Bacillus sphearicus* et *Vibrio metschnikovii* avec un taux de mortalité considérable et enfin *Aeromonas salmovicida* et *Chryseomonas luteola* ont un effet faible sur les larves.

**Tableau VI:** résultats de test d'entomopathogénicité des vers blancs.

| Souche     | Le taux de mortalité par jour |         |         |         |         |         |
|------------|-------------------------------|---------|---------|---------|---------|---------|
|            | Jour 01                       | Jour 02 | Jour 03 | Jour 04 | Jour 05 | Jour 06 |
| <b>V1</b>  | 3                             | 2       | 1       | 0       | 0       | 0       |
| <b>V2</b>  | 3                             | 0,66    | 0       | 0       | 0       | 0       |
| <b>V3</b>  | 3                             | 2,66    | 1,33    | 0,33    | 0,33    | 0       |
| <b>V4</b>  | 2,66                          | 0,66    | 0       | 0       | 0       | 0       |
| <b>V5</b>  | 2,66                          | 0,66    | 0       | 0       | 0       | 0       |
| <b>V6</b>  | 2,66                          | 2,33    | 1       | 0,66    | 0,33    | 0       |
| <b>V7</b>  | 3                             | 1,66    | 0       | 0       | 0       | 0       |
| <b>V8</b>  | 3                             | 1,33    | 0       | 0       | 0       | 0       |
| <b>V9</b>  | 3                             | 2       | 0,66    | 0       | 0       | 0       |
| <b>V10</b> | 3                             | 2,66    | 1,33    | 0       | 0       | 0       |
| <b>V11</b> | 3                             | 2       | 0,33    | 0       | 0       | 0       |
| <b>V12</b> | 3                             | 1       | 0       | 0       | 0       | 0       |



**Figure 14:** le taux de mortalité des larves du vers blancs injectées par les 12 souches bactériennes par jour.

Les symbioses entre insectes et micro-organismes ont été prouvées que les microorganismes peuvent jouer un rôle dans les mécanismes de digestion chez l'insecte hôte (**Brune, 2014**).

Des symbioses sont également impliquées dans les mécanismes de défense des insectes face à leurs prédateurs (**Nirma et al., 2013**).

En effet les micro-organismes auraient une influence sur les systèmes d'accouplement et de reproduction de leur hôte. De plus, ils auraient la capacité de réguler la pathogénicité des micro-organismes transportés chez les insectes vecteurs de maladies (**Engel et Moran, 2013**).

Les bactéries du genre *Bacillus* sont bien connues et étudiées pour leur caractère pathogène. Alors que *Bacillus cereus* et *B. anthracis* sont des pathogènes humains, *B. thuringiensis* (*Bt*) est un pathogène d'insecte, communément utilisé comme agent de protection des cultures, contre les insectes appartenant aux ordres des Lépidoptères, Diptères et Coléoptères (**Lecadet et al., 1999**). Bien que très étudiée l'écologie de *B. thuringiensis* est encore partiellement énigmatique. Omniprésente dans les sols, on la retrouve également dans d'autres niches écologiques (rhizosphère, tissus végétales, etc.) (**Argôlo-Filho et Loguercio, 2014**).

## 4. Activités antimicrobiennes

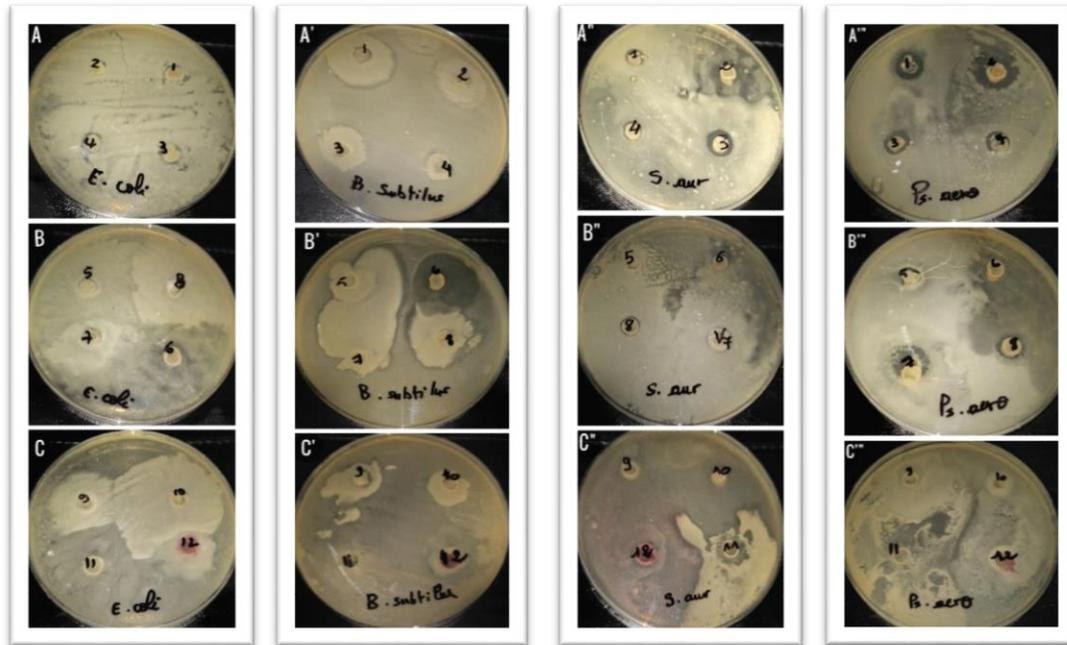
### 4.1. L'activité antibactérienne

Les résultats obtenus indiquent que les bactéries entomopathogènes isolées à partir des larves des vers blancs sont capables de synthétiser des substances inhibitrices contre *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* et *S. aureus* (**Figure15**). Les souches ne présentent pas le même spectre d'action vis-à-vis des bactéries pathogènes (**Tableau VII**).

*Chryseomonas luteola* est un effet très considérables sur les bactéries test par contre *Vibrio metschnikovii* est un effet très faible.

**Tableau VII:** l'étude de l'activité antibactérienne des colonies bactériennes entomopathogènes par la méthode directe.

| <b>Bactéries tests</b><br><b>Souches</b> | <i>Escherichia<br/>Coli</i> | <i>Staphylococcus<br/>aureus</i> | <i>Pseudomonas<br/>aeruginosa</i> | <i>Bacillus<br/>subtilis</i> |
|--|-----------------------------|----------------------------------|-----------------------------------|------------------------------|
| <b>V1</b>                                | 13 mm                       | 8 mm                             | 13 mm                             | 7 mm                         |
| <b>V2</b>                                | 8 mm                        | 29 mm                            | 20 mm                             | 8 mm                         |
| <b>V3</b>                                | 10 mm                       | 11 mm                            | 10 mm                             | 0                            |
| <b>V4</b>                                | 10 mm                       | 8 mm                             | 10 mm                             | 5 mm                         |
| <b>V5</b>                                | 0                           | 0                                | 8 mm                              | 0                            |
| <b>V6</b>                                | 15 mm                       | 45 mm                            | 30 mm                             | 28 mm                        |
| <b>V7</b>                                | 0                           | 0                                | 14 mm                             | 0                            |
| <b>V8</b>                                | 0                           | 7 mm                             | 10 mm                             | 8 mm                         |
| <b>V9</b>                                | 0                           | 0                                | 0                                 | 8 mm                         |
| <b>V10</b>                               | 0                           | 0                                | 0                                 | 0                            |
| <b>V11</b>                               | 8 mm                        | 16 mm                            | 0                                 | 6 mm                         |
| <b>V12</b>                               | 23 mm                       | 20 mm                            | 0                                 | 17 mm                        |

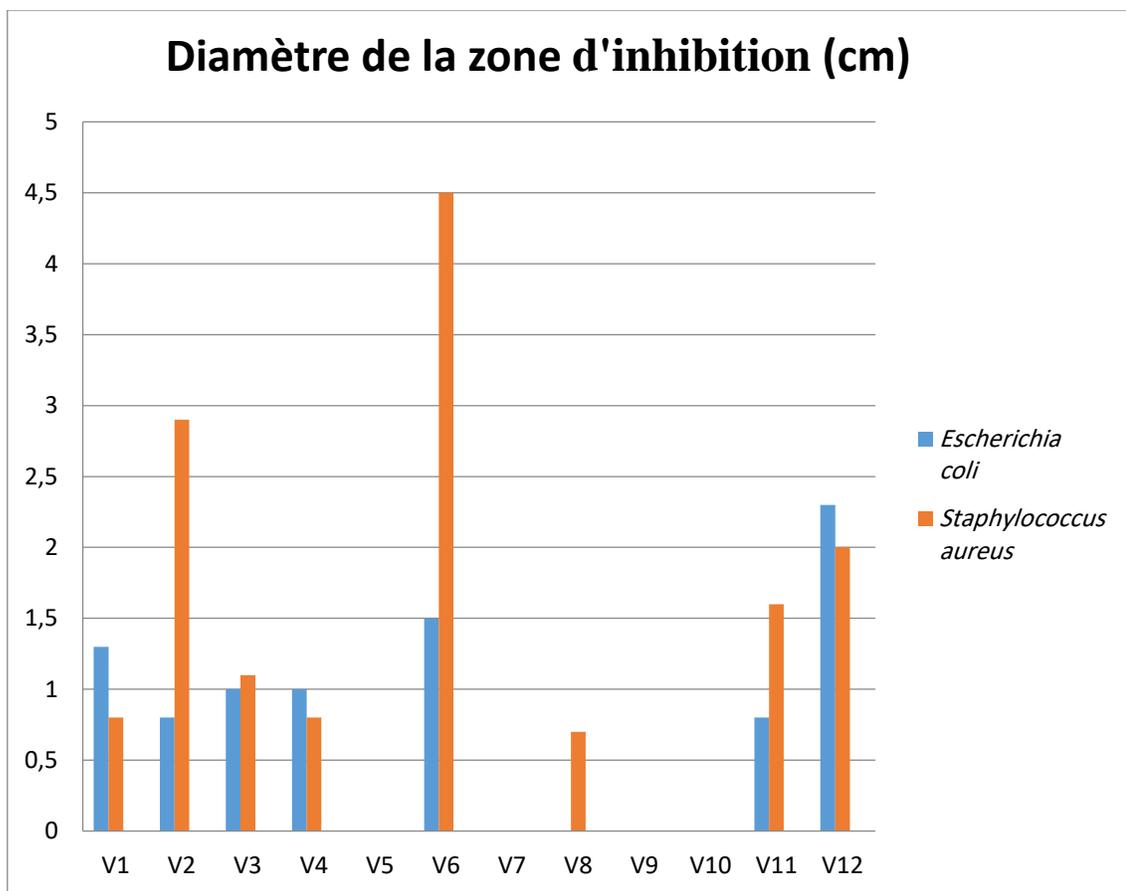


**Figure 15:** les diamètres des zones d'inhibitions vis-à-vis les souches testées.

Les résultats obtenus montrent que les zones d'inhibitions autour des disques ou bien la formation d'un halo d'inhibition autour de la souche ensemencée ont montré que la capacité inhibitrice de bactéries pathogènes donc il y a un effet positif tel que *Stenotrophomonas maltophilia* est apparu comme un agent pathogène opportuniste et a montré que cette bactérie contient un vaste répertoire de résistance aux antibiotiques déterminants, contribuant probablement à sa sensibilité caractéristique aux antibiotiques (**Figure 16**) (Sanchez, Hernandez & Martinez, 2009).

Des bactéries ont aussi gesticulé d'utiliser leur machinerie métabolique pour détoxifier et casser des composés nocifs (y compris les antibiotiques). Les voies biochimiques utilisées par ces bactéries peuvent permettre l'utilisation d'antibiotiques comme sources alimentaires (Martinez, 2008).

Et aussi *Bacillus cereus* a été démontré que les gènes de la toxine anthrax sont impliqués dans la pneumonie anthraxlike (Hoffmaster *et al.*, 2006 ; Hoffmaster *et al.*, 2008), les toxines sont les principaux facteurs de virulence de *B. cereus* une variété des toxines plasmidiques et chromosomiques sont connus parmi eux le *B. thuringiensis* produit les toxines insecticides et *B. anthracis* provoque la maladie mortelle de l'homme et de l'animal.



**Figure 16** : les diamètres des zones d'inhibitions d'*E.coli* et de *Staphylococcus aureus* en présence des bactéries isolées, sélectionnées.

#### 4.2. L'activité antifongique

Les résultats de l'activité antifongique révèle que une seule souche (V12) qui a également montrée un très bon effet inhibiteur sur la croissance *Fusarium oxysporum* et *Fusarium culmorum* avec un pourcentage d'inhibition élevée (**Figure 17**) (**Tableau VIII**).

Les autres souches (V1, V2, V3, V4, V5, V6, V7, V8, V9, V10 et V11) n'ont montré aucun effet inhibiteur sur la croissance de ce champignon (**voir Annexe 5**).

**Tableau VIII** : tableau représentant le taux d'inhibition des 12 souches bactériennes contre *Fusarium oxysporum*.

+ : effet positif ; - : effet négatif

| Souche                    | V1 | V2 | V3 | V4 | V5 | V6 | V7 | V8 | V9 | V10 | V11 | V12 |
|---------------------------|----|----|----|----|----|----|----|----|----|-----|-----|-----|
| <b>Champignon</b>         |    |    |    |    |    |    |    |    |    |     |     |     |
| <i>Fusarium oxysporum</i> | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -  | -   | -   | +   |



**Figure 17:** effet positif du V12 sur *Fusarium oxysporum*.

D'après (Kai *et al.*, 2010), les rhizobactéries comprennent un groupe diversifié de bactéries qui vivent de préférence dans le sol. De nombreuses de ces bactéries sont classées parmi les rhizobactéries qui favorisant la croissance des plantes et sont potentiellement utiles pour la lutte biologique en raison de leur capacité à supprimer les maladies des plantes transmises par le sol (Whipps, 2001 ; Lugtenberg et Kamilova, 2009).

Les mécanismes par lesquels les rhizobactéries peuvent soutenir la croissance des plantes sont la fixation de l'azote, la sécrétion de phytohormones, la solubilisation de minéraux ou la sécrétion d'antibiotiques et de métabolites antifongiques.

Outre ces mécanismes, il est apparu récemment que les microorganismes avaient développé une autre arme potentielle contre les phytopathogènes. Ils sont capables de libérer des composés

organiques volatils (COV) fonctionnels (**Kai et al., 2007 ; Vespermann et Coll, 2007 ; Kai et al., 2009**).

Parmi ces isolats rhizobactériels comprenant de *Serratia odorifera* et émet des mélanges de matières volatiles qui inhibent la croissance de nombreux champignons phytopathogènes et non phytopathogènes (**Kai et al., 2007 ; Vespermann et al., 2007**).

Le genre *Serratia* est nommé d'après le physicien italien Serafino Serrati et appartient à la famille des Enterobacteriaceae (**Vleeschauwer et Hofte, 2007**).

Dutsky émettait les premières observations sur la possible production d'antibiotiques par ces bactéries entomopathogènes pour lutter contre les micro-organismes hostiles aux nématodes, et prévenir la putréfaction du cadavre d'insecte (**Dutsky, 1959**). Deux décennies plus tard, l'exploration de la diversité chimique des genres *Xenorhabdus* et *Photorhabdus* a permis de mettre en lumière la production de nombreuses classes de métabolites par ces deux bactéries (**Poinarr et al., 1980**).

Parmi ces composés on retrouve des insecticides, antiparasitaires, antibiotiques, antifongiques et des antioxydants. Ces métabolites incluent des peptides cycliques et linéaires, des dérivés de stylobènes, d'anthraquinones, de furanes, ainsi que des dérivés phénoliques parmi d'autres composés.

# Conclusion

## Conclusion

L'objectif de notre travail consiste sur l'isolement et l'identification des bactéries entomopathogènes à partir des vers blancs *Rhizotrogus majalis* d'une part et d'autre part l'étude de la virulence de ces bactéries contre les champignons du genre *Fusarium*.

Les examens macroscopiques, microscopiques, identification phénotypique (les galeries API 20E et API 20NE), et les tests biochimiques ont mis en évidence 12 isolats bactériennes représentant 6 genres: *Aeromonas*, *Bacillus*, *Chryseomonas*, *Serratia*, *Stenotrophomonas* et *Vibrio*, ont été isolés à partir des vers blancs de genre *Rhizotrogus majalis*.

Le genre majoritaire est *Stenotrophomonas* avec une fréquence de 25% représenté par une seule espèce (*S.maltophilia*) , suivi par *Bacillus* avec 16.66 % représenté par deux espèces (*B.sphearicus* et *B.cereus*), *Vibrio* (16.66%) avec deux espèces (*V. metschnikovii* et *V.fluviatus*), *Chryseomonas* et *Serratia* représentent par une seul espèce (*S.odorifera*) et enfin le genre *Aeromonas* représente une seul espèce (*A.salmovicida*) et le genre le moins représentatif avec 8.32%.

Par ailleurs, le test d'entomopathogénicité des bactéries contre les vers blancs montrent que les taux de mortalités de *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus cereus*, *Serratia odorifera* et *Chryseomonas luteola* sont très importants sur les larves.

Concernant l'activité antibactérienne, les résultats obtenus indiquent que les bactéries entomopathogènes isolées à partir des larves sont capables de synthétiser des substances inhibitrices contre *E. coli*, *B. subtilis*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*.

Pour l'activité antifongique, seule souche (*S.odorifera*) qui a également montrée un très bon effet inhibiteur sur la croissance du *Fusarium oxysporum* et *Fusarium culmorum*.

En résumé les résultats de cette modeste recherche , nous ont permis de confirmer et de préciser l'importance du potentiel toxémique de quatre souches *Stenotrophomonas maltophilia* , *Bacillus cereus*, *Serratia odorifera* et *Chryseomonas luteola* à l'égard des larves des vers blancs *Rhizotrogus majalis*, des bactéries test et des champignons du genre *Fusarium*.

En perspective pour une meilleure poursuite de cette étude, il serait souhaitable d'étudier d'une façon approfondie le mode d'action de ces bactéries au niveau du champignon phytopathogène (*Fusarium*) et aussi au niveau des insectes nuisibles.

- Etude approfondies des bactéries isolées ;
- Etude approfondie de mode d'action sur les larves de vers blancs ;
- Production des bio-insecticides à partir de ces bactéries et leurs métabolites.

**Références**

**bibliographiques**

- **Abbott, WS. (1925).** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* [en ligne], 18, 265-267. <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>.
- **Ahmed, SI., Leather, SR. (1994).** Suitability and potential of entomopathogenic microorganisms for forest pest management-some points for consideration. *International Journal of Pest Management*, 40 (4), 287-292.
- **A.N.D.I. (Agence National des Ressources en eau). (2013).** Investissement en Algérie, wilaya de Mila.
- **Argolo-Filho, RC., Loguercio, LL. (2014).** *Bacillus thuringiensis* is an environmental pathogen and host-specificity has developed as an adaptation to human-generated ecological niches. *Insects*, 5, 62-91.
- **Arvalis.infos.fr. (2016).** Institut du Végétal. <https://www.arvalis-infos.fr/distinguer-le-genre-fusarium-de-microdochium-@/view-12991-arvarticle.html>.
- **Balédent, F. (1997).** Coloration usuelles en bactériologie. *Revue de Développement et Santé* [en ligne], 127 (consulté le 25/05/2022). [www.Ledamed.org](http://www.Ledamed.org).
- **Boivin, G. (2001).** La lutte biologique. *La revue électronique en sciences de l'environnement*. 2 (2). <https://doi.org/10.4000.vertigo.4096>.
- **Bravo, A., Likitvivanavong, S., S.Gill, S., Soberon, M. (2011).** *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. *Insect Biochem Mol Biol*, 41 (7), 423-431. doi:10.1016/j.ibmb.2011.02.006.
- **Bouklihacene, S. (2012).** Bioécologie des Coléoptères (Arthropodes-Insectes) du marais salé de l'embouchure de la Tafna (Tlemcen). Thèse de Doctorat : En Ecologie animale. Tlemcen : Université de Tlemcen, 142 p.
- **Brune, A. (2014).** Symbiotic digestion of lignocellulose in termite guts. *Nature*, 12, 168-180.
- **Ben Abdallah, R., Frikha, D., Maalej, S., Sassi, S. (Février 19).** Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre espèces algales marines. *J.I.M. Sfax*, 31, 38-44.
- **Benseddik, Y et al. (2021).** Efficacy assessment of entomopathogenic nematodes native to Morocco against the white grubs *Rhizotrogus obesus* Lucas and *Geotrogus olcesii* Fairmaire (Coleoptera : Scarabaeidae). *Crop Protection*, 143, 1-6.
- **Cochereau, P. (1989).** l'insecte et le risque agricole. ORSTOM-INRA. 153-166. <http://www.openedition.org/6540>.

- **Chaufaux, J. (1995).** Utilisation de biopesticides contre les ravageurs des cultures : le point sur *Bacillus thuringiensis*. *L'environnement en France*, 2 (97), 2-6.
- **Charles, JF., Nielsen-le-Roux, C. (1996).** Les bactéries entomopathogènes: mode d'action sur les larves de moustiques et phénomènes de résistance. *ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR*. 7 (4), 233-245.
- **Canler, JP. (2005).** Dysfonctionnement biologiques des stations d'épuration : origines et solutions. Paris: *Cimagref*. 123 p.
- **Dutsky, SR. (1959).** Insect Microbiology. *Adv App Microbiol*, 1, 175-200.
- **Debabza, M. (2005).** Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multi-résistants aux antibiotiques: étude bactériologique et moléculaire. Thèse de Doctorat : En Microbiologie. Annaba : Université Badji Mokhtar, 217 p.
- **Dhoj G.C, Y. (2006).** White grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) associated with Nepalese agriculture and their control with the indigenous entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. Thèse de Doctorat : En Philosophie et Sciences Naturelles. Allemand : Université de Bale, 282 p.
- **Delarras, C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Aliments, produits cosmétiques, eaux, produits pharmaceutiques. Paris : *Tec & Doc Lavoisier*. 476 p.  
  
<http://bdsp-ehesp.inist.fr/vibad/index.php?action=getRecordDetail&idt=354985>
- **Diallo, KK. (2010).** Fréquence d'isolement des *Klebsiella* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel Toure de 2002 à 2007. Thèse de Doctorat : En Pharmacie. Mali : Université de Bamako, 96 p.
- **Deravel, J., Krier, F., Jacques, Ph. (2014).** Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). *Biotechnol. Agron. Soc.* 18 (2), 220-232.
- **Deka, B., Baruah, Ch., Babu, A. (2021).** Entomopathogenic microorganisms: their role in insect pest management. *Egypt J Biol Pest Control*, 31 (121), 2-8  
<https://doi.org/10.1186/s41938-021-00466-7>.
- **Engel, P., Moran, NA. (2013).** The gut microbiota of insects-diversity in structure and function. *FEMS Microbiol Rev*, 37, 699-735.

- **FAO.(1983).**Recueil et évaluation des données sur les pertes de céréales vivrières causées par les ravageurs et maladies avant la récolte. *Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture*.
- **Feedia-Techna.com.2022.**<https://www.feedia-techna.com/fr/alimentation-nutrition/volaille/mycotoxines-volaille-pertes-economiques>
- **Image** [en ligne] (Consulté le 22/05/2022).  
[https://fr.wikipedia.org/wiki/Mila\\_%28Algérie%29\\_](https://fr.wikipedia.org/wiki/Mila_%28Algérie%29_)
- **Johnson, JL., Phelps, CF., Cummins, CS., London, J., Gasser, F. (1980).** Taxonomy of *Lactobacillus acidophilus* group. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 30, 53-68.
- **Joyce, SA., Brachmann, AO., et al. (2008).** Bacterial biosynthesis of a multipotent stilbene. *Angew Chem Int Ed Engl*, 47, 1942-1945.
- **Kouassi, M. (2001).** Les possibilités de la lutte microbiologique : Emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*. *Open Edition Journals*, 2 (2).
- **Kavanagh, K., Reeves, E. (2004).** Exploiting the potential of insects for in vivo pathogenicity testing of microbial pathogens. *FEMS Microbiology Reviews*, 28, 101-112.
- **Kai, M., Crespo, E., Cristescu, S. et al.(2010).***Serratia odorifera*: analysis of volatile emission and biological impact of volatile compounds on *Arabidopsis thaliana*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 88, 965-976. DOI 10.1007/s00253-010-2810-1.
- **Lecadet, MM. (1996).** La lutte biologique contre les insectes : une vieille histoire très actuelle. *Annales de L'institut Pasteur*, 7 (4), 207-216.
- **Lecadet, MM., Frachon, E., et al.(1999).** Updating the H-antigen classification of *Bacillus thuringiensis*. *J Appl Microbiol*, 86, 660-672.
- **Lambert, N. (2010).** Lutte biologique aux ravageurs : applicabilité au Québec. L'obtention du grade de Maitre en Environnement (M. ENV.)-Québec : Université de Sherbrooke, 103 p.
- **Légaré, JP ; Serres, JM-De ; Bourdon, K. (2015).** Les vers blancs. *Laboratoire de diagnostic en phytoprotection, MAPAQ*, 1-8. [Agrireseau.qc.ca](http://Agrireseau.qc.ca).
- **Lindquist, DA.** Les pesticides : la chimie au service de la survie. *AIEA/FAO*, 23 (3), 37-38.
- **Martineau, C., Mongeau, B., Rochefort, S. (2008).** Guide implantation et entretien d'une pelouse durable. Québec : Fédération interdisciplinaire de l'horticulture ornementale (FIHOQ). 202 p.

- **M. Ghorri, S. (2015).** Isolement des microorganismes possédant une activité anti-*Fusarium*. Thèse de Doctorat Recherche : En Bioprocédés et Biotechnologies, Applications Mycologiques-Constantine : Université des Frères Mentouri Constantine 1, 154 p.
- **Madaci, B. (2017).** Effets des Phytoconstituants du *Nerium oleander* (Apocynacées) sur les vers blancs (*Rhizotrogini Coleoptera Scarabaeidae*). Thèse de Doctorat : En Entomologie. Constantine : Université des Frères Mentouri, 133 p.
- **Meddas, SA., Oulebsir-Mohandkaci, H., Hadjouti, R et al. (2020).** Caractérisation des *Bacillus* spp. isolées du sol d'Olivier et étude de leurs potentialités de biocontrôle contre la mouche de l'Olive *Dacus oleae* (GMEL) au Nord de l'Algérie. *Revue Agrobiologia*, 10 (1): 1872-1882.
- **Nirma, C., Eparvier, V., et al. (2013).** Antifungal agents from *Pseudallescheria boydii* SNB-CN73 isolated from a *Nasitutermes* sp. termite. *J Nat Prod*, 76, 988-991.
- **Nageleisen, LM., Bélouard, Th., Meyer, J. (2015).** Le hanneton forestier (*Melolontha hippocastani fabricius* 1801) en phase épidémique dans le nord de l'Alsace. *For. Fr.* LXVII, 4, 353-366.
- **Pagès, S., Ginibre, N. (2006).** Evaluation de la virulence de bactéries entomopathogènes. *Cah. Tech. I.N.R.A.*, 57, 11-19.
- **Placidi C and Jurat-Fuentesa JL. (2019).** Mechanisms of resistance to commercially relevant entomopathogenic bacteria. Department of Entomology and Plant Pathology, University of Tennessee, Knoxville, TN 37996. 1-23. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214574518301305>.
- **Richard, Cl., Marchal, N., Bourdon, JL. (1982).** Les Milieux de cultures : Pour l'isolement et l'identification biochimiques des bactéries (Biologie Appliquée) 2<sup>ème</sup> édition. Paris : *DOIN éditeurs*. 482 p.
- **Richard, R. (2010).** Systématique des vers blancs (Coleoptera, Scarabeoidea) en riziculture pluviale des régions de haute et moyenne altitudes du centre et du centre-ouest de Madagascar. Bioécologie du ravageur *Heteronychus arator rugifrons* (Fairmaire, 1871-Coleoptera, Scarabeoidea, Dynastidae).
- **Sutherland, DWS. (1978).** Common names of insects and related organisms. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 24, 408.

- **Smeesters, E., Chouinard, G., Gagnon, S. (2001).** Méthodes alternatives à la lutte chimique en pomiculture: principales techniques applicables au Québec. Bibliothèque National du Québec. 49 p.
- **Shetlar, DJ et Andon, A. (2012).** Identification of White Grubs in Turfgrass (OSU Fact-Sheet) white grub larvae. *Fact Sheet Entomology*.
- **Siou, D. (2013).** Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien. Thèse de Doctorat Recherche : Ecole Doctorale : Sciences du Végétale : Du Gène à l'Ecosystème-Paris : Université Paris-Sud 11, 198 p.
- **Tremblay, L., Coté, M., Simard, N., Pageau, D., Rioux, S. (2012).** En savoir plus sur la fusariose. *Fédération des producteurs de cultures commerciales du Québec (FPCC)*. [WWW.fpccq.qc.ca](http://WWW.fpccq.qc.ca).
- **Touré, S. (2019).** Interactions insectes-micro-organismes entomopathogènes comme source d'inspiration pour la découverte concomitante de bio-insecticides et d'antimicrobiens. Thèse de Doctorat : En Chimie des Substances Naturelles-Ecole Doctorale : Sciences de la Nature et de l'Homme ED 227 : Université Pierre et Marie Curie, 422 p.
- **(2019).** <https://mjardiner.com/04/les-vers-blancs-identification-traitement-et-prevention>.
- **(2021).** <https://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/facts/grubdamage.html>.

## Résumé

Les bactéries entomopathogènes occupent une place particulière dans la régulation naturelle de nombreux insectes. Dans ce contexte nous avons isolé 12 souches bactériennes à partir des larves de vers blancs *Rhizotrogus majalis* les résultats obtenus représentant 6 genres: *Aeromonas*, *Bacillus*, *Chryseomonas*, *Serratia*, *Stenotrophomonas* et *Vibrio*. Le genre majoritaire est *Stenotrophomonas* avec une fréquence de 25%. En effet, les résultats obtenus, nous ont permis de confirmer et de préciser l'importance du potentiel toxémique de quatre souches *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus cereus*, *Serratia odorifera* et *Chryseomonas luteola* contre les larves des vers blancs *Rhizotrogus majalis*, les bactéries test et les champignons du genre *Fusarium*.

**Les mots clés:** les vers blancs, *Rhizotrogus majalis*, les bactéries entomopathogènes, *Fusarium*

## ملخص

تحتل البكتيريا المسببة للأمراض الحشرية مكانة خاصة في التنظيم الطبيعي للعديد من الحشرات و في هذا السياق قمنا بعزل 12 سلالة من الديدان البيضاء *Rhizotrogus majalis* النتائج المتحصل عليها تتمثل في 6 اجناس : *Aeromonas*, *Stenotrophomonas*, *Bacillus*, *Chryseomonas*, *Serratia*, *Vibrio*. الجنس الغالب هو *Stenotrophomonas* بتردد 25%.

في الواقع اتاحت لنا النتائج التي تم الحصول عليها تأكيد و توضيح الامكانات السمية لاربع سلالات

ضد *Chryseomonas luteola* و *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus cereus*, *Serratia odorifera* يرقات الديدان البيضاء *Rhizotrogus majalis* و بكتيريا الاختبار و الفطريات من جنس *Fusarium*.

**الكلمات المفتاحية:** اليرقات البيضاء ، *Rhizotrogus majalis* البكتيريا الممرضة للحشرات، *Fusarium*

## **Abstract**

Entomopathogenic bacteria occupy a special place in the natural regulation of many insects. In this context we isolated 12 bacterial strains were obtained from *Rhizotrogus majalis* grub larvae obtained results representing 6 genera: *Aeromonas*, *Bacillus*, *Chryseomonas*, *Serratia*, *Stenotrophomonas* and *Vibrio*. The majority genus is *Stenotrophomonas* with a frequency of 25%. Indeed, the results obtained allowed us to confirm and clarify the importance of the toxemic potential of four strains *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus cereus*, *Serratia odorifera* and *Chryseomonas luteola* against the larvae of white grubs *Rhizotrogus majalis*, test bacteria and fungi of the genus *Fusarium*.

**Key words:** white grubs, *Rhizotrogus majalis*, entomopathogenic bacteria, *Fusarium*

# Annexes

**Annexe 1** : Composition de milieux de cultures utilisés. Laboratoire de Microbiologie de l'Université des Frères Mentouri Constantine 1.

## Milieux de culture

### 1. Milieux solides

#### ✓ Gélose nutritive (GN)

- Peptone .....10g/l
- Extrait de viande .....3g/l
- Extrait de levure .....3g/l
- Chlorure de sodium .....5g/l
- Agar .....18g/l
- pH=7,3

Autoclavage : 20 mn à 120 °C

#### ✓ Milieu Muller-Hinton (MH)

- Glucose.....10g
- Extrait de viande.....1 g
- Hydrolysat acide de caséine.....17,5g
- Amidon.....1,5g
- Agar.....10g
- Eau distillée.....1000 ml
- pH =7,3

Stérilisation : 15 mn à 115 °C

#### ✓ Milieu Potato-Dextrose-Agar (PDA)

- Pomme de terre ..... 200 g/l
- Glucose ..... 20 g/l
- Agar ..... 20 g/l
- Eau distillée ..... 1000 ml
- pH : 5.6 ± 0.2

Stérilisation : 30 mn à 120 °C

## 2. Milieux liquides :

### ✓ Bouillon nutritif (BN)

- Peptone .....10,0 g
- Extrait de levure .....5,0 g
- Chlorure de sodium .....5,0 g
- Eau distillée .....1000 ml
- pH = 7,2

### Annexe 2 : résultats de test d'entomopathogénicité.

| Les échantillons                            | Les jours             | Vivant                              | Mort                          |
|---|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------------|
| V1, V2, V3, V7,<br>V8, V9, V10,<br>V11, V12 | 1 <sup>er</sup> jour  | Oui                                 | Aucun                         |
| <b>V1</b>                                   |                       |                                     |                               |
| V I<br>V II<br>V III                        | 2 <sup>ème</sup> jour | 3 vivants<br>2 vivants<br>1 vivant  | Aucun<br>1 mort<br>2 morts    |
| V I<br>V II<br>V III                        | 3 <sup>ème</sup> jour | 2 vivants<br>1 vivant<br>Aucun      | 1 mort<br>2 morts<br>3 morts  |
| V I<br>V II<br>V III                        | 4 <sup>ème</sup> jour | Aucun<br>Aucun<br>Aucun             | 3 morts<br>3 morts<br>3 morts |
| <b>V2</b>                                   |                       |                                     |                               |
| V I<br>V II<br>V III                        | 2 <sup>ème</sup> jour | 1 vivant<br>1 vivant<br>Aucun       | 2 morts<br>2 morts<br>3 morts |
| V I<br>V II<br>V III                        | 3 <sup>ème</sup> jour | Aucun<br>Aucun<br>Aucun             | 3 morts<br>3 morts<br>3 morts |
| <b>V3</b>                                   |                       |                                     |                               |
| V I<br>V II<br>V III                        | 2 <sup>ème</sup> jour | 3 vivants<br>3 vivants<br>2 vivants | Aucun<br>Aucun<br>1 mort      |
| V I<br>V II<br>V III                        | 3 <sup>ème</sup> jour | 2 vivants<br>2 vivants<br>Aucun     | 1 mort<br>1 mort<br>3 morts   |

|                    |                       |                                     |                               |
|--------------------|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------------|
| V I<br>VII<br>VIII | 4 <sup>ème</sup> jour | Aucun<br>1 vivant<br>Aucun          | 3 morts<br>2 morts<br>3 morts |
| VII                | 5 <sup>ème</sup> jour | 1 vivant                            | 2 morts                       |
| VII                | 6 <sup>ème</sup> jour | Aucun                               | 3 morts                       |
| <b>V4</b>          |                       |                                     |                               |
| V I<br>VII<br>VIII | 1 <sup>er</sup> jour  | 3 vivants<br>3 vivants<br>2 vivants | Aucun<br>Aucun<br>1 mort      |
| V I<br>VII<br>VIII | 2 <sup>ème</sup> jour | 1 vivant<br>1 vivant<br>Aucun       | 2 morts<br>2 morts<br>3 morts |
| V I<br>VII<br>VIII | 3 <sup>ème</sup> jour | Aucun<br>Aucun<br>Aucun             | 3 morts<br>3 morts<br>3 morts |
| <b>V5</b>          |                       |                                     |                               |
| V I<br>VII<br>VIII | 1 <sup>er</sup> jour  | 3 vivants<br>3 vivants<br>2 vivants | Aucun<br>Aucun<br>1 mort      |
| V I<br>VII<br>VIII | 2 <sup>ème</sup> jour | 1 vivant<br>1 vivant<br>Aucun       | 2 morts<br>2 morts<br>3 morts |
| V I<br>VII<br>VIII | 3 <sup>ème</sup> jour | Aucun<br>Aucun<br>Aucun             | 3 morts<br>3 morts<br>3 morts |
| <b>V6</b>          |                       |                                     |                               |
| V I<br>VII<br>VIII | 1 <sup>er</sup> jour  | 3 vivants<br>2 vivants<br>3 vivants | Aucun<br>1 mort<br>Aucun      |
| V I<br>VII<br>VIII | 2 <sup>ème</sup> jour | 3 vivants<br>2 vivants<br>2 vivants | Aucun<br>1 mort<br>1 mort     |
| V I<br>VII<br>VIII | 3 <sup>ème</sup> jour | 1 vivant<br>2 vivants<br>Aucun      | 2 morts<br>1 mort<br>3 morts  |
| V I<br>VII         | 4 <sup>ème</sup> jour | 1 vivant<br>1 vivant                | 2 morts<br>2 morts            |

|     |  |                   |                    |
|-----|--|-------------------|--------------------|
| V I |  |                   |                    |
| VII | 5 <sup>ème</sup> jour                      | Aucun<br>1 vivant | 3 morts<br>2 morts |
| VII | 6 <sup>ème</sup> et 7 <sup>ème</sup> jours | 1 vivant          | 2 morts            |
| VII | 8 <sup>ème</sup> jour                      | Aucun             | 3 morts            |

|                    |                       |                                     |                               |
|--------------------|-----------------------|-------------------------------------|-------------------------------|
| <b>V7</b>          |                       |                                     |                               |
| V I<br>VII<br>VIII | 2 <sup>ème</sup> jour | 3 vivants<br>Aucun<br>2 vivants     | Aucun<br>3 morts<br>1 mort    |
| V I<br>V III       | 3 <sup>ème</sup> jour | Aucun<br>Aucun                      | 3 morts<br>3 morts            |
| <b>V8</b>          |                       |                                     |                               |
| V I<br>VII<br>VIII | 2 <sup>ème</sup> jour | Aucun<br>3 vivants<br>1 vivant      | 3 morts<br>Aucun<br>2 morts   |
| VII<br>VIII        | 3 <sup>ème</sup> jour | Aucun<br>Aucun                      | 3 morts<br>3 morts            |
| <b>V9</b>          |                       |                                     |                               |
| V I<br>VII<br>VIII | 2 <sup>ème</sup> jour | 2 vivants<br>3 vivants<br>1 vivant  | 1 mort<br>Aucun<br>2 morts    |
| V I<br>VII<br>VIII | 3 <sup>ème</sup> jour | 1 vivant<br>1 vivant<br>Aucun       | 2 morts<br>2 morts<br>3 morts |
| V I<br>VII         | 4 <sup>ème</sup> jour | Aucun<br>Aucun                      | 3 morts<br>3 morts            |
| <b>V10</b>         |                       |                                     |                               |
| V I<br>VII<br>VIII | 2 <sup>ème</sup> jour | 3 vivants<br>3 vivants<br>2 vivants | Aucun<br>Aucun<br>1 mort      |
| V I<br>VII<br>VIII | 3 <sup>ème</sup> jour | 1 vivant<br>2 vivants<br>1 vivant   | 2 morts<br>1 mort<br>2 morts  |

|                    |                        |                                    |                               |
|--------------------|------------------------|------------------------------------|-------------------------------|
| V I<br>VII<br>VIII | 4 <sup>ième</sup> jour | Aucun<br>Aucun<br>Aucun            | 3 morts<br>3 morts<br>3 morts |
| <b>V11</b>         |                        |                                    |                               |
| V I<br>VII<br>VIII | 2 <sup>ième</sup> jour | 2 vivants<br>3 vivants<br>1 vivant | 1 mort<br>Aucun<br>2 morts    |
| V I<br>VII<br>VIII | 3 <sup>ième</sup> jour | Aucun<br>1 vivant<br>Aucun         | 3 morts<br>2 morts<br>3 morts |
| VII                | 4 <sup>ième</sup> jour | Aucun                              | 3 morts                       |
| <b>V12</b>         |                        |                                    |                               |
| V I<br>VII<br>VIII | 2 <sup>ième</sup> jour | Aucun<br>1 vivant<br>2 vivants     | 3 morts<br>2 morts<br>1 mort  |
| VII<br>VIII        | 3 <sup>ième</sup> jour | Aucun<br>Aucun                     | 3 morts<br>3 morts            |

Annexe 3 : le tableau de lecture des résultats de la galerie API 20E.

| <b>Tableau de culture de la galerie API 20 E</b> |                                  |  |                    |                    |
|--|----------------------------------|--|--------------------|--------------------|
| <b>Microtube</b>                                 | <b>Substrat</b>                  | <b>Lecture direct ou indirecte</b>             | <b>Résultats +</b> | <b>Résultats -</b> |
| <b>ONPG</b>                                      | Ortho-Nitro-Phényl-Galactosidase | Directe  | Jaune              | Incolore           |
| <b>ADH<br/>LDC<br/>ODH</b>                       | Arginine<br>Lysine<br>Ornithine  | Directe  | Orange à rouge     | Jaune              |
| <b>CIT</b>                                       | Citrate                          | Directe  | Bleu en surface    | Vert               |
| <b>H2S</b>                                       | Thiosulfate de sodium            | Directe  | Noir               | incolore           |
| <b>URE</b>                                       | Urée                             | Directe  | Rose               | Jaune              |
| <b>TDA</b>                                       | Tryptophane                      | Indirecte :<br>Ajouter 1 goutte de réactif TDA | Marron             | Jaune              |
| <b>IND</b>                                       | Indole                           | Indirecte :<br>Ajouter 1 goutte de Kovacs      | Rose en surface    | Jaune              |
| <b>VP</b>  | Pyruvate de sodium               | Indirecte :<br>Ajouter VP1 et VP2              | Rouge en surface   | Jaune pale         |
| <b>GEL</b>                                       | Gélatine                         | Directe  | Noir               | pas de diffusion   |
| <b>GLU à ARA</b>                                 | Substrat carboné                 | Directe  | Vert jaunâtre      | Bleu               |

## Les résultats obtenus par la galerie API 20E

|   |  |
|---|--|
| <b>V1</b><br> API 20E test strip V1 showing results for 20 biochemical tests. The strip is labeled V1_20E on a green sticker.      | <b>V2</b><br> API 20E test strip V2 showing results for 20 biochemical tests. The strip is labeled V2_20E on a green sticker.      |
| <b>V3</b><br> API 20E test strip V3 showing results for 20 biochemical tests. The strip is labeled V3_20E on a green sticker.      | <b>V4</b><br> API 20E test strip V4 showing results for 20 biochemical tests. The strip is labeled V4_20E on a green sticker.      |
| <b>V5</b><br> API 20E test strip V5 showing results for 20 biochemical tests. The strip is labeled V5_20E on a green sticker.      | <b>V6</b><br> API 20E test strip V6 showing results for 20 biochemical tests. The strip is labeled V6_20E on a green sticker.      |
| <b>V7</b><br> API 20E test strip V7 showing results for 20 biochemical tests. The strip is labeled V7_20E on a green sticker.      | <b>V8</b><br> API 20E test strip V8 showing results for 20 biochemical tests. The strip is labeled V8_20E on a green sticker.      |
| <b>V9</b><br> API 20E test strip V9 showing results for 20 biochemical tests. The strip is labeled V9_20E on a green sticker.    | <b>V10</b><br> API 20E test strip V10 showing results for 20 biochemical tests. The strip is labeled V10_20E on a green sticker. |
| <b>V11</b><br> API 20E test strip V11 showing results for 20 biochemical tests. The strip is labeled V11_20E on a green sticker. | <b>V12</b><br> API 20E test strip V12 showing results for 20 biochemical tests. The strip is labeled V12_20E on a green sticker. |

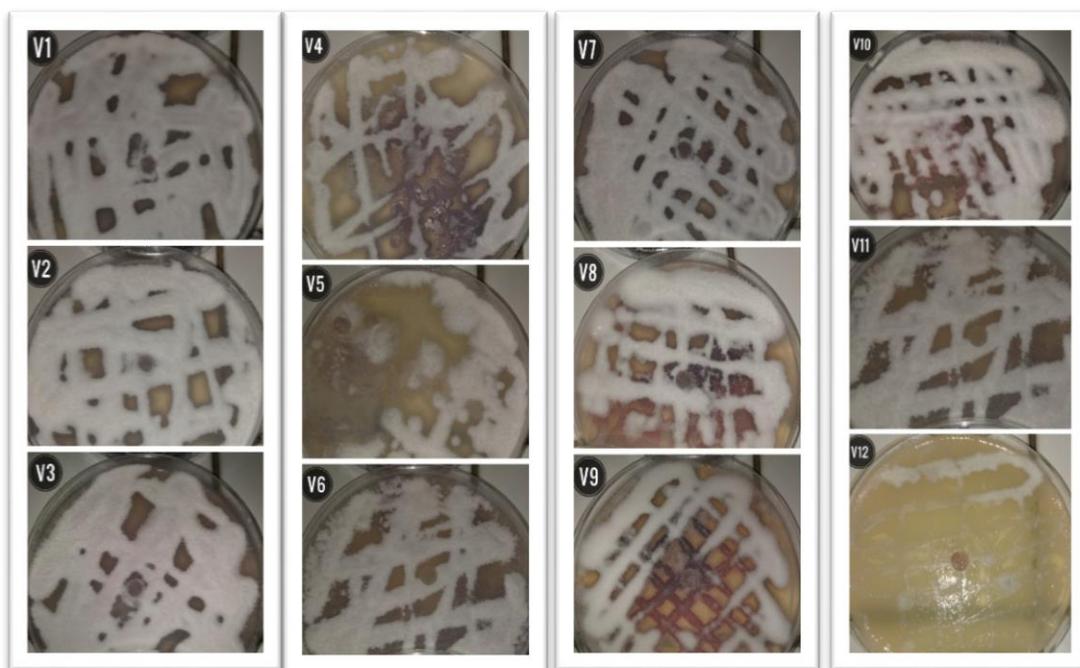
Annexe 4 : tableau de lecture des résultats de la galerie API 20 NE.

| TESTS           | COMPOSANTS ACTIFS                               | QTE<br>(mg/cup.) | REACTIONS/ENZYMES   | RESULTATS                      |                              |
|-----------------|---|------------------|---|--------------------------------|------------------------------|
|                 |   |                  |   | NEGATIF                        | POSITIF                      |
| NO <sub>3</sub> | potassium nitrate                               | 0,136            | réduction des Nitrates en nitrites  | NIT 1 + NIT 2 / 5 min          |                              |
|                 |   |                  | réduction des Nitrates en azote   | incoloré                       | rose-rouge                   |
| TRP             | L-tryptophane                                   | 0,2              | formation d'indole (TRyptophane)  | Zn / 5 min                     |                              |
|                 |   |                  |   | incoloré<br>vert pâle / jaune  | rose                         |
| GLU             | D-glucose                                       | 1,92             | fermentation (GLUcose)  | bleu à vert                    | jaune                        |
| ADH             | L-arginine                                      | 1,92             | Arginine DiHydrolase  | jaune                          | orange / rose /<br>rouge     |
| URE             | urée  | 0,76             | UREase  | jaune                          | orange / rose /<br>rouge     |
| ESC             | esculine<br>citrates de fer                     | 0,56<br>0,072    | hydrolyse ( $\beta$ -glucosidase) (ESculine)                                  | jaune                          | gris / marron / noir         |
| GEL             | gélatine<br>(origine bovine)                    | 0,6              | hydrolyse (protéase) (GELatine)   | pas de diffusion<br>du pigment | diffusion du<br>pigment noir |
| PNPG            | 4-nitrophényl- $\beta$ -D-<br>galactopyranoside | 0,22             | $\beta$ -galactosidase (Para-NitroPhényl- $\beta$ -D-<br>Galactopyranosidase) | incoloré                       | jaune                        |
| [GLU]           | D-glucose                                       | 1,56             | assimilation (GLUcose)  | transparence                   | trouble                      |
| [ARA]           | L-arabinose                                     | 1,4              | assimilation (ARABinose)  | transparence                   | trouble                      |
| [MNE]           | D-mannose                                       | 1,4              | assimilation (ManNosE)  | transparence                   | trouble                      |
| [MAN]           | D-mannitol                                      | 1,36             | assimilation (MANnitol)   | transparence                   | trouble                      |
| [NAG]           | N-acétyl-glucosamine                            | 1,28             | assimilation (N-Acétyl-Glucosamine)   | transparence                   | trouble                      |
| [MAL]           | D-maltose                                       | 1,4              | assimilation (MALtose)  | transparence                   | trouble                      |
| [GNT]           | potassium gluconate                             | 1,84             | assimilation (potassium GlucoNaTe)  | transparence                   | trouble                      |
| [CAP]           | acide caprique                                  | 0,78             | assimilation (acide CAPrique)   | transparence                   | trouble                      |
| [ADI]           | acide adipique                                  | 1,12             | assimilation (acide ADIrique)   | transparence                   | trouble                      |
| [MLT]           | acide malique                                   | 1,56             | assimilation (MaLaTe)   | transparence                   | trouble                      |
| [CIT]           | trisodium citrate                               | 2,28             | assimilation (trisodium CITrate)  | transparence                   | trouble                      |
| [PAC]           | acide phénylacétique                            | 0,8              | assimilation (acide PhénylACétique)   | transparence                   | trouble                      |

## Les résultats obtenus par la galerie API 20NE

|   |  |
|---|--|
| <b>V1</b><br>    | <b>V2</b><br>    |
| <b>V3</b><br>    | <b>V4</b><br>    |
| <b>V5</b><br>    | <b>V6</b><br>    |
| <b>V7</b><br>    | <b>V8</b><br>    |
| <b>V9</b><br>  | <b>V10</b><br> |
| <b>V11</b><br> | <b>V12</b><br> |

Annexe 5 : les résultats de l'activité antifongique.



## **Annexe 6**

### **1. Suspension fongique**

A 1 ml de suspension de spores préalablement agitée, on ajoute 9 ml d'eau tweenée ; la solution mère ainsi obtenue permet de préparer la gamme étalon. Le nombre de spores dans chaque dilution est déterminé par la technique de dénombrement en utilisant la cellule de Mallassez. L'examen s'effectue au microscope au grossissement x 40. La courbe d'étalonnage est établie par mesure de l'absorbance de chaque dilution à 750 nm au spectrophotomètre (**SHIMADZU. Japon**) en fonction du nombre de spores comptées sur la cellule. Avant chaque inoculation, le nombre de spores est estimé par référence à la courbe d'étalonnage puis, la suspension est diluée de manière à obtenir un nombre de spores de  $10^7$  spore/ml.

### **2. Suspension sporale**

A l'aide d'une anse stérile, nous avons prélevées quelques colonies bactériennes développées sur le (GN) puis ils sont introduits dans des tubes à essai contenant quelques millilitres d'eau physiologique à 0,9% de Na Cl. Après une bonne agitation au vortex, nous avons procédé à la lecture de son absorbance à 600nm à l'aide d'un spectrophotomètre à UV-visible. Il faut diluer la suspension bactérienne, jusqu'à obtention d'une absorbance située entre 0,08 et 0,1 qui correspondent approximativement à  $10^6$  à  $10^8$  UFC/ml de charge bactérienne.



Année universitaire : 2021-2022

Présenté par : DJEBLI Yousra  
BENHARKOU Zeyneb

L'étude de l'activité antimicrobienne des bactéries entomopathogènes et leurs effets sur la croissance de *Fusarium*

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en Biotechnologie

### Résumé

Les bactéries entomopathogènes occupent une place particulière dans la régulation naturelle de nombreux insectes. Dans ce contexte nous avons isolé 12 souches bactériennes à partir des larves de vers blancs *Rhizotrogus majalis* les résultats obtenus représentant 6 genres: *Aeromonas*, *Bacillus*, *Chryseomonas*, *Serratia*, *Stenotrophomonas* et *Vibrio*. Le genre majoritaire est *Stenotrophomonas* avec une fréquence de 25%. En effet, les résultats obtenus, nous ont permis de confirmer et de préciser l'importance du potentiel toxémique de quatre souches *Stenotrophomonas maltophilia*, *Bacillus cereus*, *Serratia odorifera* et *Chryseomonas luteola* contre les larves des vers blancs *Rhizotrogus majalis*, les bactéries test et les champignons du genre *Fusarium*.

**Mots-clefs :** les vers blancs, *Rhizotrogus majalis*, les bactéries entomopathogènes, *Fusarium*

### Laboratoires de recherche :

Laboratoire de Microbiologie (Université Frères Mentouri, Constantine 1).

**Encadreur :** Mme ABDELAZIZ Ouidad. (Maître de Conférence B - UFM, Constantine 1).

**Examineur 1 :** Mme BENKAHOUL Malika. (Maître de Conférence A - UFM, Constantine 1).

**Examineur 2 :** Mme BOUCHELOUKH Warda. (Maître de Conférence B - UFM, Constantine 1).