

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE BLIDA I
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Biotechnologies**

Mémoire de fin d'étude en vue d'obtention du diplôme de Mastère académique en

Sciences de la Nature et de la Vie

Option : Phytoprotèction durable

Thème

**Comparaison de l'activité biologique de souches
bactériennes sur la pyrale de la datte**

Présenté par :

Melle Khendoudi Zineb

Devant le Jury composé de :

Baba Aissa K.	Maitre Assistante A	U. Blida I	Présidente
Moumen S.	Maitre de conférences B	U. Blida I	Examinatrice
Allal L.	Professeur	U. Blida I	Promotrice
Oulebsir-Mohand Kaci H.	Maitre de conférences A	U .Boumerdes .	Co-promotrice

Promotion: 2015/2016

Remerciement

Comme le dit si bien Euripide, «Aucun de nous ne sait ce que nous savons tous, ensemble ». Un travail de thèse, c'est avant tout un travail d'équipe, j'ai donc pas mal de personnes à remercier !

A l'issue de ce modeste travail, je tiens à remercier tout d'abord mon bon DIEU tout puissant, de m'avoir procuré patience et volonté pour aboutir et pour son aide miséricordieuse durant toutes mes années d'étude.

Il m'est particulièrement agréable d'adresser mes remerciements à M^{me} Allal L. Professeur au département de Biotechnologie de l'université de Blida 1, ma promotrice, pour m'avoir guidé et conseillé, pour toute son aide, sa patience, son soutien et ses précieux conseils qui m'ont été tout le temps fructueux et qui m'ont permis de réaliser ce travail.

Egalement, j'adresse mes vifs remerciements à M^{me} Oulebsir-Mohand Kaci H. Maître de Conférences A. à l'université de M'hamed Bougara de Boumerdes (UMBB), ma co-promotrice, qui a guidé et surveillé le déroulement et l'exécution du travail de ce mémoire en me prodiguant tout aide possible, et en consacrant beaucoup de son temps précieux, et qui m'a accueilli au niveau du laboratoire de Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques (VALCORE) de l'Université M'hamed Bougara de Boumerdes.

Mes vifs remerciements vont à M^{me} Baba Aïssa K. Maître Assistante A. à l'université de Blida I, de m'avoir honoré en acceptant de présider mon jury.

Je remercie très sincèrement M^{me} Moumen S. Maître de conférences B. à l'université de Blida I, pour m'avoir fait le grand honneur de juger ce travail.

Merci aussi à Mr Djazouli Z. Professeur à l'université de Blida 1, en particulier pour son aide et pour son accueil chaleureux au niveau du laboratoire de Phytopharmacie

Appliqué et de mettre à ma disposition le matériel nécessaire à la réalisation de ce travail.

*J'adresse mes remerciements les plus sincères à **M^{me} Outtar F.** Maître de conférences B. à l'université de Blida I, pour son aide sa disponibilité et ces conseils.*

*Mes sincères remerciements à **Mr Hadjeb A.** Docteur à l'université de Mohamed Kheider Biskra, pour son aide, pour les conseils pratiques et les nombreuses discussions et pour son accueil plus que chaleureux et son guidage à Biskra, merci de m'avoir fait découvrir l'université et la SRPV de Biskra. Je salue ici son grande disponibilité et expérience grâce auxquelles j'ai pu mener mon travail jusqu'au bout.*

*Je remercie profondément **Mr Mohammedi A.**, Directeur de laboratoire de recherche VALCORE de l'Université M'hamed Bougara de Boumerdes de m'avoir accueillie dans son laboratoire qu'il dirige et de mettre à ma disposition tout le matériel nécessaire à la réalisation de ce travail. Qu'il trouve ici ma profonde reconnaissance.*

*De même, je remercie **M^{me} Benzina** Maître de conférences B. à l'Université M'hamed Bougara de Boumerdes (UMBB), pour ses conseils techniques et pratiques.*

*J'adresse également mes remerciements à toutes les personnes qui, de divers façons et à différents moments, m'ont apporté leur aide, surtout à : **Mr Balhamra** et **Mr Mehaoua M.S.***

*Je remercie **M^{me} Nadjia** la responsable du laboratoire de phytopharmacie ainsi que **M^{me} Djemaï .A** responsable du laboratoire de zoologie à l'université de Blida 1, et **M^{me} Hayate** responsable du laboratoire de recherche VALCORE de l'Université M'hamed Bougara de Boumerdes pour leurs aides moral et matériel ainsi que leurs encouragements.*

Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à Mr Slımane Nadji Directeur de la Station Régionale de la Protection des Végétaux (SRPV) de Biskra, à M^{me} Kardi K. Inspecteur Principale Phytosanitaire à la SRPV de Biskra, à M^{me} Elmachi H. Ingénier Principale à la SRPV de Biskra, à M^{me} Mghenzi Bekhouche N. Ingénier d'Etat en Ecologie à la SRPV de Biskra pour leur accueil chaleureux et pour m'avoir facilité l'obtention des insectes nécessaires à mes expérimentations

Je remercie également ma famille pour m'avoir enseigné le courage, l'humilité, la persévérance et la rigueur. J'adresse des remerciements particuliers à mon père pour ses conseils et sa compréhension qui m'a toujours soutenue dans mes études, à ma mère pour son soutien à tout moment et à mes sœurs et mes frères.

Je ne remercierais jamais assez mon ami Redha, merci à toi, merci pour le remontage du morale et pour ton soutien inconditionnel.

Asma, Fatima, Soumia S. et Soumia, vous avez réussi à me supporter pendant mes phases de stress intense et vous avez toujours trouvées les mots justes, Merci tout plein.

La vie d'un laboratoire ne se résume pas au travail, bien qu'on y soit pour ça, alors de toutes les espèces rencontrées je ne pourrais pas me permettre de ne pas remercier mes amies de la payace : Hamama, Sounia, Ouahiba, Fatima, Sarah et Sarah, et du laboratoire : Nedjema, Saïd, Ahmed, Redha, Billel, et Kheira, pour leur aide et l'ambiance amicale qu'ils ont su créer.

Je tiens aussi à remercier toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Zineb

DEDICACES

C'est avec un grand honneur que je dédie ce modeste travail aux deux personnes qui se sont sacrifiées pour que je grandisse avec un savoir-faire, qui m'ont appris à ne jamais baisser les bras, qui ont fait de moi ce que je suis aujourd'hui, sans lesquels je n'y serais jamais parvenue et qui je ne remerciais assez ; Mes très chères ; papa et maman.

Mes sœurs : Djamila et Hafsa pour leur courage et le soutien qu'elles m'ont apporté.

Mes frères : Abderahim et Ayoub.

À mes ami(e)s les plus proches de mon cœur: Asma, Fatima, Rédha, Sarah, Sofiane, Soumia S. et Soumia.

À tous mes collègues de ma promotion Phytoprotection durable.

Zineb

SOMMAIRE

Introduction	01
Chapitre I : Données bibliographiques	
I. Le palmier dattier.....	03
I.1. Historique.....	03
I.2.La répartition géographiques et importance économique du palmier dattier.....	03
I.2.1. Dans le monde.....	03
I.2.2. En Algérie.....	03
I.3. La position systématique.....	04
I.4. Exigences du palmier dattier.....	04
I.5. La datte.....	05
I.5.1. Les différents stades d'évolution de la datte.....	05
I.6. Classification des dattes.....	07
I.7. Le rapport "Sucres / Eau"	07
I.7.1. Les dattes molles.....	08
I.7.2. Les dattes demi molles.....	08
I.7.3.Les dattes sèches.....	08
I.8. Les principales maladies de palmiers dattiers.....	08
I.8.1.Bayoud.....	08
I.8.2.Le Khamedj (la pourriture des inflorescences).....	08
I.9.Les principaux ravageurs du palmier dattiers.....	09
I.9.1.Boufaroua.....	09
I.9.2. Apte Monachus (En arabe Soussa).....	09
I.9.3.La Cochenille Blanche.....	09
I.9.4.La Pyrale de la datte.....	09
II. La pyrale des dattes.....	10
II.1. Généralité.....	10
II.2.Position systématique.....	10
II.3.Caractéristiques morphologiques d' <i>Ectomyelois ceratoniae</i>	10
II.3.1.L'œuf.....	11
II.3.2.La larve (chenille) et les stades larvaires.....	11
II.3.3.La chrysalide (Nymphe)	13

II.3.4.L'adulte.....	14
II.4.Les plantes hôtes.....	15
II.5.Répartition géographique.....	16
II.6.Cycle biologiques.....	16
II.6.1.L'accouplement.....	16
II.6.2.La ponte.....	17
II.6.3.Développement larvaire et nymphal.....	18
II.6.4.Emergence des imagos.....	19
II.6.5.Le diapause (quiescence).....	19
II.6.6.Nombre de générations.....	19
II.7. Symptômes d'attaque d' <i>Ectomyelois ceratoniae</i>	20
II.8.Importance économique des dégâts.....	20
II.9.Moyens de lutte.....	21
II.9.1. La lutte prophylactique.....	21
II.9.2. La lutte chimique.....	21
II.9.3. La lutte par l'utilisation de phéromones sexuelles.....	22
II.9.4.Technique des insectes stériles.....	22
II.9.5. Lutte biologique.....	22
III. Les bactéries entomopathogènes.....	24
III.1.Généralités.....	24
III.2.Présentation du genre <i>Bacillus</i>	24
III.2.1.Description.....	24
III.2.2.Position systématique.....	
III.2.3.Habitat.....	25
III.2.4.Modalité d'action du genre <i>Bacillus</i>	25
III.2.5.Molécules produites par le genre <i>Bacillus</i>	25
III.3. <i>Bacillus subtilis</i>	27
III.3.1.Description.....	27
III.3.2. Le génome de <i>Bacillus subtilis</i>	27
III.3.3. Mode d'action de <i>Bacillus subtilis</i>	28

III.3.4.L'interet du <i>Bacillus subtilis</i>	28
---	----

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.1. Matériel de l'étude.....	30
II. 1. 1. Matériel biologique.....	30
II. 1. 2. Milieux de culture et de conservation.....	30
II. 1. 3. Milieu d'élevage de la pyrale de la datte.....	31
II. 2. Méthodologies de l'étude.....	31
II. 2. 1. Elevage de la pyrale des dattes <i>Ectomyelois ceratoniae</i>	31
II.2.2. Isolement et purification de l'isolat locale A3 de <i>B. subtilis</i>	33
II.2.2.1. Echantillonnage du sol.....	33
II.2.2.2.Préparation des suspensions mères.....	34
II.2.2.3.Préparation des dilutions et technique d'ensemencement.....	34
II.2.3. Purification de l'isolat bactérien lyophilisé (B.S.ET).....	35
II.2.4.Conservation des isolats bactériens.....	35
II.3. Identification préliminaire des isolats bactériens.....	36
II.3.1.Critères d'identification du genre <i>Bacillus</i>	36
II.3.2. Caractérisation morphologique et microscopique.....	36
II.3.3. Caractérisations biochimiques.....	37
II.3.3.2.Utilisation de la Galerie Api 20 ^E	37
II.4.Bioessais sur les chenilles de la pyrale des dattes.....	39
II.4.1. Préparation des suspensions bactériennes.....	39
II.4.2. Détermination des concentrations bactériennes.....	39
II.4.3. Mode d'application des traitements biologiques.....	40
II.4.3.1. Traitement par ingestion.....	40
II.4.3.2. Traitement par injection.....	41
II.5.Les paramètres étudiés.....	42
II.5.1. Calcul du pourcentage de mortalité.....	42
II.5.2. Calcul des TL50.....	42
II.5.3. Calcul des CL50.....	43
II.6.Effet des bactéries sur la composition hémolympatique.....	44
II.6.1.Prélèvement de l'hémolymphe.....	44
II.6.2.Dosage quantitatif des protéines.....	44
II.6.2.1.Principe de la méthode de Bradford.....	44

II.6.2.2. Technique de dosage.....	45
II.6.3. Dosage des glucides.....	46
II.6.3.1. Principe.....	46
II.6.3.2. Technique de dosage.....	46
II.7. Analyse statistique.....	47
Chapitre III : Résultats	
III. Identification taxonomique des isolats bactériens.....	48
III .1. Tests culturaux et macroscopique.....	48
III .1.1. Examen macroscopique sur milieu solide.....	48
III.1.2. Examen macroscopique sur milieu liquide.....	48
III.2. Tests microscopique des isolats.....	48
III. 3. Les tests biochimiques.....	49
III.4. Identification taxonomique préliminaire des isolats bactériens.....	50
III.5. Evaluation des effets des traitements bactériologiques.....	50
III.5.1 Symptômes.....	50
III.5.2. Evaluation de l'effet létal des isolats bactériens étudiés.....	51
III.5.2.1. Effet des deux isolats bactériens sur la mortalité chez les larves âgées groupées	51
III.5.2.2. Effet des deux isolats bactériens sur la mortalité des larves mâles et femelles.....	53
III.5.2.2.1. Effet chez les chenilles mâles.....	53
III.5.2.2.2. Effet chez les chenilles femelles.....	54
III.5.2.2.3. Analyse comparée de la mortalité des larves mâles et femelles sous l'effet des isolats bactériens utilisées.....	54
III.5.2.3. Effet des deux isolats bactériens sur la mortalité des larves âgées (L4 et L5) séparées.....	55
III.5.2.3.1. Analyse comparée de la mortalité des larves âgées (L4 et L5) séparées sous l'effet des isolats bactériens utilisés	56
III.5.3. TL50.....	56
III.5.3.1. Calcul des TL50 chez les larves âgées groupées.....	57
III.5.3.2. Calcul des TL50 chez les larves mâles et femelles.....	57
III.5.3.3. Calcul des TL50 chez les larves âgées (L4 et L5) séparée.....	58
III.5.4. DL50.....	59

III.5.4.1. Calcul des DL50 chez les larves âgées groupées.....	59
III.5.4.2. Calcul des DL50 chez les larves mâles et femelles.....	60
III.5.3.3. Calcul des DL50 chez les larves âgées séparées (L4 et L5).....	61
III.5.5. Evaluation de l'effet des isolats bactériens étudiés sur la consommation des chenilles de la pyrale.....	61
III.5.5.1. Effet subléta1 des deux isolats bactériens sur la quantité d'aliment ingérée chez les larves âgées groupées.....	61
III.5.5.2. Effet des deux isolats bactériens sur la quantité d'aliment ingérée chez les larves mâles et femelles.....	64
III.5.5.2.1. Effet chez les chenilles mâles.....	64
III.5.5.2.2. Effet chez les chenilles femelles.....	64
III.5.5.2.3. Analyse comparée de la quantité d'aliment ingérée par les larves mâles et femelles sous l'effet des isolats bactériens utilisés	65
III.5.5.3. Analyse comparée de la quantité d'aliment ingérée par les larves âgées (L4 et L5) séparées sous l'effet des isolats bactériens utilisés.....	66
III.5.6.Evaluation de l'effet subléta1 des isolats bactériens étudiés sur le poids des larves L4 et L5 des chenilles de la pyrale.....	67
III.5.6.1. Effet sur le poids des larves L4.....	68
III.5.6.2. Effet sur le poids des larves L4.....	68
III.5.6.3. Analyse comparée du poids des chenilles de la pyrale sous l'effet des isolats bactériens utilisés	68
III.5.7. Evaluation de l'effet subléta1 des isolats bactériens étudiés sur le développement des chenilles de la pyrale.....	69
III.5.7.1.Sur le taux du passage du stade L5 au stade chrysalide : Effet sur la nymphose.....	69
III.5.7.1.1. Effet sur les larves âgées groupées.....	69
III.5.7.1.2. Effet sur les chenilles mâles et femelles.....	71
III.5.7.2.Sur le taux d'émergence des papillons.....	73
III.5.7.2.1. Larves âgées groupées.....	73
III.5.7.2.2. Effet des deux isolats bactériens sur le taux d'émergence des larves mâles et femelles.....	74

III.5.8. Effet des isolats bactériens étudiés sur la composition hémolymphatiques des larves d' <i>E.ceratoniae</i>	75
III.5.8.1. Effet des bactéries sur les protéines hémolymphatiques.....	75
III.5.8.2. Effet des bactéries sur les glucides hémolymphatiques.....	77

Chapitre IV : Discussions

IV.1.Purification et identification taxonomique des isolats bactériens.....	80
IV.2.Symptômes engendrés par l'effet des deux isolats bactériens sur les larves d' <i>E.ceratoniae</i>	82
IV.2.3.Effets l'étal des deux isolats.....	82
IV.2.3.1.TL50.....	84
IV.2.3.2. DL50.....	86
IV.2.4. Effet subléthal des deux isolats.....	86
IV.2.4.1. Sur la consommation.....	86
IV.2.4.2. Sur le poids des larves.....	87
IV.2.4.3. Sur le passage du stade L5 au stade chrysalide et sur l'émergence.....	89
IV.2.4.4. Sur les métabolites hémolymphatiques.....	90
Conclusion	92
Références bibliographiques	94

Annexe

Comparaison de l'activité biologique de souches bactériennes sur la pyrale de la datte

Résumé

Le présent travail est basé sur la caractérisation de deux isolats de la bactérie *B. subtilis* : l'un (A3) provenant de la région de Boumerdes, l'autre (B.S.ET) provenant de la faculté des sciences agronomiques de Gembloux (Belgique), avec une étude préalable de leur effet létal et sublétal, vis à vis des larves d'*Ectomyelois ceratoniae* issus d'un élevage mené dans des conditions contrôlées.

Nous avons testé l'effet létal des deux isolats bactérien sur les chenilles âgées par le calcul du TL50 et de la DL50 et les effets sublétaux sur la consommation, le poids, le développement, l'émergence ainsi que sur les glucides et les protéines hémolymphatiques.

A la lumière de notre étude, on constate qu'il n'ya pas de différence entre les deux isolats bactériens identifiée probablement de *Bacillus subtilis*. Ces dernières ont provoqué des symptômes très remarquables avec des taux de mortalité qui varient entre 22,22 à 100% avec l'isolat bactérien A3 et entre 14,28 et 100% avec l'isolat bactérien B.S.ET en fonction de la concentration bactérienne testée. L'effet des isolats testés sur les métabolites hémolymphatiques d'*Ectomyelois ceratoniae* révèle une augmentation du taux de protéines aux fortes doses 0,016, 0,028 et 0,056 mg/ml , et 0,033 - 0,047 et 0,066 mg/ml respectivement, 4h, 6h et 12h après application des solutions bactériennes. Par ailleurs, les deux isolats ont induit une diminution du taux de glucides avec les fortes doses respectives 0,169 - 0,339 et 0,379 mg/ml, 0,290 - 0,267 et 0,185 mg/ml après 4h, 6h et 12h).

Mots clé : *Bacillus subtilis*, dattes, *Ectomyelois ceratoniae*, effet létal et sublétal, métabolite hémolymphatique.

Comparison of the biological activity of bacterial strains of the moth date

Abstrat

This work is based on the characterization of two isolate strains of *B.subtilis*: One (A3) of him it's from the region of Boumerdes, the auther (B.S.ET) from the Faculty of Agricultural Sciences of Gembloux (Belgium), with a preliminary study of its lethal effect and sublethal effects, against the larvae of *Ectomyelois ceratoniae* obtained from a breeding conducted in the laboratory under controlled conditions.

We tested on one hand the lethal effect of the two bacterial isolate on older caterpillars by calculating the TL50 and the LD50 and on the other hand, sublethal effects on consumption, weight, development, the emergence of the adults , and carbohydrates and proteins contents in the hemolymph of treted larvae in comparison with the control.

No difference was found between both identified probably and tested isolate of *Bacillus subtilis*. Charactristic symptoms were observed after treatments: the effect of the bacteria resulted in a darkening of the cuticle and deformities as well as changes in the behavior.

Globally, mortality rates varied between 22,22 and 100% with A3 and between 14,28 and 100% with the bacterial isolate B.S.ET , the LT50 and the LD50, amounts of the consumed food, weight, development of the aged larvae and emrgence rate vary depending on Bs strains concentration tested, sex of the individuals, the instar and time. Effect of the hemolymphatic metabolites of *Ectomyelois ceratoniae* treated larvae reveals an increase in protein levels with fhigh dose 0,016, 0,028 and 0,056 mg/ml , and 0,033 - 0,047 and 0,066 mg/ml respectively, 4h, 6h et 12h after application of bacterial solutions. Moreover, both isolate induced decrease in carbohydrates with strong respective doses 0,169 - 0,339 and 0,379 mg/ml, 0,290 - 0,267 and 0,185 mg/ml after 4h, 6h et 12h).

Key words: *Bacillus subtilis*, date, *Ectomyelois ceratoniae*, hemolymphatic metabolites, letal and subletal effect.

مقارنة النشاط البيولوجي لسلاسل بكتيرية على سوسة التمر

ملخص

يستند هذا العمل على تحديد وتوصيف عزلتين بكتيريتين *B.subtilis*: واحدة (A3) من منطقة بومرداس و الثانية (B.S.ET) من كلية العلوم الزراعية لمنطقة Gembloux (بلجيكا) ، مع دراسة مسبقة لتأثيرهما المميت و الأثار المميته على يرقات سوسة التمر *Ectomyelois ceratoniae* المربيات في ظروف خاضعة للرقابة.

إختبارنا التأثير المميت لعزلتي البكتيريا على اليرقات مع حساب TL50 و DL50 و الأثار المميته على الإستهلاك الغذائي ، الوزن ، التطور ، ظهور الفراشات وعلى البروتينات و الكربوهيدرات *hémolympatic* .

في ضوء دراستنا، نرى أنه ليس هناك فرق ما بين السلالتين التي سبق تشخيصهما حتما *Bacillus subtilis*، وقد أسفرتا عن أعراض جد ملحوظة مع معدلات وفيات ما بين 22,22 و 100% لدى العزلة A₃ و ما بين 14,28 و 100% لدى العزلة B.S.ET تبعا لتركيز البكتيريا المختبرة.

تأثير عزلتي البكتيريا المختبرتين على الأيض *hémolympatic* على حشرات *Ectomyelois ceratoniae* كشف عن زيادة في معدل البروتينات للجرعات المرتفعة 0,016 ، 0,028 و 0,056 مغ / مل و 0,033 - 0,047 و 0,066 مغ / مل على الترتيب 4 سا ، 6 سا و 12 سا بعد استعمال المحلول البكتيري. من جهة أخرى عزلتي البكتيريا ادتى الى انخفاض معدل الكربوهيدرات بالجرعات المرتفعة D1 بالترتيب 0,169 - 0,339 و 0,379 مغ / مل 0,290 - 0,267 و 0,185 مغ / مل بعد 4 سا ، 6 سا و 12 سا.

الكلمات المفتاحية: *Bacillus subtilis* - التمر - *Ectomyelois ceratoniae* - التأثير المميت و الأثار المميته - الأيض *hémolympatic* .

Liste des abréviations

A.R.L.A. :	Agence de la Réglementation de la Lutte Antiparasitaire.
B :	<i>Bacillus</i> .
BBC :	Bleu brillant de Coomassié.
BSA :	Sérum Albumine Bovine.
BTK :	<i>Bacillus thuringiensis kurstaki</i> .
CL 50 :	Concentration létale pour 50% des individus.
Cal :	Calorie.
D :	Dose de l'isolat A3.
D' :	Dose de l'isolat B.S.ET.
DDT :	Dichlorodiphényltrichloroét
<i>E. ceratoniae</i> :	<i>Ectomyelois, ceratoniae</i> .
GN :	Gélose nutritive.
L1:	Larve de premier stade.
L2:	Larve de deuxième stade.
L3 :	Larve de troisième stade.
L4 :	Larve de quatrième stade.
L5 :	Larve de cinquième stade.
MC :	Mortalité corrigée.
Qx :	Quintaux.
SRPV :	Station Régionale de la Protection des Végétaux de Biskra.
TL 50 :	Temps létal pour 50% des individus.
UFC:	Unit Form Colony.
UMBB :	Université M'hamed Bougara de Boumerdes.
VF :	Viande - foie.

Liste des figures

Figure 1.1. Le stade basses.....	05
Figure 1.2. Le stade Bser.....	06
Figure 1.3. Le stade Martouba variété Deglet Nour	06
Figure 1.4. Variété Deglet Nour au stade Tmar	07
Figure 1.5. Variété Ghars mure.....	07
Figure 1.6. Différents aspects œufs d' <i>Ectomyelois ceratoniae</i> (A: en amas, B : en chainette.....	11
Figure 1.8. Morphologie de la larve du 5 ^e stade d' <i>E. ceratoniae</i>	12
Figure 1.9. Nymphe d' <i>Ectomyelois ceratoniae</i>	13
Figure 1.10. L'adulte d' <i>Ectomyelois ceratoniae</i>	14
Figure 1.11. Accouplement d' <i>Ectomyelois ceratoniae</i>	17
Figure 1.12. Ponte d' <i>Ectomyelois ceratoniae</i>	17
Figure 1.13. Cycle biologique d' <i>Ectomyelois ceratoniae</i>	18
Figure 1.14. Infestation d' <i>Ectomyelois ceratoniae</i> au niveau des dattes.....	20
Figure 1.15. Aspects de <i>B. subtilis</i> observé en microscope électronique à balayage.....	27
Figure 2.1. Les étapes de préparation du milieu artificiel d'élevage de la pyrale de la dette.....	31
Figure 2.2. Elevage en masse d' <i>E. ceratoniae</i> sur un milieu artificiel dans des conditions contrôlées.....	32
Figure 2.3. Situation géographique du site de prélèvement du sol.....	34
Figure 2.4. Préparation de la suspension bactérienne.	35
Figure 2.5. Préparation des suspensions bactériennes et des dilutions décimale.....	39
Figure 2.6. Les étapes de l'application du traitement biologique par ingestion.....	41
Figure 2.7. Traitement biologique par injection.....	41
Figure 2.8. Prélèvement de l'hémolymphe.	44
Figure 3.1. Symptômes observés chez les larves mortes d' <i>Ectomyelois ceratoniae</i> (A : larve saine, B : larves traitées).	51
Figure 3.2. Symptômes observés chez les papillons d' <i>Ectomyelois ceratoniae</i> émergés (A : papillon sain, B : papillon traitée).	51
Figure 3.3. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> étudiées sur la mortalité des larves âgées groupées de la pyrale.	53

Figure 3.4. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> étudiées sur la mortalité des larves mâles et femelles de la pyrale.....	55
Figure 3.5. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> étudiées sur la mortalité des larves âgées séparées de la pyrale.....	56
Figure 3.6. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> étudiées sur les larves âgées groupées de la pyrale.....	64
Figure 3.7. Variation des quantités de nourriture ingérée par les chenilles mâles et femelles sous l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> étudiés.....	66
Figure 3.8. Variation comparée de l'effet des isolats de Bs étudiés sur la quantité de nourriture ingérée par les chenilles de quatrième et de cinquième stade.....	67
Figure 3.9. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> étudiés sur le poids des larves L4 et L5 des chenilles de la pyrale.....	69
Figure 3.10. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> étudiés sur le taux de passage du stade L5 au stade chrysalide chez les larves âgées groupées de la pyrale.....	71
Figure 3.11. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> étudiés sur le taux de nymphose des larves mâles et femelles de la pyrale.....	72
Figure 3.12. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> étudiés sur le taux d'émergence des larves âgées groupées de la pyrale.....	74
Figure 3.13. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> étudiées sur le taux d'émergence des larves mâles et femelles de la pyrale.....	75
Figure 3.14 Résultats comparatifs de l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> étudiés sur les protéines hémolymphatiques.....	77
Figure 3.15. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> étudiés sur les glucides hémolymphatiques.....	79

Liste des figures des annexes

Figure.1. Dégâts d' <i>Ectomyelois ceratoniae</i> sur les dattes.....	annexe .1.a.
Figure 2. Les parasitoïdes d' <i>Ectomyelois ceratoniae</i>	annexe .1.b.
Figure 1. Courbe d'étalonnage exprimant les absorbances à 595 nm en fonction des concentrations de BSA en mg/ml.....	annexe n°3.b.
Figure 2. Courbe d'étalonnage exprimant les absorbances à 600 nm en fonction des concentrations de glucose en mg/ml.....	annexe n°3.b.
Figure 1. Photographies des colonies obtenues chez les isolats âgés de 24h (A3 à gauche B.S.ET à droite).....	annexe.4
Figure 2. Résultats positif du test d'oxydase de l'isolat A3 (à gauche) et B.S.ET (à droite).....	annexe.4
Figure 3. Résultats de l'hydrolyse de l'amidon de l'isolat A3 (à gauche) et B.S.ET (à droite).	annexe.4
Figure 4. Résultats de l'hydrolyse de la caséine de lait de l'isolat A3 (à gauche) et B.S.ET (à droite)	annexe.4
Figure 1. Variation temporelle de la mortalité des chenilles de la pyrale sous l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> testés.....	annexe.5
Figure 2. Variation temporelle de la mortalité des chenilles âgées mâles de la pyrale sous l'effet des isolats de Bs étudiés.....	annexe.5
Figure 3. Variation temporelle de la mortalité des chenilles de la pyrale femelles sous l'effet des isolats de Bs étudiés.....	annexe.5
Figure 4. La mortalité des larves L4 sous l'effet de l'isolat bactérien A3 aux dilutions D1 et D2 ($2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$ UFC/ml)	annexe.5
Figure 5. La mortalité des larves L5 sous l'effet de l'isolat bactérien A3 aux dilutions D1 et D2 ($2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$ UFC/ml)	annexe.5
Figure 6. La mortalité des larves L4 sous l'effet de l'isolat bactérien B.S.ET aux dilutions D1' et D2' (3 et $2,051 \times 10^8$ UFC/ml)	annexe.5
Figure 7. La mortalité des larves L5 sous l'effet de l'isolat bactérien B.S.ET aux dilutions D1' et D2' (3 et $2,051 \times 10^8$ UFC/ml)	annexe.5
Figure 1. Droites de régression exprimant des taux de mortalités des larves âgées groupées traitées par les isolats bactériens A3 et B.S.ET.....	annexe.6
Figure 2. Droites de régression exprimant des taux de mortalités des larves mâles traitées par l'isolat bactérien A3 et B.S.ET.....	annexe.6

Figure 3. Droites de régression exprimant des taux de mortalités des larves femelles traitées par l'isolat bactérien A3 et B.S.ET.....	annexe.6
Figure 4. Droites de régression exprimant des taux de mortalités des larves âgées séparées (L4 et L5) traitées par l'isolat bactérien A3 et B.S.ET.....	annexe.6
Figure 1. Droites de régression exprimant des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux des larves âgées groupées traitées par les isolats bactériens A3 et B.S.ET.....	annexe.7
Figure 2. Droites de régression exprimant des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux des larves mâles et femelles traitées par l'isolat bactérien A3 et B.S.ET.....	annexe.7
Figure 3. Droites de régression exprimant des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux des larves âgées séparées (L4 et L5) traitées par l'isolat bactérien A3 et B.S.ET.....	annexe.7
Figure 1. Variation temporelle de la quantité d'aliment ingérée par les chenilles âgées de la pyrale sous l'effet des isolats de <i>B. subtilis</i> testés.....	annexe.8
Figure 2. Variation temporelle de la quantité d'aliment ingéré par les chenilles mâles de la pyrale sous l'effet des isolats de Bs étudiés.....	annexe.8
Figure 3. Variation temporelle de la quantité d'aliment ingéré par les chenilles de la pyrale femelles sous l'effet des isolats de Bs étudiés.....	annexe.8
Figure 4. Quantité d'aliment ingérée par les larves L4 et L5 sous l'effet de la souche bactérienne A3 aux dilutions D1 et D2 ($2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$ UFC/ml), et sous l'effet de l'isolat bactérien B.S.ET aux dilutions D1' et D2' (3×10^8 et $2,051 \times 10^8$ UFC/ml)	annexe.8
Figure 1. Variation temporelle du développement du poids des larves L4 des chenilles de la pyrale sous l'effet de l'isolat bactérien A3 aux dilutions D1 et D2 ($2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$ UFC/ml)	annexe .9
Figure 2. Variation temporelle du développement du poids des larves L4 des chenilles de la pyrale sous l'effet de l'isolat bactérien B.S.ET aux dilutions D'1 et D'2 (3×10^8 et $2,051 \times 10^8$ UFC/ml)	annexe .9
Figure 3. Variation temporelle du développement du poids des larves L5 des chenilles de la pyrale sous l'effet de l'isolat bactérien A3 aux dilutions D1 et D2 ($2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$ UFC/ml)	annexe .9

Figure 4. Variation temporelle du développement du poids des larves L5 des chenilles de la pyrale sous l'effet de l'isolat bactérien B.S.ET aux dilutions D'1 et D'2 (3×10^8 et $2,051 \times 10^8$ UFC/ml)	annexe .9
Figure 1. Variation temporelle du taux de passage du stade L5 au stade chrysalide des larves âgées groupées	annexe .10
Figure 2. Variation temporelle du taux de la nymphose chez les chenilles mâles et femelles.....	annexe .10
Figure 3. Variation temporelle du taux d'émergence des chenilles âgées groupées de la pyrale sous l'effet des isolats de Bs.....	annexe .10
Figure 4. Variation temporelle du taux d'émergence des chenilles mâles.....	annexe .10
Figure 5. Variation temporelle du taux d'émergence des chenilles femelles sous l'effet des isolats A3.....	annexe .10
Figure 1. Variation temporelle des protéines hémolympatiques chez les larves de la pyrale sous l'effet des deux isolats bactériens «A3» et «B.S.ET»	annexe .11
Figure 2. Variation temporelle des glucides hémolympatiques chez les larves de la pyrale sous l'effet des deux isolats bactériens «A3» et «B.S.ET»	annexe .11

Liste des annexes

- Annexe n°1 Dégâts et parasitoïdes de la pyrale**
Annexe 1.a.Dégâts de la pyrale
Annexe 1.b. Parasitoïdes de la pyrale
- Annexe n°02 Milieux de cultures et matériel utilisés au laboratoire**
Annexe 2.a. Milieux de cultures préparés
Annexe 2.b. Matériel et produits utilisés au laboratoire
- Annexe n°3 Identification préliminaire des isolats bactériens et courbes d'étalonnages**
Annexe n°3.a. Identification préliminaire des isolats bactériens
 II.3.2. Caractérisation morphologique et microscopique
 II.3.3. Caractérisations biochimiques.
 II.3.3.2.Utilisation de la Galerie Api 20^E
Annexe n°3.b. Les courbes d'étalonnages
- Annexe n°4 Résultats de quelques tests microbiologiques**
- Annexe n°5 Evaluation de l'effet léthal des souches bactériennes étudiées**
- Annexe n° 6 Les droites de régression des taux de mortalités**
- Annexe n° 7 Les droites de régression des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux**
- Annexe n°8 Evaluation de l'effet sublétal des isolats bactériens étudiés sur la consommation des chenilles de la pyrale**
- Annexe n°9 Evaluation de l'effet sublétal des isolats bactériens étudiés sur le poids des larves L4 et L5 des chenilles de la pyrale**
- Annexe n°10 Effet des isolats bactériens étudiés sur le développement des chenilles de la pyrale**
- Annexe n°11 Effet des bactéries sur la composition hémolympatiques des larves d'*E.ceratoniae***

Liste des tableaux

Tableau 1.1. Caractéristiques des stades larvaires de la pyrale.....	13
Tableau 1.2. Lutte biologique par les entomophages parasites.....	23
Tableau 2.1. Caractérisation de certaines bactéries du genre <i>Bacillus</i>	36
Tableau 2.2. Lecture de la galerie API 20 ^E (Guiraud, 2003)	38
Tableau 2.3. Concentrations obtenues des deux souches bactériennes étudiées.....	40
Tableau 2.4. La gamme d'étalonnage de BSA pour le dosage de protéines.....	45
Tableau 2.5. La gamme d'étalonnage de glucose pour le dosage des glucides.....	46
Tableau 3.1. Caractéristiques culturales des isolats sur milieu solide (GN).....	48
Tableau 3.2. Caractéristiques culturales sur milieu liquides.....	48
Tableau 3.3. Caractérisation physiologique et biochimique des isolats utilisés.....	49
Tableau 3.4. La classification des isolats bactériens.....	50
Tableau 3.5. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens (D1, D2, D3, D4, D5 et D'1, D'2, D'3, D'4, D'5) sur la mortalité des larves âgées groupées.....	52
Tableau 3.6. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens sur la mortalité des larves mâles et femelles.....	54
Tableau 3.7. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens sur la mortalité des larves âgées séparées.....	56
Tableau 3.8. Valeurs des TL50 des larves âgées groupées d' <i>E.ceratoniae</i> traitées par les isolats bactériens étudiés.....	57
Tableau 3.9. Valeurs des TL50 des larves mâles et femelles d' <i>E.ceratoniae</i> traitées par les isolats étudiés.....	58

Tableau 3.10. Valeurs des TL50 des larves âgées séparées (L4) et (L5) d' <i>E.ceratoniae</i> traitées par les isolats bactériens étudiés.	59
Tableau 3.11. Equations de droites de régression, coefficients de corrélation et les valeurs des DL50 des larves âgées groupées d' <i>E.ceratoniae</i> traitées par les isolats bactériens A3 et B.S.ET.....	60
Tableau 3.12. Equations de droites de régression, coefficients de corrélation et les valeurs des DL50 des larves mâles et femelles d' <i>E.ceratoniae</i> traitées par les isolats bactériens A3 et B.S.ET.....	60
Tableau 3.13. Equations de droites de régression, coefficients de corrélation et les valeurs des TL50 des larves âgées séparées (L4) et (L5) d' <i>E.ceratoniae</i> traitées par les isolats bactériens A3 et B.S.ET.....	61
Tableau 3.14. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens sur la consommation des larves âgées groupées.....	63
Tableau 3.15. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens sur la consommation des larves mâles et femelles de la pyrale.....	65
Tableau 3.16. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens sur la consommation des larves âgées séparées.....	67
Tableau 3.17. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens (D1, D2 et D'1, D'2) sur le poids des L4 et L5 de la pyrale.....	69
Tableau 3.18. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens sur la nymphose.....	70
Tableau 3.19. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens étudiés sur la nymphose des chenilles mâles et femelles.....	72

Tableau 3.20. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens (D1, D2, D3, D4, D5 et D'1, D'2, D'3, D'4, D'5) sur le taux d'émergence chez les larves âgées groupées.....	73
Tableau 3.21. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens (D1, D2, D3 et D'1, D'2, D'3) sur le taux d'émergence des larves mâles et femelles.....	75
Tableau 3.22. Les concentrations (C) en protéines hémolympatiques chez les larves traitées par <i>B.subtilis</i> (A3) et <i>B.subtilis</i> (B.S.ET).....	76
Tableau 3.23. Analyse de la variance relative à l'effet de <i>B.subtilis</i> (A3) et (B.S.ET) sur les concentrations (C) en protéines hémolympatiques sur les larves d' <i>E.ceratoniae</i>	77
Tableau 3.24 .Les concentrations (C) en glucides hémolympatiques chez les larves traitées par <i>B.subtilis</i> (A3) et <i>B.subtilis</i> (B.S.ET).....	78
Tableau 3.25. Analyse de la variance relative à l'effet de <i>B.subtilis</i> (A3) et (B.S.ET) sur les concentrations (C) en glucides hémolympatiques sur les larves d' <i>E.ceratoniae</i>	79
Tableau 4.1. Principaux résultats du GLM de l'effet létal des isolats étudiés.....	83
Tableau 4.2. Synthèse des TL50 obtenus après les différents traitements bactériens.....	85
Tableau 4.3. Synthèse des DL50 (CFU/ml) obtenus après les différents traitements bactériens.....	86
Tableau 4.4. Principaux résultats du GLM de la quantité d'aliment ingérée par les larves d' <i>E.ceratoniae</i>	87
Tableau 4.5. Principaux résultats du GLM de l'effet des isolats étudiés sur le poids des larves des larves d' <i>E. ceratoniae</i>	88
Tableau 4.6. Principaux résultats du GLM du passage du stade L5 au stade chrysalide et de l'émergence des larves d' <i>E.ceratoniae</i>	89

Liste des tableaux des annexes

Tableau 1. Milieux de cultures préparés.....	annexe 02
Tableau 2. Matériel et produits utilisés au laboratoire.....	annexe 02
Tableau 1. Lecture de test Mannitol-mobilité.....	annexe 03
Tableau 2. Lecture et interprétation du test d'amidon.....	annexe 03

Introduction

Le palmier dattier (*Phoenix Dactylifera* L) est une composante essentielle de l'écosystème oasien, grâce à sa remarquable adaptation aux conditions climatiques, la haute valeur nutritive de ses fruits, la multiple utilisation de ses produits et sa morphologie favorisant d'autres cultures sous-jacentes (El homaizi, 2002). En effet, il joue un rôle d'écran en protégeant les oasis contre les influences désertiques (Amorsi, 1975 et Belguedj, 2002).

Grâce à la commercialisation aux échelles nationale et internationale de son fruit, le palmier dattier procure un revenu régulier pour les phoeniculteurs. Aussi, la commercialisation des dattes entre le Sud et le Nord du pays contribue à la création d'emplois et à la stabilisation des populations dans les zones à écologie fragile. Au plan mondial, l'Algérie se classe à la cinquième position en terme de production des dattes considérée comme seconde source de devises après les hydrocarbures (Midoun, 2011). En 2012-2013, la production algérienne des dattes a connu une hausse avec plus de 8,5 millions de quintaux. A cet effet, l'Algérie occupe la deuxième place dans la production mondiale (Anonyme a, 2012).

La palmeraie est essentiellement concentrée dans le Sud-Est du pays, son importance décroît en allant vers l'ouest et le sud (Belhabib, 1995 et Messar, 1996). La wilaya de Biskra est considérée comme la première région dattière du pays. Elle représente actuellement 27% du patrimoine national, avec une production annuelle de 90000 tonnes (Matallah, 2004 et D.S.A, 2015).

Les dattes sont considérées par beaucoup de consommateurs comme un fruit de dessert, et constituent la base de l'alimentation des habitants des régions arides de par sa richesse en calories, soit 3000 cal / kg des dattes (Djebri, 1996 ; Mansouri et al, 2004).

Malheureusement la palmeraie algérienne est toujours confrontée à plusieurs problèmes d'ordre cultural ou abiotique et aussi d'ordre phytosanitaire causés par de nombreuses maladies et ravageurs dont le plus important et le plus redoutable est la pyrale des dattes (*Ectomyelois ceratoniae* Zeller, 1983), (Abdelmoutaleb, 2008) causant des dégâts pouvant aller de 20 à 80% de la production dattière dans le bassin méditerranéen dans certains cas (Wertheimer, 1958 ; Lepigre, 1963 ; Munier, 1973 et Doumandji , 1981 ; Abdelmoutaleb, 2008).

Introduction

Ce déprédateur affecte à la fois la production pendante et stockée (Jarraya et Vinson, 1980 ; Dhouibi, 1989). L'importance économique d'*Ectomyelois ceratoniae* en Algérie la place en second rang après la maladie du Bayoud.

La polyphagie de cette espèce, sa large répartition dans l'espace et sur des hôtes variés rendent difficiles la mise au point d'une lutte chimique efficace. Dans ces conditions, seule la lutte biologique peut être capable de limiter les dégâts de ce ravageur, ce qui implique la connaissance parfaite de sa bioécologie, (Doumandji, 1981).

Dans la lutte microbiologique, parmi les bactéries entomopathogènes, ce sont surtout les espèces du genre *Bacillus* qui sont les plus utilisées contre les ravageurs, et qui offrent des perspectives encourageantes (Oulebsir-Mohand kaci, 2012).

Dans ce travail, il nous a paru intéressant d'étudier l'efficacité de souches bactériennes du genre *Bacillus* sur les larves *Ectomyelois ceratoniae*, pour entrevoir la possibilité de leur utilisation en tant que méthode alternative. Nous avons étudié les effets létaux et sublétaux sur les chenilles âgées de stade L4 et L5, en utilisant deux souches l'une locale « A3 » qui a été isolée à partir de la rhizosphère d'un sol cultivé au niveau de la région de Boumerdes, l'autre souche « B.S.ET » provenant de la faculté des sciences agronomiques de Gembloux (Belgique) sous forme lyophilisée.

Ce mémoire est structuré en 4 chapitres comme suit :

Le chapitre 1 concerne l'étude Bibliographique.

Le chapitre 2 traite le matériel utilisé lors de cette étude et les méthodes adéquates.

Le chapitre 3 explique les principaux résultats.

Dans le chapitre 4, nous discutons les résultats obtenues au cours de notre travail.

Enfin, nous terminons par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I : Données bibliographiques

I. Le palmier dattier

I.1. Historique

Le palmier dattier a été dénommé *Phoenix Dactylifera* par Linné en 1734. *Phoenix* dérive de nom de dattier chez les grecs de l'antiquité, qui considéraient comme l'arbre des phéniciens, et *dactylifera* vient de latin dactylus dérivant des grecs dactylos, signifiant doigt, en raison de la forme du fruit (Munier, 1973).

Il fut introduit sur les côtes orientales de l'Afrique par les Arabes, bien avant les premiers voyages des navigateurs européens de 15^{ème} siècle dans ces parages, au 17^{ème} et 18^{ème} siècle aux îles Comores et Mascareignes, ainsi qu'à Madagascar, au 19^{ème} siècle en Australie, et récemment en Afrique du sud. Son introduction au nouveau monde, au début de 16^{ème} siècle a suivi de près la découverte de ce continent (Munier, 1973).

I.2. La répartition géographique et importance économique du palmier dattier

Le dattier fait l'objet d'une exploitation intensive en Afrique méditerranéenne, au Moyen-Orient et aux USA, mais dans la plupart des pays où sa culture est très anciennement pratiquée son exploitation est souvent menée en association avec d'autres cultures (Munier, 1973).

I.2.1. Dans le monde

Le palmier dattier fait l'objet d'une plantation intensive en Afrique méditerranéenne et au Moyen-Orient. Les pays européens producteurs des dattes principalement dans le Portugal, l'Espagne, la France, l'Italie et Grèce.

En Afrique : les principales régions productrices sont : l'Algérie, la Tunisie, le Maroc, la Libye, l'Égypte, le Soudan, les îles de l'Atlantique, Madagascar...

En Amérique : dans les USA, le dattier a été introduit au 18^{ème} siècle en Floride par des missionnaires espagnoles. Mais sa culture ne débuta que vers 1900 en Californie, avec des variétés introduites de l'Algérie et de l'Iraq (Munier, 1973).

I.2.2. En Algérie

En Algérie, le palmier dattier constitue le pivot de l'écosystème oasien des régions sahariennes et présahariennes.

Le palmier dattier est cultivé au niveau de 17 wilayas seulement, pour une superficie de 120 830 hectares (Mehaoua et al, 2009).

Chapitre I : Données bibliographiques

D'après Munier(1973) les principales régions productrices des dattes en Algérie sont Bechar, Béni Ounif, la vallée de la Saoura, le Touat, Gourara, Tidikelt, El-Goléa, Mzab, Ziban, l'Oued Rhir, Ouargla, le Souf.

Selon Messar, (1996) cité par Mehaoua, (2006), signale aussi, que les palmeraies Algériennes concentrées essentiellement dans le Sud-est du pays, dans les wilayas d'El-Oued, Biskra et Ouargla où la culture du palmier dattier est la mieux maîtrisée. D'après le même auteur, on distingue une prédominance totale de la variété Deglet Nour dans la région Sud-est avec la présence marquée de la variété Ghars et Degla Beida.

Les dattes, le fruit du palmier dattier, peut être considéré comme le principal aliment de base dans les pays de l'Afrique du Nord et la base de la survie pour les habitants de le Sahara algérien, en particulier pendant la période du Ramadan, ce qui représente une importante source de nutriments et de l'énergie (Torki et Soudani, 2008).

I.3. La position systématique

D'après Munier, (1973), le palmier a été dénommé *phoenix dactylifera* par Linné en 1734 c'est un monocotylédone qui appartient à:

Classe : Monocotylédone. **Ordre** : Spadiciflore. **Famille** : Arénacées. **Sous famille** : Coryphinées. **Genre** : Phoenix. **Espèce** : *Phoenix dactylifera*. Linné, 1734.

I.4. Exigences du palmier dattier

Le palmier dattier est cultivé comme arbre fruitier dans les régions chaudes arides et semi arides. Cet arbre peut s'adapter à de nombreuses conditions grâce à sa grande variabilité (Peyron, 2000).

Le dattier est une espèce thermophile ; il exige un climat chaud, sec et ensoleillé. C'est un arbre qui s'adapte à tous les sols. Il est sensible à l'humidité pendant la période de pollinisation et au cours de la maturation (Munier, 1973).

Le palmier résiste au froid, à la sécheresse, au gel et aux sols mais il exige beaucoup de chaleur. (Guidoum, 2007).

Chapitre I : Données bibliographiques

I.5. La datte

I.5.1. Les différents stades d'évolution de la datte

La datte provient de développement d'un carpelle après la fécondation de l'ovule, la nouaison se produit et le fruit évolue en changeant de taille, de poids, de couleur et de consistance (Munier, 1973 et Djebri, 1996).

Comme n'importe quel fruit, la datte a plusieurs stades de développement après sa formation. Plusieurs auteurs ont distingué et observé durant les 200 jours après la pollinisation, cinq différents stades d'évolution de la datte, chacun d'eux porte un nom spécifique qui n'a pas d'équivalent en français (Saggou, 2001).

D'après Ouled H'mlla (1998), cité par Saggou(2001), on peut distinguer différents stades d'évolution de la datte :

a/ Loulou : Ce stade commence juste après la pollinisation, les dattes ont une croissance lente, une couleur verte jaunâtre et une forme sphérique. Il dure 4 à 5 semaines après la fécondation.

b/ Khalal : Ce stade dure 7 semaines environ et il se caractérise par une croissance rapide des dattes en poids et en volume. Les fruits ont une couleur verte vive et un goût âpre à cause de la présence de Tanin.

D'après Munier (1973), il y a certaines variétés qui peuvent être consommées à cette étape comme l'Arechti d'Algérie (Biskra) et le Chebrain de Bassora (Irak).

c/ Basses: Le fruit est caractérisée par une couleur verte (fig.1.1), et durant ce stade prend la forme allongée, oblongue, arrondie de la datte à partir de ce stade qui dure de 4 à 5 semaine.



Figure1.1.Le stade basses (Djeblahi et Serraye, 2010).

Chapitre I : Données bibliographiques

d/ Bser : Le fruit vire du vert au jaune ou rouge (fig.1.2) selon les cultivars. Au cours de ce stade le poids des dattes n'augmente que faiblement et il diminue à la fin de ce stade qui dure 3 à 5 semaines, il est caractérisé par une accumulation des sucres ce qui donne au fruit un goût sucré.



Figure1.2. Le stade Bser (Djeblahi et Serraye, 2010).

d /Martouba : C'est le stade de la maturation pour certains cultivars comme la variété Gherss. Le poids et la teneur en eau vont diminuer à la fin de ce stade. La durée de ce dernier où le fruit prend une couleur brune est de 2 à 4 semaines, les dattes possèdent une taille, un poids et une teneur en sucres optimaux, elles sont généralement de couleur jaune brillant (fig 1.3.) (Saggou, 2001 et Munier, 1973).

Pour certaines variétés, les dattes peuvent être consommées au stade Martouba (Ghars).



Figure1.3. Le stade Martouba variété Deglet Nour (Djeblahi et Serraye, 2010).

Chapitre I : Données bibliographiques

d/ Tmar : C'est le stade qui correspond à la maturation de la datte (fig 1.4 et 1.5). La teneur en eau continue toujours à diminuer et la couleur de la datte devient plus foncée surtout chez les dattes molles et demi molles par contre chez les dattes sèches la couleur est plus claire.



Figure 1.4. Variété Deglet Nour au stade Tmar (Djeblahi et Serraye, 2010).



Figure 1.5. Variété Ghars mure (Djeblahi et Serraye, 2010).

I.6. Classification des dattes

D'après le stade de maturité, les variétés des dattes sont divisées en deux groupes :

- **Dattes fraîches** : c'est le stade Khalal qui est considéré comme le stade de maturation, les dattes possèdent une taille, un poids et une teneur en sucres optimaux, elles sont généralement astringentes, dures, fibreuses et de couleur jaune brillant.
- **Dattes sèches** : son stade final de maturité est le stade Tmar, ces dattes possèdent une taille et un poids minimaux, c'est le cas des majorités des variétés actuelles.

I.7. Le rapport "Sucres / Eau"

Les teneurs relatives en saccharose et en sucres réducteurs, caractérisent une variété et influencent la texture de la datte. En se basant sur le rapport sucre / eau, on peut distinguer trois catégories de datte (Munier, 1973)

Chapitre I : Données bibliographiques

I.7.1. Les dattes molles

Ces dattes ont un rapport sucre / eau inférieur à 3,5% se sont généralement des dattes à sucres réducteurs, tel est le cas des variétés Ghars et Tenteboucht (Munier, 1973).

I.7.2. Les dattes demi molles

Ces dattes ayant un taux élevé de sucres réducteurs mais inférieur à la première catégorie, ont un rapport sucre / eau entre 2,5 et 3,5% c'est le cas de Deglet Nour (Munier, 1973).

I.7.3. Les dattes sèches

Ces dattes ont un rapport sucre / eau supérieur à 3,5% citant comme exemple : Mech Degla et Degla Baida (Munier, 1973).

Le poids, les dimensions, la forme et la couleur de la datte varient selon les cultivars et les conditions de culture. La consistance constitue aussi une caractéristique du cultivar ; la datte peut être molle, demi molle et sèche (dure) (Djebri, 1996).

I.8. Les principales maladies du palmier dattier

Le palmier dattier est malheureusement toujours confronté à plusieurs problèmes d'ordre cultural ou abiotiques (excès de salinité, mauvais drainage, mauvaise irrigation) et aussi d'ordre phytosanitaire causés par de nombreuses maladies (Ben Salah, 2001)

I.8.1. Bayoud

D'après Peyron, (2000) cette maladie cryptogamique est présentée seulement en Algérie et au Maroc .L'agent causale est le champignon qui appelé *Fusarium oxysporum f.sp. albedinis* qui provoque le dessèchement unilatéral des palmes qui prennent un aspect plombé et le bourgeon terminal fini par se desséchée, entraînant la mort de l'arbre.

I.8.2. Le Khamedj (la pourriture des inflorescences)

Se fait par le champignon de *Mauginiella scaettae* ; *fusarium moniliforme* sheld et *Thielaviopsis paradoxa* qui peuvent causer aussi cette pourriture (Djerbi, 1996). Ces symptômes sont l'apparition des tissus des jeunes spathes lors de leur émergence, des taches elliptiques ou allongées, roussâtres puis brunâtres (Peyron, 2000).

Chapitre I : Données bibliographiques

I.9. Les principaux ravageurs du palmier dattier

La nature particulière de cette espèce botanique et de ses exigences climatiques font de l'environnement oasien un milieu particulier, caractérisé par la présence de maladies et ravageurs acclimatés à ce biotope.

Plusieurs insectes, acariens et autres déprédateurs sont inféodés au palmier dattier ou aux dattes; certains de ces déprédateurs ont une grande importance économique (Munier, 1973).

I.9.1. Boufaroua

L'acarien *Oligonychus afrasiaticus* localement appelé "Boufaroua" est un acarien de la famille des *Tetranychidae*. C'est un ravageur des palmeraies algériennes, pour se nourrir, il pique les dattes qui se dessèchent ensuite à la fin de maturité et deviennent impropre à la commercialisation et à la consommation humaine. Des pertes économiques importantes sont alors enregistrées. (Idder et Pintureau, 2007).

I.9.2. Apte Monachus (En arabe Soussa)

Depuis quelques années la palmeraie algérienne subit des dégâts assez importants causés par l'*Apte monachus* (Coléoptère), qui est un foreur du rachis des palmes, ce ravageur est un ravageur secondaire, seulement sa présence en masse cause énormément de dégâts. Sa présence dans nos oasis prend de l'ampleur de part les dommages qu'elle occasionne sur la rigueur du palmier dattier (Ben Salah, 2001).

I.9.3. La Cochenille Blanche

Parlatoria blanchardi. Targ., 1868, est un véritable fléau non seulement pour le végétal mais aussi pour la production dattière. Ce ravageur est un homoptère, on peut le distinguer à partir des petits boucliers cireux blanc légèrement grisâtres ou brunâtres qui recourent les folioles, le rachis et même les dattes (Idder et al., 2007).

I.9.4. La Pyrale de la datte

Le ver de la datte ou la pyrale de la datte *Ectomyelois ceratoniae* Zeller., 1839, est un ravageur polyphage considérée à l'heure actuelle comme étant le déprédateur le plus redoutable de la datte et constitue une contrainte principale à l'exportation (Haddad, 2000). Il s'attaque à plusieurs autres espèces fruitières des régions Oasiennes notamment les grenades, les abricots, les figues et les oranges (Dridi et al, 2001). Il fait aussi l'objet de notre travail.

Chapitre I : Données bibliographiques

II. La pyrale des dattes

II.1. Généralités

La pyrale des dattes ou ver de la datte *Ectomyelois ceratoniae* Zeller., 1839 est citée pour la première fois en tant que parasite de la datte par Delassus et Pasquier en 1931 au cours de sa présence à Biskra. L'apparition de la pyrale des dattes à Biskra est liée à l'implantation de la Deglet Nour et avec l'augmentation du nombre de palmiers de cette variété (Le Berre ,1978).

Selon Doumandji (1981), *Ectomyelois ceratoniae* a deux zones de multiplication en Algérie. La première se trouve au niveau de la région littorale sur 40 à 80 km de large, s'allongeant sur près de 1000 Km, la seconde est constituée par l'ensemble des Oasis.

La pyrale de la datte *Ectomyelois ceratoniae*, est un ravageur polyphage considéré comme étant le déprédateur le plus redoutable de la datte et constitue une contrainte principale à l'exportation (Haddad, 2000). Il s'attaque à plusieurs autres espèces fruitières des régions Oasiennes notamment les grenades, les abricots, les figues et les oranges (Dridi et al, 2001).

II.2.Position systématique

Le genre *Ectomyelois* a été créé en 1966 par Heinrich regroupant cinq espèces : l'espèce *E. ceratoniae* Zeller 1839, *E. decolor* Zeller 1881, *E. Furvidorssela* Raganot 1888, *E. muriscis* Dyar 1914, et Heinrich 1956. La position taxonomique de la pyrale de la datte est la suivante : **Embranchement** : Arthropodes. **Sous embranchement** : Mandibulates. **Classe** : Insectes. **Sous classe** : Pterygotes. **Division** : Exopterygota. **Ordre** : Lipidoptera. **Famille** : Pyralidae. **Sous famille** : Phycitinae., **Genre** : *Ectomyelois* =*Apomyelois*, **Espèce** : *Ectomyelois ceratoniae* Zeller, 1839.

II.3.Caractéristiques morphologiques d'*Ectomyelois ceratoniae*

Généralement, l'espèce se présente sous deux morphes : une morphe grise se rencontrant dans les régions côtières et une autre morphe plus claire se trouvant dans les zones continentales (Dhouibi, 1991). La coloration de l'espèce n'est pas constante et ne peut être pas utilisée comme références systématique (Dhouibi et Jarraya, 1988).

Chapitre I : Données bibliographiques

II.3.1.L'œuf

L'œuf est de forme ovoïde, nue à face aplatie et à surface chagrinée. La coloration est variable (fig. 1.6.), elle est parfois rouge orangé avec un réseau interne d'entrelacs foncés visible, plus souvent grisâtre à incolore (Wertheimer, 1958). L'œuf varie de 0,5 à 0,8 mm dans son grand diamètre, (Dhouibi, 1982 et Jerraya, 2003).

Wertheimer (1958) a noté qu'il n'a pas été possible de déterminer si la pigmentation ou la non pigmentation est en rapport avec la fécondité de l'œuf. Cependant Dhouibi (1982) a montré que l'œuf fraîchement pondu est de couleur blanc crème luisant. Lorsqu'il est fertile, il varie au rose après une incubation de 14 heures et devient rouge quelques heures après. Quelques heures avant l'éclosion, la larve peut être distinguée par sa capsule céphalique.

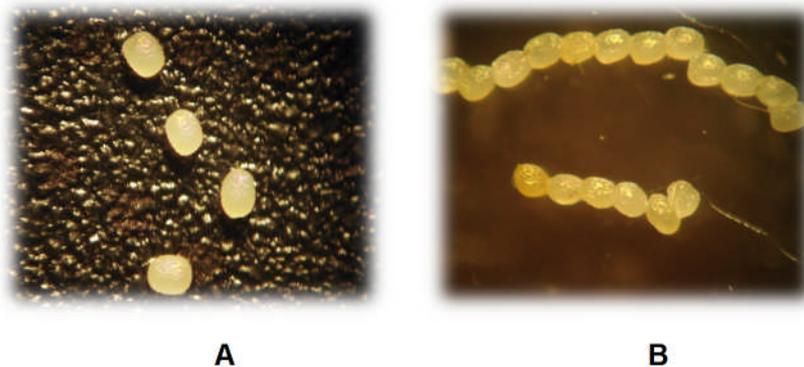


Figure 1.6. Différents aspects œufs d'*Ectomyelois ceratoniae* (A: en amas, B : en chaînette (SRPV de Biskra et originale, 2016).

II.3.2. La larve (chenille) et les stades larvaires

D'après Wertheimer (1958) et Balachowsky (1972) la chenille est de forme allongée, cylindrique, incolore ou grisâtre à sa naissance puis se teinte peu à peu de rose claire, uniforme. Sa tête porte une plaque céphalique brune et son corps est hérissé de quelques soies raides avec une plaque chitinisée du thorax brune foncée. La couleur de la capsule céphalique à tous les stades est d'un brun clair.

Pour Dhouibi (1982), la couleur de la larve est rouge jaunâtre après éclosion, pour devenir jaune rosâtre par la suite (fig. 1.7.). Au dernier stade, la larve est influencée par sa nourriture. Les chenilles qui s'alimentent sur des dattes sont de couleur rose foncée et celles se nourrissant sur les pistaches et les grenades sont de couleur rose

Chapitre I : Données bibliographiques

claire à jaunâtre. A l'approche de la nymphose, l'intensité de la couleur diminue pour devenir jaunâtre.



Figure 1.7. Larve d'*Ectomyelois ceratoniae* (Originale, 2016).

La chenille présente trois paires de pattes thoraciques (fig.1.8.) et cinq paires de fausses pattes abdominales ornées de crochets (Dhouibi, 1991). Elle est reconnaissable par la présence d'un anneau complet entourant une soie située au-dessus du stigmate au niveau du huitième tergite. Cet anneau se trouve sous forme d'arc sur les autres segments.

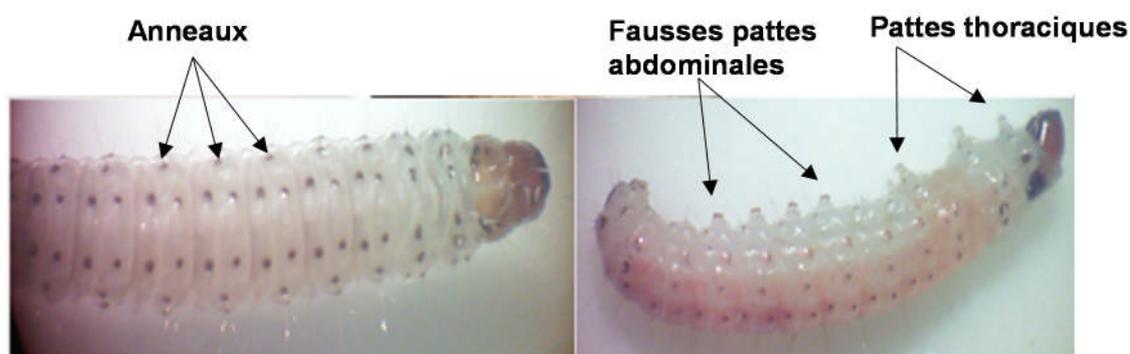


Figure 1.8. Morphologie de la larve du 5^e stade d'*E. ceratoniae* (Originale, 2016).

La caractérisation des différents stades est basée sur la taille, le nombre de crochets des fausses pattes, et les dimensions des capsules céphaliques (Tableau 1.1.).

Chapitre I : Données bibliographiques

Tableau 1.1. Caractéristiques des stades larvaires de la pyrale (Dhouibi, 1991 et Jarraya, 2003).

Stade larvaire	L1	L2	L3	L4	L5
Nombre de crochets	8	12	15	32	35
Taille en mm	1,1 à 2	2 à 2,3	3,3 à 5,6	6,9 à 12,4	12,5 à 14,6
Dimension de la capsule céphalique au 1/10 mm	2,98	4,46	6,35	10,25	15,43

Grassé (1951) et Dhouibi (1982) ont noté que chez le dernier stade larvaire de ce microlépidoptère, un dimorphisme sexuel est souvent visible. En examinant l'insecte par transparence dorsalement, on peut à ce niveau observer les gonades males. Cependant les gonades femelles au dernier stade larvaire sont à l'état d'ébauches.

II.3.3. La chrysalide (Nymphe)

Balachowsky (1972) mentionne que la nymphe est de couleur brune foncée avec des structures très nettes (fig. 1.9.). Elle mesure entre 9 à 11 mm de long ou environ 8 mm de longueur avec un corps de forme cylindro-conique d'après (Doumandji, 1981). La nymphe présente une enveloppe chitineuse de couleur brune testacée. Sa taille peut aller jusqu'à 1 cm, entourée par un fourreau de soie tissé par la chenille avant sa mue nymphale (Le Berre, 1978).

Elle est caractérisée par la présence de sept paires d'épines, sur les sept premiers segments abdominaux et de deux crochets à l'extrémité abdominale. Le prothorax est généralement rugueux, avec une carène médiodorsale irrégulière caractérisant bien la chrysalide (Jarraya et Vinson, 1980 ; Dhouibi et Jarraya, 1988).



A : face ventrale

B : vue latérale

C : face dorsale

Figure 1.9. Nympe d'*Ectomyelois ceratoniae* (SRPV de Biskra et originale, 2016).

Chapitre I : Données bibliographiques

On peut déterminer le dimorphisme sexuel chez la chrysalide de la pyrale de la datte par la présence de l'orifice génital au niveau du huitième sternite chez la femelle et au niveau du neuvième chez le mâle. (Dhouibi et Jarraya, 1988).

II.3.4.L'adulte

L'adulte est de couleur gris clair (fig. 1.10.) avec des ailes antérieures ornées de dessins plus ou moins marqués et les ailes postérieures bordées d'une frange soyeuse (Dhouibi, 1991). D'après Balachowsky et Mensil (1935), les ailes postérieures sont blanches avec leurs nervures bien marquées et leurs bordures légèrement enfumées.

Chez le genre *Ectomyelois* les nervures M2 et M3 des ailes antérieures et postérieures sont tigées sur les 2/3 de leur longueur, au lieu d'être fusionnées comme chez le genre *Ephestia* (Dhouibi, 1991). Les antennes sont fines et la longueur du corps varie de 6 à 12 mm.

Le dimorphisme sexuel est très net au niveau de l'extrémité postérieure de l'abdomen, facilitant ainsi la reconnaissance des sexes à l'œil nu.



Figure 1.10.L'adulte d'*Ectomyelois ceratoniae* (originale, 2016).

➤ Chez la femelle

Il existe au niveau de l'extrémité abdominale une petite dépression circulaire relativement foncée, de laquelle sort par intermittence l'ovipositeur. Ce dernier est fusiforme et se termine par un appendice velu de couleur claire qui correspond aux papilles anales, au bout duquel s'ouvre l'orifice de ponte : c'est l'Ostium oviductum.

➤ Chez le mâle

Au niveau de l'armature génitale, deux valves sont visibles extérieurement (Dhouibi, 1989 et Jarraya, 2003). Ces valves sont des organes odoriférantes

Chapitre I : Données bibliographiques

invaginés au repos, se présentent sous la forme de brosses ou de touffes (Viette, 1963).

II.4. Les plantes hôtes

La famille des Pyralidae comprend un grand nombre d'espèces qui ont des comportements très variés vers les plantes hôtes (Mariau, 2000). L'espèce *Ectomyelois ceratoniae* est un ravageur très polyphage (Munier, 1973 ; Doumandji-Mitiche 1983 et Dhouibi, 1991).

Doumandji (1981) signale 49 espèces de plantes hôtes de la pyrale dans le monde. En Algérie, Doumandji-Mitiche, (1983) mentionne 32 plantes hôtes de la pyrale et 25 plantes en Mitidja réparties en trois catégories: principales, secondaires et occasionnelles.

Les plantes hôtes principales de la pyrale lui permettent de boucler son cycle annuel sans l'intervention d'autre plantes, on peut citer : le néflier du japon (*Eriobotrya japonica* L), le caroubier (*Ceratonia siliqua* L), les agrumes (Citrus) dont les fruits murs permettent le développement de plusieurs générations de la pyrale. Au sud dans les oasis, la pyrale est surtout inféodée au palmier-dattier (*Phoenix dactylifera* L).

Concernant les plantes hôtes secondaires, ce sont les fruits qui permettent l'installation des chenilles de la pyrale des caroubes. Dans certains cas, l'insecte peut se maintenir et terminer son cycle annuel sur d'autre plantes hôtes secondaires, généralement des arbres ou arbustes ornementaux comme : le févier d'Amérique (*Gleditschia triacanthos* L), le *Sterculia diversifolia* Don, l'Acacia de Farnèse (*Acacia farnesiana* Wild) et le R'tem (*Retama bovei*).

Sur le littoral en Algérie, et particulièrement dans la Mitidja, quelques autres plantes hôtes d'*E.ceratoniae* de faible importance peuvent être citées ; ce sont des plantes hôtes occasionnelles.

En effet, celles-ci ne peuvent permettre à elles seules le maintien de l'insecte tout au long de l'année : soit parce qu'elles ne portent pas de fruits attractifs en toute saison, soit qu'elles ne sont représentées que par de faibles effectifs. Parmi les plantes occasionnelles de la pyrale, on peut rencontrer les Rosacées comme ; l'amandier (*Prunus amygdalus* Batsch), l'abricotier (*Prunus*

Chapitre I : Données bibliographiques

armeniaca L) et le pommier (*Malus pumila* Miller), les légumineuses : *Schotia latifolia* Jacq, les Punicaceae et le grenadier (*Punica granatum* L).

II.5.Répartition géographique

La pyrale des caroubes est une espèce cosmopolite à vaste répartition géographique (Dhouibi, 1991).

D'après Munier (1973) cette espèce est largement répandue dans tous les pays du bassin méditerranéen sans aucune exception. Elle est signalée essentiellement dans les Oasis du Sahara.

Les aires de distribution d'*Ectomyelois ceratoniae* dans le monde correspondent à trois types différents de climat qui sont le climat tropical, le climat méditerranéen et le climat continental (Doumandji, 1981 ; Doumandji-Mitiche, 1983).

Le climat tropical chaud et humide est représenté par les îles Hawaï, la pointe sud de l'Afrique et les Antilles où la température annuelle oscille entre 25 et 26°C.

Le climat méditerranéen englobe les régions circum-méditerranéennes ainsi que les environs du Cap. Il est caractérisé par un climat xérothermique à deux saisons, l'une chaude et sèche et l'autre froide et humide.

Le climat continental est représenté au Sahara, en Égypte, en Arabie Saoudite, Iran, au Sud Marocain, le sud Algérien et Tunisien, le Sahel, le Sénégal, la Mauritanie, le Mali et le Tchad.

II.6.Cycle biologique

II.6.1.L'accouplement

Wertheimer (1958), a indiqué que la copulation est relativement assez longue, elle dure plusieurs heures où les mâles et les femelles se rencontrent et s'accouplent (fig.1.11.et 1.13) même dans un espace clos de dimension très réduite, sans avoir de voler préalablement.

Chapitre I : Données bibliographiques



Figure 1.11. Accouplement d'*Ectomyelois ceratoniae* (Originale, 2016).

D'après Wertheimer (1958) et Le Berre (1978), au moment de la réceptivité sexuelle, la posture de la femelle est caractérisée par les ailes écartées et l'abdomen relevé.

II.6.2.La ponte

Selon Dhoubi, (1991) une femelle peut pondre jusqu'à 215 œufs dans les conditions contrôlées. *Ectomyelois ceratoniae* préfère pondre sur des supports rugueux, la femelle palpe avec son ovipositeur le support de ponte qui constitue une stimulus pour l'oviposition.

Le dépôt des œufs (fig.1.12. et 1.13) commence 24 heures après l'accouplement et cette ponte est échelonnée sur une longue période de vie de la femelle. Les activités de ponte occupent 60 % de la durée de la vie imaginaire et la vitesse de ponte décroît régulièrement durant cette période (Le Berre, 1978).

Wertheimer (1958), a mentionné que les femelles pondent 60 à 100 œufs en 24 à 26 h après la copulation.

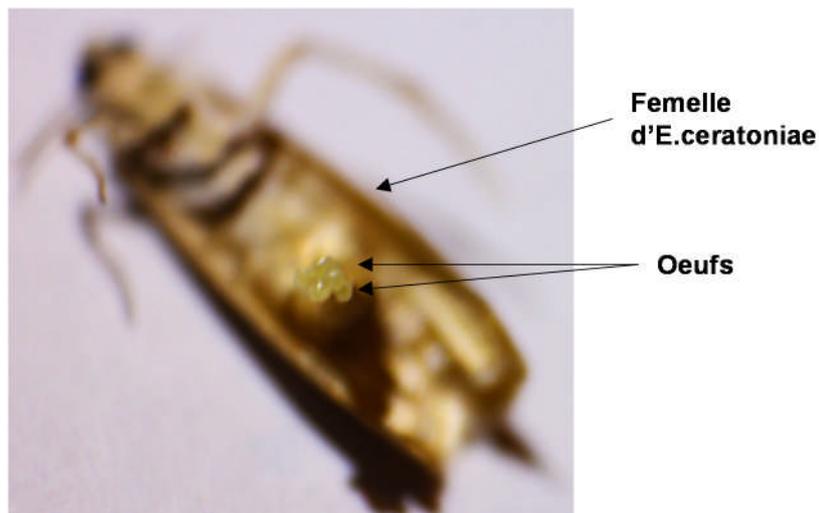


Figure 1.12.Ponte d'*Ectomyelois ceratoniae* (Originale, 2016).

Chapitre I : Données bibliographiques

La durée d'incubation des œufs varie de 3 à 7 jours selon les températures (Wertheimer, 1958), d'autre part Dhouibi (1982, in Ben Ayed, 2006) a montré que sous une température de 27°C et une humidité relative de 70%, la durée d'incubation des œufs d'*E.ceratoniae* varie de 3 à 4 jours.

II.6.3.Développement larvaire et nymphal

Le développement larvaire chez *E.ceratoniae* passe par cinq stades. Medionni, 2005 in (Ben Ayed, 2006), mentionne que le premier stade larvaire présente la durée la plus longue et le niveau de mortalité le plus élevé. La durée moyenne du cycle de développement est de 31 jours à 28°C (fig.1.13), 45% d'humidité relative et 14 heures de lumière (Medioni, 2005 in Ben Ayed, 2006).

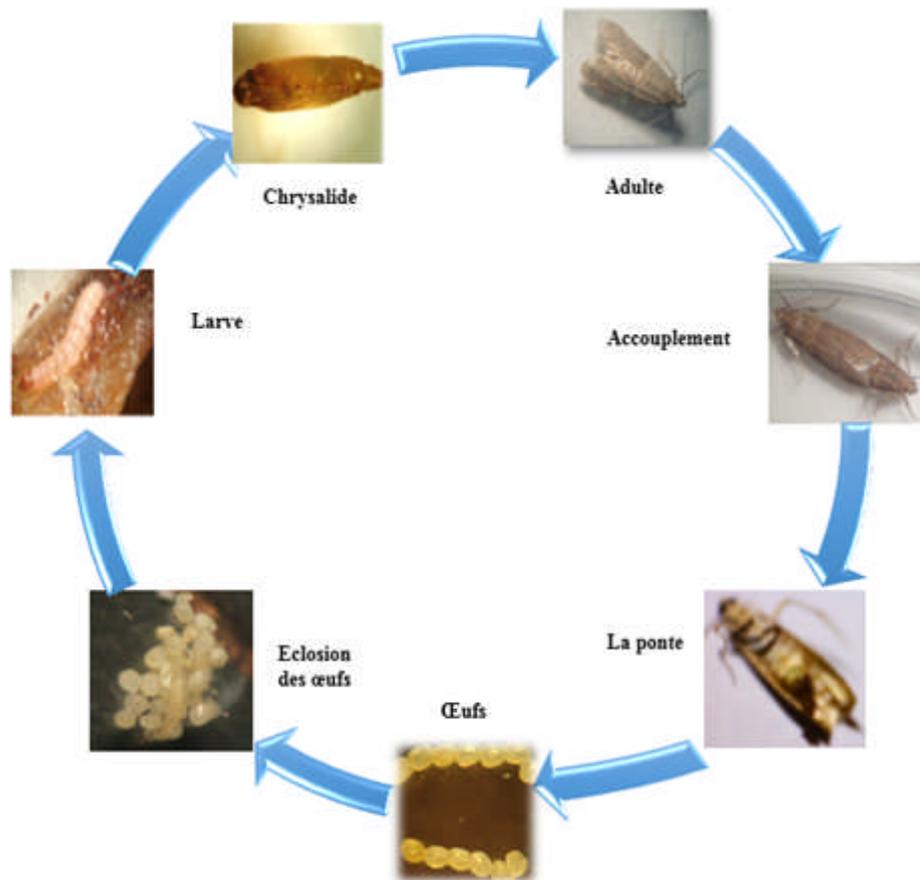


Figure 1.13.Cycle biologique d'*Ectomyelois ceratoniae* (Originale, 2016).

Chapitre I : Données bibliographiques

II.6.4. Emergence des imagos

La période de vol est indispensable sur le plan pratique, pour déterminer l'époque de traitement. En Algérie, l'apparition des premiers adultes est constatée entre les derniers jours de Mars et 15 Avril d'après Wertheimer, (1958).

II.6.5. Le diapause (quiescence)

En Algérie, vers le mois de Décembre correspondant à la fois à la fin de la récolte des dattes et aux conditions défavorables au développement, les chenilles évoluent lentement à l'intérieur des fruits, d'autant plus lentement que la température est plus basse. Chaque ver passe dans le même fruit l'automne et hiver et se nymphose au printemps (Wertheimer, 1958).

II.6.6. Nombre de générations

E.ceratoniae est une espèce polyphage, chez laquelle dans des bonnes conditions, quatre générations peuvent se succéder au cours de l'année. Mais en fait ce nombre de génération varie de 1 à 4 en fonction des conditions climatiques et de plante hôte (Doumandji, 1981).

Selon Wertheimer (1958) trois générations importantes se succèdent au cours de l'année et qu'une quatrième génération existe parfois.

Les adultes de la première génération proviennent des larves qui se sont développées dans les dattes restées au cours de l'hiver dans la palmeraie après la récolte. La phase larvaire qui s'étend de Septembre à Mars-Avril est particulièrement longue en raison du climat relativement froid de l'hiver saharien.

Les adultes de deuxième génération apparaissent dès le mois de Juillet, ce vol se poursuit pendant le mois d'Aout.

Les adultes de troisième génération sont les principaux responsables de la contamination de la récolte pendante ; c'est la génération la plus redoutable. Ce vol s'étend sur les mois Septembre-Octobre et jusqu'au début de Novembre.

La quatrième génération intervient à la fin de Novembre. Elle est restreinte et superposée dans le temps à la troisième.

Chapitre I : Données bibliographiques

II.7. Symptômes d'attaque d'*Ectomyelois ceratoniae*

A l'intérieur de la datte, on trouve une seule chenille entre la chair et le noyau. Cette chenille a déjà creusé dans la pulpe des galeries pour se nourrir et y a déposé des excréments brunâtres en grains agglomérés et d'aspect répugnant (Wertheimer, 1958). A l'extérieur, l'orifice de la pénétration de la larve est situé au point d'insertion du fruit (fig. 1.14. et annexe 1.a.) sur le périanthe. Il est fermé par un amas blanc de soie. (Wertheimer, 1958 ; Mars et Sayadi, 1992 in Ben Ayed, 2006).



Figure 1.14. Infestation d'*Ectomyelois ceratoniae* au niveau des dattes (SRPV de Biskra, 2016).

II.8. Importance économique des dégâts

Selon Wertheimer (1958) le pourcentage d'attaque le plus élevé est de 10 % et peut atteindre 30% au nord de l'Algérie.

Dans les palmeraies de Ouargla, à plantation anarchique, Ben Adoune (1987) mentionne que la variété Deglet nour est plus attaquée (27%) que la variété Ghars (8,5%).

Balachowsky (1972) avait observé en 1949 des stocks considérables de dattes sèches entreposées dans les dépôts militaires de Djanet dans le Sahara algérien ; complètement réduit à leurs noyaux par les chenilles de la pyrale des dattes.

Ce même auteur a noté qu'au Maroc, *E. ceratoniae* peut attaquer également les orangeraias, le taux d'attaque oscille selon les années et les localités entre 10% et 20% de la récolte. Sur le Caroubier, les dégâts atteignent souvent 30% de la récolte.

Chapitre I : Données bibliographiques

Toutain (1972) in (Idder, 1984) rapporte que les dégâts occasionnés par cette pyrale sont très importants et que dès le mois de Janvier, on peut constater sur les souks jusqu'à 80% de dattes infestées.

Selon Munier (1973) le pourcentage de fruits véreux à la récolte est de 8 à 10%, mais cette proportion peut être plus élevée jusqu'à 80%.

Haddad (2000) et Saggou (2001) montrent que le taux d'infestation est plus élevé (entre 22,5 et 23,33%) sur la Deglet Nour. En outre, Adila (2006), note un taux d'infestation de l'ordre de 7,24% à 28,69% selon différentes variétés de dattes.

II.9.Moyens de lutte

II.9.1. La lutte prophylactique

D'après Chiboub (2003), la lutte prophylactique permet de réduire remarquablement le niveau de population dans les palmeraies et consiste en :

-L'ensachage des régimes. Il est conseillé d'utiliser un film de polyéthylène ou des sacs en mousseline à mailles très fines pour protéger les régimes de Deglet Nour afin d'empêcher les pontes sur les dattes au début de maturité, (Khoualdia, 2003).

-Le ramassage et la destruction des dattes tombées et délaissées au sol, ainsi que celles retenues au niveau du stipe, du cœur et de la frondaison des palmiers.

-Le maintien de la palmeraie en parfait état de propreté et le ramassage de tous les débris et le reste de la récolte.

-La désinfection des locaux de manipulation et de stockage ainsi que le traitement du matériel de tri après récolte.

-La destruction des sites d'hibernation du ravageur (Chiboub, 2003).

II.9.2. La lutte chimique

Au départ, la lutte chimique contre ce ravageur a pu réduire les populations du ravageur vivant sur le dattier seulement. Il s'agissait d'assurer une couverture des arbres (fruits) par un insecticide à base de DDT à 10% (Ce produit chimique a été interdit durant les années 1970) afin d'intoxiquer les œufs et les jeunes larves qui sont visées peu après l'éclosion par l'action de contact du dépôt insecticide, lorsqu'elles explorent le fruit avant d'y pénétrer. Il peut y avoir également

Chapitre I : Données bibliographiques

intoxication par ingestion quand les larves effectuent des morsures exploratrices superficielles sur les fruits. L'inconvénient de l'application du DDT est que les dattes molles fixent fortement l'insecticide. (Lepigre 1963). Toutain (1972) préconise l'utilisation des fumigènes au niveau des stocks, mais cette méthode n'a pas montré une grande efficacité. L'inconvénient c'est qu'elle laisse les cadavres à l'intérieur des dattes. Dhouibi (1989) a suggéré l'utilisation d'autres insecticides tels que la Malathion à 2%, le Parathion à 1,25%, et la Phosalone à 4%, qui ont donné de bons résultats. Knipling (1962) cité par (Dridi et al, 2001) a proposé une méthode de lutte chimique se basant sur l'utilisation des chimiostérilisants qui provoquent une stérilisation totale des mâles. Les traitements chimiques sont réalisés au mois de Juillet, Aout jusqu'à Septembre au stade Bser pré- récolte.

II.9.3. La lutte par l'utilisation de phéromones sexuelles

La lutte directe se fait par piégeage de masse avec de nombreux pièges appâtés avec l'attractif sexuel de synthèse. La désorientation des mâles (confusion sexuelle) est réalisée en diffusant dans l'atmosphère des oasis des quantités importantes de phéromones sexuelles, empêchant ainsi la rencontre des sexes et par conséquent leur reproduction. (Dhouibi, 1991 et Dhouibi 2000, in Ben Ayed, 2006).

II.9.4. Technique des insectes stériles

L'utilisation des radiations (Gamma à raison de 250 grays, 48 heures avant l'émergence des adultes) peut provoquer la mort ou la stérilité d'*E. ceratoniae*. L'irradiation provoque la stérilité des mâles, mais ils gardent tout leur potentiel d'activité sexuelle. Leur accouplement entraîne de la part des femelles des pontes stériles (Ben Adoune, 1987, Dridi et al, 2001).

II.9.5. Lutte biologique

Bacillus thuringiensis var *kurstaki* est un bioninsecticide bactérien qui agit exclusivement après l'ingestion du végétal traité. Les chenilles arrêtent de s'alimenter quelques heures après l'ingestion et meurent ensuite dans les jours qui suivent. Le produit Foray^R 48 B formulé est une suspension concentrée aqueuse

Chapitre I : Données bibliographiques

contenant les principes actifs de *B.thuingiensis ssp kurstaki* qui est efficace contre *E.ceratoniae* (Anonyme b).

La lutte biologique par les entomophages parasites se base essentiellement sur l'utilisation des parasites entomophages, dont les principales espèces parasites de la pyrale sont mentionnées dans le tableau 1.2.

Tableau 1.2.Lutte biologique par les entomophages parasites (parasitoïdes annexe 1.b.).

Type du parasite	Élément de cycle biologique
<p><u>Parasites ovo-larvaires</u></p> <p>(Hymenoptera, Braconidae, Cheloninae)</p> <p>-<i>Phanerotoma plannifons</i> Nees.</p> <p>-<i>Phanerotoma flavistacea</i> Fischer (Robert, 2001).</p> <p>Biliotti et Daumal, (1969) ; Mehenni (2014)</p>	<p>-A une température de 25°C, les œufs pondus dans l'œuf d'<i>Ectomyelois</i> éclosent après 24 heures et le parasite passe par trois stades larvaires.</p> <p>-Avant le dernier stade de l'hôte, et au moment de tissage de son cocon, le parasite entre à son tour dans la mue pour succéder au deuxième stade.</p> <p>-A l'approche de la mue de deuxième au troisième stade, la larve parasite sort de l'hôte se rabat ensuite vers la partie postérieure de la chenille, perce un orifice dans les téguments et les vide entièrement de leur contenu, la larve parasite entreprend le tissage de son cocon de nymphose qui se poursuit après 3 jours par l'émergence des adultes.</p>
<p><u>Parasites larvaires</u></p> <p>(Hymenoptera; Braconidae, Braconinae)</p> <p><i>Bracon hebetor</i> Say, 1836</p> <p>Doumandji Mitiche et Doumandji, (1993), Mehenni (2014)</p>	<p>-La femelle parasite dépose plusieurs œufs sur l'insecte-hôte (tout le développement larvaire du parasite se déroule sur l'hôte).</p> <p>- A la fin de son développement, la larve parasite quitte la dépouille larvaire pour construire son cocon de nymphose loin de l'hôte.</p>
<p><u>Parasites des œufs</u></p> <p>(Hymenoptera, Trichogrammatidae)</p> <p><i>Trichogramma embryophagum</i></p> <p>Dhouibi, (1991) ; Doumandji et Doumandji Mitiche, (1993); Ramade, (1978 in Doumandji Mitiche et Doumandji, 1993) ; Jarraya, (1994)</p>	<p>- Les trichogrammes pondent leurs œufs dans les œufs d'<i>E. ceratoniae</i> et tout le cycle de développement embryonnaire, larvaire et nymphale se fait dans l'œuf hôte.</p>

Chapitre I : Données bibliographiques

III. Les bactéries entomopathogènes

III.1. Généralités

L'utilisation des bactéries entomopathogènes dans la lutte biologique contre les insectes est très ancienne (Oulebsir-Mohand kaci 2012).

La plupart des bactéries utilisées en lutte biologique sont des bactéries qui forment des spores, ce qui facilite leur stockage et leur utilisation. De plus il est possible de les produire *in vitro*. Les bactéries pénètrent dans l'hôte par une ouverture ou une blessure. Elle tinte l'hôte, soit par sécrétion de toxines, soit par septicémie (Lydie, 2010).

Dans la famille des Bacillaceae, *Bacillus thuringiensis* est efficace contre certaines espèces de Coléoptères, Lépidoptères et Diptères. *Bacillus popillae* est efficace contre les Scarabaeidae et a été utilisée avec succès contre le scarabe japonais *Popillia japonica*, les spores de *B. popillae* ingérées, germent dans le tube digestif et traversent la membrane épithéliale, l'insecte meurt par septicémie (Kouassi, 2001).

Les infections bactériennes peu importe leur gravité sur le terrain, peuvent créer des problèmes pour les espèces de Locustes et d'autres criquets. Les cristaux synthétisés par les bactéries sont constitués de protoxines qui une fois ingérées par l'insecte sont transformées en toxines polypeptidiques (Toufik, 1993).

III.2. Présentation du genre *Bacillus*

III.2.1. Description

Le genre *Bacillus* est constitué de bacilles de grande taille à Gram positif mais facilement décolorables pour certaines espèces (Brossard et Terry, 1984), aérobies ou anaérobies facultatifs (Singleton, 2005).

Les cellules se présentent sous forme de batonnets isolées ou en chaînes, à extrémité carrées ou arrondies et de taille variable (de $0,5 \times 10 \mu\text{m}$ jusqu'à $2,5 \times 10 \mu\text{m}$), généralement mobiles grâce à des cils péritriches, elles sont caractérisées par l'aptitude à la sporulation comme forme de résistance lorsque les conditions deviennent défavorables (Guiraud, 1998).

Ces bactéries regroupent des espèces dont le pourcentage de cytosine (C) et guanine (G) varie entre 32 et 69 % (Larpen, 1997). La majorité se développe mieux à 30°C jusqu'à 37°C (Brossard et Terry, 1984).

Chapitre I : Données bibliographiques

III.2.2. Position systématique

D'après la classification de Bergey (2001) in Gerard et *al.* (2003), le genre *Bacillus* est classé comme suit :

Phylum : Bacteria.

Embranchement : Firmicutes.

Classe : Bacilli.

Ordre : Bacillales.

Famille : Bacillaceae.

Genre : *Bacillus*.

III.2.3. Habitat

Le genre *Bacillus* est généralement distribué dans les milieux extérieurs notamment dans le sol, l'eau, l'air et la végétation (Perry et *al.*, 2004).

Certaines bactéries du genre *Bacillus* contaminent de nombreux produits alimentaires et sont souvent protéolytiques, et peuvent être des agents de dégradation de conserves alimentaires (Guiraud, 1998).

III.2.4. Modalité d'action du genre *Bacillus*

Ces bactéries affectent surtout les stades larvaires phytophages. L'infection survient après ingestion de cellules ou des spores bactériennes. Ensuite, par ses toxines, elles rompent la paroi intestinale et cause la paralysie musculaire du tube digestif et des pièces buccales. L'insecte arrête de se nourrir. Il arrive qu'il régurgite les aliments et ait une diarrhée. Elles se développent de manière indépendante et envahissent l'hémocèle de l'insecte, ce qui entraîne une septicémie mortelle. L'insecte peut mourir d'inanition (Ainsworth, 1983).

III.2.5. Molécules produites par le genre *Bacillus*

Selon Larpent et Gaurgaud (1997), les bactéries ont une grande importance de points de vue économique, environnemental et médical. Le genre *Bacillus* renferme entre autres des bactéries qui produisent trois types de substances à grande valeur industrielle : les enzymes, les antibiotiques et les toxines.

➤ Les enzymes

Ils sont exploités dans l'industrie comme : les amylosaccharidases, Pénicilline amidase, Glucose isomérase (Larpent et Gourgaud, 1997).

Chapitre I : Données bibliographiques

Dans l'industrie des enzymes, les bactéries du genre *Bacillus* constituent la source majeure d'enzymes hydrolytiques utilisées surtout dans le domaine alimentaire et dans celui des détergents. Plus des deux tiers des enzymes produits industriellement par des bactéries, le sont par des espèces de *Bacillus*.

Bacillus subtilis est utilisé pour produire les amylases (utilisées dans l'industrie du pain), les cellulases et les protéases (utilisées dans l'industrie des détergents) et dans les conserves alimentaires comme additifs.

Bacillus licheniformis est le principal producteur d'alpha-amylase, une enzyme très utilisée en agroalimentaire pour le traitement de l'amidon. L'alpha-amylase est également ajoutée dans certains savons liquides (Larpent et Gourgaud, 1997).

Plusieurs espèces du genre *Geobacillus* produisent des enzymes thermostables. En fin les Lipases et les amylases sont produites respectivement par *Geobacillus stearothermophilus* (Sifour et al., 2010).

Dans le genre *Alicyclobacillus*, plusieurs souches d'*Alicyclobacillus acidocaldarius* produisent des amylases (Schwernann et al., 1994) et des mannanases, enzymes qui jouent un rôle important dans l'hydrolyse des hémicelluloses (Zhang et al., 2008).

➤ Les antibiotiques

Les espèces de *Bacillus* productrices d'antibiotiques sont *B. subtilis*, *B. polymyxa*, *B. brevis*, *B. licheniformis*, *B. circulans*, *B. cereus*. Les antibiotiques polypeptidiques produits par *Bacillus* les plus utilisées dans les traitements médicaux sont la bacitracine (inhibe la synthèse de la paroi bactérienne.), la gramycidine S et les polymyxines (oligopeptides cycliques ou linéaires qui interfèrent avec les fonctions de la membrane de l'hôte), la tyrotricine (antibiotique à spectre large lèse la membrane cytoplasmique par réaction avec les phospholipides). Les antibiotiques ont un large spectre d'action et sont utilisés comme agents anti-fongiques (Milner et al., 1995).

➤ Les toxines

La pathogénécité de ce genre est due à la présence du cristal protéique qui apparait en même temps que la spore codé par un plasmide soluble en milieu alcalin. Lorsque l'insecte ingère le cristal, il se dissout dans la cavité digestive dont le PH est alcalin et se transforme en toxines polypeptidique actives (Larpent et Gourgaud, 1997).

Chapitre I : Données bibliographiques

Les toxines Cry caractéristiques des *Bacillus thuringiensis*, et les toxines Cyt présentes chez seulement un nombre restreint de sous-espèces de *B. thuringiensis*, présente une toxicité pour un grand nombre d'ordres d'insectes : les Lépidoptères, les Diptères, les Hyménoptères et les Coléoptères (Agaisse et Lereclus 1995, Crickmore *et al.* 1998).

III.3. *Bacillus subtilis*

III.3.1. Description

Bacillus subtilis fait partie des bactéries Gram positives, en forme de bâtonnet, sa longueur est comprise entre 2 et 4 μm et sa largeur est de 0,9 à 1 μm (Fig. 1.15.), mobiles grâce à des cils péritriches (Singleton, 2005), à faible pourcentage en Guanine et en Cytosine (% GC) dans leur génome caractérisées par des spores ovales non déformantes (Chaurasia *et al.*, 2005 *in* Allal- Benfkhih ,2006) capable de survivre dans des conditions extrêmes révélant une adaptation très ancienne (Anonyme (c), 1997), à paroi mince centrale ou terminale formant des colonies de formes irrégulières, (Chaurasia *et al.*, 2005 *in* Allal- Benfkhih ,2006).

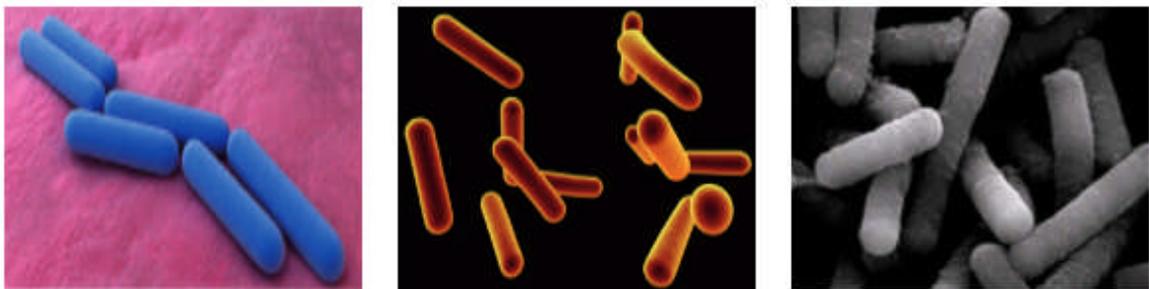


Figure 1.15. Aspects de *B. subtilis* observé en microscope électronique à balayage (Carballido, 2006 et Cartwright, 2009).

D'après Carballido (2006), elle est aérobic stricte, sa température optimale est de 40°C (espèce mésophile) et son type trophique est chimiohétérotrophe.

III.3.2. Le génome de *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis est le mieux caractérisé des Firmicutes. Son génome d'environ 4,2 Mb, contient environ 4100 gènes, parmi lesquels 42% n'ont pas pu être classés sur la base de l'homologie de séquence. La classification de ces

Chapitre I : Données bibliographiques

4100 gènes fonctionnelles, a révélé qu'environ 53% des familles contiennent un seul gène, alors que certaines familles sont très nombreuses, la famille des ATP-transporteurs étant la plus nombreuse avec 77 gènes (Kunst *et al.* 1997). Au contraire de la plupart des bactéries séquencées, *B. subtilis* n'est ni un agent infectieux ni un extremophile. En conséquence son génome peut apporter des informations précieuses sur les bactéries mésophiles et en particulier sur celles qui habitent le sol (Whitman *et al.* 1998).

L'analyse du génome de *B. subtilis* a révélé qu'une partie importante de son information génétique intervient dans l'utilisation de différentes sources de carbone et en particulier des sources d'origine végétale (Kunst *et al.*, 1997).

III.3.3. Mode d'action de *Bacillus subtilis*

Les *Bacillus subtilis* agissent par septicémie (Lazare *et al.*, 1996), envahissent l'hémolymphe de leur hôte à travers le tube digestif, provoquant son infection (Toufik, 1993).

III.3.4. L'intérêt du *Bacillus subtilis*

➤ Dans le domaine biomédical et industriel

Bacillus subtilis a un intérêt biotechnologique, elle produit des substances thérapeutiques et qui sont la Pro-insuline humaine et α -interféron humain (Larpen et Gourgaud, 1997).

Bacillus subtilis peut synthétiser des douzaines types d'antibiotiques de nature peptidique avec une variété étonnante de structure. De ces antibiotiques, on peut noter : Subtiline, bacillisine, difficidine, osydifficine, bacillomycine, mycobacilline.

➤ Dans le domaine de la lutte biologique

Bacillus subtilis est utilisée comme insecticide, bactéricide et biofongicide dans l'agriculture.

a) Effet insecticide

Ce bacille peut infecter et causer la mortalité des larves du 2^{ème} stade du moustique *Anopheles culicifacies*, vecteur du malaria en Inde centrale (Allal Banfekih, 2006). Das et Muwlerjce (2006) reportent l'effet de *B. subtilis* sur les larves des moustiques au lipopeptide cyclique (CLPs) secrété par cette bactérie.

Chapitre I : Données bibliographiques

b) Effet fongicide et bactéricide

Plusieurs souches de *B. subtilis* ont un effet fongicide et bactéricide, parmi lesquels la souche QST 713, découverte dans un verger de pêcher en Californie, est utilisée comme une matière active dans certains fongicides biologiques (avec des produits de fermentation « lipopeptides ») à action préventive pour éliminer un certain nombre de bactéries et de champignons phytopathogènes (Duval et Weill, 2009).

Ces biofongicides sont commercialisées sous formes de cinq produits à pulvériser sur les plantes qui sont :

- **Serenade MAX, Serenade ASO** : ces deux formulations ont été conçues pour être utilisés à des fins agricoles, en particulier par les agriculteurs biologiques, elles sont utilisées contre la pourriture grise sur asperge, le sclérotiniose et le mildiou sur les crucifères et l'oïdium sur cucurbitacées.
- **Rhapsody ASO** : c'est un produit qui peut être utilisé dans la production biologique des plantes ornementales, ce produit est utilisé contre l'oïdium, le mildiou et la pourriture à pique sur cucurbitacées ainsi contre la brûlure bactérienne des légumes à fruits.
- **Serenade Garden Concentrate, Serenade Garden Ready** : ils sont utilisés à la maison et au jardin sur les plantes ornementales, les fruits et les légumes (A.R.L.A., 2010).

Chapitre II : Matériel et méthodes

Notre travail a focalisé sur trois volets expérimentaux comme suit :

- Le premier volet a consisté à établir un élevage de la pyrale des dattes au niveau de la Station Régionale de la Protection des Végétaux (SRPV) de Biskra.
- Le deuxième volet a porté sur la purification des isolats bactériens du genre *Bacillus* étudiées et leur identification et caractérisation macroscopique, physiologique et biochimique. Cette partie a été réalisée au sein du laboratoire de Valorisation et Conservation des Ressources Biologiques (VALCORE) de l'Université M'hamed Bougara de Boumerdes (UMBB).
- Le troisième volet a porté sur l'étude de l'impact des isolats bactériens étudiés sur les chenilles de la pyrale de la datte *Ectomyelois ceratoniae*. Différents traitements ont été effectués pour évaluer les mortalités et entrevoir les perturbations d'ordre nutritionnel et leur développement au stade adulte. Cette partie a été réalisée au niveau de laboratoire de zoologie et de phytopharmacie du département des Biotechnologies de l'université de Blida 1.

II.1. Matériel de l'étude

II. 1. 1. Matériel biologique

L'étude a été effectuée sur des larves de l'espèce *Ectomyelois ceratoniae* (*Lepidoptera, Pyralidae*), issues d'un élevage mené au niveau de la SRPV à Biskra. Les conditions de l'élevage sont mentionnées ci-après.

Nous avons expérimenté deux isolats bactériens de *Bacillus subtilis* (ordre : Bacillales, Famille : Bacillaceae) : un isolat sous forme lyophilisée, provenant de la faculté des sciences agronomiques de Gembloux (Belgique) (B.S.ET) et un isolat locale isolée à partir de la rhizosphère de la culture de blé au niveau de la région de Boumerdes.

Après purification, les deux isolats respectifs ont été identifiés suivant leurs caractères macroscopiques, physiologiques et biochimiques (voir ci-après).

II. 1. 2. Milieux de culture et de conservation

Pour la culture et la conservation à court terme des isolats bactériens, nous avons utilisé le milieu Gélose nutritive (annexe 2.a.) qui est un milieu solide d'usage général utilisé pour la croissance des micro-organismes non exigeants et pour vérifier la pureté des isolats. Pour la conservation des isolats à long terme, nous avons utilisé la solution de glycérol à 20%.

Chapitre II : Matériel et méthodes

II. 1. 3. Milieu d'élevage de la pyrale de la datte

L'élevage en masse de la pyrale des dattes est conduit sur un milieu artificiel (fig.2.1.) composé d'un mélange des ingrédients suivants :Son de blé (44%), mélange de vitamines (1%), mélange de sel (1%), méthyle parabène (0,5 %), sucre (5%), acide citrique (1%), acide ascorbique (0,5%), levure de bière (4%), gluten (3%) et eau distillée (40%)(Mediouni et Dhouibi, 2005).

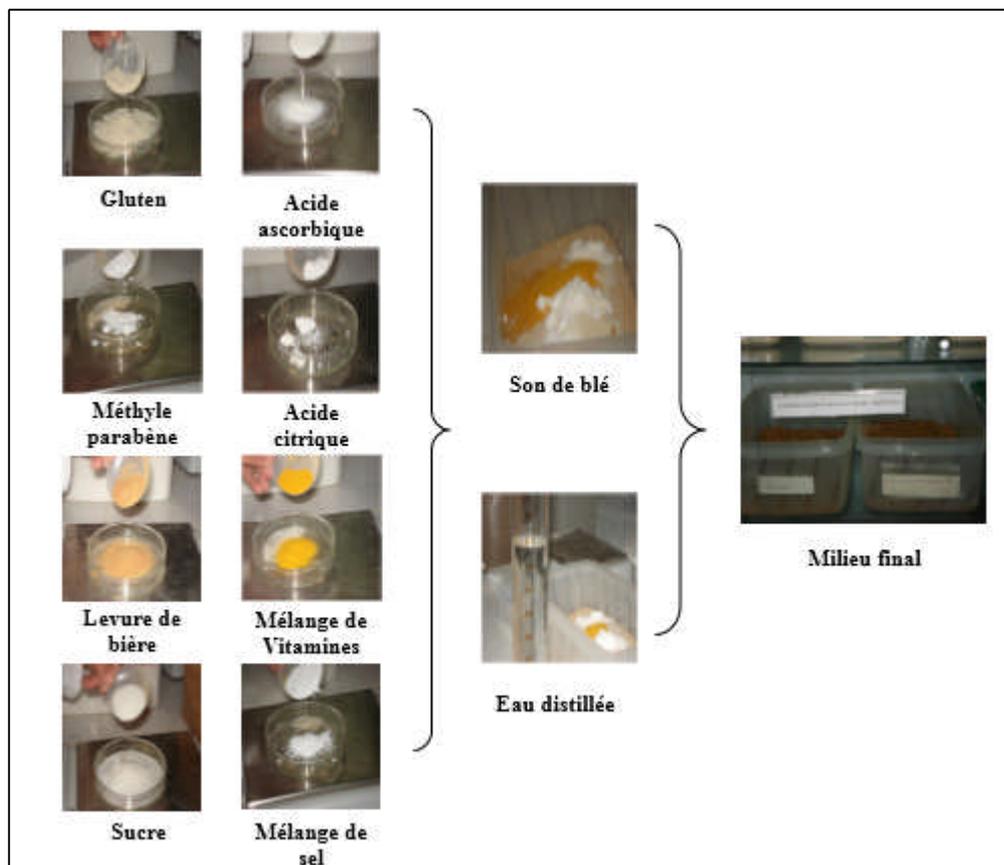


Figure 2.1. Les étapes de préparation du milieu artificiel d'élevage de la pyrale de la datte (Originale, 2016).

II. 2. Méthodologies de l'étude

II. 2. 1. Elevage de la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae*

Des dattes infestées sont disposées dans des caisses en plastique à l'intérieur d'une chambre d'élevage (fig. 2.2.) à une température comprise entre 25-27c°, et une humidité relative de 65 à 75% avec une photopériode de 16 heures de lumière et 8 heures d'obscurité (Al-izzi et al., 1987) afin de favoriser et accélérer

Chapitre II : Matériel et méthodes



Figure 2.2. Elevage en masse d'*E. ceratoniae* sur un milieu artificiel dans des conditions contrôlées (Originale, 2016).

Chapitre II : Matériel et méthodes

l'émergence des adultes de la pyrale. Les papillons émergés sont capturés à l'aide des bouteilles en plastique d'une contenance d'un litre et demi, qui serviront de pondoirs d'accouplement.

Les adultes sont laissés dans les pondoirs d'accouplement pendant 24 à 48 heures pour favoriser l'accouplement, la date de la disposition des couples dans les pondoirs est mentionnée sur les pondoirs (fig.2.2.).

Après accouplement, les femelles vont pondre des œufs à l'intérieur des pondoirs. Les œufs sont ensuite déversés à travers le tulle à mailles fines dans le milieu d'élevage préalablement préparé et mis dans des boîtes en plastique grand modèle sur lesquelles on mentionne la date de l'ensemencement des œufs dans le milieu d'élevage.

Après quelques jours, les œufs éclosent et le développement larvaire va se faire à l'intérieur du milieu jusqu'au dernier stade larvaire (L5). La distinction des larves mâles des larves femelles est reconnue par la présence sur la face dorsale des larves mâles d'une gonade entre le 7^{ème} et le 8^{ème} segment abdominal qui apparaît comme une tache noire au 4^{ème} stade larvaire. A ce stade, on fait un sexage et on va les mettre séparément dans du carton ondulé qui sera mis dans une boîte en plastique, afin d'inciter les larves L5 à entrer en chrysalides dans des tubes à hémolyses fermés par le coton (SRPV, 2016).

II.2.2. Isolement et purification de l'isolat locale A3 de *B. subtilis*

II.2.2.1. Echantillonnage du sol

Les échantillons de sol ont été prélevés au niveau de la couche rhizosphérique à partir de la culture de blé dans la région de Corso (Boumerdes) (Fig.2.3.) sur un rayon d'un mètre autour des racines et à une profondeur de 50 cm, ensuite ils sont mis dans des sachets en papier portant des indications sur le lieu et la date de prélèvement et transportés jusqu'au laboratoire pour subir les différentes analyses microbiologiques.

Chapitre II : Matériel et méthodes



Figure 2.3. Situation géographique du site de prélèvement du sol (Google Maps, 2016).

II.2.2.2. Préparation des suspensions mères

Les échantillons du sol sont séchés à l'air libre, tamisés et broyés finement. Une quantité de sol de chaque échantillon est ensuite chauffée à 80°C pendant 4 heures afin d'éliminer toutes les bactéries non sporulantes.

Après cela, on pèse 10 g d'échantillon de sol déjà chauffé, et on ajoute 90 ml d'eau physiologique stérile, tout en agitant, ce qui constitue une solution mère.

II.2.2.3. Préparation des dilutions et technique d'ensemencement

La suspension mère subit une série de dilutions décimales (10^{-1} à 10^{-6}). En effet 1ml de la solution mère a été prélevé et introduit dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. La dilution obtenue est donc 10^{-1} . La même opération est reprise jusqu'à l'obtention d'une dilution finale qui est de 10^{-6} .

Notre choix a porté sur les dilutions 10^{-1} , 10^{-3} , 10^{-6} à raison de trois répétitions pour chaque dilution. Les différentes dilutions préparées sontensemencées selon la méthode d'ensemencement par les stries.

Après incubation de 24h à 32°C, on prend la colonie qui nous semble répondre aux critères de la souche visée tels que la forme, l'aspect et la couleur et on effectue des repiquages successifs jusqu'à l'obtention d'une culture pure. La

Chapitre II : Matériel et méthodes

pureté est vérifiée après chaque repiquage par examen microscopique d'un frottis coloré au bleu de méthylène et coloration de Gram.

II.2.3. Purification de l'isolat bactérien lyophilisé (B.S.ET)

Pour ensemercer l'isolat bactérien fourni sous forme lyophilisée (B.S.ET), on a suivi les étapes suivantes :

- Peser 1 gr de la poudre bactérienne.
- Introduire la poudre bactérienne dans 9 ml d'eau physiologique stérile et agiter avec un agitateur (fig.2.4.).
- Incuber la suspension bactérienne à 32°C pendant 1 heure.
- A partir de cette suspension, on prélève 1ml et on le dépose dans une boîte de Pétri contenant une gélose nutritive et on l'étale à l'aide d'un râteau, l'incubation se fait à 32°C pendant 24 heures.
- Après cela, on suit les mêmes étapes de la purification que l'isolat local A3.

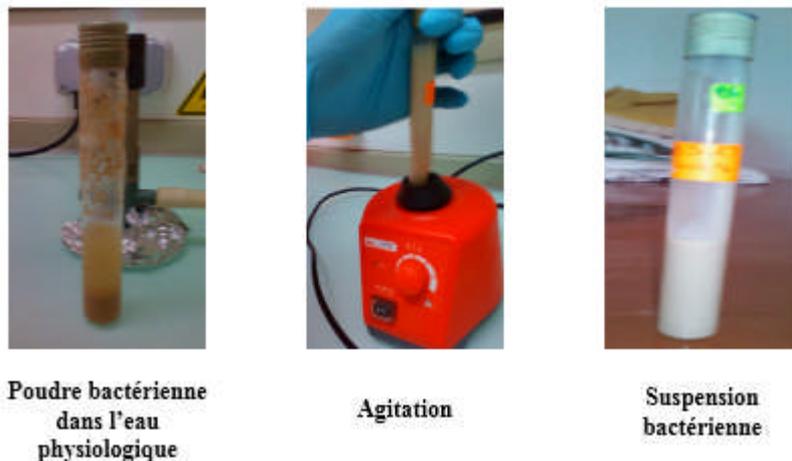


Figure 2.4. Préparation de la suspension bactérienne (Originale, 2016).

II.2.4. Conservation des isolats bactériens

Les isolats purifiés sont conservés à 4°C dans des tubes à essais contenant un milieu conservateur (glycérol à 30%) ou un milieu de gélose inclinée après incubation à 32°C pendant 24h.

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.3. Identification préliminaire des isolats bactériens

II.3.1. Critères d'identification du genre *Bacillus*

L'identification des *Bacillus* a eu lieu selon la caractérisation taxonomique proposée par Guiraud (2003) (Tab.2.1.).

Tableau 2.1. Caractérisation de certaines bactéries du genre *Bacillus* (Guiraud, 2003). ((V) Variable (+) Positive (-) Négative C) Centrale (T) Terminale)

Test \ Souches	Groupe selon Priest	Morphologie sporale	Position de la spore	Culture anaérobie	Acide sur glucose	Gaz sur glucose	Mobilité	Retard sur glucose	Acétoïne	Indole	Citrate	Amidon	Caséine	Gélatine	Lécithine	Uréase	Nitrate	Culture à 45 °C	Culture à 55 °C	Culture à 65 °C	VP	Catalase
<i>B. avel</i>	I 2	C/T	+	+	+	V	-	+	+	-	+	+	+	+	V	-	-	V	-	-	+	+
<i>B. circulans</i>	I 2	C/T	V	+	-	V	-	-	-	V	+	V	V	V	-	V	+	+	-	-	-	+
<i>B. macerans</i>	I 2	T	+	+	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	V	-	+	+	-	-	-	+
<i>B. polymyxa</i>	I 2	C/T	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	V	-	+	V	-	-	+	+
<i>B. anthracis</i>	II 1	C	+	+	-	-	-	+	-	V	+	+	+	+	+	V	+	-	-	-	+	+
<i>B. cereus</i>	II 1	C	+	+	-	V	-	+	-	V	+	+	+	+	+	V	-	V	-	-	+	+
<i>B. firmus</i>	II 1	C	-	+	-	V	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	V	-	-	-	+
<i>B. lentus</i>	II 1	C	-	+	-	V	+	-	-	-	+	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	+
<i>B. licheniformis</i>	II 1	C	+	+	V	+	-	+	-	V	+	+	+	+	-	-	V	+	+	-	+	+
<i>B. megaterium</i>	II 1	C	-	+	-	V	-	-	-	+	+	+	+	+	-	V	V	V	-	-	-	+
<i>B. pantothenicus</i>	II 1/2	T	+	+	-	-	-	-	-	-	V	+	+	+	+	V	-	-	+	-	-	+
<i>B. subtilis</i>	II 1	C	-	+	-	+	-	+	-	V	+	+	+	+	-	-	+	+	V	-	+	+
<i>B. thuringiensis</i>	II 1	C	+	+	-	V	-	+	-	V	+	+	+	+	+	V	+	+	-	-	+	+
<i>B. pasteurii</i>	IV 3	T	-	-	-	+	-	-	V	-	-	V	V	V	-	+	-	-	-	-	-	+
<i>B. sphaericus</i>	IV	T	-	-	-	+	-	-	-	V	-	V	V	V	-	V	V	V	-	-	-	+
<i>B. coagulans</i>	V 1/2	C/T	+	+	-	+	-	V	-	-	+	V	-	-	-	-	V	+	+	-	+	+
<i>B. stearothermophilus</i>	V 2	T	-	+	-	+	-	-	-	-	+	V	+	V	V	V	V	V	+	+	-	V

II.3.2. Caractérisation morphologique et microscopique

Examen macroscopique des colonies (Annexe 3.a.)

Examen microscopique

Plusieurs étapes sont réalisées pour l'étude microscopique et chacune doit fournir un certain nombre d'information pour l'élaboration du résultat final. Les différentes étapes citées ci-dessous sont mentionnées au niveau de l'annexe 3.a.

Chapitre II : Matériel et méthodes

- Observation microscopique à l'état frais.
- Coloration simple au bleu de méthylène.
- Coloration de Gram.
- Coloration de la spore.

II.3.3. Caractérisations biochimiques

Pour la caractérisation biochimique nous avons utilisé les tests classiques d'identification et la galerie Api 20^E (les détails tests biochimiques classiques citées ci-dessous sont mentionnés au niveau de l'annexe 3.a.).

Les tests biochimiques classiques sont :

- Test d'oxydase.
- Test de la catalase.
- Etude du type respiratoire.
- Recherche du nitrate réductase (NR).
- Réaction au rouge de méthyle (RM).
- Réaction de Voges-Proskauer (VP).
- Test du citrate ou milieu citrate de Simmons.
- Mise en évidence de la mobilité.
- Etude du milieu TSI.
- L'hydrolyse de l'amidon.
- Hydrolyse de la caséine de lait.
- Hydrolyse de lécithine.
- Résistance à la température.

II.3.3.2. Utilisation de la Galerie Api 20^E

Le système API20^E est une version miniaturisée des tests biochimiques classiques, regroupe 20 tests biochimiques. Des microtubes contiennent des substrats déshydratés (annexe 3.a.).

Chapitre II : Matériel et méthodes

Tableau 2.2. Lecture de la galerie API 20^E (Guiraud, 2003)

Test	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Positif	Négatif
ARA	Arabinose	Fermentation/ oxydation	Jaune	Bleu/ bleu- vert
AMY	Amygdalin	Fermentation/ oxydation	Jaune	Bleu/ bleu- vert
MEL	Melibiose	Fermentation/ oxydation	Jaune	Bleu/ bleu- vert
SAC	Saccharose	Fermentation/ oxydation	Jaune	Bleu/ bleu- vert
RHA	Rhamnose	Fermentation/ oxydation	Jaune	Bleu/ bleu- vert
SOR	Sorbitol	Fermentation/ oxydation	Jaune	Bleu/ bleu- vert
INO	Inositol	Fermentation/ oxydation	Jaune	Bleu/ bleu- vert
MAN	Mannitol	Fermentation/ oxydation	Jaune	Bleu/ bleu- vert
GLU	Glucose	Fermentation/ oxydation	Jaune	Bleu/ bleu- vert
GEL	Gélatine de Kohn	Gélatinase	Diffusion du pigment noir	Non diffusion
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Rosé-rouge	Incolore VP1 + VP2/ 10 mn
IND	Tryptophane	Production d'indole	Anneau rouge	Jaune IND/ 2 mn, maxi
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Marron foncé	Jaune TDA/ Immédiat
URE	Urée	Uréase	Rouge/ orangé	Jaune
H₂S	Thiosulfate	Production d'H ₂ S	Dépôt noir/ fin liseré	Incolore/ grisâtre
CIT	Citrate de sodium	Utilisation du citrate	Bleu-vert/ vert	Vert pale/ jaune

Chapitre II : Matériel et méthodes

Test	Substrat	Caractère recherché	Résultats	
			Positif	Négatif
ODC	Ornithine	Ornithine décarboxylase	Rouge/ orangé	Jaune
LDC	Lysine	Lysine décarboxylase	Orangé	Jaune
ADH	Arginine	Arginine dihydrolase	Rouge/ orangé	Jaune
ONPG	Ortho-nitro-phenyl	Beta-galactosidase	Jaune	Incolore

II.4. Bioessais sur les chenilles de la pyrale des dattes

II.4.1. Préparation des suspensions bactériennes

À partir d'une culture bactérienne pure, quelques colonies ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine et introduite dans un tube à essai contenant 5ml de bouillon nutritif puis incubées à 32°C pendant 24 heures. Après cela on procède à la préparation des dilutions en prélevant aseptiquement 1 ml de la pré culture bactérienne en l'introduisant dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau physiologique stérile. Ainsi jusqu'à l'obtention de la dilution 10^{-5} (fig.2.5).

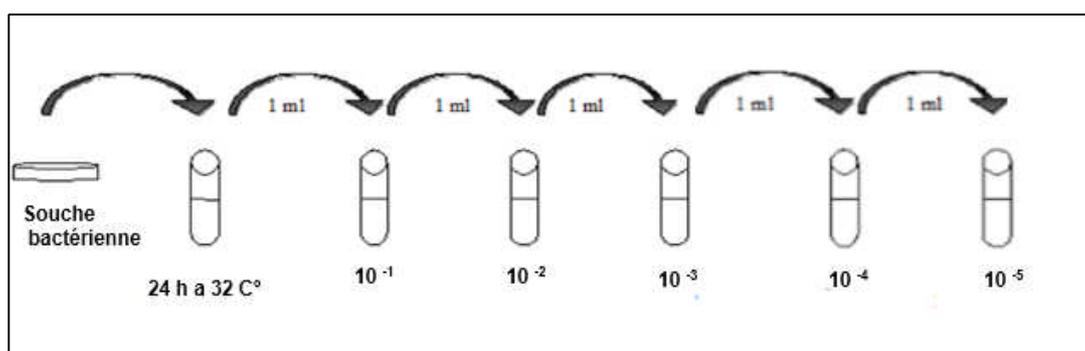


Figure 2.5. Préparation des suspensions bactériennes et des dilutions décimales.

II.4.2. Détermination des concentrations bactériennes

La densité optique est mesurée pour chaque dilution à une longueur d'ondes de 540 nm, pour le calcul des concentrations on a considéré que pour une densité optique égale à 1, la concentration de chaque solution équivaut 10^8 UFC/ml

Chapitre II : Matériel et méthodes

(Mezaache, 2012). Les dilutions utilisées correspondent aux concentrations suivantes (tableau 2.5.).

Tableau 2.3. Concentrations obtenues des deux souches bactériennes étudiées (UFC/ml: Unit Form Colony).

Type de traitement	Souche A3		Souche B.S.ET	
Par ingestion	D1	2,843×10 ⁸ UFC/ml	D'1	3×10 ⁸ UFC/ml
	D2	2,029×10 ⁸ UFC/ml	D'2	2,051×10 ⁸ UFC/ml
	D3	1,147×10 ⁸ UFC/ml	D'3	1,121×10 ⁸ UFC/ml
	D4	0,415×10 ⁸ UFC/ml	D'4	0,459×10 ⁸ UFC/ml
	D5	0,127×10 ⁸ UFC/ml	D'5	0,131×10 ⁸ UFC/ml
Par injection	D1	0,988×10 ⁸ UFC/ml	D'1	0,982×10 ⁸ UFC/ml
	D2	0,501×10 ⁸ UFC/ml	D'2	0,471×10 ⁸ UFC/ml

II.4.3. Mode d'application des traitements biologiques

A partir de notre élevage, les chenilles âgées du stade L4 et L5, ont été isolées, signalant que ces dernières ont été soumises à un jeun pendant 4 heures avant traitement pour induire un même niveau d'appétit.

II.4.3.1. Traitement par ingestion

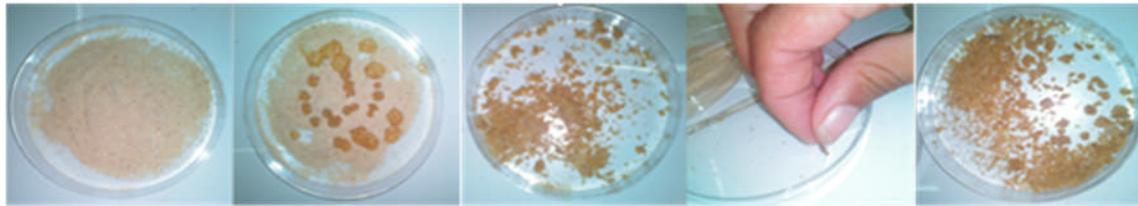
Pour l'application des traitements biologiques, la tête de la larve a été plongée dans la suspension bactériennes pendant quelques secondes, en suite la larve a été déposé dans la boîte de Pétrie.

Les suspensions bactériennes sont mélangées avec l'aliment (rouina de dattes) (fig 2.6) qui est donné aux larves pendant 24 heures, après cela, l'aliment traité est remplacé par un autre non traité.

Le lot traité est constituée d'un individu par boîte de Pétrie à raison de 4 boîtes par répétition et 3 répétitions par concentration.

- Les larves âgées groupées, les larves males et les larves femelles ont été traitées par 5 concentrations (Tab. 2.5.).
- Les larves âgées (L4 et L5) séparées ont été traitées par 2 concentrations (Tab. 2.5.).
- Le lot témoin a été traité avec l'eau physiologique stérile.

Chapitre II : Matériel et méthodes



- 1- Aliment (rouina de dattes).
- 2- L'aliment avec quelques gouttes de la suspension bactérienne.
- 3- Suspension bactérienne mélangée avec l'aliment.
- 4- La tête de la larve a traité plongée dans la suspension bactérienne.
- 5- La larve traitée dans l'aliment traité.

Figure 2.6. Les étapes de l'application du traitement biologique par ingestion (Originale, 2016).

Les boîtes de Pétrie sont placés dans une chambre à ambiance contrôlées ($T^{\circ} = 25-27C^{\circ}$, $H\% = 65-75\%$) et une photopériode : (16 heures de lumière / 8 heures d'obscurité).

Les observations sont réalisées chaque 24 h, durant une période de 22 jours pour le comptage des larves mortes, le suivi du développement des survivants et la pesée de l'aliment consommé et du poids des larves.

II.4.3.2. Traitement par injection

Les individus ont reçu par injection 20 μ l des suspensions bactériennes (fig.2.7.) sous la dernière patte. Les témoins ont reçu le même volume d'eau physiologique stérile, après cela les larves sont mises dans des boîtes de Pétri pour le prélèvement de l'hémolymphe 4 heures, 6 heures et 12 heures après l'application du traitement.



Figure 2.7. Traitement biologique par injection (Originale, 2106).

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.5. Les paramètres étudiés

Les paramètres choisis sont :

- L'effet létal.
- TL50 (temps létal pour 50% des individus).
- CL50 (concentration nécessaire pour tuer la moitié d'une population).
- L'effet sublétal sur :
 - a- La consommation des chenilles.
 - b- Le poids des larves.
 - c- Le taux du passage du stade L5 au stade chrysalide (nymphe).
 - d- Le taux d'émergence des papillons.
 - e- La composition en métabolites hémolymphatiques.

II.5.1. Calcul du pourcentage de mortalité

Des comptages de mortalités journalière ont eu lieu après traitement en suite le pourcentage de mortalité observée chez les larves témoins et traitées par les bactéries utilisées est calculé à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée} = \frac{\text{Nombre d'individus morts}}{\text{Nombre total d'individus}} \times 100$$

Pour confirmer que les larves d'*E. ceratoniae* traitées sont mortes par l'effet des deux isolats bactériens utilisés (A3 et B.S.ET), on a déposé les cadavres sur une gélose nutritive et on a incubée à 32 C° pendant 24h. Par la suite nous avons procédé à un examen macroscopique et microscopique.

II.5.2. Calcul des TL50

Avant de calculer les TL50, le pourcentage de mortalité observée est corrigé par rapport au témoin selon la formule d'Abot (1925).

Chapitre II : Matériel et méthodes

$$MC\% = \frac{M2 - M1}{100 - M1} \times 100$$

M1 : Pourcentage de mortalité chez les témoins.

M2 : Pourcentage de mortalité chez les traitées.

MC% : Pourcentage de mortalité corrigée.

Pour calculer les TL50 (temps létal pour 50% des individus) pour chaque concentration on a transformé le temps en logarithmes décimaux et les valeurs de mortalité corrigée en probits en se servant de la table des probits .Ceci nous permet d'obtenir des équations de droites de régression de type :

$$Y = ax + b$$

Y : Probit de mortalité corrigée **X** : Logarithme décimal du temps **a** : La pente.

Le TL50 sera égale à anti-Log 10, avec **x = Log 10** de temps correspondant au probit 5 sur le graphe, ou bien à partir des équations en remplaçant **Y** par le probit de 50 qui égale à 5.

II.5.3. Calcul des CL50

Pour calculer les CL50 (concentration nécessaire pour tuer la moitié d'une population) pour chaque bactérie, on a transformé les concentrations utilisées en logarithmes décimaux et les valeurs de pourcentages de mortalité en probits en servant de table des probits. Ceci nous permet d'obtenir des équations de droites de régression de type :

$$Y = ax + b$$

Y : Probit de mortalité corrigée.

X : Logarithme décimal de la concentration.

a : La pente.

A partir de ces équations, on a pu déterminer les CL50.

Chapitre II : Matériel et méthodes

II.6.Effet des bactéries sur la composition hémolympatique

Pour étudier ce paramètre, les larves d'*E.ceratoniae* ont été traitées par injection à raison de 5 individus par concentration.

II.6.1.Prélèvement de l'hémolymphe

L'hémolymphe a été prélevé après 4 heures, 6 heures et 12 heures d'application du traitement (fig.2.8.) suite à une blessure provoquée par une légère piqure appliquée au niveau de l'extrémité abdominale de la larve. Un volume de 10 μ l est prélevé par un capillaire, 5 μ l sont utilisés pour le dosage des protéines et 5 μ l pour le dosage des glucides.

On a conservée l'hémolymphe prélevée dans des tubes Eppendorff à -20°C jusqu'à son utilisation.

La majorité des individus traités par la forte concentration sont morts avant d'effectuer les prélèvements du 12 heures de l'hémolymphe.



Figure 2.8.Prélèvement de l'hémolymphe (Originale, 2106).

II.6.2.Dosage quantitatif des protéines

Le dosage des protéines a pour but de mesurer la teneur en protéines de l'hémolymphe des larves d'*E.ceratoniae* témoins et traitées aux isolats bactériens étudiés.

II.6.2.1.Principe de la méthode de Bradford

Le dosage des protéines est effectué selon la méthode de Bradford (1976), dont le principe est basé sur l'utilisation d'un colorant, le bleu de Coomassie brillant G-250a une couleur brune à cause du Ph bas de cette solution, mais vire au bleu lorsque son pKa change au contact de certains résidus d'une protéine (l'arginine

Chapitre II : Matériel et méthodes

principalement mais aussi l'histidine, la lysine, la tyrosine, le tryptophane et la phénylalanine), qui forme un complexe coloré, présentant un maximum d'absorption à 595 nm. La fixation de ce colorant aux protéines s'effectue très rapidement et le complexe protéine-colorant reste stable pendant une heure environ. Il faut souligner que la réaction n'est linéaire que dans une certaine gamme de concentration (Bertrand, 2007).

II.6.2.2. Technique de dosage

a) Préparation de réactif de Bradford (BBC)

On a dissout 10 mg de bleue de Coomassie G-250 dans 5 ml d'éthanol à 95° et on a agité la solution pendant 2h. Après agitation, on a ajoutée 10 ml d'acide orthophosphorique à 85% et on a complétée à 100 ml avec de l'eau distillé. La préparation de ce réactif doit être effectuée dans un flacon enveloppé avec du papier aluminium pour éviter sa détérioration suite à son contact avec la lumière.

b) Gamme d'étalonnage

Pour la préparation de la solution mère de sérum albumine bovine (BSA) de 1g/l, on a dissout un gramme de BSA dans un litre d'eau distillée et c'est à partir de cette solution mère que des dilutions à volume identique (100 ml) mais qui contiennent des concentrations croissantes et connues sont préparées afin de réaliser la courbe de référence. La gamme d'étalonnage de BSA pour le dosage de protéines correspond aux valeurs suivantes (Tab.2.4.).

Tableau 2.4. La gamme d'étalonnage de BSA pour le dosage de protéines.

BSA (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
BBC (ml)	4	4	4	4	4	4

c) l'échantillon à doser

On a versée dans une série de tube un volume de 5 µl de l'hémolymphe après sa décongélation dans des récipients contenant de l'eau fraîche, puis on a ajoutée 95 µl de l'eau distillé et 4 ml de réactif de Bradford (BBC). Après agitation au vortex, les tubes ont été incubés pendant 10 minutes à l'obscurité.

Chapitre II : Matériel et méthodes

On a procédé à la mesure de l'absorbance à 595 nm et en fin on a tracé la courbe d'étalonnage DO f [BSA] et on a déduit la concentration des protéines de chaque échantillon à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage (fig.1.annexe 3.b).

II.6.3.Dosage des glucides

Le dosage des glucides a pour but de mesurer la teneur en glucides de l'hémolymphe des larves d'*E.ceratoniae* témoins et traitées aux souches bactériennes étudiés.

II.6.3.1.Principe

La méthode colorimétrique de dosage des glucides par l'antrone repose sur le principe suivant : dissoute en milieu sulfurique concentré, l'antrone apparaît de couleur jaune claire et donne avec les solutions de glucides selon leur concentration une gamme assez lumineuse allant de vert au bleu-vert (Bachelier et Gavinelli, 1966).

II.6.3.2.Technique de dosage

a) préparation des solutions

On a dissoudre 0.15g d'antrone dans 75 ml d'acide sulfurique, puis on a ajoutée 25 ml de l'eau distillé et en suite on a préparé une solution mère de glucose (1g/l) comme standard.

b) Gamme d'étalonnage

La gamme d'étalonnage de glucose pour le dosage des glucides correspond aux valeurs suivantes (Tab.2.5.).

Tableau 2.5.La gamme d'étalonnage de glucose pour le dosage des glucides.

Glucose (µl)	0	20	40	60	80	100
Eau distillée (µl)	100	80	60	40	20	0
Antrone (ml)	4	4	4	4	4	4

c) Echantillon à doser

-Verser 5 µl de l'hémolymphe dans une série de tubes et on a ajoutée 95 µl d'eau distillé.

Chapitre II : Matériel et méthodes

- Ajouter 4 ml d'anthrone dans les tubes.
- Agiter au vortex.
- Incuber 10 minutes au bain marie à 80°C.
- Mesurer l'absorbance à 600 nm.
- Etablir la courbe d'étalonnage DO f [glucose] et déduire la concentration des glucides de chaque échantillon à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage (fig.2.annexe 3.b).

II.7.Analyse statistique

Pour confirmer l'efficacité des traitements biologiques effectués, les résultats obtenus sont soumis aux analyses statistiques. Pour cela nous avons fait appel à l'analyse de variance Model (GLM) (SYSTAT vers. 7.0, SPSS 1997) (Soft Web).

Ce type d'analyse est appliqué afin d'émaner si la moyenne d'une variable quantitative varie significativement selon les conditions étudiées. Dans notre étude nous avons alors utilisé le modèle linéaire global (GLM). Les valeurs de $p \leq 0,05$ sont considérées statistiquement significatives.

Chapitre III : Résultats

Dans ce chapitre, nous allons présenter les résultats obtenus au cours du présent travail.

III. Identification taxonomique des isolats bactériens

Les figures de quelques tests bactériologiques sont mentionnées en annexe 4. Les résultats obtenus sont comme suit :

III .1. Tests culturaux et macroscopiques

III .1.1. Examen macroscopique sur milieu solide

La culture de la bactérie sur gélose nutritive nous a permis d'obtenir des colonies bien isolées (annexe. 4)

Les caractères macroscopiques des isolats bactériens sont résumés dans le tableau 3.1.

Tableau 3.1. Caractéristiques culturelles des isolats sur milieu solide (GN).

CBI : circulaire à bord irrégulier, **CBR** : circulaire à bord régulier, **PL** : plate, **S** : lisse, **Ab** : absence.

Isolats	Forme	Diamètre	Couleur	Opacité	Élévation	Surface	Consistance	Odeur
A3	CBI	2,6 mm	Blanchâtre	Translucide	PL	S	Visqueuse	Ab
B.S.ET	CBR	1,8 mm	Beige	Translucide	PL	S	Visqueuse	Ab

III.1.2. Examen macroscopique sur milieu liquide

L'étude des caractéristiques culturelles sur milieu liquide (bouillon nutritif) après 24h d'incubation à 32°C a permis d'obtenir certains résultats (tableau 3.2.) : (+) : Présence. (-) : Absence.

Tableau 3.2. Caractéristiques culturelles sur milieu liquides.

Isolats	Anneau	Voiles	Troubles homogènes	Troubles hétérogènes	Culot
A3	+	+	+	-	-
B.S.ET	+	+	+	-	-

III.2. Tests microscopiques des isolats

L'observation au microscope photonique des cellules à l'état frais, après coloration simple au bleu de méthylène, coloration de Gram et la coloration de la spore ; nous a montré que les deux isolats bactériens ont la forme de

Chapitre III : Résultats

bâtonnets longs à extrémités arrondies elles sont arrangés en cellules isolées, ou regroupés en chainettes, à Gram positif et sporulantes.

La spore présente une position sub-termianle. Elle est ronde et apparait tel un espace clair réfringent.

III. 3. Les tests biochimiques

Les résultats des différents tests biochimiques réalisés sont consignés sur le tableau 3.3.

Tableau 3.3. Caractérisation physiologique et biochimique des isolats utilisés

A-a-f : aérobie-anaérobie facultatif + (v) : + (variable tant vers le marron)

	Caractérisation biochimique	Souche bactérienne	
		A3	B.S.ET
Tests classiques	Oxydase	+	+
	Catalase	+	+
	Type respiratoire	A-a-f	A-a-f
	Nitrate réductase (NR)	+	+
	Rouge de méthyle (RM)	+	+
	Voges-Proskauer (VP)		
	Citrate	+	+
	Mannitol	-	-
	Mobilité	+	+
	Amidon	+	+
	Caséine	+	+
	Lécithine	-	-
	Culture à 45°C	+	+
	Culture à 55°C	-	-
	Culture à 65°C	-	-
Galerie Api 20 ^E	ARA	-	-
	AMY	-	-
	MEL	-	-
	SAC	-	-
	RHA	-	-
	SOR	-	-
	INO	-	-
	MAN	-	-
	GLU	-	-
	GEL	+	+
	VP	+	+
	IND	-	-
	TDA	-	+ (v)
	URE	+	+
	H ₂ S	+	+
	CIT	+	+
	ODC	+	-
	LDC	+	+
	ADH	+	+
	ONPG	+	+

Chapitre III : Résultats

III.4 : Identification taxonomique préliminaire des isolats bactériens

La classification spécifique des deux isolats bactériens étudiés a été basée essentiellement sur des tests morphologiques, physiologiques et biochimiques (Tab.3.4.).

Tableau 3.4. Classification des isolats bactériens selon Guiraud (2003).

Tests	A3	B.S.ET	<i>B. subtilis</i>
Groupe selon Priest	II	II	II
Position de la spore	C	C	C
Culture anaérobie	-	-	-
Mobilité	+	+	+
Retard sur glucose			-
Acétone	+	+	+
Indole	-	-	-
Citrate	+	+	V
Amidon	+	+	+
Caséine	+	+	+
Gélatine	+	+	+
Lécithine	+	+	-
Uréase	+	+	-
Nitrate	+	+	+
Culture à 45°C	+	+	+
Culture à 55°C	-	-	V
Culture à 65°C	-	-	-
VP	+	+	+
Catalase	+	+	+

D'après la classification proposée par Guiraud (2003), les deux isolats bactériens utilisés (A3 et B.S.ET) sont probablement des *Bacillus subtilis*.

III.5. Evaluation des effets des traitements bactériologiques

III.5.1 Symptômes

Chez les individus morts suite au traitement, nous avons remarqué un noircissement du corps et les larves apparaissent momifiées (figure 3.1). Une déformation est remarquée chez les survivants au niveau de l'abdomen après l'émergence et la sortie des papillons (fig.3.2.).

Chapitre III : Résultats



Figure 3.1. Symptômes observés chez les larves mortes d'*Ectomyelois ceratoniae* (A : larve saine, B : larves traitées).



Figure 3.2. Symptômes observés chez les papillons d'*Ectomyelois ceratoniae* émergés (A : papillon sain, B : papillon traitée).

La culture des cadavres sur une gélose nutritive nous a permis d'obtenir des colonies bactériennes autour des cadavres identiques aux colonies des isolats bactériens utilisés lors du traitement (Forme, diamètre, couleur, opacité, élévation, surface, consistance et odeur).

III.5.2. Evaluation de l'effet létal des isolats bactériens étudiés

III.5.2.1. Effet des deux isolats bactériens sur la mortalité chez les larves âgées groupées

La mortalité des chenilles a été évaluée sous l'effet des doses des suspensions bactériennes, de la souche testée, du stade larvaire durant une période de 22 jours. On peut distinguer une différence, dans la mortalité des chenilles témoins et traitées de la pyrale sous l'effet des 5 doses testées.

En effet, les témoins ne montrent pas de mortalité durant les premiers 7 jours ; les mortalités apparaissent à partir du 8^{ème} jour et elles augmentent

Chapitre III : Résultats

légèrement jusqu'au 22^{ème} jour. Chez les larves traitées par l'isolat A3, la mortalité augmente graduellement du 1^{er} au 9^{ème} avec les doses $2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$ UFC/ml pour atteindre un taux de 100% au 9^{ème} jour. Le même effet se produit avec les doses: $1,147 \times 10^8$, $D4 : 0,415 \times 10^8$ et $0,127 \times 10^8$ UFC/ml. Le taux de mortalité semble être très faible durant les 8 premiers jours, ce taux augmente à partir du 9^{ème} jour mais reste stable jusqu'au 22^{ème} jour et ne dépassent pas les 50% (annexe 5.).

Sous l'effet du second isolat bactérien «B.S.ET», le taux de mortalité chez les témoins parait très faible et commence à partir du 8^{ème} jour et augmente légèrement jusqu'au 22^{ème} jour. En revanche, le taux de mortalités augmente graduellement dans le temps du 1^{er} au 9^{ème} jour après l'application des deux doses: 3×10^8 et $2,051 \times 10^8$ UFC/ml, ces deux doses semblent un même taux de mortalité égal à 100% le 9^{ème} jour (annexe 5.). Le taux de mortalité semblent être très faible pour les 8 et 11 premiers jours pour la dose $0,131 \times 10^8$ UFC/ml et $1,121 \times 10^8$ respectivement, ce taux augmente mais reste stable jusqu'au 22^{ème} jour et ne dépassent pas les 50% (annexe 5.).

Le tableau 3.5. avec la figure 3.3 indiquent les analyses des variations comparées des mortalités corrigées des chenilles âgées des deux sexes confondus. Les différences sont très hautement significatives au cours du et entre les 5 doses testées de chaque isolat bactérien après traitement. En revanche, il n'ya pas de différence d'efficacité entre les deux isolats bactériens « A3 » et « B.S.ET » (Fig. 3.3. et Tab. 3.5.).

Tableau 3.5. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens sur la mortalité des larves âgées groupées.

(***très hautement significatif, ms : marginalement significatif $p=6\%$).

Source	Type III SS	ddl	Carrés moyens	F-ratio	p-value
Jours	66 019,459	21	3 143,784	7,764	0***
Doses	147 574,041	9	16 397,116	40,497	0***
Isolats bactériens	1 403,018	1	1 403,018	3,465	0,064ms
Erreur	85 027,830	210	404,894		

Chapitre III : Résultats

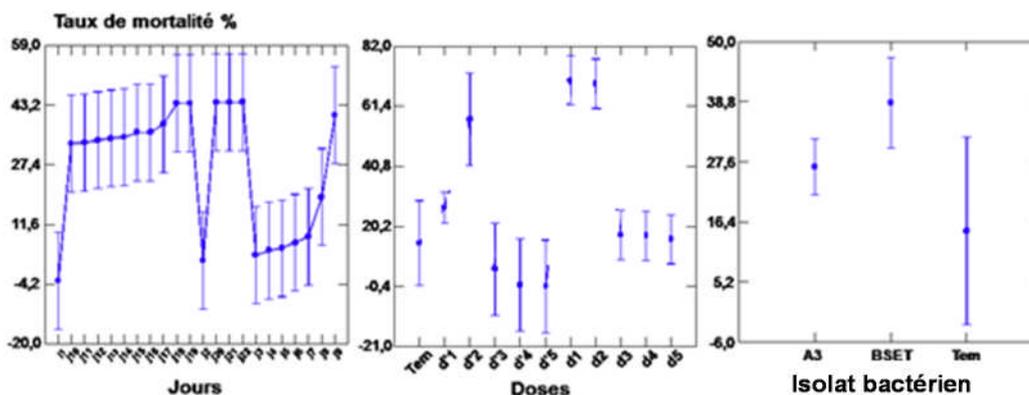


Figure 3.3. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de *B. subtilis* étudiés sur la mortalité des larves âgées groupées de la pyrale.

III.5.2.2. Effet des deux isolats bactériens sur la mortalité des larves mâles et femelles

III.5.2.2.1. Effet chez les chenilles mâles

On remarque une différence dans le taux de la mortalité des chenilles mâles de la pyrale chez les témoins et les traitées sous l'effet des 3 doses de l'isolat «A3». Le taux de mortalité enregistré chez les chenilles mâles témoins est nul durant les 8 premiers jours. A partir du 9^{ème} jour, la mortalité augmente faiblement dans le temps. Chez les chenilles mâles traitées par la souche A3, le taux de mortalité augmente graduellement dans le temps du 1^{er} au 22^{ème} jour après l'application des deux doses D1 ($1,147 \times 10^8$) et D3 ($0,127 \times 10^8$) UFC/ml. Avec la dose D2 ($0,415 \times 10^8$ UFC/ml), le taux de mortalité est nul durant les 3 premiers jours, il augmente graduellement dans le temps jusqu'au 10^{ème} jour et reste stable jusqu'au 22^{ème} (annexe 5.).

Sous l'effet du deuxième isolat bactérien «B.S.ET», le taux de mortalité augmente graduellement dans le temps du 1^{er} au 9^{ème} et au 16^{ème} jour après l'application des deux doses D1 ($1,121 \times 10^8$) et D2 ($0,459 \times 10^8$) UFC/ml, puis il reste stable jusqu'au 22^{ème} jour, pour la dose D2 ($0,459 \times 10^8$ UFC/ml) le taux de mortalité est nulle premier jour et augmente graduellement dans le temps jusqu'au 10^{ème} jour et reste stable jusqu'au 22^{ème} (annexe 5.).

Chapitre III : Résultats

III.5.2.2.2. Effet chez les chenilles femelles

Comme pour les chenilles mâles, il est remarqué une différence dans la mortalité des larves âgées femelles de la pyrale chez les témoins et les traitées sous l'effet des 3 doses des deux souches bactériennes.

Sous l'effet du premier isolat «A3», le taux de mortalité observé chez les témoins est nul durant les 9 premiers jours, à partir du 10^{ème} jour il augmente faiblement dans le temps. Le taux de mortalité augmente graduellement dans le temps du 1^{er} au 10^{ème}, 11^{ème} et 12^{ème} chez les chenilles traitées par les doses D2 ($0,415 \times 10^8$), D1 ($1,147 \times 10^8$) et D3 ($0,127 \times 10^8$) UFC/ml respectivement, puis il reste stable jusqu'au 22^{ème} jour (annexe 5.).

Sous l'effet du deuxième isolat bactérien «B.S.ET», le taux de mortalité des chenilles femelles témoins augmente légèrement dans le temps jusqu'au 22^{ème} jour. Après traitement par les doses D'1 ($1,121 \times 10^8$), D'2 ($0,459 \times 10^8$) et D'3 ($0,131 \times 10^8$) UFC/ml, la mortalité augmente graduellement dans le temps du 1^{er} au 11^{ème} jour, puis reste stable jusqu'au 22^{ème} jour (annexe 5.).

III.5.2.2.3. Analyse comparée de la mortalité des larves mâles et femelles sous l'effet des isolats bactériens utilisés

Le tableau 3.6. et la figure 3.4 mentionnent les analyses des variations comparées des mortalités corrigées des chenilles âgées mâles et femelles de la pyrale des dattes qui ont montrés une différence hautement significative entre les jours, les 3 doses appliquées de chaque isolat bactérien, les deux isolats bactérien « A3 » et « B.S.ET » et le sexe des chenilles après traitement (Fig. 3.4. et Tab. 3.6.).

Tableau 3.6. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens sur la mortalité des larves mâles et femelles

Source	Type III SS	ddl	Carrés moyens	F-ratio	p-value
Jours	10 261,325	21	488,635	36,103	0***
Doses	1 709,065	4	427,266	31,569	0***
Isolats bactériens	462,58	2	231,29	17,089	0***
Sexe	403,847	2	201,923	14,919	0***
Erreur	3 762,553	278	13,534		

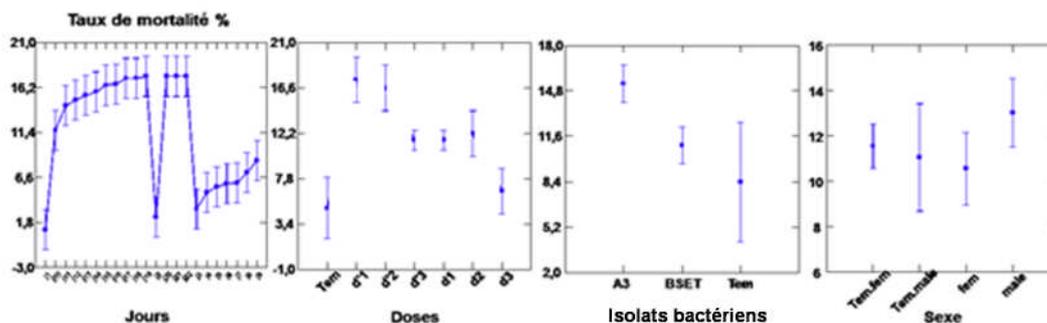


Figure 3.4. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de *B. subtilis* étudiés sur la mortalité des larves mâles et femelles de la pyrale

III.5.2.3. Effet des deux isolats bactériens sur la mortalité des larves âgées (L4 et L5) séparées

Le taux de mortalité chez les larves du 4^{ème} et 5^{ème} stade larvaire est nul durant les 9 jours d'application du traitement bactérien.

Le taux de mortalités observé chez les chenilles du stade larvaire L4 traitées par l'isolat bactérien « A3 » est nul du 1^{er} au 4^{ème} jour, puis il augmente du 4^{ème} au 8^{ème} jour après l'application de la dose D1 ($2,843 \times 10^8$) avec un taux de mortalité égale à 100%. Après l'application de la dose D2 ($2,029 \times 10^8$) UFC/ml, la mortalité commence dès le 1^{er} jour du traitement et augmente jusqu'au 7^{ème} jour avec un taux de 100% (annexe 6). Pour les chenilles du stade larvaire L5 traitées avec les mêmes doses que pour les chenilles L4, le taux de mortalité commence à partir du 2^{ème} et du 6^{ème} jour pour la dose D1 ($2,843 \times 10^8$) et D2 ($2,029 \times 10^8$) UFC/ml et atteint 100% au j8 et j9 respectivement (annexe 5.).

Le taux de mortalités observé chez les chenilles du stade larvaire L4 traitées par l'isolat bactérien «B.S.ET» D2 ($2,029 \times 10^8$) et D1 ($2,843 \times 10^8$) UFC/ml est nul jusqu'aux 6^{ème} et 7^{ème} jours, puis il augmente et atteint 100% au 9^{ème} jour (annexe 5.). Pour les larves du stade larvaire L5 traitées avec les mêmes doses que les larves L4, le taux de mortalité commence à partir du 1^{er} et du 2^{ème} jour pour la dose D2 ($2,029 \times 10^8$) et D1 ($2,843 \times 10^8$) UFC/ml pour atteindre un taux de 100% au 9^{ème} jour (annexe 5.).

Chapitre III : Résultats

III.5.2.3.1. Analyse comparée de la mortalité des larves âgées (L4 et L5) séparées sous l'effet des isolats bactériens utilisés

L'analyse a révélé une différence hautement significative entre les jours et les doses appliquées de chaque isolat bactérien, une différence significative entre les deux stades larvaires (L4 et L5) et une différence non significative entre les deux isolats bactériens « A3 » et « B.S.ET » et le sexe des chenilles après traitement (Fig. 3.5. et Tab. 3.7.).

Tableau 3.7. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens sur la mortalité des larves âgées séparées

Source	Type III SS	ddl	Carrés moyens	F-ratio	p-value
Stade larvaire	6 375,347	1	6 375,347	12,025	0,001*
Jours	58 287,281	9	6 476,365	12,216	0***
Doses	10 673,860	3	3 557,953	6,711	0***
Isolats bactériens	2 571,829	2	1 285,914	2,425	0,095ns
Erreur	39 232,251	74	530,166		

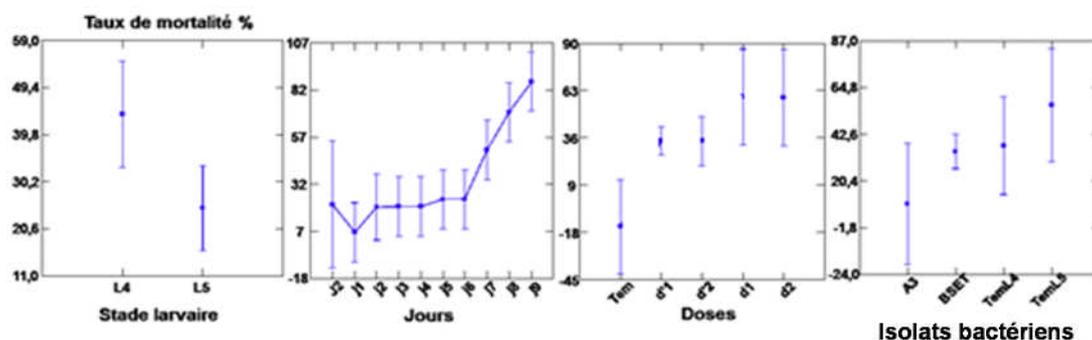


Figure 3.5. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de *B. subtilis* étudiés sur la mortalité des larves âgées séparées de la pyrale

III.5.3. Evaluation des TL50

Nous avons procédé au calcul des temps létaux au bout des quels 50% des individus d'*E.ceratoniae* sont morts (TL50) suite à leur traitement par les deux isolats bactériens A3 et B.S.ET.

Pour cela, nous avons transformé en probits les valeurs des pourcentages de mortalité corrigée et les jours en logarithmes décimaux. Les valeurs obtenues par ces transformations ont permis de tracer les droites de

Chapitre III : Résultats

régressions avec leurs équations (annexe 6). Ainsi les TL50 relatifs à chaque dose prise en compte sont établis dans les tableaux (3.8 ,3.9 et 3.10).

III.5.3.1. Calcul des TL50 chez les larves âgées groupées

D'après les résultats obtenus, on remarque que les valeurs de $R^2 < 1$.

Selon les résultats mentionnées au niveau du tableau (3.8), on constate que les valeurs des TL50 chez les larves âgées groupées traitées par l'isolat (A3) varie entre 1 et 3 jours et celles traitées par l'isolat (B.S.ET) varie entre 1 et 4 jours.

Les temps létaux pour 50% des individus varient en fonction des bactéries et des concentrations appliquées.

Tableau 3.8. Valeurs des TL50 des larves âgées groupées d'*E.ceratoniae* traitées par les isolats bactériens étudiés.

		Doses	L'équation de la droite de régression	Coefficient de corrélation R^2	TL50
Larves âgées groupées	A3	D1	$y = 7,0352x - 0,0128$	0,8698	1 j 22min
		D2	$y = 5,4293x + 1,4746$	0,6999	1 j 18min
		D3	$y = 3,6449x + 0,4056$	0,8018	3 j 10min
		D4	$y = 2,3625x + 1,6887$	0,6475	3 j 19min
		D5	$y = 2,2671x + 1,7322$	0,6134	3 j 22min
	B.S.ET	D'1	$y = 5,2292x + 1,6542$	0,7381	1 j 17min
		D'2	$y = 6,5203x + 0,3209$	0,8372	1 j 22min
		D'3	$y = 1,9671x + 2,0514$	0,5391	4 j 1min
		D'4	$y = 1,6609x + 2,0534$	0,455	4 j 19min
		D'5	$y = 1,8353x + 1,9199$	0,5381	4 j 13min

III.5.3.2. Calcul des TL50 chez les larves mâles et femelles

D'après les résultats mentionnés au niveau du tableau (3.9), on remarque que les valeurs des TL50 chez les larves mâles et femelles varient entre 3 - 8 jours et 3 - 7 jours respectivement pour les deux isolats bactériens utilisés.

Chapitre III : Résultats

En effet, les temps létaux pour 50% des individus varient en fonction des bactéries, des concentrations appliquées et du sexe.

Tableau 3.9. Valeurs des TL50 des larves mâles et femelles d'*E.ceratoniae* traitées par les isolats étudiés.

		Doses	L'équation de la droite de régression	Coefficient de corrélation R ²	TL50
Larves mâles	A3	D1	$y = 0,9368x + 3,1026$	0,7662	5 j 12min
		D2	$y = 4,1676x - 0,3088$	0,8028	3 j 11min
		D3	$y = 0,5472x + 3,2491$	0,6824	8 j 16min
	B.S.ET	D'1	$y = 0,7422x + 3,3419$	0,9045	6 j 1min
		D'2	$y = 2,4663x + 1,5659$	0,686	3 j 18min
		D'3	$y = 0,5525x + 3,2341$	0,5849	8 j 16min
Larves femelles	A3	D1	$y = 2,1682x + 1,7454$	0,5932	4 j 1min
		D2	$y = 2,424x + 1,7103$	0,6506	3 j 16min
		D3	$y = 3,79x - 0,1577$	0,7561	3 j 88min
	B.S.ET	D'1	$y = 3,4241x + 0,4592$	0,767	3 j 14min
		D'2	$y = 0,5233x + 3,4958$	0,6898	7 j 19min
		D'3	$y = 3,7712x - 0,139$	0,7491	3 j 16min

III.5.3.3. Calcul des TL50 chez les larves âgées (L4 et L5) séparées

Les temps létaux pour 50% des individus varient en fonction des bactéries, des doses appliquées et des stades larvaires. On remarque que les valeurs de $R^2 < 1$, donc la corrélation est dite positive, ces valeurs sont proches de 1 ce qui signifie que la mortalité et le temps sont fortement corrélés.

D'après le tableau (3.10), on remarque que les valeurs des TL50 chez les larves traitées par la souche (A3) varie entre 1 et 2 jours et celles traitées par (B.S.ET) varie entre 1 et 3 jours.

En parallèle, on a enregistré des DL50 comprise entre 1 et 3 chez les chenilles L5 traitées par l'isolat (A3) et un temps de 2 jours pour celles traitées par l'isolat (B.S.ET).

Chapitre III : Résultats

Tableau 3.10. Valeurs des TL50 des larves âgées séparées (L4) et (L5) d'*E.ceratoniae* traitées par les isolats bactériens étudiés.

		Doses	L'équation de la droite de régression	Coefficient de corrélation R ²	TL50
Larves âgées L4	A3	D1	$y = 9,4309x - 2,4483$	0,7109	2 j 3min
		D2	$y = 7,4307x + 0,8278$	0,8121	1 j 12min
	B.S.ET	D'1	$y = 5,1338x - 1,7727$	0,3028	1 j 17min
		D'2	$y = 6,3382x - 2,0713$	0,4358	3 j
Larves âgées L5	A3	D1	$y = 6,4859x + 0,7014$	0,7062	1 j 19min
		D2	$y = 6,2638x - 2,0322$	0,4333	3 j 1min
	B.S.ET	D'1	$y = 6,6878x - 0,756$	0,7313	2 j 56min
		D'2	$y = 5,6829x + 0,3967$	0,7015	2 j 52min

III.5.4. Evaluation des DL50

Nous avons procédé au calcul des concentrations qui tuent 50% des individus d'*E.ceratoniae* (DL50) pour les deux bactéries testées «A3» et «B.S.ET» après des délais variables entre le traitement et l'observation des mortalités.

Les valeurs des pourcentages de mortalités transformés en probits et les doses transformés en logarithmes décimaux ont permis de tracer les droites de régressions avec leurs équations qui sont illustrées en annexe 7. Ainsi les DL50 relatifs à chaque traitement pris en compte sont établis dans les tableaux (3.11, 3.12 et 3.13).

III.5.4.1. Calcul des DL50 chez les larves âgées groupées

D'après les résultats obtenus sur les tableaux 3.11, 3.12 et 3.13, on remarque que les valeurs de R² sont toutes comprises entre 0 et 1, la corrélation est donc positive, ces valeurs sont presque toutes proches de 1 ce qui signifie que la mortalité et les concentrations sont fortement corrélés, à l'exception de l'isolat B.S.ET (les larves mâles) on n'a pas pu calculer sa DL50 correspondante.

Il se révèle aussi selon les tableaux 3.11, 3.12 et 3.13, que les concentrations létales pour 50% des individus varient dans le temps et en fonction des bactéries et plus le temps augmente, la DL50 augmente. En effet,

Chapitre III : Résultats

les DL50 les plus faibles sont obtenues le 11 et le 7 jours avec $5,27 \times 10^8$ et $9,78 \times 10^8$ UFC/ml par l'isolat A3 (femelles et larves âgées séparées L4 respectivement).

Les DL50, les plus élevées sont enregistrées le 8^{eme} et le 11^{eme} jours pour l'isolat A3 et B.S.ET avec $107,07 \times 10^8$ et $43,71 \times 10^8$ UFC/ml larves âgées groupées et larves femelles) respectivement

Il se révèle aussi selon, que les concentrations létales pour 50% des individus varient dans le temps en fonction des bactéries et du sexe des larves.

Tableau 3.11. Equations de droites de régression, coefficients de corrélation et les valeurs des DL50 des larves âgées groupées d'*E.ceratoniae* traitées par les isolats bactériens A3 et B.S.ET.

	Isolat bactérien	Temps	L'équation de la droite de régression	Coefficient de corrélation R ²	DL50 (UFC/ml)
Larves âgées groupées	A3	8 jours	$y = 0,0496x + 3,1275$	1	$107,07 \times 10^8$
	B.S.ET	8 jours	$y = 0,0487x + 3,2174$	0,9999	$36,60 \times 10^8$

III.5.4.2. Calcul des DL50 chez les larves mâles et femelles

Selon le tableau (3.12), on distingue que les valeurs des DL50 chez les larves mâles diffère du celles des larves femelles avec un intervalle de [$5, 27 \times 10^8$ - $43,71 \times 10^8$] noté par les femelles traitées par les deux souches et une valeur de $15,44 \times 10^8$ chez les larves mâles traitées par la (A3).

Tableau 3.12. Equations de droites de régression, coefficients de corrélation et les valeurs des DL50 des larves mâles et femelles d'*E.ceratoniae* traitées par les isolats bactériens A3 et B.S.ET.

	Isolat bactérien	Temps	L'équation de la droite de régression	Coefficient de corrélation R ²	DL50 (UFC/ml)
Larves mâles	A3	9 jours	$y = 0,0381x + 3,378$	0,9997	$15,44 \times 10^8$
	B.S.ET	10 jours	$y = -0,2859x + 4,358$	0,1924	Non révélé
Larves femelles	A3	11 jours	$y = 0,5813x + 3,871$	0,9073	$5,27 \times 10^8$
	B.S.ET	11 jours	$y = 0,2663x + 3,994$	0,1759	$43,71 \times 10^8$

Chapitre III : Résultats

III.5.4.3. Calcul des DL50 chez les larves âgées séparées (L4 et L5)

D'après le tableau (3.13), les valeurs des DL50 des larves L4 traitées par la (A3) sont faibles on comparant celles du (B.S.ET) et celles des larves L5 traitées par la (A3) sont plus importantes que les DL50 des (B.S.ET).

Tableau 3.13. Equations de droites de régression, coefficients de corrélation et les valeurs des TL50 des larves âgées séparées (L4) et (L5) d'*E.ceratoniae* traitées par les isolats bactériens A3 et B.S.ET.

	Isolat bactérien	Temps	L'équation de la droite de régression	Coefficient de corrélation R ²	DL50 (UFC/ml)
Larves L4	A3	7 jours	$y = 1,4919x - 0,3688$	1	$9,78 \times 10^8$
	B.S.ET	8 jours	$y = 1,178x - 0,2509$	1	$12,11 \times 10^8$
Larves L5	A3	8 jours	$y = 0,4993x + 0,0808$	1	$26,78 \times 10^8$
	B.S.ET	7 jours	$y = 1,0382x - 0,1842$	1	$13,57 \times 10^8$

III.5.5. Evaluation de l'effet des isolats bactériens étudiés sur la consommation des chenilles de la pyrale

Les quantités de nourriture traitées par les suspensions bactériennes ont été présentées dans un premier temps à des groupes de 4 chenilles disposées dans une même boîte d'abord avec des individus âgés tout stade confondu puis avec des chenilles mâles et femelles. Ensuite, dans une seconde expérimentation, la nourriture traitée est donnée à des individus de stade précis L4 et L5, pris séparément dans des boîtes individuelles.

Les quantités d'aliment ingéré par les différents lots de chenilles ont été évaluées sous l'effet des 5 doses testées, de l'isolat bactérien testé, du stade larvaire mâle ou femelle durant une période allant de 10 à 22 jours.

III.5.5.1. Effet sublétal des deux isolats bactériens sur la quantité d'aliment ingérée chez les larves âgées groupées

On peut distinguer une différence dans la nourriture consommée par les chenilles témoins et traitées de la pyrale sous l'effet des 5 doses testées des suspensions bactériennes des deux isolats.

Chapitre III : Résultats

En effet, si la quantité ingérée non traitée enregistrée chez les larves âgées témoins augmente graduellement du 1^{er} jour au 10^e jour puis elle tend à se stabiliser jusqu'au 19^e jour, celle traitée par l'isolat A3 du Bs, s'annule entre le 9^e et le 14^e jour selon la dose administrée (annexe 8.). Ainsi, les doses de $2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$ UFC/ml semblent induire une inhibition totale de l'alimentation des chenilles au bout du 9^e jour après traitement, suivie par la mortalité de toutes les larves, observée durant notre expérimentation. Le même effet se produit avec l'aliment traité aux doses D5 : $0,127 \times 10^8$, D3 : $1,147 \times 10^8$ et D4 : $0,415 \times 10^8$ UFC/ml, où les chenilles s'arrêtent de s'alimenter aux jours J11, J13 et J14 respectivement (annexe 8.c.).

Sous l'effet du second isolat bactérien «B.S.ET», la quantité ingérée non traitée enregistrée chez les larves âgées témoins augmente graduellement du 1^{er} jour au 5^e jour puis elle diminue en se stabilisant jusqu'au 16^e jour. En revanche, aucune nourriture n'est ingérée dans les lots de chenilles auxquelles a été présenté l'aliment traité et cela entre le 9^e et le 13^e jour selon la dose administrée, suivie par la mortalité de toutes les larves, (annexe 8.).

En comparaison avec les lots témoins où les chenilles cessent de s'alimenter plus tard au 16^e jour, les doses de D'1 : 3×10^8 et D'2 : $2,051 \times 10^8$ UFC/ml semblent induire une inhibition totale de l'alimentation au bout du 9^e jour après traitement. Avec l'aliment traité aux doses D'5 : $0,131 \times 10^8$, D'3 : $1,121 \times 10^8$ et D'4 : $0,459 \times 10^8$ UFC/ml., les chenilles s'arrêtent de s'alimenter au jour J13 respectivement (annexe 8.)

Les tableaux (3.14a. et 3.14b.) avec la figure 3.6 indiquent les analyses des variations comparées de la quantité d'aliment ingéré par les chenilles âgées des deux sexes confondus. Une première évaluation a été réalisée sur une période de 10 jours seulement car nous avons enregistré des mortalités importantes des individus, respectivement avec les doses D1, D2, D'1 et D'2. Pour cette raison, d'autres dilutions plus faibles ont été testées et une deuxième évaluation de la nourriture consommée a été faite sur une période de 22 jours en observant les effets des doses D3, D4, D5 et D'3, D'4 et D'5 des deux isolats respectives.

Chapitre III : Résultats

Tableau 3.14. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens sur la consommation des larves âgées groupées.

Source	Type SS	ddl	Carrés moyen	F-ratio	p-value	Source	Type SS	ddl	Carrés moyen	F-ratio	p-value
Jours	3 055,5	9	339,5	3,54	0,003**	Jours	27 213,4	21	1 295,88	15,25	0***
Doses	758,45	3	252,82	2,636	0,064	Doses	698,436	5	139,687	1,644	0,153ns
Isolat	123,41	1	123,417	1,287	0,264ns	Isolat	10,125	1	10,125	0,119	0,731ns
Erreur	3 452,4	36	95,90			Erreur	10 706,5	126	84,972		
a : doses (D1, D2 et D'1, D'2)/10 jours.						b : doses (D3, D4, D5 et D'3, D'4, D'5)/22 jours.					

Pour les deux évaluations, le test du GLM n'a pas révélé de différence significative quant à l'effet de l'isolat (tab. 3.14 a et b). En effet, au niveau des lots témoins, on observe relativement une quantité ingérée plus élevée par rapport à celles enregistrées au niveau des lots traitées et qui semblent similaires (figure 3.6).

L'effet dose diffère significativement (p marginale=6%, tab. 3.14a) durant une période de 10 jours mais n'est pas significatif avec les doses testées sur la période de 22 jours (tab. 3.14b). (figure. 3.6).

Enfin, durant les deux périodes d'observation, il apparaît une différence hautement à très hautement significative des quantités consommées (tab. 3.14 a et b) Ainsi, la quantité d'aliment ingérée par les chenilles âgées de la pyrale augmente jusqu'au 10^e jour, puis elle diminue en se stabilisant jusqu'au 22^e jour après traitement par les isolats bactériens (A3 et B.S.ET) avec une quantité très importante enregistrée sous l'effet de la dose D1 et une faible quantité enregistrée pour l'effet de la dose D5. L'isolat «B.S.ET» semble induire un appétit aux chenilles de la pyrale par rapport à l'isolat «A3», en comparaison avec le témoin. Comparativement, les doses D2 et D'4 ont conduit à une ingestion plus faible de l'aliment, (Fig.3.6).

Chapitre III : Résultats

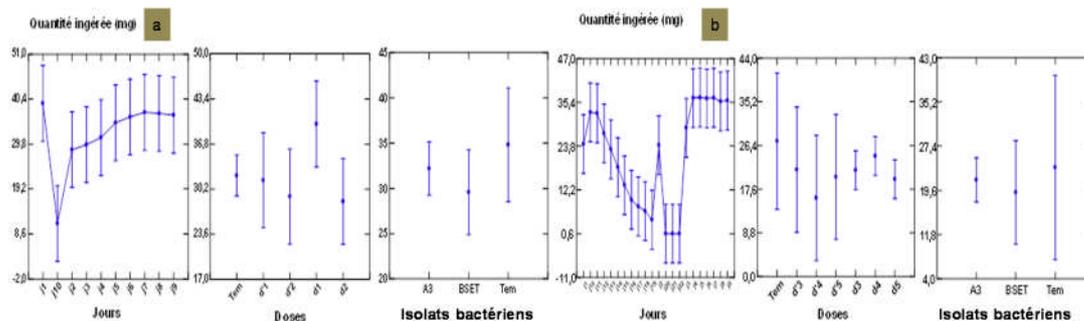


Figure 3.6. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de *B. subtilis* étudiés sur les larves âgées groupées de la pyrale.

III.5.5.2. Effet des deux isolats bactériens sur la quantité d'aliment ingérée chez les larves mâles et femelles

III.5.5.2.1. Effet chez les chenilles mâles

On remarque une différence dans la nourriture consommée par les chenilles mâles de la pyrale chez les témoins et les traitées sous l'effet des 3 doses de l'isolat «A3». La quantité ingérée par les témoins augmente graduellement du 1^{er} jour au 5^e jour puis elle tend à se stabiliser jusqu'au 13^e jour. Le même effet est enregistré par l'aliment traité aux doses D1 ($1,147 \times 10^8$), D2 ($0,415 \times 10^8$) et D3 ($0,127 \times 10^8$) UFC/ml, où les chenilles s'arrêtent de s'alimenter aux jours J12 et J13 respectivement (annexe 8.).

Sous l'effet du deuxième isolat bactérien «B.S.ET», la quantité non traitée ingérée par les larves mâles témoins augmente graduellement du 1^{er} jour au 9^e jour puis elle diminue en se stabilisant jusqu'au 18^e jour. Celle traitée par l'isolat bactérien « B.S.ET » s'annule entre le 17^e et le 18^e jour selon la dose administrée D'3 ($0,131 \times 10^8$), D'1 ($1,121 \times 10^8$) et D'2 ($0,459 \times 10^8$) UFC/ml (annexe 8.).

III.5.5.2.2. Effet chez les chenilles femelles

Comme pour les chenilles mâles, il est remarqué une différence dans la nourriture consommée par les larves âgées femelles de la pyrale chez les témoins et les traitées sous l'effet des 3 doses des deux isolats bactériens. Sous l'effet du premier isolat «A3», la quantité ingérée par les témoins augmente graduellement du 1^{er} jour au 10^e jour puis elle tend à diminuer jusqu'au 20^e jour. Le même effet est enregistré avec l'aliment traité par les

Chapitre III : Résultats

doses D2 ($0,415 \times 10^8$), D3 ($0,127 \times 10^8$) et D1 ($1,147 \times 10^8$) UFC/ml, où les chenilles s'arrêtent de s'alimenter aux jours J12, J16 et J18 respectivement (annexe 8.).

Sous l'effet du deuxième isolat bactérien «B.S.ET», la quantité non traitée ingérée par les larves femelles témoins augmente graduellement du 1^{er} jour au 10^e jour puis elle diminue en se stabilisant jusqu'au 18^e jour. Celle traitée par les doses D'2 ($0,459 \times 10^8$), D'1 ($1,121 \times 10^8$) et D'3 ($0,131 \times 10^8$) UFC/ml, évolue avec la même allure que pour les témoins mais s'annule entre le 12^e j, le 15^e j, le 17^e j selon la dose administrée respectivement (annexe 8.).

III.5.5.2.3. Analyse comparée de la quantité d'aliment ingérée par les larves mâles et femelles sous l'effet des isolats bactériens utilisés

Le tableau 3.15. et la figure 3.7 montrent les résultats comparatifs entre les différents effets des isolats et des doses bactériennes sur la quantité de nourriture consommée par les larves mâles et femelles de la pyrale des dattes. La quantité d'aliment ingérée par les larves mâles et les larves femelles de la pyrale augmente jusqu'au 10^e jour, puis elle diminue en se stabilisant jusqu'au 22^e jour après traitement par les isolats bactériens (A3 et B.S.ET) avec une quantité très importante enregistré avec la dose D3 et une faible quantité enregistré par les doses D2 et D'2. La quantité ingérée par les larves mâles est plus importante que la quantité ingérée par les larves femelles cela peut être due à la rapidité de la vitesse de déplacement des larves mâles. L'isolat «A3» semble induire un appétit aux chenilles de la pyrale par rapport à l'isolat «B.S.ET».

Tableau 3.15. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens sur la consommation des larves mâles et femelles de la pyrale.

Source	Type III SS	ddl	Carrés moyens	F-ratio	p-value
Jours	22 362,735	21	1 064,892	39,376	0***
Doses	481,886	5	96,377	3,564	0,004*
Isolats	51,857	1	51,857	1,918	0,167
Sexe	665,335	2	332,668	12,301	0***
Erreur	7 518,236	278	27,044		

L'analyse de la variance (modèle GLM) révèle que les chenilles femelles consomment avec une différence très hautement significative ($p < 1\%$)

Chapitre III : Résultats

nettement moins que les chenilles mâles ayant ingéré de l'aliment traité (tab. 3.15). De plus, ces dernières ne semblent pas être affectées en comparaison avec les témoins du même sexe (figure 3.7) :

Egalement, il ya un effet hautement significatif des doses testées. La majorité des dilutions induisent la diminution de la quantité d'aliment ingéré comme pour le cas de l'effet des doses D'2, D'3, D1 et D2, alors que les doses D'1 et D3 ont plutôt conduit à une surconsommation par rapport aux témoins (figure 3.7). De plus, il ya une différence dans les quantités ingérées entre les traités et les témoins durant le temps ($p < 1\%$, tab. 3.25 et figure 3.41). En revanche, les deux isolats bactériens induisent un effet similaire avec une différence non significative ($p > 5\%$).

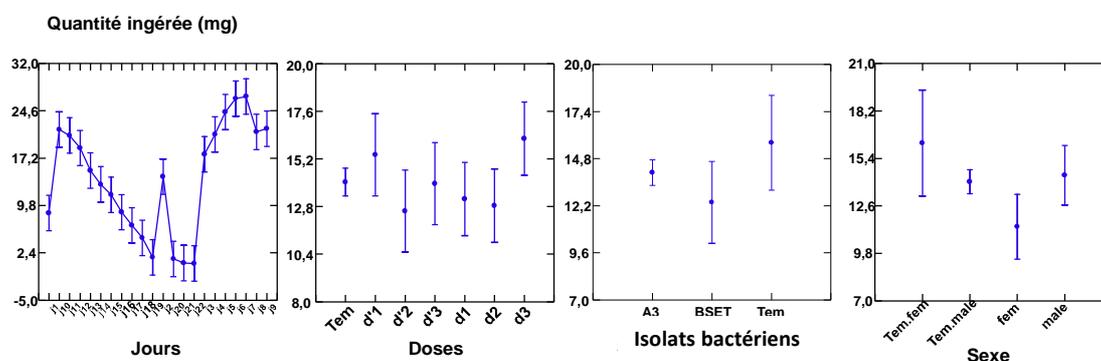


Figure 3.7. Variation des quantités de nourriture ingérée par les chenilles mâles et femelles sous l'effet des isolats de *B. subtilis* étudiées

III.5.5.3. Analyse comparée de la quantité d'aliment ingérée par les larves âgées (L4 et L5) séparées sous l'effet des isolats bactériens utilisés

Dans tous les cas de figures, on peut constater que les quantités consommées augmentent de manière régulière et stable sans interruption chez les chenilles des stades L4 et L5 témoins, durant la période de 10 jours de l'expérimentation. Au contraire, les chenilles des mêmes stades larvaires, ayant ingéré une nourriture traitée semblent manifester un arrêt de l'alimentation dès le 7^e jour ou bien le 8^e jour, (annexe 8.), que ce soit pour les différentes doses ou les deux isolats testés et où on assiste à la mortalité de toutes les larves.

La comparaison des moyennes de quantités consommées par les chenilles des deux stades larvaires sous l'effet des différentes doses et des

Chapitre III : Résultats

deux isolats indique qu'il y a un effet très hautement significatif du temps expliqué par les différences observées dans l'interruption de l'alimentation entre les témoins et les traités (tab. 3.16 et figure 3.8). Néanmoins, on n'observe ni une différence entre les deux stades, ni une différence entre les deux isolats du Bs, alors que l'effet des doses diffère significativement ($p=0,000$; $p<0,009$) entre les doses (D1, D2 et D'1, D'2).

Les quantités plus importantes ingérées par les larves du stade L5 que celles des larves du stade L4 peut être due à la préparation des larves du 5^{ème} stade larvaire pour entrer au stade chrysalide.

Tableau 3.16. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux souches bactériennes sur la consommation des larves âgées séparées

Source	Type III SS	ddl	Carrés moyens	F-ratio	p-value
Jours	25 640,572	8	3 205,071	4,226	0***
Doses	9 338,181	3	3 112,727	4,104	0,009
Isolats bactériens	20,36	1	20,36	0,027	0,87
Stade larvaire	4,732	1	4,732	0,006	0,937
Erreur	57 639,293	76	758,412		

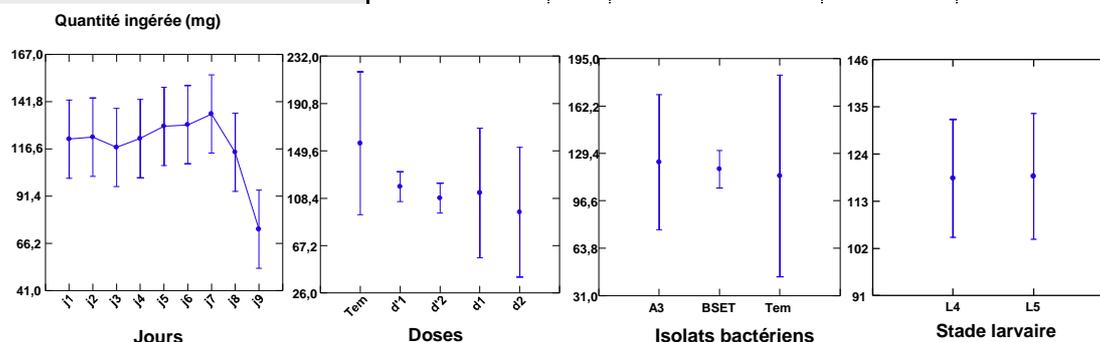


Figure 3.8. Variation comparée de l'effet des isolats de Bs étudiés sur la quantité de nourriture ingérée par les chenilles de quatrième et de cinquième stade.

III.5.6. Evaluation de l'effet subléthal des isolats bactériens étudiés sur le poids des larves L4 et L5 des chenilles de la pyrale

Le poids des larves du stade L4 et L5 des chenilles de la pyrale a été évalué après traitement en comparaison avec celui de chenilles témoins.

Chapitre III : Résultats

III.5.6.1. Effet sur le poids des larves L4

On note une différence dans le poids des chenilles du 4^{ème} stade larvaire de la pyrale, témoins et traitées par les 2 doses de l'isolat bactérien «A3». Le poids des larves L4 témoins reste stable du 1^{er} jour au 9^e jour. Le poids des chenilles traitées par l'isolat A3 augmente, puis il diminue et se stabilise entre le 7^e et le 8^e jour sous l'effet des doses D2 ($2,029 \times 10^8$) et D1 ($2,843 \times 10^8$) UFC/ml respectivement (annexe 9).

Comme pour l'effet de l'isolat A3, le poids des larves L4 traitée par l'isolat « B.S.ET » testée aux doses D'1 (3×10^8) et D'2 ($2,051 \times 10^8$) UFC/ml, augmente, puis il diminue au 9^e jour suite à la mortalité de toutes les larves (annexe 9).

III.5.6.2 Effet sur le poids des larves L5

Le poids des larves L5 témoins augmente du 1^{er} au 2^e jour, puis il diminue jusqu'au 9^e jour. L'isolat A3 a entraîné une augmentation de poids du 1^{er} au 3^e jour, puis une diminution jusqu'au 8^e et 9^e jour sous l'effet des doses D2 ($2,029 \times 10^8$) et D1 ($2,843 \times 10^8$) UFC/ml respectivement (annexe 9). Le poids des larves traitées par la souche « B.S.ET » à la dose D'1 (3×10^8) reste stable du 1^{er} au 9^e jour et il diminue du 1^{er} au 9^e jour avec la dose D'2 ($2,051 \times 10^8$) UFC/ml, (annexe 9).

III.5.6.3. Analyse comparée du poids des chenilles de la pyrale sous l'effet des isolats bactériens utilisés

L'analyse de la variance révèle :

-Une différence hautement significative ($p=0,000$; $p<1\%$) entre les jours, les doses et les stades larvaires des larves L4 et L5 traitées par *Bacillus subtilis* (A3 et B.S.ET) et les témoins.

-Une différence non significative ($p=0,817$; $p>0,05$) entre les deux isolats bactériens, et une différence hautement significative entre les effets des doses.

Le poids des larves traitées baisse dans le temps par rapport à celui des larves témoins. Notons cependant que le poids des larves L4 et L5 des chenilles de la pyrale des dattes augmente du 1^e au 3^e jour, puis il diminue jusqu'au 9^e jour suite à la mortalité de toutes les larves (figure 3.9), L'isolat bactérien «B.S.ET»

Chapitre III : Résultats

semble avoir induit une stimulation de l'augmentation du poids des chenilles L5 notamment en comparaison avec celui des L4.

Les doses D'1 et D'2 par ailleurs, ont entraîné une plus grande stimulation par rapport aux doses D1 et D2 chez les L4 et les L5.

Tableau 3.17. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens (D1, D2 et D'1, D'2) sur le poids des L4 et L5 de la pyrale.

Source	Type III SS	ddl	Carrés moyens	F-ratio	p-value
Jours	929,916	8	116,24	8,691	0***
Doses	1 255,173	7	179,31	13,407	0***
Isolats bactériens	0,722	1	0,722	0,054	0,817
Stades larvaires	199,364	1	199,364	14,906	0***
Erreur	962,961	72	13,374		

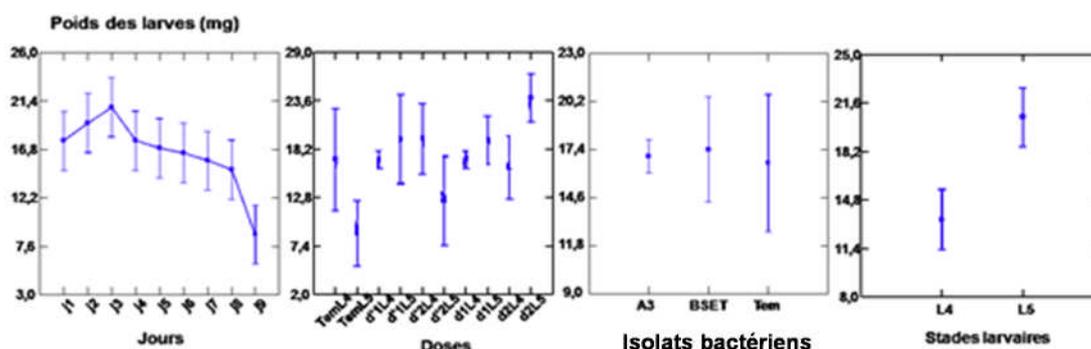


Figure 3.9. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de *B. subtilis* étudiés sur le poids des larves L4 et L5 des chenilles de la pyrale.

III.5.7. Evaluation de l'effet subléthal des isolats bactériens étudiés sur le développement des chenilles de la pyrale

III.5.7.1. Sur le taux du passage du stade L5 au stade chrysalide : Effet sur la nymphose

III.5.7.1.1. Effet sur les larves âgées groupées

Les variations temporelles des différents taux de nymphose des chenilles traités et témoins de la pyrale sont indiquées au niveau de l'annexe 10.

Chapitre III : Résultats

Concernant l'isolat «A3», le taux de nymphose chez les témoins commence au 12^e jour et augmente pour atteindre 60% du 14^e au 17^e jour et commence à s'annuler au-delà. Cependant, la nymphose est plus précoce entre J7 et j10, chez les chenilles ayant ingéré l'aliment traité par les doses D3 ($1,147 \times 10^8$) D4 ($0,415 \times 10^8$) et D5 ($0,127 \times 10^8$) UFC/ml (annexe 10). L'absence de nymphose observé sous l'effet des doses D1 et D2 ($2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$) UFC/ml est dû au fait il y'avait une mortalité totale chez ces chenilles traitées par ces doses.

Pour ce qui est de l'effet de l'isolat «B.S.ET», la nymphose s'est déroulée entre j6 et j12 (20%) puis augmente de j14 à j20 (40%) pour diminuer au-delà. Au niveau des lots traités avec les D'5 ($0,131 \times 10^8$) , D'4 ($0,459 \times 10^8$) et D'3 ($1,121 \times 10^8$) UFC/ml les L5 nt à entrer au stade chrysalide à partir du 5^e, 9^e et le 10^e jour respectivement (figure 3.49. annexe 8.e.). Aucune nymphose n'a été observée sous l'effet des doses D'1 et D'2 (3×10^8 et $2,051 \times 10^8$) UFC/ml.

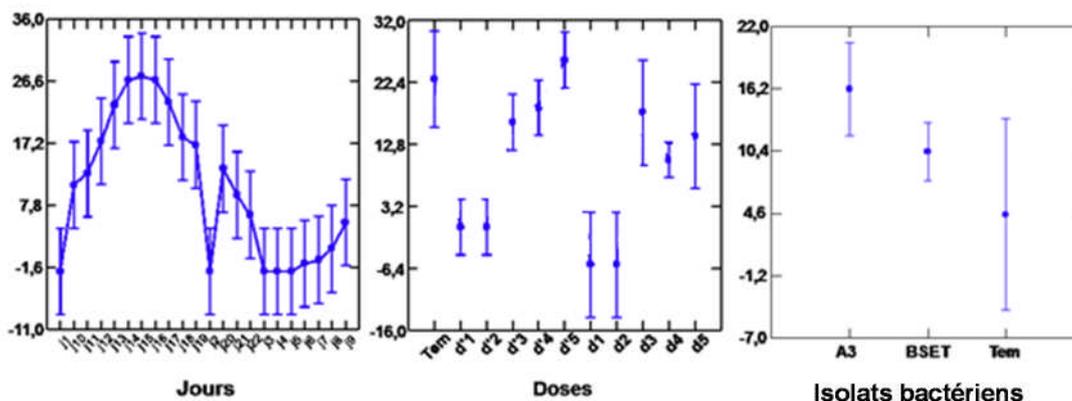
L'analyse de la variance montre une différence hautement significative ($p=0,000$; $p<1\%$) entre les jours et les doses testées et les témoins, et une différence non significative ($p=0,076$; $p>0,005$) entre le type d'isolat bactérien (tab. 3.18). L'effet des différentes doses a induit un taux de nymphose très faible à l'exception de celui de la dose D'5 ($0,131 \times 10^8$).

L'isolat «A3» paraît l'isolat qui a entraîné un effet stimulateur de la nymphose plus précoce par rapport à l'isolat «B.S.ET» (Fig.3.10).

Tableau 3.18. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens sur la nymphose.

Source	Type III SS	ddl	Carrés moyens	F-ratio	p-value
Jours	27 373,181	21	1 303,485	12,346	0***
Doses	23 153,977	9	2 572,664	24,367	0***
Isolat	334,711	1	334,711	3,17	0,076
Erreur	22 171,681	210	105,579		

Chapitre III : Résultats



3.10 Résultats comparatifs de l'effet des isolats de *B. subtilis* étudiées sur le taux de passage du stade L5 au stade chrysalide chez les larves âgées groupées de la pyrale

III.5.7.1.2. Effet sur les chenilles mâles et femelles

Les variations temporelles des différents taux de nymphose selon le sexe des chenilles traités et témoins de la pyrale sont indiquées en annexe 10.

La nymphose chez les larves mâles témoins commence à partir du 10^e - 12^e jour et augmente jusqu'au 14^e - 16^e jour puis se stabilise au 17^e - 19^e jour et commence à s'annuler jusqu'au 19^e - 22^e jour. Les larves mâles traitées, par l'isolat A3 avec les doses D2 ($0,415 \times 10^8$), D3 ($0,127 \times 10^8$) et D1 ($1,147 \times 10^8$) UFC/ml commencent à entrer au stade chrysalide à partir du 7^e et 9^e jour respectivement (annexe 10). Sous l'effet de l'isolat bactérien «B.S.ET», le taux du passage du stade L5 au stade chrysalide des larves mâles traitées par les doses D'1 ($1,121 \times 10^8$), D'2 ($0,459 \times 10^8$) et D'3 ($0,131 \times 10^8$) UFC/ml commencent à partir du 10^e et 11^e jour respectivement (annexe 10).

Dans le cas des larves femelles, on peut constater chez les témoins que la nymphose commence à partir du 9^e - 10^e jour et augmente graduellement au 16^e - 18^e jour puis tend à se stabiliser jusqu'au 20^e - 22^e jour. Celles traitées par l'isolat A3 avec les doses D2 ($0,415 \times 10^8$), D1 ($1,147 \times 10^8$) et D3 ($0,127 \times 10^8$) UFC/ml, commencent à se nymphoser à partir du 10^e, J17^e et J19^e jour respectivement. Tandis que les chenilles femelles traitées par l'isolat B.S.ET avec les doses D'1 ($1,121 \times 10^8$), D'3 ($0,131 \times 10^8$) et D'2 ($0,459 \times 10^8$) UFC/ml commencent à entrer en stade chrysalide à partir du 6^e et 9^e jour respectivement (annexe 10).

Chapitre III : Résultats

L'analyse de la variance révèle des différences hautement significatives des facteurs temps, doses testées et entre les chenilles mâles et femelles avec des probabilités respectives $p < 1\%$ et $p < 1\%$ excepté pour le facteur souche qui n'a pas révélé de différence significative ($p = 0,937$; $p > 0,05$), (tab.3.19).

Le taux de passage du stade L5 au stade chrysalide des larves mâles et femelles de la pyrale des dattes commence à partir du 8^{ème} jour et augmente jusqu'au 16^{ème} jour, puis il diminue jusqu'au 22^{ème} jour après traitement par les isolats bactériens (A3 et B.S.ET) avec un taux de passage très important enregistré avec la dose D3 en comparaison avec la dose D'3.

Tableau 3.19. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux souches bactériennes étudiées sur la nymphose des chenilles mâles et femelles.

Source	Type III SS	ddl	Carrés moyens	F-ratio	p-value
Jours	75 524,328	21	3 596,397	46,902	0***
Doses	1 531,132	4	382,783	4,992	0,001*
Isolat	0,473	1	0,473	0,006	0,937
Sexe	1 320,397	3	440,132	5,74	0,001*
Erreur	21 316,739	278	76,679		

L'isolat «A3» paraît stimuler plus précocement et à des taux plus importants par rapport que l'isolat «B.S.ET». Par ailleurs, le taux de nymphose chez les femelles est supérieur à celui des mâles (Fig.3.11).

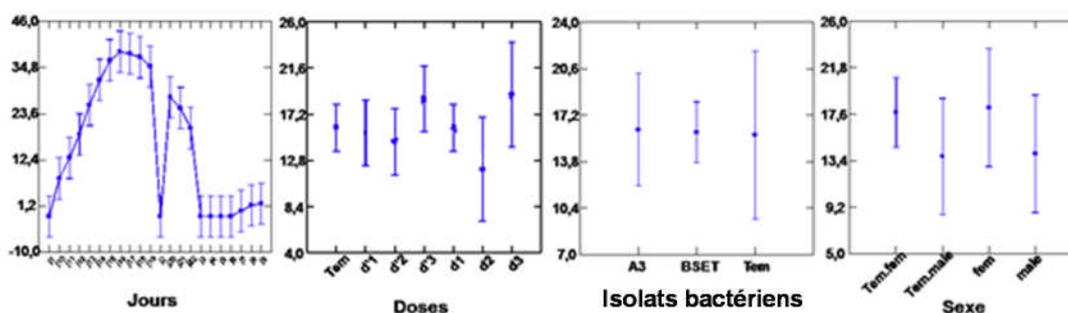


Figure 3.11. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de *B. subtilis* étudiés sur le taux de nymphose des larves mâles et femelles de la pyrale.

Chapitre III : Résultats

III.5.7.2. Sur le taux d'émergence des papillons

III.5.7.2.1. Larves âgées groupées

Chez les témoins, l'émergence des adultes a eu lieu entre le 15^e 16^e et le 18^e jour ; elle tend à augmenter jusqu'au 22^e jour.

Chez les traités par l'isolat A3 avec les doses D3 ($1,147 \times 10^8$) D4 ($0,415 \times 10^8$) et D5 ($0,127 \times 10^8$) UFC/ml, commencent à émerger à partir du 14^e et du 17^e jour respectivement à l'exception des lots traités aux doses D1 et D2 ($2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$) UFC/ml où il y'avait une mortalité totale des individus, (figure 3.12). Aux doses D'5 ($0,131 \times 10^8$), D'3 ($1,121 \times 10^8$) et D'4 ($0,459 \times 10^8$) UFC/ml de l'isolat B.S.ET, l'émergence des adultes apparaît entre le 13^e et le 16^e jour respectivement (annexe 10).

Tableau 3.20. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens (D1, D2, D3, D4, D5 et D'1, D'2, D'3, D'4, D'5) sur le taux d'émergence chez les larves âgées groupées.

Source	Type III SS	Ddl	Carrés moyens	F-ratio	p-value
Jours	11 433,816	21	544,467	12,456	0***
Doses	2 586,648	8	323,331	7,397	0***
Isolat	223,865	2	111,933	2,561	0,08*
Erreur	9 179,544	210	43,712		

L'analyse de la variance (GLM) démontre :

-Une différence hautement significative ($p=0,000$; $p<0,05$) entre les jours et les doses (D1, D2, D3, D4, D5 et D'1, D'2, D'3, D'4, D'5) du traitement des larves d'*E.ceratoniae* par *Bacillus subtilis* (A3 et B.S.ET) et les témoins.

-Une différence non significative ($p=0,08$; $p>0,05$) entre les deux isolats bactériens.

Chapitre III : Résultats

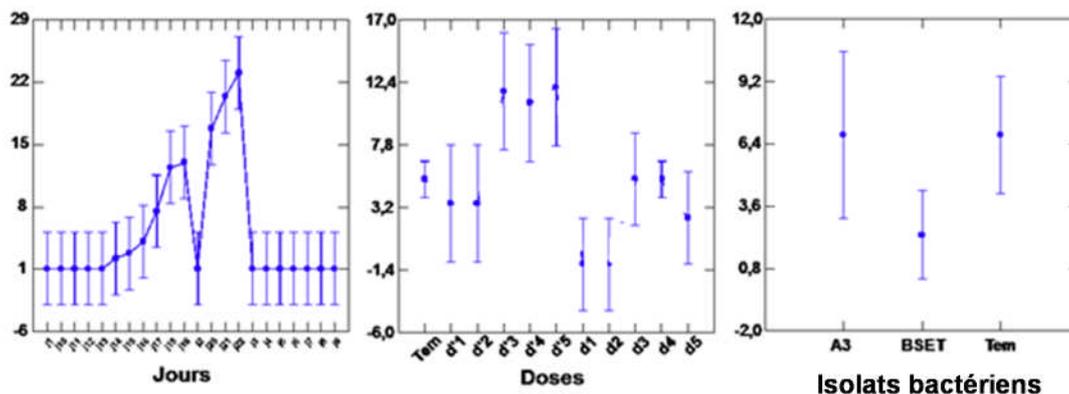


Figure 3.12. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de *B. subtilis* étudiés sur le taux d'émergence des larves âgées groupées de la pyrale

III.5.7.2.2. Effet des deux isolats bactériens sur le taux d'émergence des larves mâles et femelles

L'émergence des papillons commence chez les témoins à partir du 17^e - 19^e jour et augmente jusqu'au 22^e jour. Sous l'effet des doses D3 ($0,127 \times 10^8$) D2 ($0,415 \times 10^8$) et D1 ($1,147 \times 10^8$) UFC/ml de l'isolat bactérien «A3», les adultes commencent à émerger à partir du 17^e et du 19^e jour respectivement. Alors que sous l'effet des doses D'2 ($0,459 \times 10^8$) et D'3 ($0,131 \times 10^8$) UFC/ml de l'isolat B.S.ET, les papillons de la pyrale émergent au 18^e jour d'après nos observations. Le taux d'émergence est nul à la dose D'1 ($1,121 \times 10^8$) testée du même isolat (annexe 10).

L'émergence des papillons femelles commence à partir du 17^e - 18^e jour puis augmente graduellement jusqu'au 22^e jour. Après traitement des larves femelles par l'isolat bactérien «A3», on a enregistré des émergences à partir du J17^e, J18^e et J19^e respectivement sous l'effet des doses D1 ($1,147 \times 10^8$), D2 ($0,415 \times 10^8$) et D3 ($0,127 \times 10^8$) UFC/ml (annexe 10).

Sous l'effet de l'isolat bactérien «B.S.ET», aux doses D'3 ($0,131 \times 10^8$), D'2 ($0,459 \times 10^8$) et D'1 ($1,121 \times 10^8$) UFC/ml, les papillons femelles émergent à partir du 14^e, 16^e et le 18^e jour respectivement (annexe 10).

L'analyse de la variance révèle :

- Une différence hautement significative ($p=0,000$; $p<1\%$) entre les jours du traitement, une différence significative ($p=0,014$; $p<0,05$) entre les doses (D1, D2 et D3).
- Une différence non significative ($p=0,053$; $p>0,05$) entre le type

Chapitre III : Résultats

d'isolat bactérien. Une différence significative ($p=0,002$; $p>0,05$) entre les taux d'émergences des papillons mâles et femelles d'*E.ceratoniae*.

Le taux d'émergence des larves mâles et femelles commence à du 16^{ème} jour, puis il augmente jusqu'au 22^{ème} jour après avec un taux d'émergence très important enregistré avec les doses D3 et D'2 respectivement en comparaison avec les autres doses. L'isolat «B.S.ET » paraît l'isolat qui induit le taux d'émergence le plus important en la comparant avec l'isolat «A3». Par ailleurs, l'effet de la bactérie à de faibles taux d'émergence par rapport aux témoins que ce soit chez les mâles ou chez les femelles. Cependant, le taux d'émergence chez les femelles semble plus élevé que celui des mâles (Fig.3.13).

Tableau 3.21. Résultats de l'analyse de la variance (modèle linéaire global) de l'effet des deux isolats bactériens (D1, D2, D3 et D'1, D'2, D'3) sur le taux d'émergence des larves mâles et femelles.

Source	Type III SS	ddl	Carrés moyens	F-ratio	p-value
Jours	19 234,702	21	915,938	30,256	0***
Doses	386,482	4	96,621	3,192	0,014*
Isolats	180,021	2	90,011	2,973	0,053
Sexe	388,849	2	194,425	6,422	0,002*
Erreur	8 415,827	278	30,273		

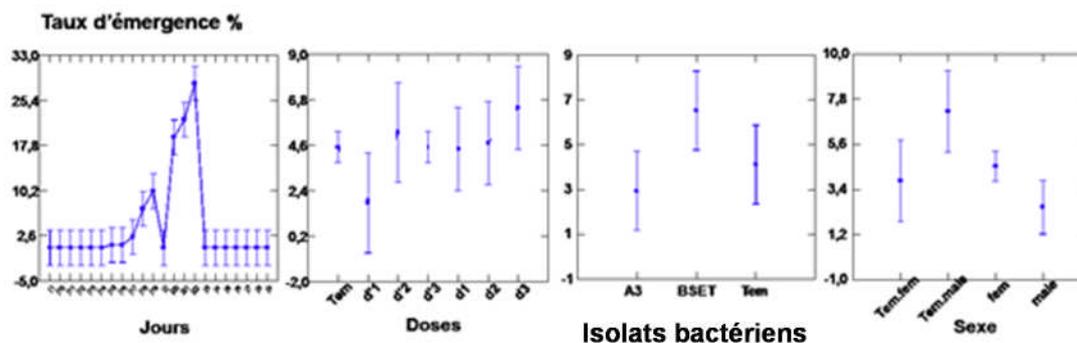


Figure 3.13. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de *B. subtilis* étudiés sur le taux d'émergence des larves mâles et femelles de la pyrale.

III.5.8. Effet des isolats bactériens étudiés sur la composition en métabolites hémolympmatiques des larves d'*E.ceratoniae*

Pour étudier ce paramètre les individus ont été traités par injection de la suspension bactérienne. Les témoins ont reçu de l'eau physiologique.

Chapitre III : Résultats

III.5.8.1. Effet des bactéries sur les protéines hémolympmatiques

Le tableau 3.22 porte l'ensemble des résultats relatifs à l'effet des bactéries (A3) *B.subtilis* (0,36 mg/ml et 0,15 mg/ml) et (B.S.ET) *B.subtilis* (0,36 mg/ml et 0,15mg/ml) sur les protéines hémolympmatiques. En effet le dosage de l'hémolymphe nous a permis de tracer la droite de régression pour calculer les concentrations des protéines chez les témoins et les traités.

Tableau 3.22. Les concentrations (C) en protéines hémolympmatiques chez les larves traitées par *B.subtilis* (A3) et *B.subtilis* (B.S.ET).

Dose mg/ml \ Temps	Témoins	A3		B.S.ET	
		D1	D2	D'1	D'2
4h	0,005	0,016	0,014	0,033	0,05
6h	0,013	0,028	0,082	0,047	0,076
12h	0,067	0,056	0,127	0,066	0,128

D1, D'1 : la forte concentration bactérienne utilisée. D2, D'2 : la faible concentration bactérienne utilisée.

Le taux des protéines hémolympmatiques est élevé chez les larves traitées par les différentes doses comparativement aux témoins.

Plus la concentration bactérienne est élevée plus la teneur en protéines diminue, la teneur en protéines est de 0,016 - 0,028 et 0,056 mg/ml pour la forte dose D1 dans les trois temps 4h, 6h et 12h tandis que pour la faible dose D2 ; elle est respectivement de 0,014 - 0,082 et 0,127 mg/ml chez les larves traitées par l'isolat (A3). Chez ceux traités par l'isolat (B.S.ET), la concentration des protéines est de 0,033 - 0,047 et 0,066 mg/ml pour la forte dose D'1 dans les trois temps 4h, 6h et 12h tandis que pour la faible dose D'2 ; elle est respectivement de 0,05 - 0,076 et 0,128 mg/ml, contre un taux de 0,005 - 0,013 et 0,067 chez les témoins.

Après une comparaison entre le taux des protéines des larves traitées par *B.subtilis* (A3) et des larves traitées par *B.subtilis* (B.S.ET), on constate que

Chapitre III : Résultats

le taux des protéines est élevé chez les larves traitées par *B.subtilis* (B.S.ET) par rapport aux larves traitées par *B.subtilis* (A3), (Tab.3.23 et annexe 11.).

Tableau 3.23. Analyse de la variance relative à l'effet de *B.subtilis* (A3) et (B.S.ET) sur les concentrations (C) en protéines hémolympatiques sur les larves d'*E.ceratoniae*.

Source	Type SS	ddl	Carrés moyens	F-ratio	p-value
Isolats bactériens	0,002	2	0,001	2,443	0,149
Doses	0,004	2	0,002	7,097	0,017*
Temps	0,011	2	0,005	17,139	0,001*
Erreur	0,003	8	0		

L'analyse de la variance révèle une différence significative entre les doses et les heures du traitement des larves et une différence non significative entre les isolats bactériens (Tableau 3.23 et la figure 3.14).

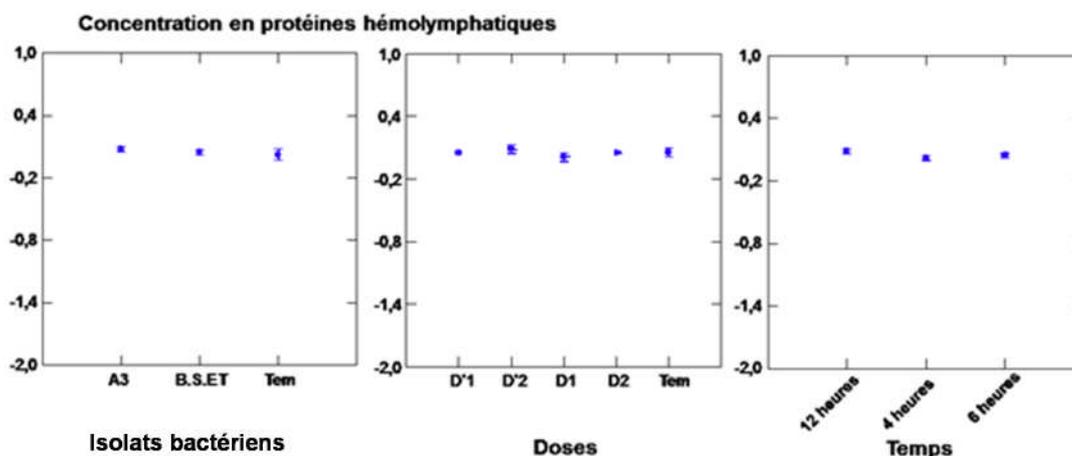


Figure 3.14. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de *B. subtilis* étudiées sur les protéines hémolympatiques

III.5.8.2. Effet des bactéries sur les glucides hémolympatiques

Les valeurs des concentrations en glucides hémolympatiques des larves d'*E.ceratoniae* témoins et traitées par (A3) *B.subtilis* (3,41 mg/ml et 1,55 mg/ml) et (B.S.ET) *B.subtilis* (3,41 mg/ml et 1,54 mg/ml) sont consignées sur le tableau 3.24.

Chapitre III : Résultats

Tableau 3.24 : Les concentrations (C) en glucides hémolympatiques chez les larves traitées par *B.subtilis* (A3) et *B.subtilis* (B.S.ET).

Dose mg/ml Temps	Témoins	A3		B.S.ET	
		D1	D2	D'1	D'2
4h	0,288	0,169	0,401	0,290	0,506
6h	0,581	0,339	0,304	0,267	0,377
12h	0,627	0,379	0,263	0,185	0,472

D1, D'1 : la forte concentration bactérienne utilisée. D2, D'2 : la faible concentration bactérienne utilisée.

L'examen comparatif des résultats obtenus pour les témoins et pour les larves traitées par les deux isolats bactériens «A3» et «B.S.ET», après injection des bactéries aux larves d'*E.ceratoniae* a montré (Tab.3.24.et annexe 11) :

Que le taux des glucides hémolympatiques est faible chez les larves traitées par les différentes doses comparativement aux témoins.

Plus la concentration bactérienne est élevée plus la teneur en glucides est faible, la teneur en glucides est de 0,169 - 0,339 et 0,379 mg/ml pour la forte dose D1 dans les trois temps 4h, 6h et 12h tandis que pour la faible dose D2 ; elle est respectivement de 0,401 - 0,304 et 0,263 mg/ml chez les larves traitées par l'isolat (A3). Chez ceux traitées par l'isolat (B.S.ET), la concentration des glucides est de 0,290 - 0,267 et 0,185 mg/ml pour la forte dose D'1 dans les trois temps 4h, 6h et 12h tandis que pour la faible dose D'2 ; elle est respectivement de 0,506 - 0,377 et 0,472 mg/ml, contre un taux de 0,288 - 0,581 et 0,627 chez les témoins.

Après une comparaison entre le taux des glucides des larves traitées par *B.subtilis* (A3) et des larves traitées par *B.subtilis* (B.S.ET), on constate que le taux des glucides est élevé chez les larves traitées par *B.subtilis* (B.S.ET) par rapport aux larves traitées par *B.subtilis* (A3).

Chapitre III : Résultats

L'analyse de la variance révèle des différences non significatives entre les souches bactériennes utilisées lors du traitement, les doses et les heures du traitement des larves d'*E.ceratoniae* (Tableau 3.25, figure 3.15).

Tableau 3.25. Analyse de la variance relative à l'effet de *B.subtilis* (A3) et (B.S.ET) sur les concentrations (C) en glucides hémolympatiques sur les larves d'*E.ceratoniae*.

Source	Type SS	Ddl	Carrés moyens	F-ratio	p-value
Isolats bactériens	0,038	2	0,019	1,375	0,307
Doses	0,064	2	0,032	2,336	0,159
Temps	0,008	2	0,004	0,3	0,749
Erreur	0,109	8	0,014		

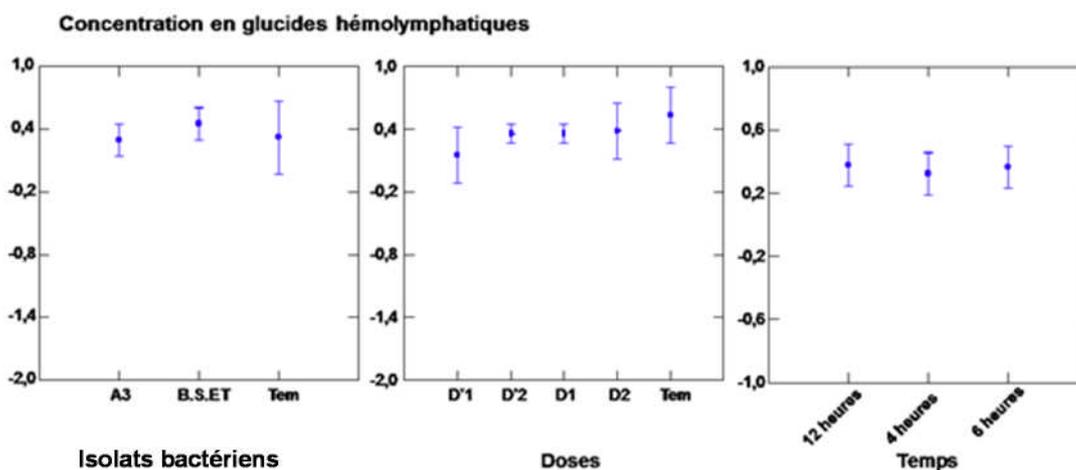


Figure 3.15. Résultats comparatifs de l'effet des isolats de *B. subtilis* étudiées sur les glucides hémolympatiques

Chapitre IV : Discussion

Plus d'une centaine de bactéries ont été identifiées comme ayant un potentiel d'utilisation en lutte biologique. Ces bactéries entomopathogènes appartiennent surtout à trois grandes familles qui sont les Bacillaceae (*Bacillus*), Enterobacteriaceae (*Serratia* et *Xenorhabdus*) et Pseudomonaceae (*Pseudomonas*) (Starnes et al., 1993 ; Greathead et al., 1994.).

L'isolement de l'isolat bactérien « A3 » a été effectué à partir d'un sol cultivé au niveau de la région de Boumerdes et l'isolat lyophilisé « B.S.ET » provient de la Belgique, les deux isolats appartiennent au genre *Bacillus*.

Après purification, les deux isolats ont été identifiés suivant leurs caractères macroscopiques, physiologiques et biochimiques, ensuite elles ont été testées sur les chenilles d'*E.ceratoniae*.

IV.1. Purification et identification taxonomique des isolats bactériens

La classification spécifique a permis d'affilier les deux isolats bactériens A3 et B.S.ET à l'espèce *Bacillus subtilis* Brossard et Terry (1984) annoncent que la majorité des bactéries du genre *Bacillus* vivent dans le sol ou elles persistent grâce à leurs spores. La grande majorité des bactéries du genre *Bacillus* sont des saprophages (organismes vivant de matières organiques en décomposition) que l'on retrouve couramment dans le sol et dans l'air, ce genre regroupe un grand nombre d'espèces, la majorité se développe mieux à 30°C jusqu'à 37°C dont un grand nombre possède la propriété d'induire une mortalité chez certaines insectes.

Bounoua (2007), a pu isoler le genre *Bacillus* à partir des sols rhizosphériques des régions suivantes : Mohammadia, Tlemcen et Ain Temouchent.

De même Liu et al. (2012), McSpadden- Gardener (2004) notent que le genre *Bacillus* représente un large nombre de micro-organismes communément isolés du sol et du sol rhizosphériques.

De plus, l'échantillon des sols collectés à partir du sol de la palmeraie de la région de Tolga, sol du chott Melghigh de la région d'El Mghiere, sol du lac salé d'Ain M'lila et le sol de rhizosphères de plantes adjacentes menée par Youcef-Ali (2014), a montré la présence du : *Bacillus subtilis*, *Bacillus niabensis* et *Bacillus mojavensis*.

Chapitre IV : Discussion

En effet Ait Kaki (2014) a isolé des souches du genre *Bacillus* des environnements divers de l'est d'Algérie, à savoir : l'eau de lac salé d'Ain M'lila de la rhizosphère d'une plante médicinale (*Matricia chamomilla*) située proximité du lac, l'eau de la source thermale d'Oued El Athmany et le sol situé sa proximité et la rhizosphère d'une plante médicinale *Calendula officinalis*, cultivée en serre dans la région de Sétif.

Irnatene et Lamri (2016) ont isolées des souches bactériennes du genre *Bacillus* à partir des cadavres de *Galleria mellonella* contaminés accidentellement au laboratoire.

Les deux isolats, possèdent toutes les caractères cultureux du genre *Bacillus* décrits par (Euzéby, 2007), les bactéries se développent bien sur la surface de la gélose, les colonies sont larges, lisses, plates, fréquemment circulaires, avec des bords réguliers ou irréguliers, de couleur crème ou blanc ou encore beige. Ces résultats sont en accord avec ceux qu'on a trouvé.

L'étude microscopique réalisée aussi bien à l'état frais qu'après double coloration de Gram, a permis de constater que les deux isolats se présentent sous formes de bâtonnets long à extrémités arrondies et arrangés en cellules isolées, regroupés en chaînettes, à Gram positif et sporulées.

Brossard et Terry (1984) annoncent que Toutes les souches du genre *Bacillus* présentent les caractères précédents.

Le genre *Bacillus* représente les bactéries sporulées largement répandues dans le sol et les eaux naturelles, Ces bactéries de catalase positive et de réponse variable au test de l'oxydase (Guiraud, 2003), mobiles grâce à des cils et leurs spores sont ellipsoïdales à cylindriques (Cloutier et Cloutier, 1992).

La spore pour les deux isolats (A3 et B.S.ET) présente une forme sphérique en position sub-termianle.

Chapitre IV : Discussion

IV.2. Symptômes engendrés par l'effet des deux isolats bactériens sur les larves d'*E. ceratoniae*

Les larves d'*E. ceratoniae* traitées par les différentes concentrations des deux isolats bactériens (A3 et B.S.ET) ont montrés des symptômes qui ont été notés, noircissement du corps après la mort, malformation après l'émergence et la sortie des papillons notamment au niveau de l'abdomen chez les survivants et prolongation de la durée de leur cycle de développement.

Des symptômes similaires ont été constatés par Irnatene et Lamri (2016) et Bennai et Khalfi (2015) avec d'autres souches de *Bacillus sp* sur les larves du lépidoptère *Galleria mellonella*, ainsi que par Oulebsir-Mohand Kaci (2012) et par Khelouiati (2010) sur le criquet migrateur sous l'effet de *Bacillus sp* (HE799656), *Bacillus sp* (HE805963) et *Bacillus sphaericus*.

Nos observations concordent par ailleurs avec les résultats obtenus par Oumane (2012) et ceux de Zouioueche et Rahim (2008) sur les larves d'*E. ceratoniae* traitées par *Bacillus thuringiensis* var *Kurstaki*.

LuisInsua *et al.*, (2013) ont signalé aussi qu' après injection de la bactérie *Klebsiella pneumoniae* dans l'hémolymphe de *G. mellonella*, les larves et l'hémolymphe se sont pigmentés progressivement au cours de l'infection indiquant la production de mélanine par l'enzyme phenoloxidase (PO). L'activité de cette enzyme entraîne le dépôt de la mélanine autour des bactéries par les hémocytes, pour l'envelopper et l'isoler.

Nous avons confirmé par ailleurs que les deux isolats bactériens issus des cadavres sont identiques à celles utilisées lors des traitements biologiques. Ce qui a été confirmé également par Irnatene et Lamri (2016) qui ont isolé des souches bactériennes à partir des cadavres de *Galleria mellonella* contaminés accidentellement au laboratoire.

IV.2.3. Effets l'étal des deux isolats

D'après nos observations, les deux isolats bactériens utilisées ont le même effet aussi bien sur les larves âgées groupées, que sur les larves traitées séparément ainsi que sur les larves mâles et femelles. Les taux de mortalité

Chapitre IV : Discussion

semblent proportionnels aux différentes doses utilisées, aux isolats bactériens, aux deux sexes et aux stades larvaires. Les mortalités engendrées après traitement ont été importantes surtout avec les doses D1 et D2, D'1 et D'2 (tab.4.1). Certaines larves peuvent échapper à l'effet des traitements, vraisemblablement parce qu'elles n'ont pas ingéré la nourriture traitée.

Tableau 4.1. Principaux résultats du GLM de l'effet létal des isolats étudiés (A3 (D1 : $2,843 \times 10^8$ et D2 : $2,029 \times 10^8$ UFC/ml), B.S.ET (D'1 : 3×10^8 et D'2 : $2,051 \times 10^8$ UFC/ml)).

	Efficacité	Résultats de l'analyse GLM			
		Doses	Isolat bactérien	Stade larvaire	Temps
Mortalité	Un taux de mortalité très important enregistré avec les doses D1 et D2.	hautement significative	non significatif	larves âgées groupées (Sexe confondue)	hautement significative
	Un taux de mortalité très important enregistré avec les doses D'1 et D'2.	hautement significative	hautement significative	larves âgées groupées (mâle et femelle)	hautement significative
	Un taux de mortalité importante enregistré avec les doses D1 et D2 et un faible taux de mortalité enregistré avec les doses D'1 et D'2	hautement significative	non significatif	(L4 - L5) séparées (Sexe confondue)	hautement significative

Il s'avéré donc que les deux isolats bactériens utilisées en le même effet contre les larves âgées groupées, âgées séparées, mâle et femelle, avec un taux de mortalité élevé chez les larves males et les larves L4.

Frankanhuyzen et *al.*, (1992) ; Lacousière et Boisvert (2004), ont justifié la nocivité du *Bacillus* (entre autres *B. thuringiensis*) contre pour une large gamme

Chapitre IV : Discussion

des larves de Lépidoptères nuisibles aux arbres fruitiers, aux cultures et aux forêts. L'interaction de leurs toxines avec des récepteurs spécifiques sur les cellules épithéliales du système digestif, cause la mort de l'insecte suite à la perturbation de la régulation osmotique de ces cellules.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par Ouamane (2012) qui a testé l'effet de *Bacillus thuringiensis* sur la pyrale des dattes.

Harhoura (2012) a noté un taux de mortalité qui varie entre 8,51% et 100 % après traitement des jeunes larves (L1- L2 et L3) d'*E. ceratoniae* au Spinosad, un insecticide bactérien. Alors que, Ben Riala (2014) a enregistré un taux qui diffère entre 5% et 61 % après traitement des larves âgées (L4 et L5) de la pyrale avec le même insecticide.

IV.2.3.1. TL50

Les différentes valeurs des TL50 sont synthétisées dans le tableau 4.2.

➤ Les TL 50 observés chez les larves âgées groupées, larves mâles, larves femelles et larves âgées (L4) d'*E.ceratoniae* traitées avec l'isolat A3 sont plus faibles par rapport aux TL50 enregistrés par l'isolat B.S.ET.

➤ Les TL 50 observés chez larves âgées (L5) traitées avec les deux isolats bactériens (A3) et (B.S.ET) paraissent similaires.

➤ L'examen des TL50 montre que les larves d'*E.ceratoniae* traitées par *B. subtilis* (A3) présentent les TL50 les plus faibles par rapport aux larves traitées par *B. subtilis* (B.S.ET), donc l'isolat (A3) à une action plus rapide que l'autre isolat (B.S.ET).

Chapitre IV : Discussion

Tableau 4.2. Synthèse des TL50 obtenus après les différents traitements bactériens.

	Isolat A3	Isolat B.S.ET
Larves âgées groupées	1 j 22min D1	1 j 17min D'1
	1 j 18min D2	1 j 22min D'2
	3 j 10min D3	4 j 1min D'3
	3 j 19min D4	4 j 19min D'4
	3 j 22min D5	4 j 13min D'5
Larves mâles	5 j 12min D1	6 j 1min D'1
	3 j 11min D2	3 j 18min D'2
	8 j 16min D3	8 j 16min D'3
Larves femelles	4 j 1min D1	3 j 14min D'1
	3 j 16min D2	7 j 19min D'2
	3 j 88min D3	3 j 16min D'3
Larves âgées séparées (L4)	2 j 3min D1	1 j 17min D'1
	1 j 12min D2	3 j D'2
Larves âgées séparées (L5)	1 j 19min D1	2 j 56min D'1
	3 j 1min D2	2 j 52min D'2

Nos résultats concordent avec ceux de Oulebsir-Mohand Kaci (1998) qui a obtenu un TL50 inférieur à une semaine (6,79 jours) chez les larves L5 de *S. gregaria* traitées à la dose de $7,3 \times 10^8$ spores/ml de *B. subtilis*.

Irnatene et Lamri (2016) ont obtenu un TL50 compris compris entre 1 et 3,68 jours chez les larves de *Galleria mellonella* après traitement aux différentes doses ($0,90 \times 10^8$; $0,31 \times 10^8$ et $0,16 \times 10^8$ UFC/ml de *B. subtilis*. Bennai et Khalfi (2015), ont noté après traitement des larves de *Galleria mellonella* par *B. thuriangiensis* et *B. sphaericus* deux valeurs de TL50 égale à 1,81 et 7,98 jours. Tandis que, Khaouafi (2008) a enregistré un TL50 compris entre 1,3 jour et 2,6 jours suite au traitement des larves du quatrième stade larvaire d'*E. ceratoniae* par *B. subtilis* var *Kurstaki*.

Chapitre IV : Discussion

IV.2.3.2. DL50

Les DL50, sont en étroite relation avec le temps, et varient en fonction de l'isolat bactérien testée (tableau 4.3).

Si on compare les doses létales 50 des deux isolats testés, on peut constater que chaque isolat A3 ou bien B.S.ET est efficace avec un paramètre et plus rapide d'action que l'autre et présente les DL50, les plus faibles dans le temps après traitement.

Tableau 4.3. Synthèse des DL50 (CFU/ml) obtenus après les différents traitements bactériens.

Paramètres	A3	B.S.ET
Larves âgées groupées	107,07 x10 ⁸	36,60 x10 ⁸
Larves mâles	15,44 x10 ⁸	on n'a pas pu calculer les DL50
Larves femelles	5,27 x10 ⁸	43,71 x10 ⁸
Larves âgées L4	9,78 x10 ⁸	12,11 x10 ⁸
Larves âgées L5	26,78 x10 ⁸	13,57 x10 ⁸

Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Irnatene et Lamri (2016) et Khelouiati (2010) ayant testés l'effet de quelques bactéries entomopathogènes sur *Galleria mellonella* et le criquet migrateur respectivement.

IV.2.4. Effet sublétal des deux isolats

IV.2.4.1. Sur la consommation

Globalement, les deux isolats bactériens ont induit une baisse des ingéras chez les larves traitées. Les quantités d'aliments ingérées varient selon les doses, les isolats bactériens appliqués et le stade larvaire, (Tableau.4.4). Des quantités plus importantes sont ingérées par les larves du stade L5 que par les larves du stade L4.

Chapitre IV : Discussion

Tableau 4.4. Principaux résultats du GLM de la quantité d'aliment ingérée par les larves d'*E.ceratoniae*. (A3 (D1 : 2,843×10⁸ et D5 : 0,127×10⁸ UFC/ml), B.S.ET (D'1 : 3×10⁸ et D'3 : 1,121×10⁸ UFC/ml)).

Observations	Effet doses	Effet isolat	Effet temps
<u>larves groupées, Sexe confondu</u> Quantité très importante sous l'effet de la dose D1, Faible quantité consommée avec la dose D5	Marginalement significatif durant une période de 10 jours et Non significatif sur la période de 22 jours.	non significatif	hautement à très hautement significatif
<u>larves groupées mâles et femelles</u> Surconsommation sous l'effet des doses D'1 et D3 et une faible quantité consommée avec les doses D'2, D'3, D1 et D2	hautement significatif	non significatif	hautement significatif
<u>L4 - L5 séparées (Sexe confondu)</u> Consommation importante des L5 avec les doses D1 et D2, faible quantité ingérée des avec les L4 avec D'1 et D'2.	Significatif	non significatif	hautement significatif

Nos résultats rejoignent ceux de Lamri (2015) qui a traitées le criquet migrateur *Locusta migratoria* par *B.subtilis* et *B.thuringiensis*. Lambert (2010), note par ailleurs que les insectes traités par *B. thuriengiensis*, cessent de s'alimenter en moins de quelques heures et meurent au bout de 2-5 jours.

IV.2.4.2. Sur le poids des larves

Le poids des larves L4 est faible en le comparant avec celui des L5 sous l'effet des différentes doses de l'isolat (A3) et (B.S.ET) et il baisse durant la période de notre expérimentation (tableau 4.5).

Chapitre IV : Discussion

Tableau 4.5. Principaux résultats du GLM de l'effet des isolats étudiés sur le poids des larves des larves d'*E. ceratoniae*.

<u>Observations</u>	Effet doses	Effet isolat	Effet temps
<u>(L4 - L5) séparées</u> <u>(Sexe confondue)</u>			
Le poids le plus élevé est enregistré sous l'effet de la D2L5 et le plus faible est enregistré avec la D'1L4.	hautement significative	non significatif	hautement significatif
Le poids des larves diminue.			

Nos résultats sont en accord avec ceux de Lamri (2015) qui a traité le criquet migrateur *Locusta migratoria* par *B.subtilis* et *B.thuringiensis* et qui a noté que le poids des larves traitées diminue.

Lacousière et Boisvert (2004) ont révélé que le *B.t* provoque la cessation de l'alimentation après avoir exercé des changements au niveau du tube digestif de l'insecte. Ainsi, il semble d'après nos résultats que l'abaissement du poids des larves est le fruit de l'action du *B. subtilis* (A3 et B.S.ET) sur le tube digestif ou au refus de l'alimentation.

Allal- Benfekih (2006) a montré que si les protéines cristallines 1C avaient un effet sur la diminution de la prise de la nourriture, la cible serait plutôt le système nerveux. Si la prise alimentaire n'était pas altérée, la cible serait les cellules de l'intestin moyen comme chez les lépidoptères.

Gupta et Vyas (1989) et Lazare *et al* (1996) in Allal- Benfih (2006) ont aussi observé l'effet du *B.subtilis* sur la perte du poids des larves de l'*Anopheles culicifacies* et les adultes de *Drosophila melanogaster*.

Chapitre IV : Discussion

IV.2.4.3. Sur le passage du stade L5 au stade chrysalide et sur l'émergence

Après traitement des larves d'*E.ceratoniae* par les deux isolats bactériens A3 et B.S.ET des faibles taux de mortalité sont enregistrés par les faibles doses des deux isolats utilisés, par contre des taux du passage du stade L5 au stade chrysalide et d'émergence sont enregistrés.

Tableau 4.6. Principaux résultats du GLM du passage du stade L5 au stade chrysalide et de l'émergence des larves d'*E.ceratoniae*.

(A3 (D3 : $1,147 \times 10^8$ UFC/ml), B.S.ET (D'2 : $2,051 \times 10^8$, D'3 : $1,121 \times 10^8$ et D'5 : $0,471 \times 10^8$ UFC/ml)).

	Efficacité	Résultats de l'analyse GLM			
		Doses	Isolat bactérien	Stade larvaire	Temps
Passage au stade nymphal	Un faible taux de nymphose à l'exception de celui de la dose D'5.	hautement significative	non significatif	larves âgées groupées (Sexe confondue)	hautement significative
	un taux de passage très important enregistré avec la dose D3 en comparaison avec la dose D'3. le taux de nymphose chez les femelles est supérieur à celui des mâles	hautement significative	non significatif	larves âgées (mâle et femelle)	hautement significative
Emergence	un taux d'émergence très important enregistré avec la dose D'5	hautement significative	non significatif	larves âgées groupées (Sexe confondue)	hautement significative
	un taux d'émergence très important enregistré avec les doses D3 et D'2.	hautement significative	non significatif	larves âgées (mâle et femelle)	hautement significative

Selon le tableau 4.6. on note que :

-Le taux de nymphose des larves âgées groupées est faible à l'exception de celui observé sous l'effet de la dose D'5.

-Le taux de nymphose des larves femelles est supérieur à celui des larves mâles.

-Le taux d'émergence chez les larves âgées groupées est très important sous l'effet de la dose D'5 et les D3 et D'2 chez les chenilles mâle et femelle.

Chapitre IV : Discussion

Les travaux réalisés par Euverte et Martouret (1963) montrent que vis-à-vis des larves âgées de *Galleria mellonella*, les faibles concentrations de *B. thuriengiensis* provoquent seulement une mortalité immédiate et la mortalité totale est atteinte après une longue survie. Ces résultats sont en accord avec les nôtres. Des résultats similaires sont obtenus par Bennai et Khalfi (2015) après traitement des larves de *Galleria mellonella* par *B. thuriengiensis* et *B. sphaericus*.

IV.2.4.4. Sur les métabolites hémolymphatiques

Concernant le taux des protéines hémolymphatiques, il se révèle à la lumière des résultats obtenus, que le taux des protéines est élevé chez les larves traitées par les deux isolats bactériens (A3) et (B.S.ET) comparativement aux témoins.

L'augmentation du taux des protéines hémolymphatiques constatée chez les larves traitées, peut être expliquée par l'accumulation de protéines issues de la prolifération de la bactérie injectée directement dans l'hémolymphe ou encore par le fait que les larves elles même secrètent des substances de nature protéique comme forme de défense contre l'effet de stress.

La réponse aux stress est constituée d'une série d'évènements génétiques et métaboliques utilisés par les organismes vivants pour maintenir l'intégrité de leur soma face aux agressions. Chez les insectes, la présence des protéines du stress a été mise en évidence (Gourdon et al, 1998).

Des résultats similaires ont été soulignés par Irnatene et Lamri (2016) qui ont noté une augmentation du taux des protéines hémolymphatiques chez les larves de *Galleria mellonella* traitée par *B. cereus*.

Nos résultats sont en accord avec ceux trouvés par Oulebsir-MohandKaci (2012), qui a noté une augmentation du taux de protéines hémolymphatiques chez *Lousta migratoria* traitée par *Bacillus sp* et par Oulebsir-MohandKaci et Doumandji-Mitiche (2012), qui ont noté également une augmentation du taux de protéines hémolymphatiques chez *Locusta migratoria* traitée par *Pseudomonas spp*.

Chapitre IV : Discussion

D'après nos résultats, le taux des glucides est réduit chez les larves traitées par les deux isolats bactériens (A3) et (B.S.ET) comparativement aux témoins.

La diminution de la quantité des glucides hémolymphatiques que nous avons enregistrés peut être expliquée par l'hydrolyse des sucres réducteurs par les deux souches utilisées.

Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par Irnatene et Lamri (2016) qui ont noté une diminution du taux des glucides hémolymphatiques chez larves de *Galleria mellonella* traitée par *B. cereus*, par Oulebsir-MohandKaci (2012) et Oulebsir-MohandKaci et Doumandji-Mitiche (2012), qui ont noté une diminution du taux de glucides hémolymphatiques chez *Locusta migratoria* traitée par *Bacillus sp* et par *Pseudomonas spp*.

Conclusion

Notre travail est divisé en trois parties : l'élevage de la pyrale des dattes, la purification et l'identification de deux isolats bactériens entomopathogènes, puis leur utilisation contre les chenilles de la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae*.

Nous avons isolé l'isolat bactérien (A3) à partir d'un sol cultivé situé dans la région de Corso (Boumerdes) et purifié l'isolat (B.S.ET) provenant de la faculté des sciences agronomiques de Gembloux (Belgique) qui était sous forme lyophilisée et.

La classification spécifique de ces bactéries a permis de les affilier à l'espèce *Bacillus subtilis* (A3 et B.S.ET).

Nous avons procédé à l'utilisation des deux isolats contre les chenilles de la pyrale des dattes (*Ectomyelois ceratoniae*). Les individus traités par les différentes concentrations des isolats (A3 et B.S.ET) ont montré des symptômes très remarquables dus à l'effet des bactéries, dont un noircissement du corps après la mort due à la libération de la mélanine et des malformations au niveau de l'abdomen.

L'analyse comparée de l'efficacité des deux isolats bactériens à travers les mortalités corrigées des chenilles de la pyrale des dattes a montré une différence hautement significative entre les doses testées et entre les jours et une différence non significative entre les isolats après traitement.

L'examen des TL50 montre que les larves d'*E.ceratoniae* traitées par (B.S.ET) présentent les TL50 les plus élevées, par contre les larves traitées par (A3) présentent les TL50 les plus faibles.

Si l'on compare les doses létales DL50 des deux souches testées identifiées probablement comme *B.subtilis*, on peut constater que l'isolat (B.S.ET) présente un effet meilleur sur les larves d'*E.ceratoniae* suivi de l'isolat (A3).

L'analyse comparée de l'efficacité des deux isolats bactériens testés sur la croissance et le développement (chrysalide, émergence des papillons) des larves d'*E. ceratoniae* a montré une différence hautement significative entre les doses testées et entre les jours et une différence non significative entre les isolats après traitement.

Conclusion

Quant au dosage quantitatif des protéines, il apparaît à la lumière des résultats obtenus, que le taux de protéines est élevé chez les individus traités comparativement aux témoins.

L'examen comparatif des résultats relatifs au dosage des glucides obtenus chez les témoins et les traités par *B. subtilis* (A3 et B.S.ET) nous ont permis de constater en général une diminution de la teneur en glucides hémolympatiques comparativement aux témoins.

Enfin, il apparaît clairement que les deux isolats bactériens isolées représentent une avancée intéressante dans la lutte contre les insectes en général et la pyrale des dattes en particulier car elles affectent sensiblement le développement et le métabolisme de cet insecte. Il est important donc d'approfondir la recherche sur ces bactéries concernant leurs impacts écologique et toxicologique dans l'environnement.

En perspectives, 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 de l'insecte. Cette étude va permettre de produire des insecticides spécifiques, efficaces et sans effets néfastes pour la nature.
- D'étudier l'efficacité des souches étudiées sur les pontes étant donné que le stade larvaire est endogène.
- D'étudier l'effet sur les ecdystéroïdes des femelles et la réalisation de coupes histologiques.
- Enfin, une identification moléculaire des isolats testées et la recherche d'autres *Bacillus* telluriques pour des études de l'activité biologique comparée.

Références bibliographiques

- Abdelmoutaleb M., 2008.** La champagne intensive de vulgarisation (CIV).
- Abot W.B., 1925.** A method for computing the effectiveness of an insecticide. *J. Econ. Ent.* 18: 256-267.
- Adila Z., 2006** - Contribution à l'étude du taux d'infestation de trois variétés des dattes « Deglet Nour », « Ghars » et « Mech degla » par *Ectomyelois ceratoniae* et dosage des protéines solubles. Mem. Ing. Uni. Biskra, 50p.
- Agaisse H. et Lereclus D., 1995.** How does *Bacillus thuringiensis* produce so much insecticidal crystal protein? *Journal of bacteriology* 177, 6027-6032.
- Ainsworth, 1983.** Les pathogènes d'insectes. *Bulletin technique, International Mycological Institute*, 17 p.
- Ait Kaki A., 2014.** Recherche de nouvelles potentialités de bactéries du genre *Bacillus* pour l'agriculture et l'agroalimentaire. Thèse de Doctorat : Université de Constantine 1, Algérie, 94p.
- Al-izzi M. A. J., Al Maliky S. K. Jabbo N.F., 1987.** Culturing the carob moth, *Ectomyelois ceratoniae* (Zeller) (Lepidoptera: Pyralidae) on an artificial diet-*Journal of Economic Entomology*, 80: 277-280.
- Allal-Benfekih L., 2006.** Recherches quantitatives sur le criquet migrateur *Locusta migratoria* (Orth, Oedipodinae) dans le Sahara algérien, Perspectives de lutte biologique à l'aide de microorganismes pathogènes et de peptides. Thèse de Doctorat : Université de Limoge, laboratoire UMR INRA 1061, Inst. Agro., El Harrach, Alger.
- Aly C. Mulla MS. et federiciBA., 1989.** Ingestion, Dissolution, and Proteolysis of the *Bacillus Sphaericus* Toxin by Mosquito Larvae. *Journal of Invertebrate Pathology*.53:12-20.
- Amorsi G., 1975**-Le palmier dattier en Algérie. Ed. Tlemcen. 131p.
- Anonyme a. 2012.** Le palmier dattier en Algérie. *Options méditerranéennes* 15, 95 p.
- Anonyme b,** [www.nufarm.com/BEFR/Foray 48 B](http://www.nufarm.com/BEFR/Foray_48_B) (Foray^R 48 B, une marque de Valent BioSciences Corporation – 870 Technology Way- Liberty ville- IL 60046-USA).
- Anonyme(c), 2007**- la lutte antivectorielle dans le cadre de l'épidémie de chikungunya sur l'île de la réunion ; Evaluation des risques et de l'efficacité des produits larvicides. AVIS de l'Agence française de sécurité sanitaire de l'environnement et du travail (afsset). Maisons-Alfort cedex, 115 p.
- **A.R.L.A.** (Agence de la Réglementation de la Lutte Antiparasitaire). 2010. *Bacillus subtilis* souche QST 713. Décision d'homologation RD2010-03, 9p.

Références bibliographiques

- Bachelier G. et Gavinelli R., 1966.** Dosage global des glucides du sol par les méthodes colorimétriques à l'antrone et à l'orcinol. Cah. ORSTOM. Sér. Péd., IV (3) : 97-103.
- Balachowsky A., et Mensil L. ,1935-** Les insectes nuisibles aux plantes cultivées leurs mœurs ; leur destruction. Tome 1. Paris. 627p.
- Balachowsky A.S., 1972-** Entomologie appliquée à l'agriculture. Ed. Massonet Cie- T.II.Vol 2 : 1634p.
- Bauce R., Carisey N., Dupont A. et Van Frankenhuyzen K., 2004.** *Bacillus thuringiensis* subsp. kurstaki aerial spray prescriptions for balsam fir stand protection against spruce budworm (Lepidoptera : Tortricidae). *Journal of Economic Entomology* 97: 1624-1634.
- Baumann P., Clark M.A., Baumann L. et Broadwell A.H.1991.** *Bacillus sphaericus* as a mosquito Pathogen: Properties of the Organism and its Toxins. *Microbiological Reviews*. 55: 425- 436.
- Belguedj M., 2002-**Caractéristiques des cultivars de dattier du Sud-est du Sahara Algérien. Vol 2.Ed. INRA. Alger. 67 p.
- Belhabib S., 1995-**Contribution à l'étude de quelques paramètres biologiques (croissance végétative et fructification) chez deux cultivars (Deglet-Nour et Ghars) du palmier dattier (*Phoenix dactylifera*.L) dans la région de Oued Righ. Mémoire, Ing, Agro. Batna. 54p.
- Ben Adounne H., 1987-** Etude bioécologique d'*Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera, Pyralidae) à Ghardaia. Mem. Ing. Agr.INA., El Harrach, Alger, 53p.
- Ben Ayed N., 2006-** Lutte biologique contre la pyrale des dattes, *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera, Pyralidae) par des lâchers de *Trichogramma cacoeciae* (Hymenoptera : Trichogrammatidae). Mémoire de master. INA. Tunisie, 76p.
- Ben Riala O., 2014.** Etude de la toxicité du spinosad sur les larves, les œufs et sur les paramètres biologiques de la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller 1839 dans des conditions contrôlées. Mem. de master : Université Mohamed Khider Biskra, Algérie, 56p.
- Bennai I., et Khalfi N., 2015-** Isolement et mise en évidence du pouvoir entomopathogène de quelques souches de genres *Bacillus* à l'égard de la fausse teigne des ruches *Galleria mellonella* (Lepidoptera, Pyralidae). Essai d'extraction des antibiotiques. Mem. de master : Université M'hamed Bouguera Boumersdes, Algérie, 68p.

Références bibliographiques

- Bertrand A., 2007.** Travaux pratiques. Détermination des activités endon. Et exo. B-glucanases, étude de l'activité pectine méthylestérase, dosage des protéines, INRA-UCBNEVA, 15p.
- Biliotti E. et Daumal J., 1969-** Biologie de *Phanerotoma flavitestacea* Fischer (*Hymenoptera*, Braconidae). Mise au point d'un élevage permanent en vue de la lutte biologique contre *Ectomyelois ceratoniae* Zeller. *Annal. Zool. Ecol. Anim* 1(4), 379- 394.
- Boumandji S. E., 1981-** Biologie et écologie de la pyrale des caroubes de l'Algérie *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (*Lepidoptera*, Pyralidae). Thèse. Doct. D'état. Univ. Pierre et Marie Curie. Paris VI. 145 p.
- Bounoua M. (2007).** Essais d'utilisation des *Pseudomonas spp.* et *Bacillus spp.* dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* sur tomate et *Verticillium dahliae* sur l'olivier. Thèse de Magister : Université d'Oran, Algérie, 90p.
- Bradford M., 1976.** A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding, *Analytical biochemistry* 72, 248-254.
- Brassad H., Leyral G., et Terry O.H., 2008.** Activités technologique en microbiologie 2 : Bactériologie. Systématique classe de première BGB. EdE Lsevier np. 129-137.
- Brossard et Terry., 1984-** Bactériologie systématique. Ed. C.R.D.P, Lyon, 220 p.
- Carballido-Lopez R., 2006.** Actin homolog Mre BH governs cell morphogenesis by localization of the cell wall hydrolase lytE. *Dev Cell*, 11(3): p.399-409.
- Cartwright P., 2009.** Human Microbiota Specialist Probiotics International Ltd. Somerset, U.K., pp 1-2.
- Charles J-F., Silva-Filha M.H. et Nielsen-Leroux C. 2000.** Mode of Action of *Bacillus sphaericus* on Mosquito Larvae: Incidence on Resistance. Dans Charles, J-F., Delécluse, A. et Nielsen-Leroux, C. (dir.). *Entomopathogenic Bacteria: From Laboratory to Field Application*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p. 227-252.
- Chevalier P., Laurent ST. et Samuel O., 2002.** Larvicides pour contrer la transmission du virus du nil occidental chez les humains. Rapport final de direction des risques biologiques environnementaux et occupationnels. Institut national de santé publique, Québec. 46p.
- Chiboub T., 2003.** La protection intégrée du palmier dattier en Tunisie. Atelier sur la protection intégrée du palmier dans les pays de l'Afrique du nord. Tozeur- Tunisie, pp : 45-52.
- Cloutier C. et Cloutier C., 1992.** Les solutions biologiques de lutte pour la répression des insectes et acariens ravageurs des cultures. In Vincent C. et Coderred D., 1992 : *Lutte biologique*, pp : 20-21, Ed. Gaitan Morin, Québec, 671p.

Références bibliographiques

- Crickmore N., Zeigler DR., Feitelson J. 1998. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuriangiensis* pesticidal crystal proteins. *Microbiology And Molecular Biology Reviews* 62, 807.
- Delarras C. (2007) : Microbiologie pratiques pour le laboratoire. Ed. Lavoisier, 463 p.
- Das J. and Muwlerjce A. 2006. Control of Mosquito borne diseases. Review of Literature, pp. 9-23.
- DesRochers, B. et R. Garcia. 1984. Evidence for Persistence and Recycling of *Bacillus sphaericus*. *Mosquito News*. 44 : 160-165.
- Dhouibi M. H., et Jarraya A., 1988 - Le ver des dattes (carob moth) : *Ectomyelois ceratoniae*. Groupement Interprofessionnel des dattes, Tunisie, pp 16.
- Dhouibi M.H., 1982- Bioécologie d'*Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera-Pyralidae). *Ann. INRAT*, 55 (4), 48p.
- Dhouibi M.H., 1989. Biologie et écologie d'*Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera : Pyralidae) dans deux biotopes différents au sud de la Tunisie et recherche de méthodes alternatives de lutte. Thèse de doctorat d'état. Uni. Pierre et Marie Curie. Paris 6, 188p.
- Dhouibi M.H., 1989-Essai de traitement avec la Bactospeine *Bacillus thuriangiensis* contre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* (Lepidoptera : Pyralidae) en palmeraies. Rapport d'expérimentation, 37 p.
- Dhouibi M.H., 1991- Les principaux ravageurs de palmier dattiers et de la datte en Tunisie. Ed : I.N.A.T.Tunisie. 64p.
- Djebblahi A., et Serraye N., 2010-Étude du niveau d'infestation par la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller., 1839 (Lepidoptera, Pyralidae) sur trois variétés de datte (Deglet Nour, Mech Degla et Ghars), sa dynamique de population et essai de lutte intégrée dans la région de Biskra.Mem. Uni. Biskra, 45p.
- Djebri M., 1996-Précis de phoeniciculture. Ministère de l'agriculture. Ed. F.A.O. 189 p.
- Doumandji S., 1981. Biologie et Ecologie de la Pyrale des caroubes dans le nord de l'Algérie *Ectomyelois Ceratoniae* Zeller, (Lepidoptera, Pyralidae). Thèse. *Doct. D'état. Scien. Natur. Université Pierre et Marie Curie. Paris VI*, 145 P.
- Doumandji S., et Doumandji Mitiche B., 1993-La lutte biologique contre les déprédateurs des cultures O.P.U. Alger, 94p.
- Doumandji-Mitiche B., 1983-Contribution à l'étude bioécologique des parasites prédateurs de la pyrale de caroube *Ectomyelois ceratoniae* en Algérie, en vue d'une éventuelle lutte biologique contre ce ravageur. Thèse de doctorat d'état, Es, Sc., Université Pierre et Marie Curie, Paris VI, 253p.

Références bibliographiques

- Dridi B., Baouchi H., Ben Salah K et Zitoun A., 2001-** Présentation d'une nouvelle méthode biotechnique de lutte contre le ver de la datte *Ectomyelois Ceratoniae* Zeller dite technique des insectes stériles. Journée technique phytosanitaire. Ed. INPV. pp 58-70.
- Duval J.et Weill A. 2009.** Produits phytosanitaires, Lutte biologique et pulvérisation. Ed. Equittere, pp. 01-12.
- Elhoumaizi M.A. 2002.** Modélisation de l'architecture du palmier dattier (*Phoenix dactylifera* L) et application à la simulation du bilan radiatif en oasis. Thèse Doctorat d'état, Science, Biologie végétale, Université Marrakech, 145 p.
- Euverte G. et Martouret D., 1963.** Contribution à l'emploi de *B.thuriengiensis berliner* pour la présentation de la cire d'abeille contre *Galleria mellonella* L. Ann Abeille., 6(4), 267-276.
- Euzeby J.P., 2007.** Dictionnaire de Bactériologie Vétérinaire. www.bacdicto.net.
- Felliachi S., 2005-**Transformation des produits du palmier dattier : potentiel et atouts, problématique, opportunités, thématique. Journée d'étude sur la transformation des produits du palmier dattier. Biskra 6-7 Décembre 2005. ITDAS, Biskra, 82 p.
- Frankanhuyzen R., Milne R., Broussae O., et Masson L., 1992-** Comparative toxicity of the HD1 and NRD 12 strains of defoliating forest Lepidoptera J.invertebr. Pathol, 59, pp: 149-159.
- Geraldine M., Schofield M., School K.P. 1981.** A numerical taxonomic study of members of the actinomycetaceae and related taxa. J Gen Microbiol, 127 (2): 237-259
- Gerard J. Tortora, Berdell R. Funke, Christine L. Case, et Martin L., 2003.** Introduction à la microbiologie. ERPI, Quebec, 945p.
- Gourdon I., Guerin M.C. et Torreilles J., 1998.** Mécanismes cellulaires et moléculaires de la réponse aux stress chez les bivalves marins = Cellular and molecular mechanisms of the stress response from marine bivalvia. Comptes rendus des séances de la Société de biologie et de ses filiales. 192 (4): 749-774.
- Grassé P.P., 1951-** Traité de zoologie : Anatomie, Systématique, biologie. Insectes supérieur et hémiptéroïdes. Ed. Masson et Cie Paris.T.X.Fasc.II.975p.
- Greathead D.J., Kooyman C., Launois-luong M.H. et Popov G.B., 1994.** Les ennemis naturels des criquets du Sahel. Cirad – Prifas., Collection Acridologie Opérationnelle 8, Montpellier, 147 p.
- Guidoum N., 2007:** L'application de la nouvelle démarche HACCP sur les dattes, Mém Ing .ins.biologie.Biskra .P23.

Références bibliographiques

-Griffitts et Aroian 2005. Many roads to resistance: how invertebrates adapt to Bt toxins. *BioEssays* 27, pp : 614-624.

-Guiraud J.P. 1998. *Microbiologie alimentaire*. Ed. Dunod, 652p.

-Guiraud J.P., 2003. *Microbiologie alimentaire; Application à l'étude des principaux groupes microbiens*. Ed. Dunod, 651p.

-Haddad L., 2000- Quelques données sur la bioécologie d'*Ectomyelois ceratoniae* dans les régions de Touggourt et Ouargla, en vue éventuelle lutte contre ce déprédateur. Mem. Ing. I.A.S. Ouargla, 62p.

-Harhoura F., 2012. Etude de la toxicité du spinosad sur les jeunes larves et les paramètres démographiques de la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller. Mem. de master : Université Mohamed Khider Biskra, Algérie, 69p.

-Hart T., Shears P. (1999): Atlas De Poche De Microbiologie. Ed. Flammarion, 313p.

-Hillel S., Levinson J., Edward Donnellan Jr., Ella H., 1964. Chemically defined synthetic media for sporulation and for germination and growth of *Bacillus subtilis*. *Journal of bacteriology*.

-Idder, 1984 – Inventaire des parasites d'*Ectomyelois ceratoniae* Zeller dans les palmeraies de Ouargla et lâchers de *Trichogramma embryophagum* Hartig contre cette pyrale. Mém. Ing.Agr. INA. , El-Harrach, Alger, 70p.

- Idder M.A., Bensaci M., Oualan M., Pintureau B., 2007- Efficacité comparée de trois méthodes de lutte contre la Cochenille blanche du palmier dattier dans la région d'Ouargla (Sud-est algérien) (Homoptera, Diaspididea). *Bulletin de la Société Entomologique de France*, 112 (2) : 191-196.

-Irnatene H. et Lamri S., 2016- Isolement et étude de l'activité biologique de quelques souches (*Bacillus sp.*) sur la fausse teigne des ruches *Galleria mellonella*. Mem. de master : Université M'hamed Bouguera Boumersdes, Algérie, 68p.

-Jarraya a et Vinson G. 1980. Contribution à l'étude de l'entomofaune du pistachier. Observations biologiques et écologiques sur *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lépidoptère : Pyralidae). *Ann , INRAT* 53:1- 42.

-Jean-Charles Cote et Kwang-Bo Joung 2000. Centre de recherche et développement en horticulture, http://res2.agr.ca/stjean/publication/gratuite-free_f.htm

-Jerraya A., 1994-Lutte biologique dans les oasis. Rapport de synthèse de l'atelier. INRAT. Tunis, Tunisie.pp : 181-186.

-Jerraya A., 2003- Principaux nuisibles des plantes et des denrées stockées en Afrique du nord (Leurs biologie, leurs ennemis naturels, leurs dégâts et leurs contrôles). Ed. Climat PUB. Tunis. 415p.

Références bibliographiques

-Karch S. et Charles J.F. 1987. Toxicity, Viability an Ultrastructure of *Bacillus sphaericus* 2362 Spore/ Crysta Complex Used in the Field. Annales de l'institut Pasteur/ Microbiologie. 138: 485-492.

-Khaouafi F., 2008. Contribution à l'étude de la toxicité compare d'un biopesticide récemment utilisé en Algérie "Bacillus thuriengiensis var Kurstaki" et d'un régulateur de croissance «Le difflubenzuron » sur le quatrième stade larvaire d'Ectomyelois ceratoniae Zeller (1839) (Lepidoptera, Pyralidae) en conditions contrôlées Mem. D'Ing : Université Saad Dahleb Blida 1, Algérie, 99p.

-Khelouati L., 2010. Etude de la toxicité de Bacillus sphaericus vis-à-vis le criquet migrateur Locusta migratoria (Linné, 1758).Effet sur l'appareil digestif et l'hémolymphe. Mem. D'Ing. : Université M'hamed Bouguera Boumersdes, Algérie, 70 p.

-Khoualdia O., 2003-Les ravageurs du palmier dattier et de la datte dans les pays magrébiens : situation actuelle et perspectives. Atelier sur la protection intégrée du palmier dattier dans les pays de l'Afrique du Nord. Tozeur-Tunisie, pp : 62-70.

-Kouassi M., 2001. La lutte biologique- une alternative viable à l'utilisation des pesticides. *Sci. Environ.*, Vol. 2, (2).

-Kunst F., Ogasawara N., Moszer I., Albertini A.M. et Alloni G., 1997. The complete genome sequence of the Gram positive bacterium *Bacillus subtilis* Nature 390, 249-256.

- Lamri H., 2015. Efficacité entomopathogène du *Bacillus subtilis* et du *Bacillus thuriengiensis* sur quelques paramètres de croissance et de fécondité du criquet migrateur *Locusta migratoria* (Linné, 1758) (Oedipodinae, Acrididae).

-Lacey L. A., Merrit R. W. 2003. The safety of bacterial microbial agents used for black fly and mosquito control in aquatic environments. Kluwer Academic Publishers Dordrech, The Netherlands, pp. 151-168.

-Lacey L.A. et Siegel J.P. 2000. Safety and Ecotoxicology of Entomopathogenic Bacteria. Dans Charles J-F., Delécluse A., et Nielsen-leRoux C. (dir.). Entomopathogenic Bacteria: From Laboratory to Field Application. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, p. 253- 273.

-Lacousière J.O. et Boisvert J., 2004-Le *Bacillus thuriengiensis israelensis* et le contrôle des insectes piqueurs au Québec. Ministère de l'Environnement. Envirodoq no ENV/2004/0278, 101p.

-Lambert N., 2010-Lutte biologique aux ravageurs : applicabilité au Québec : Essai présenté au Centre Universitaire de Formation en Environnement en vue de l'obtention du grade de maitre en environnement (M. Env.). Sherbrooke, Québec, Canada., 87p.

-Larpent P.J. et Gaurgaud L.M., 1997. Mémento technique de microbiologie. ED. Lavoisier, Paris, 934 p.

Références bibliographiques

- Larpent J.P. 1975.** Mémento technique de microbiologie. Ed. Perfectionnement industriel des cadres. 14p.
- Larpent J.P. 1997.** Microbiologie Alimentaire, Techniques de laboratoire. 3^{ème} Edition, 1073p.
- Larpent J.P. et Gourgaud L. M., 1997.** *Mémento technique de microbiologie*. Ed. Lavoisier, Paris, 934p.
- Lazare K., Haubruge E., Destain J., Thonart P., Lienard V. et Gaspar C., 1996.** Utilisation de *Bacillus subtilis* comme insecticide à l'égard de *Drosophila melanogaster* (MEIGEN). Med. Fac. Landbouwen ; 61 (3a) : 887-893.
- Le Berre A., 1978-** Mise au point le problème du vers de la datte, *Myelois ceratoniae* Zeller. Bull. Agr. Sahar. 1 (4). , pp : 1-35.
- Lepigre A., 1963-** Essais de lutte sur l'arbre contre la pyrale des dattes (*Myelois ceratoniae* Zeller) –*Pyralidae* Annal. Epiphyties. 14 (2) : 85-105.
- Liu X., Ren B., Gao H., Liu M., Dai H., Song F., Yu Z., Wang S., Hu J., Kokare C.R., et Zhang L. (2012).** Optimisation for the production of surfactin with a new synergistic antifungal activity. PLOS one 7(5). doi: 10.1371/ journal. Pone. 0034430.
- Lydie S., 2010.** La lutte biologique vers de nouveaux équilibres écologiques. Edition Quae, 57 /793-1, p 97.
- Maatallah S., 2004-** Contribution à la valorisation de la datte Algérienne. Mémoire. Ing. INA. El-Harrach. 121p.
- Mansouri A., Embarek G., Kokkalou., et Kefalas P., 2004-** Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). Activity of the Food chemistry 89: 411-420.
- Mariau D., 2000-** La faune du palmier à huile et du cocotier (1. Les lépidoptères ainsi que leurs ennemis naturels). CIRAD., département des cultures pérennes. Montpellier, France, 97 p.
- McSpadden- Gardener, B.B. (2004).** Ecology of *Bacillus* and *Paenibacillus* spp. In agricultural systems. *Phytopathology*. 94: 1252- 1258.
- Mediouni J., et Dhouibi H., 2005.** Mass-Rearing and Field Performance of Irradiated Carob Moth *Ectomyelois ceratoniae* in Tunisia (9): 265-273.
- Mehaoua M.S. 2006:** L'étude de niveau d'infestation par la cochenille blanche *Parlatoria blanchardi*, targ. 1868 (homoptera, diaspididae) sur trois variétés de palmier dattier dans la région de Biskra. Thèse de magister, sciences AGRI INA, El-Harrach, P33, 35, 39, 40, 45, 46,57.

Références bibliographiques

-Mehenni M., 2014-Dynamique spatio-temporelle de la pyrale des dattes et cortège parasitaire associé dans quelques palmeraies biologiques à Biskra. Mem. Magi. Uni. Blida I, 105p.

-Meilleur L., Lacoursiere J. et Boisvert J., 2010 - Les *Bacillus sphaericus*, utilisation pour le contrôle des moustiques, Québec, Ministère du Développement durable, de l'Environnement et des Parcs.

-Messar E.M., 1996- Le secteur phoenicole algérien : Situation et perspectives à l'horizon 2010. Série A : Séminaire Méditerranéennes, n° 28, Options Méditerranéennes, Ed. Ciheam. pp.23-36.

-Mezaache A., 2012. Journal of Plant Pathology (2012). 94(1), 89-9. Isolation, identification and antimicrobial activity of pseudomonas isolated from the rhizosphere of potatoes growing in Algeria.

-Midoun T., 2011. Extraction des composés phénoliques et étude de leurs activités.

-Milner J.L., Raffel S.J., Lethbridge B.J. et Handelsman J. 1995. Culture conditions that influence accumulation of zwittermicin A by *Bacillus cereus* UW85. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 43, pp.685-691.

-Munier P., 1973- Le palmier dattier. Ed. G-p. Maison neuve et Larose, Paris. 221 p.

-Ouamane A.T., 2012. Lutte intégrée contre la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller par l'utilisation des pièges à phéromone sexuelle et *Bacillus thuringiensis* var kurstaki dans la région de Biskra. Mem. de master : Université Saad Dahleb Blida 1, Algérie, 68p.

-Oulebsir-Mohand Kaci et Doumandji-Mitiche- Evaluation de l'impact biologique de *Pseudomonas* spp. fluorescents sur les métabolites hémolympatiques et l'histologie du tube digestif des larves L5 du criquet migrateur *Locusta migratoria* (Linné, 1758). *Lebanes Science Journal*, Vol. 13, NO. 2, 2012.

-Oulebsir-Mohand Kaci H., 1998. Etude de la toxicité de *Bacillus subtilis* (Sporulale, Bacillaceae) sur les cinq stades larvaires et les imagos de *Schistocera gregaria* (*Orthoptera*, *Acrididae*). Effet sur la respiration et le rythme cardiaque. Mém. Ing. Inst. Nat. Agro, El-harrach.

-Oulebsir-Mohand Kaci H., 2012- Evaluation de l'impact biologique de quelques souches locales de *Bacillus* sp. Et *Pseudomonas* spp. fluorescents vis-à-vis du criquet migrateur *Locusta migratoria cinerascens* (Oedopodinaen : *Acrididae*). Thèse de Doctorat, Ecole. Nat. Agro. El Harrach, Alger, 172p.

-Perry J., Staly T. et Lory S. 2004. Microbiologie. Paris, Ed. Dunod, 483p.

-Peyron G., 2000 - Cultiver le palmier dattier. Ed. C.I.R.A.D. France, 85 p.

Références bibliographiques

- Saggou H., 2001-** Relation entre les taux d'infestation par la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera, Pyralidae) et les différentes variétés de dattes dans la région de Ouargla. Mem. Ing. I.A.S. Ouargla, 70p.
- Singleton P., 2005.** Bactériologie pour la médecine, la biologie et la biotechnologie. Ed. Dunod, Paris, 541p.
- Staneck J.L., Roberts G.D., 1974.** Simplified approach to identification of aerobic Adinomycetes by APPL Microbiol, 28 (2): 226- 231.
- Starnes R., Liu L. et Marone P.G., 1993.** History, use and future of microbial insecticides. Amer. Entomol, 39: 83-91.
- Suzuki S., Okuda T., Komasubara S., 2001.** Seletive isolation and study on global distribution of the genus planobispora in soif. Can JMicrobiol, 47 (11): 979-986.
- Tomas B., 1985.** « *Bacillus* », in *Bactériologie médicale*. Ed. Le Minor L. et Verson M., Flammarion Médecine Sciences, pp. 558-578.
- Torki S. et Soudani S., 2008.** Etudes du niveau d'infestation par la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller., 1839 (Lepidoptera, Pyralidae) sur trois variétés de palmier dattier dans la région de Biskra. Mém. Ing. En agronomie.p 45.
- Toufik, 1993.** La lutte biologique contre les insectes. Faculté d'Agronomie. Université de Caire. P721.
- Toutain G., 1972-** Observations sur la reprise végétative du palmier dattier. Al Awania, 43 : 81 – 94.
- Viette P., 1963 -** Zoologie II : Les arthropodes (Lépidoptères). Ed. Gallimard, T. II. Vol. XV. pp : 751- 794.
- Watkinson I., 1994.** Global view of present and future markets for Bt products. Agriculture, Ecosystems & Environment 49: 3-7.
- Wertheimer M., 1958-** Un des principaux parasites du palmier dattier algérien : Le *Myelois decolor*, pp : 109-123.
- Whitman W.B., Coleman D.C. et Wiebe W.J., 1998.** Prokaryotes: The unseen majority. Proc. Natl. Acad. Sct. USA. 95, 6578-6583.
- Youcef-Ali M. 2014.** Etude de l'activité anti-*Candida albicans* des microorganismes isolés à partir du sol des zones arides. Thèse de Doctorat : Université de Constantine 1, Algérie, 109p.
- Zahiri N.S., Su T. et Mulla M.S. 2002.** Strategies for the Management of Resistance in Mosquitoes to the Microbial Control Agent *Bacillus sphaericus*. *Journal of Medical Entomology*. 39: 513- 520.

Références bibliographiques

-Zhang YJu J., Peng H., Gao F., Zhou C., Zeng Y., Xue Y., Li Y. Henrissat B., Gao G. F. et Ma Y., 2008. Biochemical and structural characterization of the intracellular mannanase AaManA of *Alicyclo bacillus cidocaldarius* reveals a novel Glycoside hydrolase family belonging to clan GH-A.1. *Biol.Chem.*

-Zinedine A., 2004. Détermination des mycotoxines dans les aliments et étude de la réduction des aflatoxines par les bactéries lactiques isolées des ferments panaires traditionnelles. Thèse de Doctorat en Microbiologie. Université Sidi Mohammed Ben Abdellah. Maroc, 162p.

-Zouioueche F. et Rahim F., 2008-Etude de quelques aspects bioécologiques de la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* Zeller., (Lepidoptera, *Pyralidae*) et essai d'une lutte biologique par le *Bacillus thuringiensis* var *Kurstaki* dans la région de Biskra. Mem. d'Ing. : Université Mohamed Kheider Biskra, Algérie, 90p.

INTRODUCTION

DONNEES BIBLIOGRAPHIQUE

MATERIEL ET METHODES

RESULTATS

DISCUSSIONS

CONCLUSION

**REFERENCE
BIBLIOGRAPHIQUES**

ANNEXE

Annexe

Annexe n°1 : Dégâts et parasitoïdes de la pyrale

Annexe 1.a. Dégâts de la pyrale

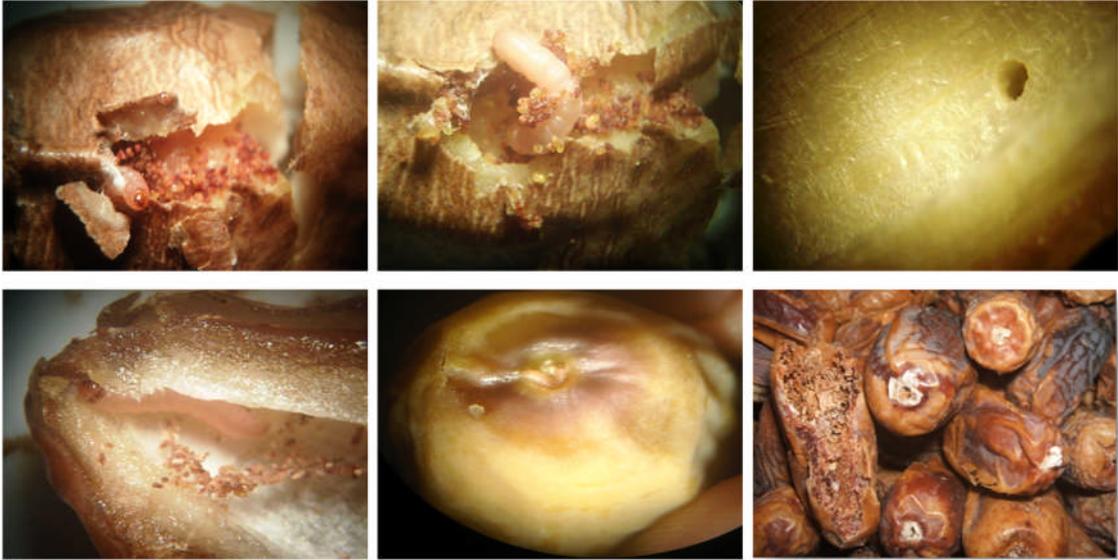
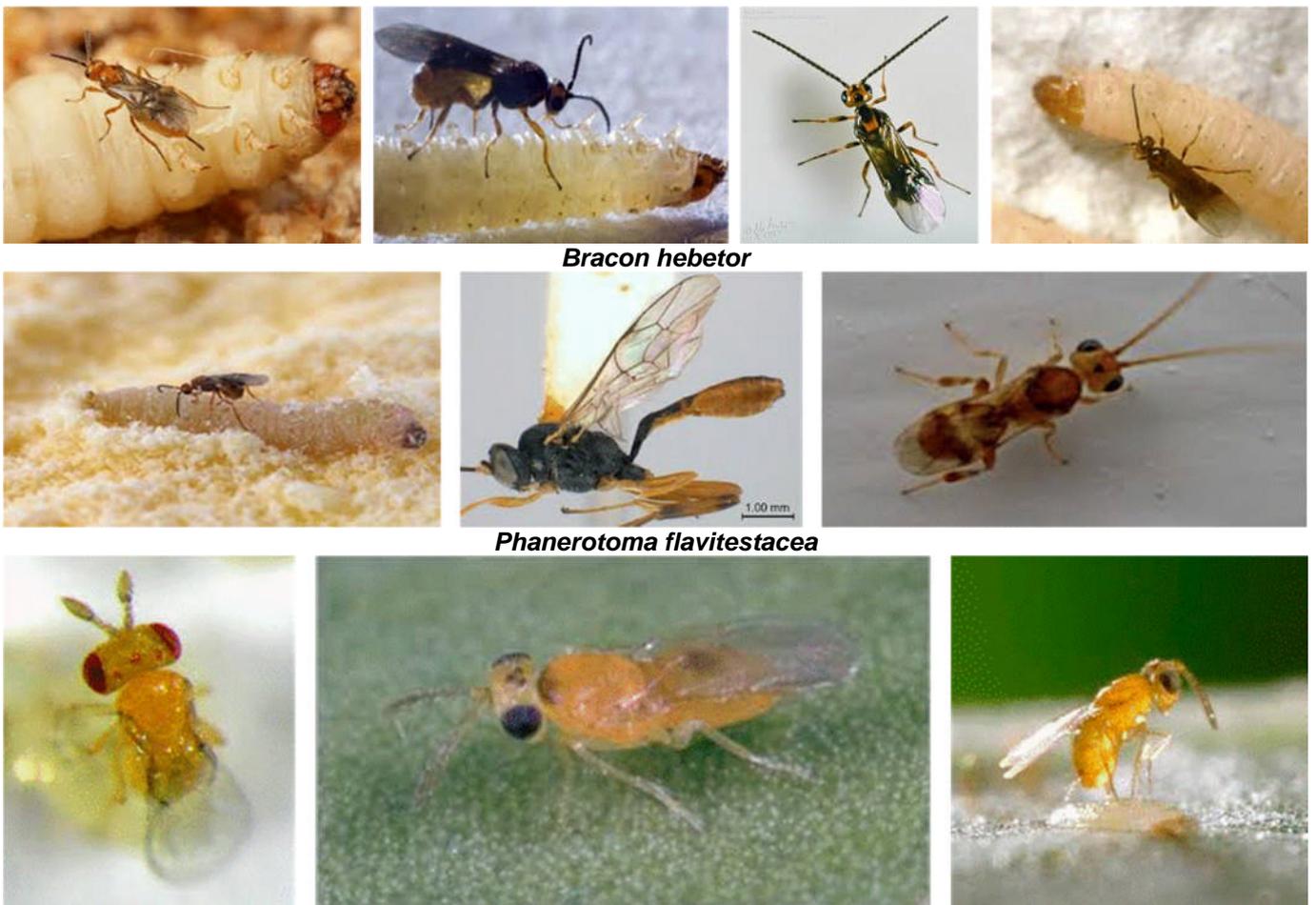


Figure.1.Dégâts d'*Ectomyelois ceratoniae* sur les dattes (S.R.P.V de Biskra, 2106).

Annexe 1.b. Parasitoïdes de la pyrale



Bracon hebetor

Phanerotoma flavitestacea

Trichogramma embryophagum

Figure 2. Les parasitoïdes d'*Ectomyelois ceratoniae*

Annexe

Annexe n°02

Milieux de cultures et matériel utilisés au laboratoire

Annexe 2.a. Milieux de cultures préparés

Gélose nutritif	Bouillon nutritif	Milieu de conservation
Extrait de viande ...2g	Extrait de viande2g	Glycérol.....30%
Peptone15g	Peptone15g	Eau distillée70%
NaCl5g	NaCl5g	
Agar15g	Eau distillée1000 ml	
Eau distillés ..1000 ml		

Annexe 2.b. Matériel et produits utilisés au laboratoire

Appareils	Produits et réactifs	Accessoires
Agitateur a plaque	Acide sulfurique	Anse de platine
Autoclave	Acide orthophosphorique à 85%	Bec Bunsen
Bain marie	Alcool	Béchers
Balance de précision chauffante	Amidon	Boîtes de Pétri
Etuve	Anthrone	Des embouts
Four pasteur	Bleu de Coomassie brillant G-250	Entonnoir
Microscope optique	Bleu de méthylène	Eprouvette
Réfrigérateur	BSA	Erlenmeyer
Spectrophotomètre	Disque OX	Flacons
Vortex	Eau distillée	Pots
	Eau oxygénée	Lames et lamelles
	Ethanol à 95°	Micropipette
	Fuchsine	Papier Aluminium
	Glucose	Papier filtre
	Huile à immersion	Parafilm
	Lugol	Pince de bois
	Poudre de zinc	Pipette graduées
	Réactif RN1, RN2	Pipette Pasteur
	Réactif VP1, VP2	Portoir
	Rouge de méthyle	Spatule
	Vert de malachite	Seringues
	Violet de Gentiane	Tubes à essai
	Viande Foie	Les tubes eppendorff
		Capillaire

Annexe

Annexe n°3

Annexe n°3.a. Identification préliminaire des isolats bactériens

II.3. Identification préliminaire des isolats bactériens

II.3.2. Caractérisation morphologique et microscopique

Examen macroscopique des colonies

C'est la première étape qui oriente le processus de caractérisation des bactéries. Elle porte sur la description des colonies obtenue sur le milieu GN et le trouble observé sur bouillon nutritif après 24 heures d'incubation à 32°C.

L'observation à l'œil nu est basée sur les éléments de l'identification (caractères morphologiques) données par Tomas(1985).

- La forme des colonies : circulaire, ondulée, filamenteuse.
- La taille des colonies : punctiforme (moins de 1mm de diamètre), non punctiforme (supérieur à 1 mm).
- Les chromogènes : couleur de pigment.
- L'opacité : translucide, transparente ou opaque.
- Elévation : colonie plate, convexe ou concave.
- L'aspect de la surface : lisse, sèche, rugueuse, brillante ou émoussée.
- L'aspect de contour : régulier ou non (denté, étoilé....).
- La consistance : visqueuse ou non visqueuse.
- L'odeur : présence ou absence, et sa nature.

Examen macroscopique des colonies

Observation microscopique à l'état frais

Cette observation est réalisée afin de déterminer la forme (cocci, bâtonnet...), le mode de regroupement et la mobilité de la bactérie caractérisée.

A partir d'une culture liquide âgée de 24h, on prélève une goutte, à l'aide d'une pipette Pasteur. Cette goutte est mise entre lame et lamelle et observée sous le microscope optique avec un grossissement $\times 40$ (Suzuki et al, 2001).

Coloration simple au bleu de méthylène

La coloration simple permet d'observer la forme et le mode de groupement des cellules bactériennes. Elle s'effectue en recouvrant le frottis par quelques

Annexe

gouttes de colorant Bleu de méthylène. On laisse agir pendant une à deux minutes, puis on rince à l'eau.

L'examen est réalisé généralement à l'immersion après séchage à la flamme du Bec Bunsen (Guiraud, 1998).

Coloration de Gram

C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classer. Son avantage est de les classer en deux grands groupes de bactéries dites Gram+ et bactéries dites Gram (Larpent, 1997 et Larpent et Gourgaud, 1997).

La technique comporte les étapes suivantes :

- Préparation d'un frottis bactérien à partir d'une culture âgée de 24 heures fixé à la chaleur sur une lame propre.
- Recouvrir le frottis par le Violet de Gentiane, laisser agir 1 minute.
- Fixation par le Lugol pendant 1 minute.
- Décoloration à l'alcool pendant 30 secondes.
- Recoloration à la Fuchsine pendant 1 minute.
- Après chaque étape la lame est rincée à l'eau distillée.
- Observation au microscope photonique après séchage de la lame.
- L'interprétation des résultats se base sur les observations suivantes :
 - Les bactéries colorées en bleu violet sont des Gram positif.
 - Les bactéries colorées en rose sont des Gram négatif.

Coloration de la spore

Les spores ou endospores bactériennes sont des formes de résistance que prennent certaines espèces quand les conditions du milieu deviennent défavorables (manque de nutriments, PH et températures extrêmes) (Singleton, 2005).

La solution aqueuse de vert de malachite a la propriété de traverser avec facilité après chauffage la paroi de la spore et de colorer essentiellement et sélectivement ces substances propres. Les étapes de la coloration de la spore sont les suivantes :

- Préparation d'un frottis bactérien à partir d'une culture bactérienne âgée de 48h. Le frottis est recouvert d'un papier filtre sur lequel la solution de vert de malachite est

Annexe

appliquée. La coloration se fait par chauffage par le Bec Bunsen pendant dix minutes.

Le rinçage se fait à l'eau de robinet après retrait du papier filtre, suivi d'une coloration à la Fuschine pendant 5 minutes.

-L'examen microscopique a lieu après séchage, à l'objectif à l'immersion Gx 100. Les spores apparaissent colorées en vert, les corps bactériens en rose (Guiraud, 2003).

II.3.3. Caractérisations biochimiques

Les tests biochimiques classiques

Test d'oxydase

Ce test détecte un type particulier de chaîne respiratoire qui comporte en fin de chaîne un cytochrome C et l'oxydase associée. Les bactéries qui possèdent une telle chaîne peuvent oxyder des composés chimiques comme le réactif de l'oxydase (dihydro-chlorure de tetraméthyl-p-phénylènediamine 1%). Les électrons sont transférés de ce réactif au cytochrome C et de là, via l'oxydase, à l'oxygène. Ainsi oxydé, le réactif développe une couleur violette intense (Singleton, 2005).

Sur une lame propre déposer un disque (OX) et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée stérile, prélever une partie de la colonie à étudier à l'aide d'une pipette Pasteure stérile et l'étaler sur le disque.

Si une coloration violet foncé apparaisse immédiatement sur le disque : le test est donc oxydase⁺ (Guiraud, 2003).

Test de la catalase

Chez les bactéries douées d'un métabolisme oxydatif, le système respiratoire compte parmi d'autres enzymes une catalase, celle-ci décompose l'eau oxygénée selon la réaction $2\text{H}_2\text{O}_2$ donne $2\text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$:

La méthode de recherche de la catalase consiste à étaler une colonie sur une lame de verre sur laquelle on ajoute une goutte de H_2O_2 à 10 volumes. La présence de l'enzyme se manifeste par un dégagement de bulles de gaz (Zinedine, 2004).

Annexe

Etude du type respiratoire

Le type respiratoire est mis en évidence sur milieu Viande Foie (VF) ayant un gradient de concentration en oxygène dissous élevé en surface et en profondeur. Le milieu de culture est solide : on le fait chauffer à 80°C pendant 30 minutes au bain Marie, et le maintenir en surfusion à 45°C. Le milieu estensemencé à l'aide d'une pipette Pasteur plongée au fond du tube et remontée en décrivant des tours de spires très serrées. Après refroidissement et solidification, le milieu est incubé à 30°C à l'étuve pendant 24 heures, le résultat se traduit par une poussée bactérienne, en surface pour Aérobie strictes, au fond du tube pour les Anaérobies strictes et à proximité de la surface pour les Micro-aérophiles (Guiraud, 2003).

Recherche du nitrate réductase (NR)

Les nitrates réductases sont mis en évidence après culture sur bouillon nitraté chargé d'une culture bactérienne jeune incubé durant 24h à 32°C.

Après incubation et addition au tube de trois à quatre gouttes du réactif de Griess, la réaction est instantanée, une coloration rose-rouge indique que les nitrates ont été réduits en nitrites. Si le milieu reste incolore, on ajoute une pincée de poudre de zinc qui réduit les nitrates. Si le milieu devient alors rose ou rouge, il reste des nitrates non réduit par la bactérie et qui sont alors réduit par le zinc en nitrite. Si le milieu reste incolore, la bactérie a réduit les nitrates jusqu'au stade N₂ (Delarras, 2007).Le tableau ci-dessous représente la lecture de ce test.

Réaction au rouge de méthyle (RM)

Cette réaction permet de mettre en évidence les fermentations des acides, en particuliers la fermentation des acides mixtes. Elle est mise en évidence après culture sur le milieu Clark et Lubs chargé de culture bactérienne incubé durant 48 h à 32°C.

Après incubation, on ajout de quelques gouttes de réactif de rouge de méthyle (RM), la coloration rouge traduisant les fermentations acides essentiellement la fermentation des acides mixtes (Hart et Shears, 1999).

Annexe

Test du citrate ou milieu citrate de Simmons

Ce test permet de mettre en évidence la capacité d'un micro-organisme à utiliser le citrate comme seule source de carbone. Le milieu utilisé est la gélose inclinée citrate de Simmons, il comporte un indicateur de PH bleu de bromothymol.

L'ensemencement se fait par des stries serrées en surface par une culture bactérienne solide. La lecture se fait selon le virage de couleur du vert vers le bleu (Larpent, 1975).

Mise en évidence de la mobilité

Cette étude est réalisée comme suite :

-On prélève une colonie âgée de 24h à partir d'un milieu solide à l'aide d'une pipette pasteur, puis on l'ensemence par piqûre centrale dans le milieu mannitol mobilité.

-L'incubation se fait à 32C° pendant 24h.

-La mobilité des souches est traduite par l'apparition d'un trouble dans le tube, les bactéries diffusent de la ligne centrale de la piqûre dans tout le tube, alors que les souches immobiles se développent uniquement le long de la piqûre d'ensemencement (Guiraud, 2003). La lecture est consignée dans le tableau 1.

Tableau 1. Lecture de test Mannitol-mobilité.

Lecture	Mannitol	Mobilité
Positif	Apparition de la coloration jaune	Apparition d'un large de diffusion autour de la ligne d'ensemencement
Négatif	Garde la couleur initial (rouge)	Absence d'un large de diffusion

Etude du milieu TSI

Le test TSI permet de mettre en évidence la fermentation de certains sucres avec ou sans production de gaz. Le milieu utilisé pour ce test est le milieu Kligler ou TSI qui contient : le glucose, le lactose, le saccharose, la peptone, un sel de fer et un indicateur de pH le rouge de Phénol. La gélose est répartie en tubes à essai sous forme semi-inclinée avec un haut culot (zone anaérobie) et une petite tranche en pente (zone aérobie).

L'ensemencement s'effectue à l'aide d'une anse de platine à fil droit par piqûre profonde du culot et par des stries sur la pente.

Annexe

Après incubation, l'apparition de la coloration jaune (pH acide) dans le culot traduit la fermentation du glucose. La coloration jaune (pH acide) de la pente indique l'utilisation du lactose et/ ou saccharose par les bactéries après épuisement du glucose.

La fermentation du glucose peut s'accompagner de l'apparition de poches d'air qui montrent la production du gaz et la formation d'un précipité noir qui révèle la production d'H₂S (Guiraud, 1998).

L'hydrolyse de l'amidon

La souche est ensemencée sur le milieu gélose nutritif contenant 1 % d'amidon soluble elle permet de mettre en évidence la dégradation de ce polysaccharide par certaines espèces bactériennes, après 1 à 5 jours d'incubation à 32°C, la culture est recouverte d'une solution de Lugol. (Geraldine *et al.*, 1981). La lecture de ce test est illustrée dans le tableau 2.

Tableau 2. Lecture et interprétation du test d'amidon.

Révélateur	Observation	Test amidon
Lugol	Zone claire jaunâtre (couleur de lugol autour des colonies)	Amidon hydrolysé
	Zone bleue	Amidon non hydrolysé

Hydrolyse de la caséine de lait

Une culture bactérienne âgée de 24 h est ensemencée par des spots sur milieu gélosé contenant de 200 ml d'agar nutritif et 100 ml de lait écrémé. L'apparition des zones claires autour des colonies après 24 h à 72 h d'incubation à 32°C témoigne l'hydrolyse de la caséine (Staneck et Roberts, 1974; Geraldine *et al.*, 1981).

Hydrolyse de lécithine

Elle est étudiée de façon classique par spots sur une gélose nutritive ordinaire additionnée de 10% d'une émulsion de jaunes d'œuf stérile dans l'eau physiologique incubé à 32°C pendant 1 à 5 jours. L'apparition d'une zone opaque,

Annexe

sous et autour de la culture, traduit la présence d'une lécithinase (Brassad *et al.*, 2008).

Résistance à la température

L'ensemencement se fait par des stries sur des milieux gélosés par une culture bactérienne jeune, âgée de 24h. L'incubation des boîtes est réalisée à 45°C, 55°C et 65°C pendant 24 heures. Le résultat se traduit par la croissance ou non de la culture bactérienne (Guiraud, 2003).

II.3.3.2. Utilisation de la Galerie Api 20^E

On prépare une suspension bactérienne d'opacité légère dans un tube à essai stérile, avec une seule colonie prélevée à partir d'une culture jeune et pure sur un milieu bouillon nutritif (annexe 2.a.) et incubée 24h à 32°C.

On prépare d'abord la galerie. On commence par la répartition de l'eau physiologique dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide. Après cela, on inscrit la référence de la souche sur la languette latérale de la boîte d'incubation, on dépose stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

Puis, on ensemence la galerie avec une pipette pasteur stérile ouverte chargée en suspension bactérienne âgée de 24h, pointe posée sur un côté de la cupule, en laissant couler doucement la suspension dans la cupule. On tient la boîte légèrement inclinée pour éviter la formation de bulles.

Pour les caractères encadrés (CIT, VP, GEL) on remplit entièrement la cupule (tube et orifice) avec la suspension bactérienne (mise en aérobiose). Pour les autres caractères, ne remplir que le tube (Hillel *et al.*, 1964).

Après inoculation, on doit créer une anaérobiose dans les tests : (ADH, LDC, ODC, H₂S, URE) en remplissant leur cupule d'huile de paraffine stérile ou l'huile de vaseline stérile (mise en anaérobiose). Après cela, on referme la boîte d'incubation et on la place dans l'étuve à 32°C pendant 18 à 24 heures.

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau 2.4.

Annexe

Annexe n°3.b. Les courbes d'étalonnages

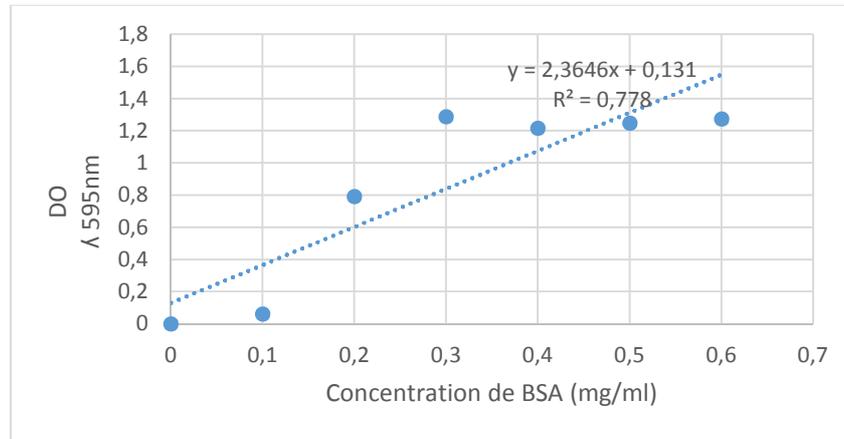


Figure 1. Courbe d'étalonnage exprimant les absorbances à 595 nm en fonction des concentrations de BSA en mg/ml.

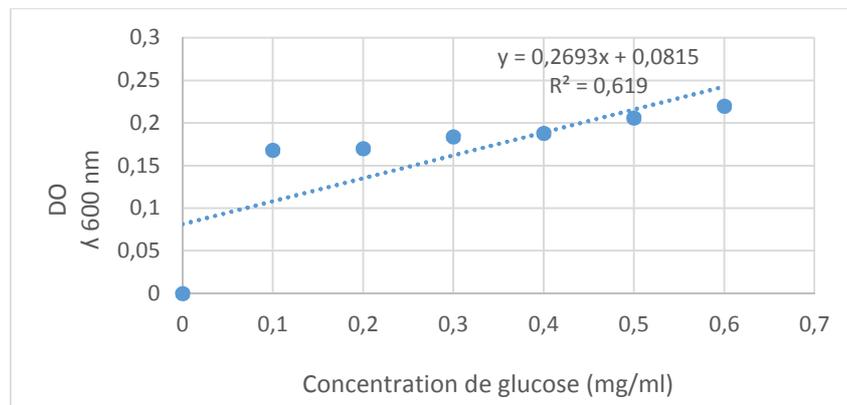


Figure 2. Courbe d'étalonnage exprimant les absorbances à 600 nm en fonction des concentrations de glucose en mg/ml.

Annexe

Annexe n°4 Résultats de quelques tests microbiologiques

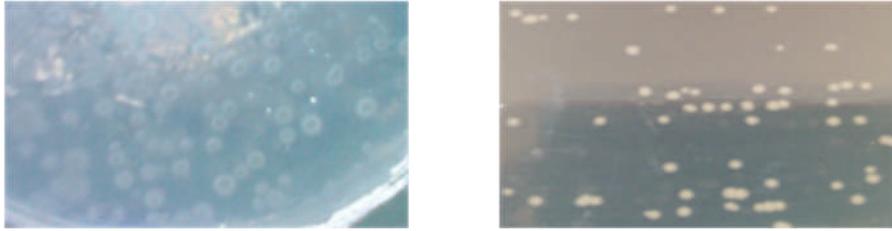


Figure1. Photographies des colonies obtenues chez les isolats âgés de 24h (A3 à gauche B.S.ET à droite).



Figure 2. Résultats positif du test d'oxydase de l'isolat A3 (à gauche) et B.S.ET (à droite).

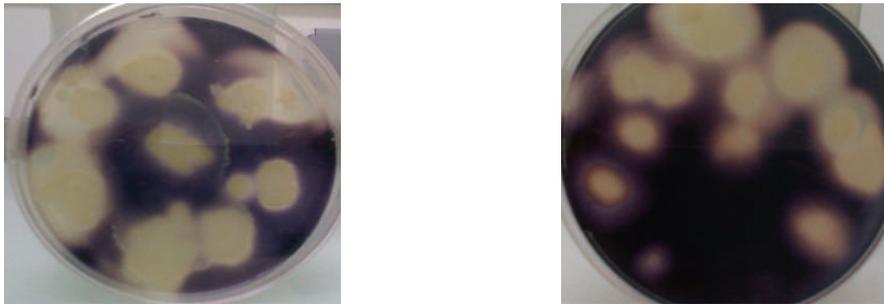


Figure 3. Résultats de l'hydrolyse de l'amidon de l'isolat A3 (à gauche) et B.S.ET (à droite).

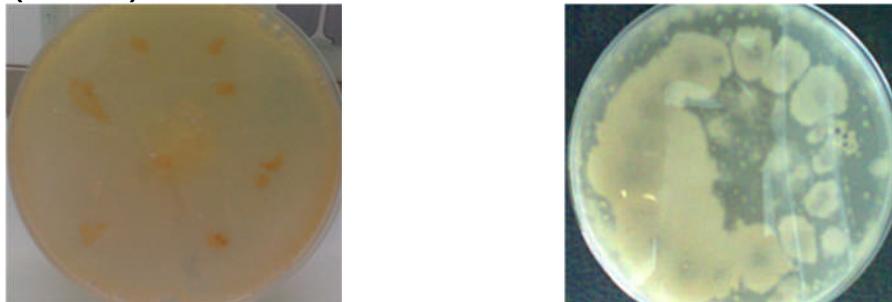


Figure 4. Résultats de l'hydrolyse de la caséine de lait de l'isolat A3 (à gauche) et B.S.ET (à droite).

Annexe

Annexe n°5

Evaluation de l'effet létal des isolats bactériens étudiés

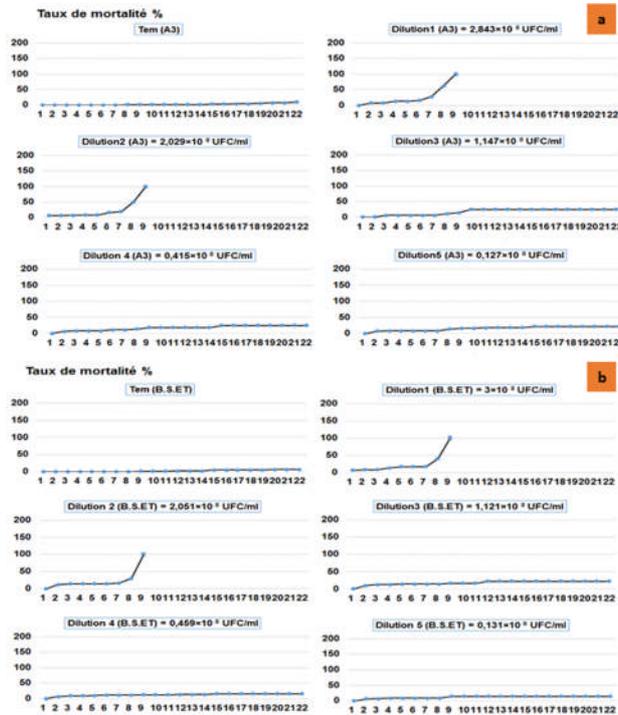


Figure 1. Variation temporelle de la mortalité des chenilles de la pyrale sous l'effet des isolats de *B. subtilis* testées (Isolat A3 / D1 : $2,843 \times 10^8$, D2 : $2,029 \times 10^8$, D3 : $1,147 \times 10^8$, D4 : $0,415 \times 10^8$ et D5 : $0,127 \times 10^8$ UFC/ml ; isolat B.S.ET / (D'1 : 3×10^8 , D'2 : $2,051 \times 10^8$, D'3 : $1,121 \times 10^8$, D'4 : $0,459 \times 10^8$ et D'5 : $0,131 \times 10^8$ UFC/ml).

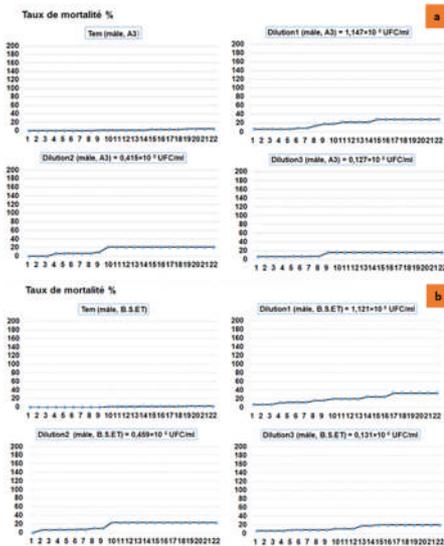


Figure 2. Variation temporelle de la mortalité des chenilles âgées mâles de la pyrale sous l'effet des isolats de *Bs* étudiées (a/ isolat A3 : aux dilutions, D1 : $1,147 \times 10^8$, D2 : $0,415 \times 10^8$ et D3 : $0,127 \times 10^8$ UFC/ml ; isolat b/ B.S.ET aux dilutions (D'1 : $1,121 \times 10^8$, D'2 : $0,459 \times 10^8$ et D'3 : $0,131 \times 10^8$ UFC/ml)

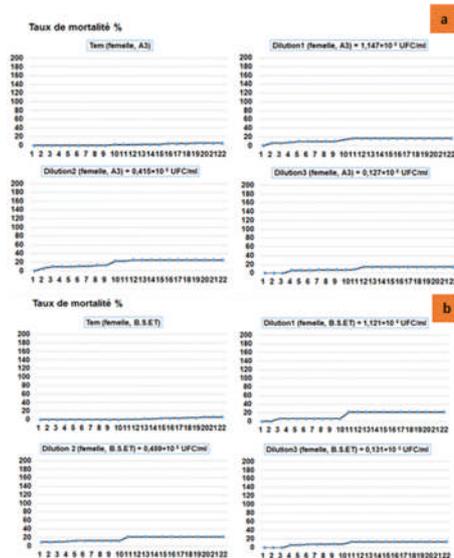


Figure 3. Variation temporelle de la mortalité des chenilles de la pyrale femelles sous l'effet des isolats de *Bs* étudiées (a/ isolat A3 : aux dilutions, D1 : $1,147 \times 10^8$, D2 : $0,415 \times 10^8$ et D3 : $0,127 \times 10^8$ UFC/ml ; isolat b/ B.S.ET aux dilutions (D'1 : $1,121 \times 10^8$, D'2 : $0,459 \times 10^8$ et D'3 : $0,131 \times 10^8$ UFC/ml)

Annexe

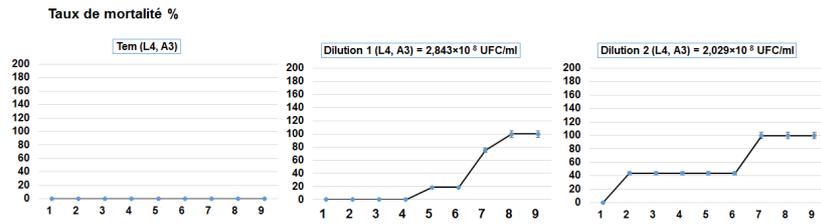


Figure 4. La mortalité des larves L4 sous l'effet de l'isolat bactérien A3 aux dilutions D1 et D2 ($2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$ UFC/ml)

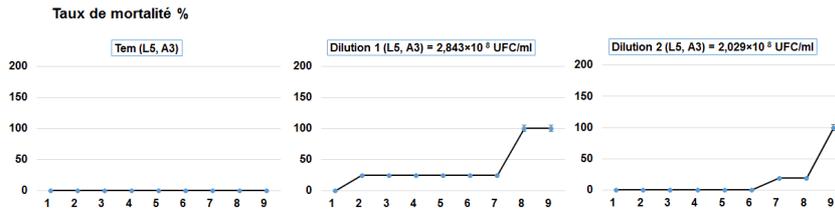


Figure 5. La mortalité des larves L5 sous l'effet de l'isolat bactérien A3 aux dilutions D1 et D2 ($2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$ UFC/ml)

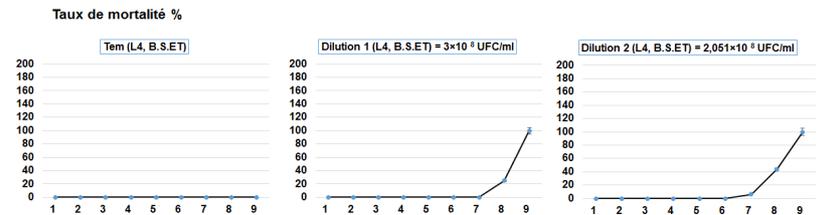


Figure 6. La mortalité des larves L4 sous l'effet de l'isolat bactérien B.S.ET aux dilutions D1' et D2' (3 et $2,051 \times 10^8$ UFC/ml)

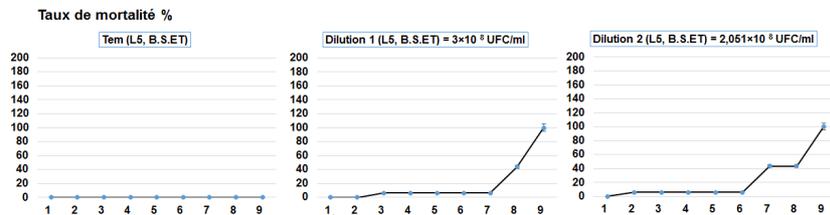


Figure 7. La mortalité des larves L5 sous l'effet de l'isolat bactérien B.S.ET aux dilutions D1' et D2' (3 et $2,051 \times 10^8$ UFC/ml)

Annexe n° 6

Les droites de régression des taux de mortalités

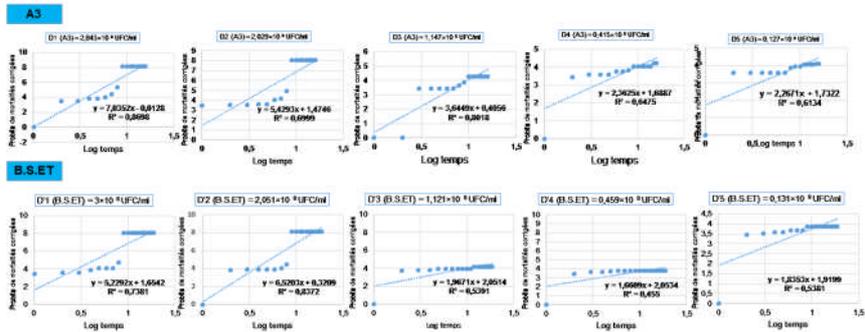


Figure 1. Droites de régression exprimant des taux de mortalités des larves âgées groupées traitées par les isolats bactériens A3 et B.S.ET.

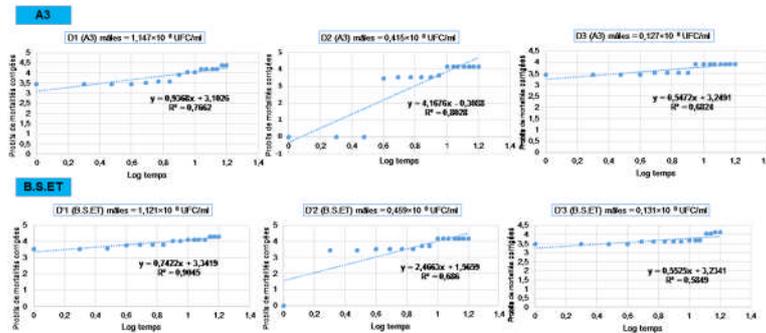


Figure 2. Droites de régression exprimant des taux de mortalités des larves mâles traitées par l'isolat bactérien A3 et B.S.ET.

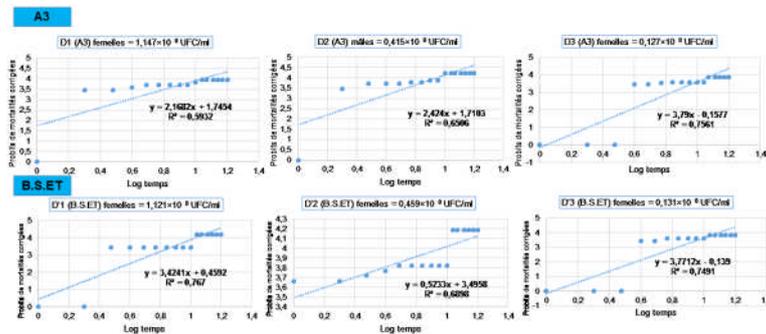


Figure 3. Droites de régression exprimant des taux de mortalités des larves femelles traitées par l'isolat bactérien A3 et B.S.ET.

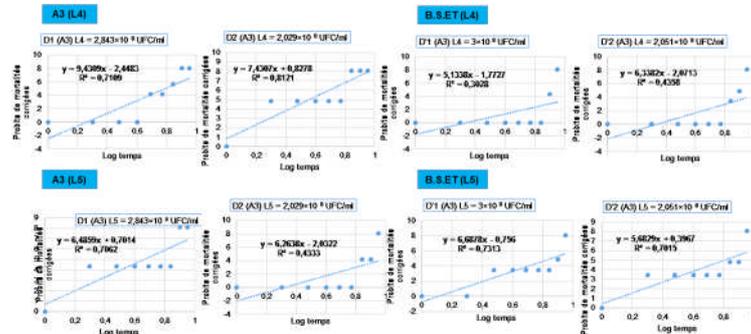


Figure 4. Droites de régression exprimant des taux de mortalités des larves âgées séparées (L4 et L5) traitées par l'isolat bactérien A3 et B.S.ET.

Annexe

Annexe n° 7

Les droites de régression des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux

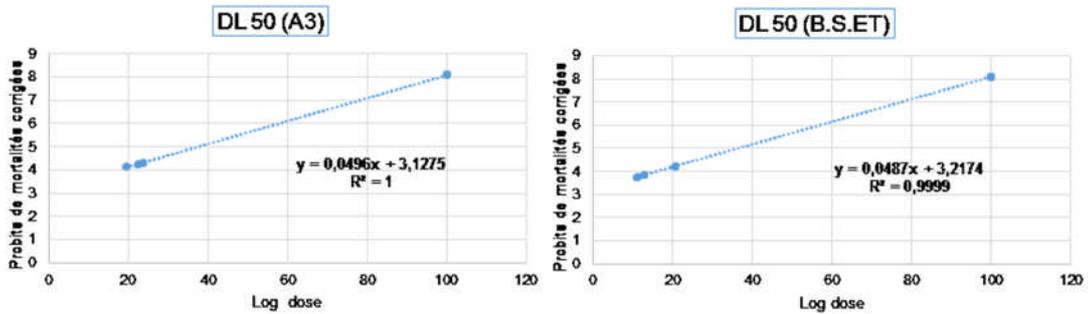


Figure 1. Droites de régression exprimant des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux des larves âgées groupées traitées par les isolats bactériens A3 et B.S.ET.

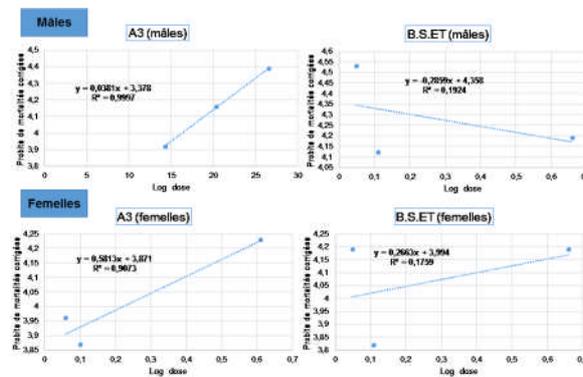


Figure 2. Droites de régression exprimant des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux des larves mâles et femelles traitées par l'isolat bactérien A3 et B.S.ET.

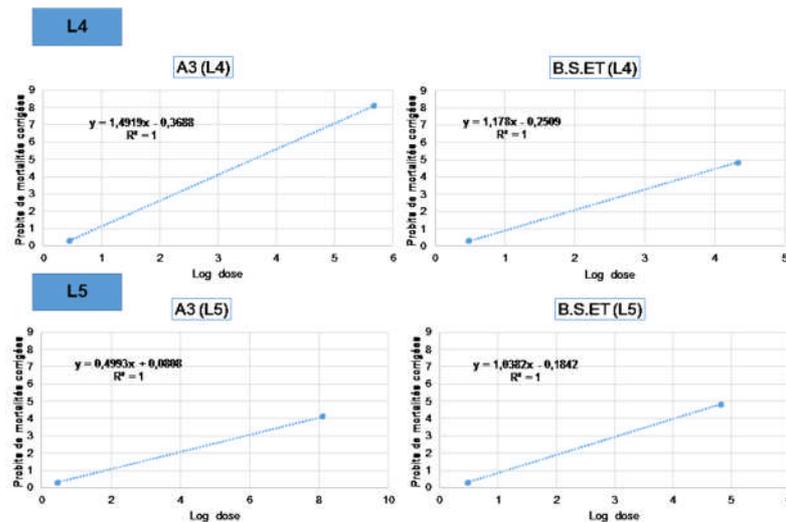


Figure 3.6. Droites de régression exprimant des taux de mortalités en fonction des logarithmes décimaux des larves âgées séparées (L4 et L5) traitées par l'isolat bactérien A3 et B.S.ET.

Annexe

Annexe n°8

Evaluation de l'effet sublétalement des isolats bactériens étudiés sur la consommation des chenilles de la pyrale

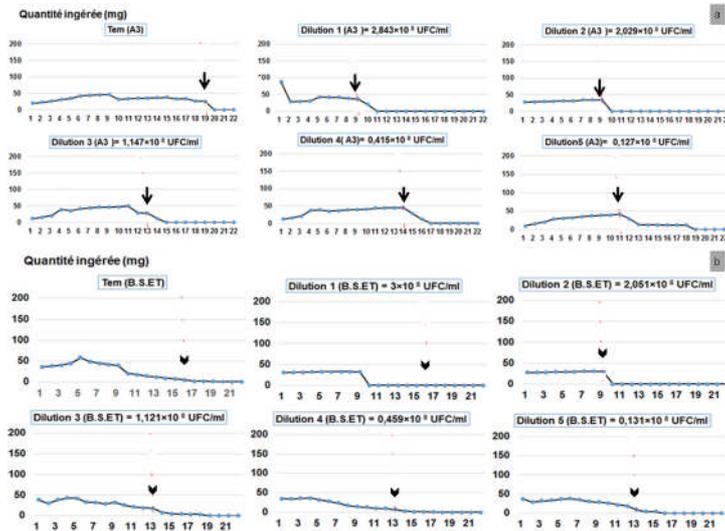


Figure 1. Variation temporelle de la quantité d'aliment ingérée par les chenilles âgées de la pyrale sous l'effet des isolats de *B. subtilis* testés (isolat A3 / D1 : 2,843 × 10⁸, D2 : 2,029 × 10⁸, D3 : 1,147 × 10⁸, D4 : 0,415 × 10⁸ et D5 : 0,127 × 10⁸ UFC/ml ; isolat B.S.ET / (D'1 : 3 × 10⁸, D'2 : 2,051 × 10⁸, D'3 : 1,121 × 10⁸, D'4 : 0,459 × 10⁸ et D'5 : 0,131 × 10⁸ UFC/ml).

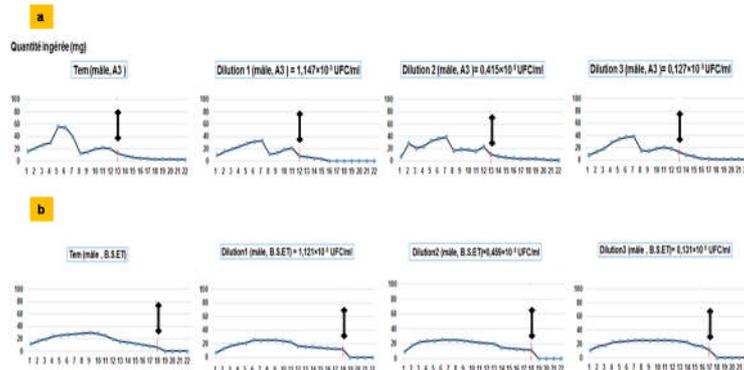


Figure 2. Variation temporelle de la quantité d'aliment ingéré par les chenilles âgées mâles de la pyrale sous l'effet des isolats de *Bs* étudiées (a/ isolat A3 : aux dilutions, D1 : 1,147 × 10⁸, D2 : 0,415 × 10⁸ et D3 : 0,127 × 10⁸ UFC/ml ; isolat b/ B.S.ET aux dilutions (D'1 : 1,121 × 10⁸, D'2 : 0,459 × 10⁸ et D'3 : 0,131 × 10⁸ UFC/ml).

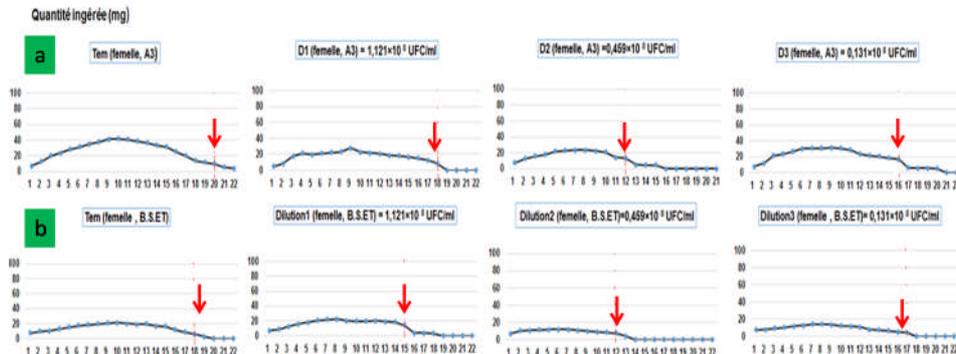


Figure 3. Variation temporelle de la quantité d'aliment ingéré par les chenilles de la pyrale femelles sous l'effet des isolats de *Bs* étudiées (a/ isolat A3 : aux dilutions, D1 : 1,147 × 10⁸, D2 : 0,415 × 10⁸ et D3 : 0,127 × 10⁸ UFC/ml ; isolat b/ B.S.ET aux dilutions (D'1 : 1,121 × 10⁸, D'2 : 0,459 × 10⁸ et D'3 : 0,131 × 10⁸ UFC/ml).

Annexe

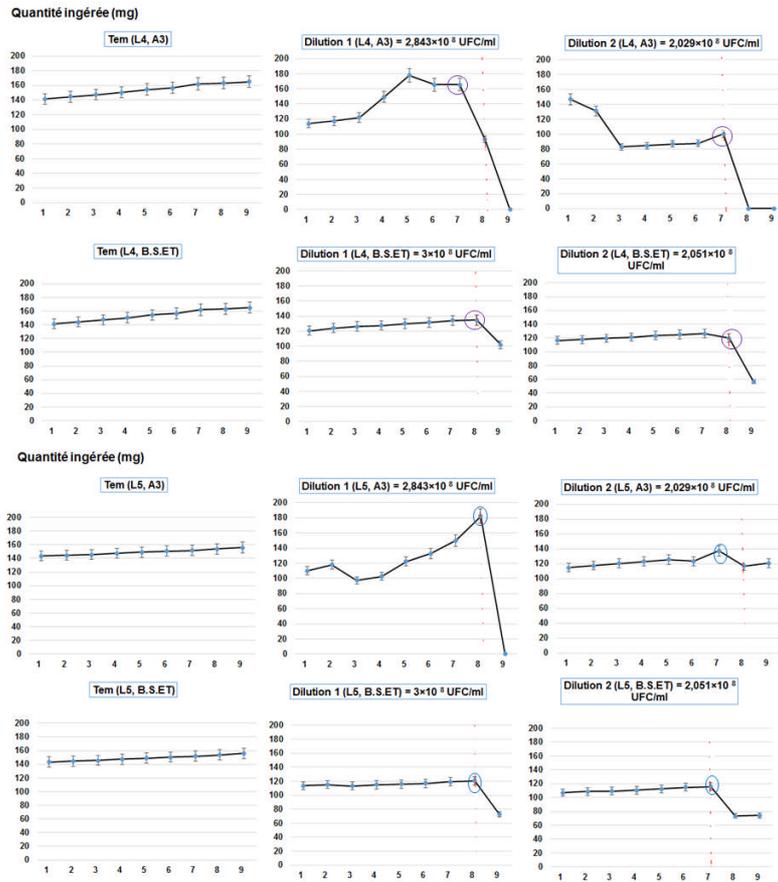


Figure 4. Quantité d'aliment ingérée par les larves L4 et L5 sous l'effet de l'isolat bactérien A3 aux dilutions D1 et D2 ($2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$ UFC/ml), et sous l'effet de l'isolat bactérien B.S.ET aux dilutions D1' et D2' (3 et $2,051 \times 10^8$ UFC/ml).

Annexe

Annexe n°9

Evaluation de l'effet subléthal des isolats bactériens étudiés sur le poids des larves L4 et L5 des chenilles de la pyrale

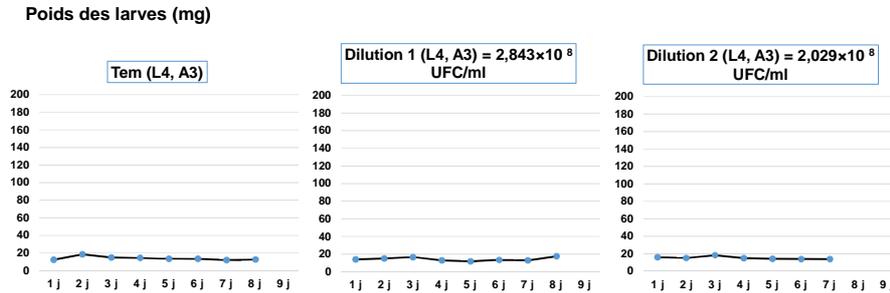


Figure 1. Variation temporelle du développement du poids des larves L4 des chenilles de la pyrale sous l'effet de l'isolat bactérien A3 aux dilutions D1 et D2 ($2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$ UFC/ml)

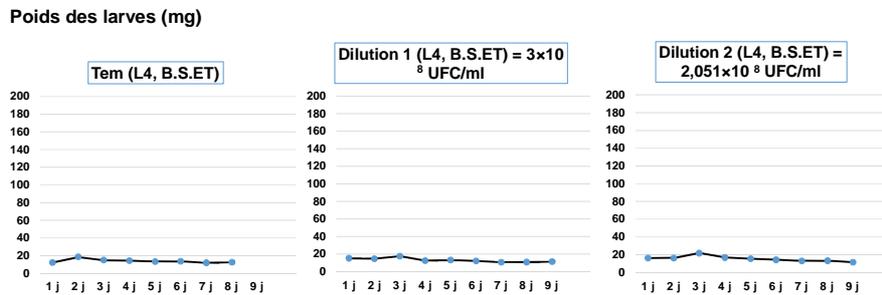


Figure 2. Variation temporelle du développement du poids des larves L4 des chenilles de la pyrale sous l'effet de l'isolat bactérien B.S.ET aux dilutions D'1 et D'2 (3×10^8 et $2,051 \times 10^8$ UFC/ml)

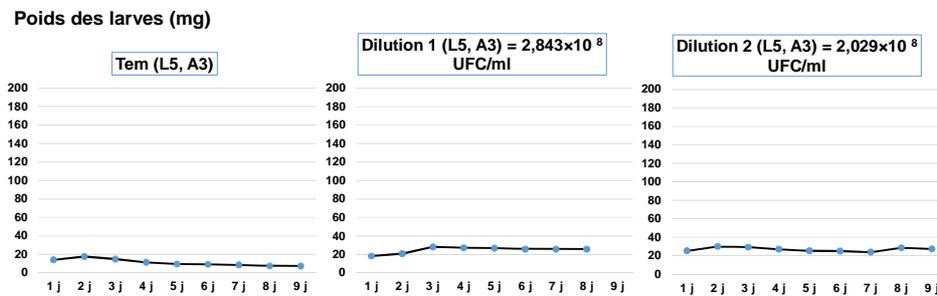


Figure 3. Variation temporelle du développement du poids des larves L5 des chenilles de la pyrale sous l'effet de l'isolat bactérien A3 aux dilutions D1 et D2 ($2,843 \times 10^8$ et $2,029 \times 10^8$ UFC/ml)

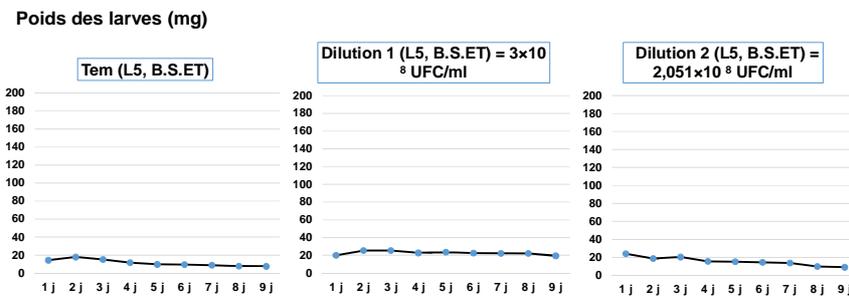


Figure 4. Variation temporelle du développement du poids des larves L5 des chenilles de la pyrale sous l'effet de l'isolat bactérien B.S.ET aux dilutions D'1 et D'2 (3×10^8 et $2,051 \times 10^8$ UFC/ml)

Annexe

Annexe n°10

Effet des isolats bactériens étudiés sur le développement des chenilles de la pyrale

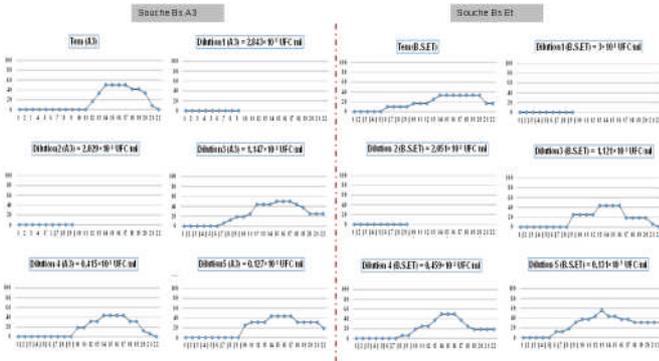


Figure 1. Variation temporelle du taux de passage du stade L5 au stade chrysalide des larves âgées groupées (A3 aux dilutions D1 : 2,843×10⁸, D2 :2,029×10⁸, D3 :1,147×10⁸, D4 : 0,415×10⁸ et D5 : 0,127×10⁸ UFC/ml) ; et B.S.ET aux dilutions (D'1 : 3×10⁸, D'2 :2,051×10⁸, D'3 :1,121×10⁸, D'4 :0,459×10⁸ et D'5 :0,131×10⁸ UFC/ml).

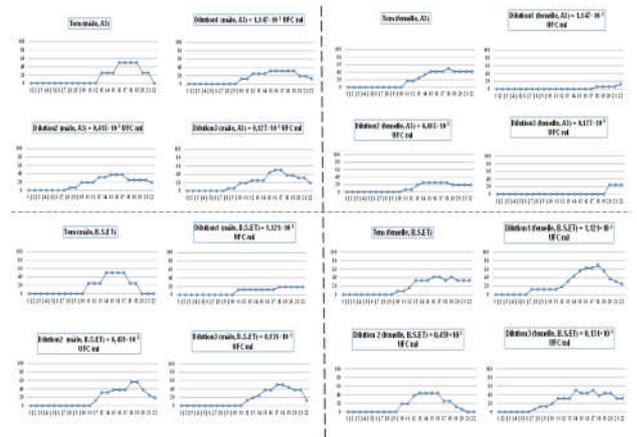


Figure 2. Variation temporelle du taux de nymphose chez les chenilles mâles et femelles a) A3 aux dilutions D1, D2 et D3 (1,147×10⁸, 0,415×10⁸ et 0,127×10⁸ UFC/ml) , b) B.S.ET aux dilutions D'1, D'2 et D'3 (1,121×10⁸, 0,459×10⁸ et 0,131×10⁸ UFC/ml) , et des femelles c) A3 aux dilutions D1, D2 et D3 (1,147×10⁸, 0,415×10⁸ et 0,127×10⁸ UFC/ml) , d) B.S.ET aux dilutions D'1, D'2 et D'3 (1,121×10⁸, 0,459×10⁸ et 0,131×10⁸ UFC/ml)

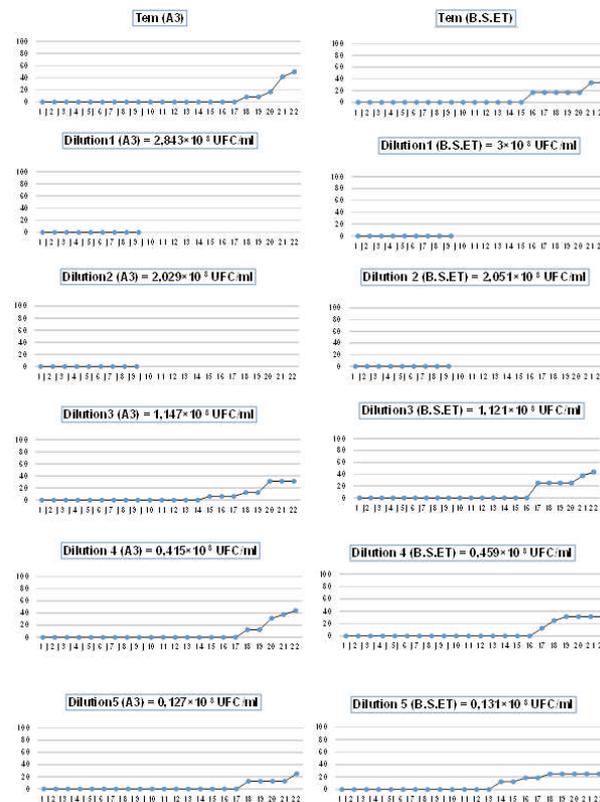


Figure 3. Variation temporelle du taux d'émergence des chenilles âgées groupées de la pyrale sous l'effet des isolats de Bs (A3 aux dilutions D1 : 2,843×10⁸, D2 : 2,029×10⁸, D3 : 1,147×10⁸, D4 : 0,415×10⁸ et D5 : 0,127×10⁸ UFC/ml) ; B.S.ET aux dilutions D'1 : 3×10⁸, D'2 : 2,051×10⁸, D'3 : 1,121×10⁸, D'4 : 0,459×10⁸ et D'5 : 0,131×10⁸ UFC/ml).

Annexe

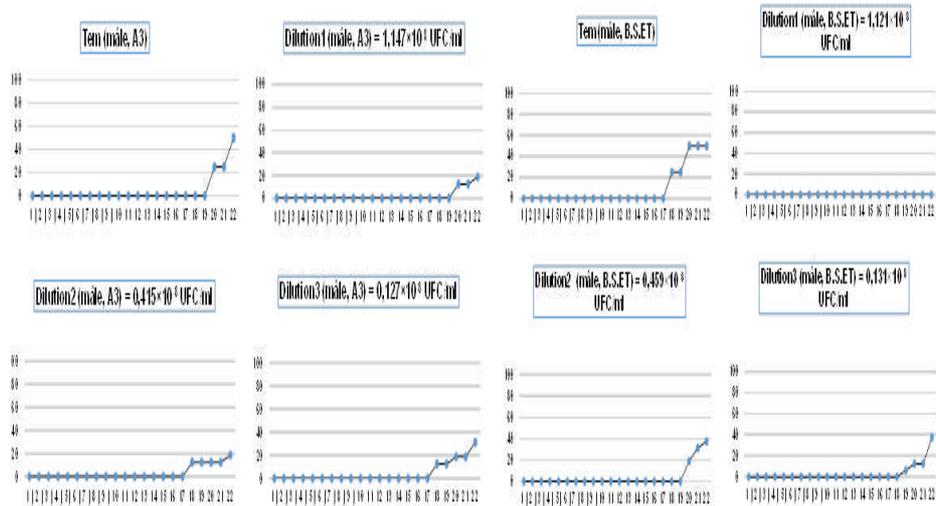


Figure 4. Variation temporelle du taux d'émergence des chenilles mâles de A3 aux dilutions D1, D2 et D3 ($1,147 \times 10^8$, $0,415 \times 10^8$ et $0,127 \times 10^8$ UFC/ml), B.S.ET aux dilutions D'1, D'2 et D'3 ($1,121 \times 10^8$, $0,459 \times 10^8$ et $0,131 \times 10^8$ UFC/ml).

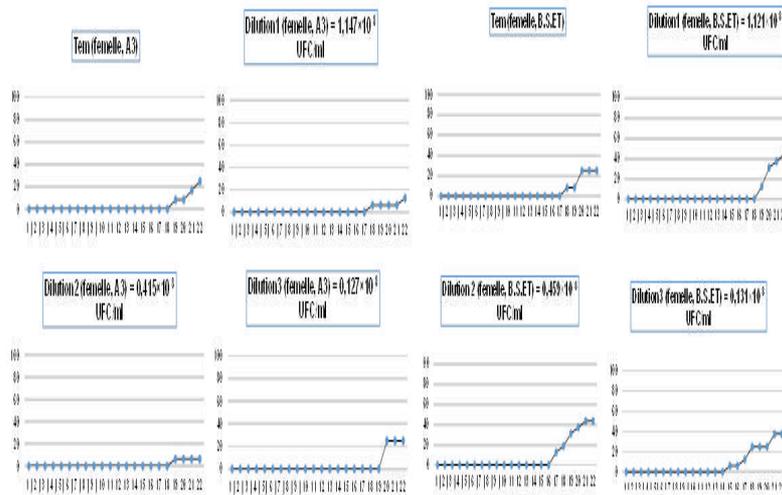


Figure 5. Variation temporelle du taux d'émergence des chenilles femelles sous l'effet des isolats A3 aux dilutions D1, D2 et D3 ($1,147 \times 10^8$, $0,415 \times 10^8$ et $0,127 \times 10^8$ UFC/ml), et B.S.ET aux dilutions D'1, D'2 et D'3 ($1,121 \times 10^8$, $0,459 \times 10^8$ et $0,131 \times 10^8$ UFC/ml).

Annexe n°11

Effet des bactéries sur la composition hémolympathiques des larves d'*E.ceratoniae*

Concentration en protéines hémolympathiques

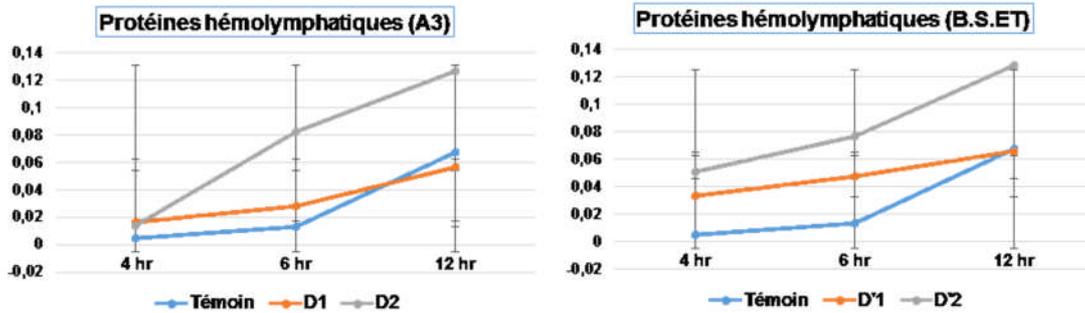


Figure 1. Variation temporelle des protéines hémolympathiques chez les larves de la pyrale sous l'effet des deux isolats bactériens «A3» D1 et D2 ($0,988 \times 10^8$ et $0,501 \times 10^8$ UFC/ml) et «B.S.ET» aux dilutions D'1 et D'2 ($0,982 \times 10^8$ et $0,471 \times 10^8$ UFC/ml)

Concentration en glucides hémolympathiques

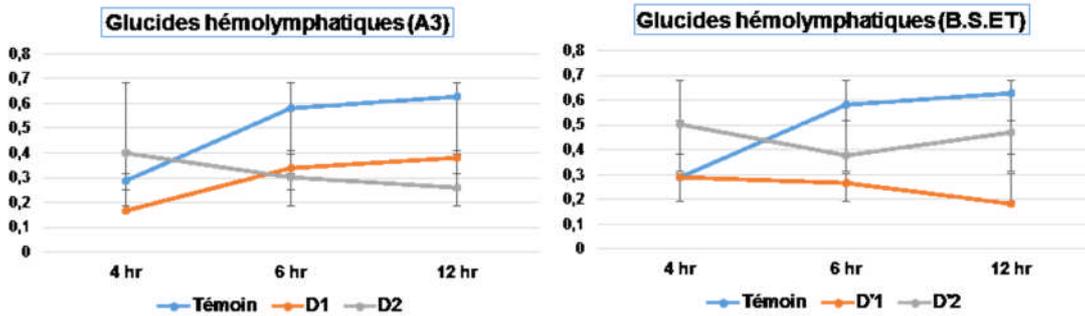


Figure 2. Variation temporelle des glucides hémolympathiques chez les larves de la pyrale sous l'effet des deux isolats bactériens «A3» D1 et D2 ($0,988 \times 10^8$ et $0,501 \times 10^8$ UFC/ml) et «B.S.ET» aux dilutions D'1 et D'2 ($0,982 \times 10^8$ et $0,471 \times 10^8$ UFC/ml)