

**République Algérienne Démocratique et Populaire**  
**Ministère de Renseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université Saad Dahleb Blida 1**



**Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie**



**Département des biotechnologie et Agro-Ecologie**

**Mémoire de fin d'étude**

**Pour l'obtention du diplôme de master en science de la nature et de  
la vie**

**Option : Phytopharmacie et Protection des Végétaux**

***Thème***

**Evaluation comparée au laboratoire de l'effet insecticide  
des isolats bactériens sur un modèle de ravageur**

**Présenté par :**

**MARAMI Manel**

**BELAID Meriem**

**Devant les membres de jury :**

<b>M<sup>me</sup> BABA AISSA. K</b>	<b>Maître assistante A</b>	<b>USDB</b>	<b>Présidente.</b>
<b>M<sup>me</sup> REMINI. L</b>	<b>Maître de Conférences B</b>	<b>USDB</b>	<b>Examinatrice.</b>
<b>M<sup>me</sup> ALLAL. L</b>	<b>Professeur</b>	<b>USDB</b>	<b>Promotrice.</b>
<b>M<sup>r</sup> HAFSA. M</b>	<b>Doctorant</b>	<b>USDB</b>	<b>Co-promoteur.</b>

**2021- 2022**

## *Remerciements*

*Tout d'abord, nous remercions Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la force, la patience et le courage pour achever ce travail.*

*Toute notre gratitude pour notre promotrice Professeur **ALLAL-BENFEKIH L**, pour nous avoir donnée la chance de travailler sous sa précieuse direction.*

*Nous remercions **Mr HAFSA M**, notre co-promoteur pour sa patience, son aide et ses précieux conseils dont on a eu la chance d'en profiter.*

*Nous tenant également à remercier très sincèrement **M<sup>me</sup> BABA AISSA, K**, qui nous a fait l'honneur de présider le jury.*

*Nous remercions **M<sup>me</sup> REMINI L**, qui a consacré une partie de son temps à examiner ce modeste travail.*

*Nos remerciements les plus sincères vont également à toute l'équipe du laboratoire de recherche des Plantes Médicinales et Aromatiques (LRPMA) **Safia, Amira, Djazia, Lamia, Houda, Imane, Amel** pour nous avoir aidées et soutenues durant toute la période de stage.*

*Nos remerciements vont aussi, à toute personne qui de près ou de loin, a contribué à la réalisation de ce mémoire.*



## *Dédicaces*

*Je dédie ce travail à mes très chers **parents** la lumière de ma vie qui m'ont encouragé et soutenu tout le long de mes études, que dieu les protège.*

*À la mémoire de mon aile cassée, mon cher frère **Abderezak***

*À la prunelle de mes yeux, mon solitaire, et mon bien-aimé, mon petit frère **Olyes**, que dieu le protège.*

*À tous ceux qui m'ont aidé et soutenu pour terminer ce travail : mon collègue **Reda**, et surtout mes adorables âmes sœurs **Zouzu** et **Fadoua**, merci pour tout, merci beaucoup d'être dans ma vie.*

*À toutes les personnes qui ont participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.*

*Meriem*





## *Dédicaces*

*Du profond de mon cœur, je dédie ce travail à tous ceux  
qui me sont chers,*

*A ma très chère mère Hacera, qui n'a jamais cessé de prier pour moi.*

*A mon très cher père Kamel, pour ses encouragements son soutien, surtout  
pour son amour.*

*Une pensée particulière à ma défunte grande mère Mimouna.*

*A mes chers frères : Mohamed Amine, Walid, Hamza,  
Wassim.*

*A mes belles sœurs : Lineb, Asma, et particulièrement Feriel  
qui a été toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager.*

*A mes nièces : Anaïs, Célia,*

*Tous mes cousins, cousines et leurs familles.*

*A mes chères amies : Khadija, Nessrin, Amina*

# Evaluation comparée au laboratoire de l'effet insecticide des isolats bactériens sur un modèle de ravageur

## Résumé

La présente étude a porté sur l'effet bio-insecticide de bactéries rhizosphériques appartenant aux genres *Bacillus* et *Pseudomonas* sur deux insectes ravageurs.

21 isolats de *Bacillus* et 05 isolats de *Pseudomonas* ont été isolées à partir du sol de vergers d'agrumes situés dans différentes régions de la wilaya de Blida. Des essais de sélection des isolats bactériennes ayant une activité insecticide la plus performant ont été effectués, suivis des tests de pathogénicité avec des différentes concentrations ( $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  ufc/ml), effectués au laboratoire à l'égard du puceron farineux *Hyalopterus pruni* et de la teigne de pomme de terre *Phthorimaea operculella*, par le trempage de matières végétales dans les solutions bactériennes.

Les résultats de la mortalité corrigé étaient élevés après 72 heures d'application du traitement, où le taux de mortalité le plus élevé a été enregistré pour les isolats **P4** et **P2** du genre *Pseudomonas* de plus de 70% pendant le test de selection, et de plus de 50 % pendant le traitement avec la concentration C1 ( $10^6$  ufc /ml) sur les pucerons, et pour la teigne de la pomme de terre, les isolats **A2** et **B13** du genre *Bacillus* avaient un taux de mortalité élevé de plus de 75%, et l'isolat **P5** de genre *Pseudomonas* a enregistré un taux de mortalité de 65%. Les résultats ont été comparés à la souche de référence **Bt**.

Ces résultats ont prouvé que les souches bactériennes isolées ont un effet entomopathogène sur les ravageurs étudiés.

**Mots clés :** Isolat ; *Pseudomonas* ; *Bacillus* ; Bio contrôle ; *Phthorimaea operculella* ; *Hyalopterus pruni* ; Entomopathogènes

# Comparative evaluation in the laboratory of the insecticidal effect of bacterial isolates on a pest model

## Abstract

This study focused on the bio-insecticidal effect of rhizospheric bacteria belonging to the genera *Bacillus* and *Pseudomonas* on two insect pests.

21 *Bacillus* isolates and 05 *Pseudomonas* isolates were isolated from citrus orchard soil in different regions of the wilaya of Blida. Tests for the selection of bacterial isolates having the most effective insecticidal activity were carried out, followed by pathogenicity tests with different concentrations ( $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$  cfu/ml), carried out in the laboratory with respect to the flour aphid *Hyalopterus pruni* and the potato moth *Phthorimaea operculella*, by soaking the plant matter in bacterial solutions

The results of the corrected mortality were high after 72 hours of application of the treatment, where the highest mortality rate was recorded for the **P4** and **P2** isolates of the genus *Pseudomonas* by more than 70%, and the same isolates also recorded a mortality rate of more than 50% during treatment with the C1 concentration ( $10^6$  cfu/ml) on aphids, and for the potato moth, the **A2** and **B13** isolates of the genus *Bacillus* had a high mortality rate of more than 75%, and the isolate **P5** of the genus *Pseudomonas* that recorded a mortality rate of 65%. The results were compared with the reference strain *Bt*.

These results proved that the isolated bacterial strains have an entomopathogenic effect on the studied pests.

**Keywords:** Isolate; *Pseudomonas*; *Bacillus*; Bio control; *Phthorimaea operculella*; *Hyalopterus pruni*; entomopathogenic

## تقييم مخبري مقارنة للتأثير المبيد للحشرات لعزلات بكتيرية على نموذج آفات

### الملخص

ركزت هذه الدراسة على تأثير المبيدات الحشرية الحيوية لبكتيريا من نطاق الجذور تنتمي إلى جنس *Bacillus* و *Pseudomonas* على آفتين حشريتين.

تم عزل 21 عذلة من *Bacillus* و 5 عزلات من *Pseudomonas* من تربة بساتين الحمضيات في مناطق مختلفة من ولاية البليدة. تم إجراء اختبارات الانتقاء للعزلات البكتيرية ذات الأكثر فعالية كمبيدات حشرية ، تليها اختبارات الأمراض بتركيزات مختلفة (  $10^3$  ،  $10^4$  ،  $10^5$  ،  $10^6$  ) ufc/ ml ، أجريت في المختبر ضد حشريتي: من الخوخ الدقيقي *Hyalopterus pruni* و عثة البطاطس *Phthorimaea operculella* عن طريق نقع المادة النباتية في المحاليل البكتيرية.

معدل الوفيات المصححة كان مرتفع بعد مرور 72 ساعة من تطبيق العلاج ، حيث سُجلت أعلى نسبة وفيات لدى العزلتين **P4** و **P2** من جنس *Pseudomonas* بمعدل تجاوز 70 % ، و قد سجلت أيضا ذات العزلتين نسبة وفيات تجاوزت 50 % أثناء العلاج بالتركيز  $C1 = 10^6$  ufc/ml على حشرات المن ، أما بالنسبة لعثة البطاطس فالعزلتين **A2** و **B13** من جنس *Bacillus* كان لها معدل وفيات مرتفع تجاوز 75 % ، و العذلة **P5** من جنس *Pseudomonas* التي سجلت معدل وفيات قدر ب 65 % . تمت مقارنة النتائج مع سلالة مرجعية *Bt* .

و منه فقد أثبتت هذه النتائج أن السلالات البكتيرية المعزولة لها تأثير ممرض للحشرات على الآفات المدروسة.

كلمات المفتاح : عذلة ; التحكم الحيوي *Bacillus* ; *Pseudomonas* ; *Phthorimaea operculella* ;  
*Hyalopterus pruni* ; التأثير الممرض للحشرات

## Liste des abréviations

- **%** : Pourcent.
- **µl** : Microlitre
- **µm** : Micromètre.
- **ADN** : Acide désoxyribonucléique.
- **ARN** : Acide Ribonucléique.
- **ATP** : Adénosine Triphosphate.
- **Bt** : *Bacillus thuringiensis*.
- **C°** : Degré Celsius
- **Cm** : Centimètre.
- **CO<sub>2</sub>** : Dioxyde de Carbone.
- **Cry** : Endotoxin Crystalline.
- **Cyt** : Cytolitic toxins
- **DF** : Degrés de Liberté (Total Degrees of Freedom).
- **FAO** : Organisation des Nations Unies pour l'agriculture (Food and Agricultural Organisation)
- **FitD** : Toxine Insecticide Fluorescens.
- **GN** : Gélose nutritive.
- **GV** : Granulovirus.
- **H** : heure.
- **H<sub>2</sub>S** : Sulfure d'Hydrogène.
- **KB** : Milieu King B.
- **MC** : Mortalité corrigé
- **Min** : Minute.
- **MI** : Millilitre.
- **ML** : Millilitr
- **Nm** : Nanometre.
- **NPV** : Nucleopolyhedrovirus.
- **PNDA** : Plan National de Développement Agricole
- **Ph** : Potentiel hydrogène.
- **Tc** : Complexe toxine.
- **TSI** : Tri Sugar Iron.
- **UFC** : Unité Formant une Colonie.
- **VIP** : Vasoactive Intestinal Peptide.
- **SIP** : Protéines Insecticides sécrétées.

## Liste des figures

Numéro de la figure	Titre	Page
<b>1</b>	Schéma vectoriel montre la structure d'une cellule bactérienne.	<b>5</b>
<b>2</b>	Différents stades de développement de la teigne de la pomme de terre <i>Phthorimaea operculella</i>	<b>11</b>
<b>3</b>	Cycle biologique de la teigne de la pomme de terre <i>Phthorimaea operculella</i>	<b>12</b>
<b>4</b>	Dégâts de <i>Phthorimaea operculella</i> sur la pomme de terre	<b>13</b>
<b>5</b>	Colonie de pucerons farineux du pêcher	<b>16</b>
<b>6</b>	Puceron farineux du prunier (Individu aptère).	<b>16</b>
<b>7</b>	Puceron farineux du prunier (Individu ailé).	<b>16</b>
<b>8</b>	Cycle biologique du puceron farineux, <i>Hyalopterus prun.</i>	<b>17</b>
<b>9</b>	<i>Bacillus thuringiensis</i> sous microscope en contraste de phase A : <i>Bacillus thuringiensis</i> , b : spores, c : cristaux	<b>22</b>
<b>10</b>	Mode d'infection du <i>Bacillus thuringiensis</i> dans l'intestin d'un lépidoptère	<b>24</b>
<b>11</b>	Observation par microscope électronique à balayage d'une souche de <i>Pseudomonas sp</i> (a), et photographie microscopique électronique à balayage de <i>Pseudomonas fluorescens</i> (b)	<b>28</b>
<b>12</b>	Les parcelles de prélèvement des échantillons	<b>31</b>
<b>13</b>	Etape de tamisage	<b>32</b>
<b>14</b>	Préparation de la solution mère	<b>32</b>
<b>15</b>	Réalisation des dilutions	<b>32</b>
<b>16</b>	La sélection des bactéries de sol dans le chauffage à 80° C	<b>33</b>
<b>17</b>	Etalement des dilutions	<b>33</b>
<b>18</b>	Colonies suspectes d'un isolat de <i>Bacillus</i> sur milieu GN et d'un isolat de <i>Pseudomonas</i> sur milieu King B.	<b>34</b>
<b>19</b>	Coloration au bleu de méthylène.	<b>34</b>
<b>20</b>	Préparation du frottis	<b>35</b>
<b>21</b>	Coloration de gram	<b>35</b>

<b>22</b>	Test de catalase.	<b>36</b>
<b>23</b>	Test d'oxydase	<b>36</b>
<b>24</b>	Milieu TSI	<b>37</b>
<b>25</b>	Réalisation de test TSI.	<b>38</b>
<b>26</b>	Milieu Citrate de Simmons	<b>38</b>
<b>27</b>	Ensemencement sur la pente	<b>38</b>
<b>28</b>	Milieu Mannitol-Mobilité	<b>39</b>
<b>29</b>	Ensemencement par piqûre centrale	<b>39</b>
<b>30</b>	Vergier du pêcher infesté par le puceron farineux.	<b>40</b>
<b>31</b>	Préparation des suspensions bactériennes	<b>40</b>
<b>32</b>	Fixation de la turbidité par un Spectrophotomètre	<b>41</b>
<b>33</b>	Désinfection des feuilles	<b>41</b>
<b>34</b>	Réalisation de traitement	<b>42</b>
<b>35</b>	Boîte d'élevage d'une masse de <i>P.operculella</i>	<b>43</b>
<b>36</b>	Préparation et trempage des tranches de pomme de terre saines dans les solutions bactériennes	<b>44</b>
<b>37</b>	Pomme de terre infesté par <i>Phthorimaea operculella</i>	<b>44</b>
<b>38</b>	Répétition de traitement	<b>44</b>
<b>39</b>	Colonies pure de <i>Bacillus</i> sur milieu GN (a) et Colonies pure de <i>Pseudomonas fluorescens</i> sur milieu king B (b)	<b>47</b>
<b>40</b>	Coloration au bleu de méthylène pour les <i>Pseudomonas</i> (a), et coloration au bleu de méthylène pour les <i>Bacillus</i> (b), au microscope optique x 100	<b>48</b>
<b>41</b>	Aspect d'un individu de <i>Hyalopterus pruni</i> morts	<b>51</b>
<b>42</b>	Mortalités corrigées moyenne % du puceron farineux en fonction du temps	<b>52</b>
<b>43</b>	Variation temporelle de la mortalité corrigée du puceron farineux sous l'effet global des isolats bactériens testés	<b>54</b>
<b>44</b>	Mortalités corrigées moyennes % du puceron farineux sous l'effet de chaque isolat bactérien testé	<b>56</b>
<b>45</b>	Mortalités corrigées moyennes % du puceron farineux sous l'effet de facteur concentration	<b>57</b>

<b>46</b>	Variation de la mortalité corrigée estimées % du puceron farineux sous l'effet l'interaction temps*isolat	<b>59</b>
<b>47</b>	Variation des mortalités corrigé estimées % du puceron farineux sous l'effet de l'interaction temps*concentration des isolats bactériens testés	<b>60</b>
<b>48</b>	Variation des mortalités corrigé estimées du puceron farineux sous l'effet de l'interaction isolat*concentration	<b>61</b>
<b>49</b>	Droites de régression linaires log-probit de mortalités corrigé % enregistrées suite aux traitements à l'isolat <b>P2</b>	<b>63</b>
<b>50</b>	Droites de régression linaires log-probit de mortalités corrigé % enregistrées suite aux traitements à l'isolat <b>P4</b>	<b>63</b>
<b>51</b>	Aspect d'une larve de <i>Phthorimaea operculella</i> morte	<b>64</b>
<b>52</b>	Moyennes des taux de mortalité corrigé du la teigne de la pomme de terre sur une durée de 24h, 48h, 72h	<b>65</b>

## Liste des tableaux

Numéro de Tableau	Titre	Page
<b>1</b>	Résultats des tests d'orientations des isolats bactériens obtenus	<b>48</b>
<b>2</b>	Analyse de la variabilité des mortalités chez le puceron farineux <i>Hyalopterus pruini</i>	<b>53</b>
<b>3</b>	Résultats de l'ANOVA à 3 facteurs (isolat, concentration, temps) avec les interactions pour le puceron farineux <i>Hyalopterus pruini</i>	<b>53</b>
<b>4</b>	Moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet des traitements bactériens à 24h, 48h et 72h.	<b>54</b>
<b>5</b>	Synthèse des comparaisons multiples par paires pour le facteur temps chez le puceron farineux	<b>55</b>
<b>6</b>	Moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet de facteur isolat	<b>55</b>
<b>7</b>	Synthèse des comparaisons multiples par paires pour le facteur isolat chez le puceron farineux	<b>56</b>
<b>8</b>	Moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet de facteur concentration	<b>57</b>
<b>9</b>	Synthèse des comparaisons multiples par paires pour le facteur concentration chez le puceron farineux	<b>58</b>
<b>10</b>	Moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet de l' interaction temps*isolat	<b>58</b>
<b>11</b>	Moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet de l' interaction temps*concentration	<b>60</b>
<b>12</b>	Moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet de l'interaction isolat*concentration	<b>61</b>
<b>13</b>	Valeurs des concentrations létales 10%, 25% ,50% et 90 % des deux isolats bactériens ( <b>P2, P4</b> ).	<b>63</b>

<b>14</b>	Analyse de la variance des mortalités chez la teigne de la pomme de terre <i>Phthorimaea operculella</i> au traitement à une même concentration ( $1 \times 10^6$ UFC/ml)	<b>64</b>
-----------	---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------

## *Sommaire*

**Résumé**

**Abstract**

**المخلص**

**Liste des abréviations**

**Liste des figures**

**Liste des tableaux**

**Liste des annexes**

<b>Introduction</b> .....	<b>1</b>
<b>Chapitre I : Synthèse bibliographique</b> .....	<b>3</b>
<b>Partie 1 : Généralité sur les bio-insecticides microbiens</b> .....	<b>4</b>
1.1 Données générales .....	<b>A</b>
1.2 Les bactéries entomopathogènes .....	<b>5</b>
1.2.1 Mode d'action .....	<b>5</b>
1.3 Les champignons entomopathogènes .....	<b>6</b>
1.3.1 Mode d'action .....	<b>6</b>
1.4 Les virus entomopathogènes .....	<b>7</b>
1.4.1 Mode d'action .....	<b>8</b>
<b>Partie 2: Aperçu général sur les insectes ravageurs</b> .....	<b>9</b>
2.1 Données générales .....	<b>9</b>
2.2 La teigne de la pomme de terre .....	<b>10</b>
2.2.1 Généralité .....	<b>10</b>
2.2.2 Classification systématique .....	<b>10</b>
2.2.3 Description .....	<b>10</b>
2.2.4 Cycle biologique .....	<b>12</b>
2.2.5 Dégâts .....	<b>13</b>

2.2.6	Méthode de lutte.....	14
2.3	Pucerons farineux du prunier ( <i>Hyalopterus pruni</i> ) .....	15
2.3.1	Généralité.....	15
2.3.2	Classification systématique.....	16
2.3.3	Description.....	16
2.3.4	Cycle biologique.....	17
2.3.5	Dégâts.....	17
2.3.6	Méthode de lutte.....	18
<b>Partie 3:</b>	<b>Utilisation des bactéries entomopathogènes.</b> .....	<b>20</b>
3.1	Genre <i>Bacillus</i> .....	20
3.1.1	Généralité.....	20
3.1.2	Classification taxonomique.....	20
3.1.3	Caractéristiques.....	21
3.1.4	Effet entomopathogènes des <i>Bacillus</i> .....	22
3.1.5	Lutte microbiologique par les <i>Bacillus</i> .....	25
3.2	Genre <i>Pseudomonas</i> .....	26
3.2.1	Généralité.....	26
3.2.2	Classification taxonomique.....	26
3.2.3	Caractéristiques.....	27
3.2.4	Effet entomopathogènes des <i>Pseudomonas</i> .....	28
3.2.5	Lutte microbiologique par les <i>Pseudomonas</i> .....	29
<b>Chapitre II:</b>	<b>Matériels et méthodes</b> .....	<b>32</b>
<b>II.1</b>	<b>Isolement et purification des isolats bactériens à partir du sol</b> .....	<b>33</b>
II.1.1	Echantillonnage du sol .....	33
II.1.2	Préparation des dilutions.....	33
II.1.3	Purification des isolats bactériens.....	33
<b>II.2</b>	<b>Identification des isolats bactériens</b> .....	<b>34</b>
II.2.1	Identification macroscopique .....	34
II.2.2	Identification microscopique.....	34
II.2.3	Testes d'orientations .....	35
<b>II.3</b>	<b>Tests de pathogénicité des isolats bactériens vis-à-vis les insectes ravageurs</b> .....	<b>39</b>
II.3.1	Traitement sur le puceron farineux.....	40
II.3.1.1	Test de sélection avec des solutions de même concentration.....	40

a) Préparation des suspensions bactériennes.....	40
b) Application des traitements .....	41
II.3.1.2 Test avec des différentes concentration.....	42
a) Préparation des suspensions bactériennes.....	42
b) Application des traitements.....	42
II.3.2 Traitement sur la teigne de la pomme de terre.....	43
II.3.2.1 Elevage en masse de <i>Phothorimaea operculella</i> .....	43
II.3.2.2 Application des traitements .....	44
<b>II.4 Analyse statistique des mortalités sous l'effet des traitements bactériens.....</b>	<b>45</b>
<b>Chapitre III : Résultats et Discussions.....</b>	<b>48</b>
<b>III.1 Isolement et purification et la conservation des isolats bactériens à partir du sol.....</b>	<b>47</b>
III.2. Identification des isolats bactériens.....	47
III.2.1 Identification macroscopique .....	47
III.2.2 Identification microscopique.....	48
III.2.3 Testes d'orientations.....	48
<b>III.3 Effet de Tests de pathogénicité des isolats bactériens vis-à-vis les insectes ravageurs.....</b>	<b>51</b>
III.3.1 Effet des isolats bactériens étudiés sur le puceron farineux .....	51
III.3.1.1 Effet de test avec des solutions de même concentration .....	51
III.3.1.2 Effet de test avec des solutions des différentes concentrations.....	53
III.3.2 Effet des isolats bactériens étudiés sur la teigne de la pomme de terre.....	64
III.3.2.1 Effet de test avec des solutions de même concentration.....	64
<b>III.4 Discussion générale.....</b>	<b>66</b>
<b>Conclusion.....</b>	<b>69</b>
<b>Références bibliographiques</b>	
<b>Annexe</b>	

Le risque agricole peut être défini comme tout un ensemble de facteurs contraires à une production stable et économiquement satisfaisante. L'insecte ravageur des cultures est l'un de ces facteurs. Il peut dans certains cas devenir prépondérant. En effet, pour se nourrir, l'insecte prélève une part très importante des plantes cultivées et des denrées alimentaires entreposées par l'homme (**Cochereau, 1989**).

Parmi ces insectes ravageurs qui occupent une place importante en agriculture, on retrouve les pucerons et la teigne de la pomme de terre. Les pucerons sont des ravageurs qui peuvent causer des dégâts soit directement par la prise d'alimentation, soit indirectement par la transmission des virus (**Harmel et al., 2008**). Ils peuvent causer une perte de rendement significative au moment de la récolte. Cette perte est généralement induite par plusieurs types de dommages. En premier lieu, les ravageurs endommagent mécaniquement les tissus végétaux. L'injection de la salive lors de l'insertion des stylets peut avoir des effets toxiques pour la plante hôte (**Comeau, 1992**). Leurs attaques se manifestent, fréquemment, par des décolorations, des nécroses et des déformations des feuilles et/ou des fruits (**Bonnemain, 2010**). Certains pucerons peuvent aussi perturber les processus de multiplication cellulaire et entraîner la formation de galles, servant de source de nutriments (**Dedryver et al., 2010**). Ils peuvent également diminuer de façon indirecte le rendement en favorisant la prolifération des champignons saprophytes sur le miellat accumulé à la surface de la feuille et ainsi diminuer le taux de photosynthèse (**Comeau, 1992**).

Par rapport à la teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella*, il est considéré comme le ravageur le plus nuisible qui attaque la pomme de terre, la quatrième culture agricole la plus produite dans le monde, après le maïs, le riz et le blé (**FAOSTAT, 2014 ; Oerke, 2006**). Sa production représente presque la moitié de la production annuelle mondiale de légumes racines et de tubercules avec plus d'un milliard de personnes qui améliorent leur alimentation en consommant les tubercules de cette plante nutritive (**Munyemana et Vonoppen, 1999**). La larve de la teigne de la pomme de terre cause des dégâts aux feuilles et aux tubercules de la plante en plein champs, mais les principaux dégâts sont observés dans les stockages des tubercules (**Sporleder et al., 2005**), ce qui affecte la production, réduit la qualité des produits et augmente le risque d'infection par des agents phytopathogènes (**Gill et al., 2014**).

Pour la protection des cultures contre ces ravageurs, on a eu recours à divers moyens de lutte. Parmi ces moyens, l'utilisation des produits chimiques reste la technique la plus utilisée.

La lutte chimique a été largement appliquée dans le domaine des maladies et des ravageurs

en raison de son efficacité, son application facile et pratique, et pour des raisons économiques (elle ne coûte pas trop chère). Toutefois, son application n'a jamais apporté une solution durable. Aussi, l'utilisation abusive et non rationnelle des insecticides est la cause d'apparition de problèmes telles que la pollution de l'environnement, la toxicité à l'égard des insectes non ciblés (**Gerson et Cohen, 1989 ; Michaud et Grant, 2003**), l'augmentation du taux de résidus toxiques dans les fruits commercialisés et l'apparition de résistance chez ces ravageurs (**Magaña et al., 2007**).

Il est devenu très indispensable de rechercher de nouvelles molécules en prenant en compte d'autres critères que l'efficacité. Cette recherche s'est orientée vers la lutte biologique par l'utilisation de substances naturelles insecticides pouvant constituer une solution alternative aux produits chimiques (**Abedjalil et Abboudi, 2015**).

La lutte biologique s'est avérée le moyen le plus respectueux pour l'environnement, précisément par l'utilisation des micro-organismes entomopathogènes, qui est une alternative très prometteuse pour assurer une protection phytosanitaire performante de par l'ubiquité naturelle des agents microbiologiques dans les écosystèmes, leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action et aussi leur persistance dans l'environnement.

En ce qui concerne les insectes ravageurs, de nombreux agents microbiens ont été démontrés comme des moyens entomopathogènes efficaces, notamment les bactéries, les champignons et les virus (**Lacey et Shapiro-Ilan, 2008 ; Mazid et al., 2011**). Parmi les agents biologiques possibles, les *Pseudomonas* et les *Bacillus* semblent actuellement les plus intéressants et les plus étudiés ces dernières années. (**Belkadi et Koliai, 2016**).

Dans ce travail, nous avons fixé comme objectif l'isolement et l'identification de bactéries rhizosphériques appartenant aux genres *Bacillus* et *Pseudomonas* pour tester leur entomopathogénicité vis-à-vis de ces deux ravageurs ; Sélectionner les isolats qui peuvent montrer une meilleure efficacité à l'effet de la concentration optimale.

Notre travail est partagé en plusieurs chapitres : Le premier est consacré à l'étude bibliographique sur les entomopathogènes microbiens et les ravageurs cibles, le deuxième chapitre est consacré au matériel utilisé et à la méthodologie de travail qui renferme les différentes étapes utilisées au laboratoire ainsi que les techniques de traitement des données, et le dernier chapitre concerne les résultats obtenus et la discussion de ces derniers. Au final, ce travail se termine par une conclusion assortie de perspectives.

# **CHAPITRE I**

# **SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIE**

## Partie 1 : Généralité sur les bio-insecticides microbiens

### 1.1 Données générales

La lutte chimique est largement ciblée en raison de la rapidité et de la force de son efficacité sur les maladies et les insectes nuisibles. En même temps, elle a des conséquences néfastes sur l'environnement ; entre autres, par la toxicité dans la chaîne trophique, la pollution des eaux de surface et souterraine, sur la santé humaine par les résidus de pesticides sur les aliments et les intoxications par inhalation, et surtout la résistance acquise par les insectes ravageurs et les vecteurs de maladies infectieuses chez les humains, suite à l'utilisation intempestive, inconditionnelle et irrationnelle des pesticides chimiques (**Kouassi, 2001**). Il devient, donc, nécessaire de recourir à des solutions pour réduire ces dégâts. Aussi, la lutte biologique est une alternative pour assurer une meilleure protection de la santé et de l'environnement (**Thiam et al., 2004**).

La lutte biologique, par opposition à la lutte chimique qui utilise des xéno-biotiques (tout composé ou molécule n'ayant pas une origine biologique), correspond à l'utilisation d'organismes et/ou composés naturels pour détruire ou contrôler d'autres organismes nuisibles sur le plan agronomique ou au niveau d'espaces naturels (**Kouassi, 2001**).

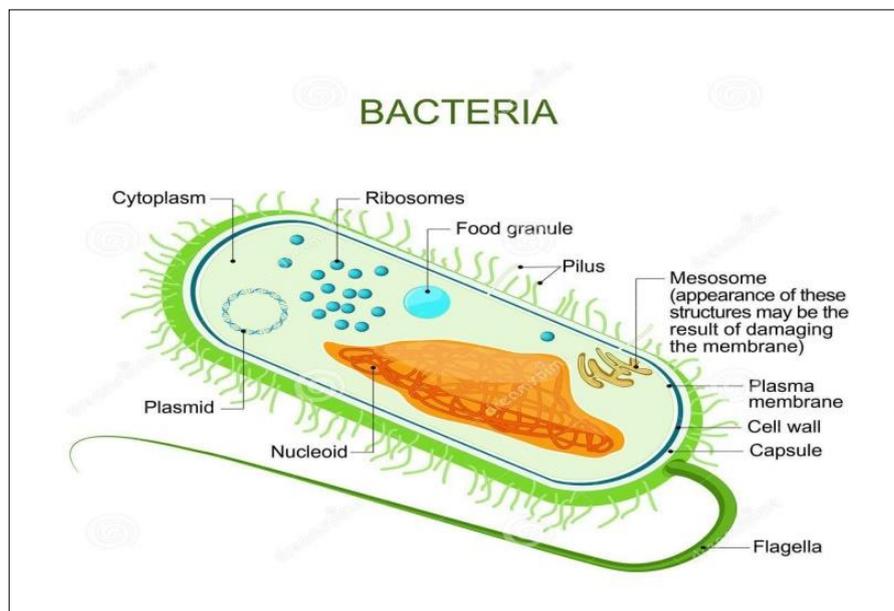
Les biopesticides sont des agents de lutte biologique, et peuvent être définis comme des produits phytosanitaires dont le principe actif est un organisme vivant ou l'un de ses dérivés. Ils peuvent, donc, être constitués d'organismes (plantes, insectes, nématodes) ou de micro-organismes (bactéries, levures, champignons, virus) exerçant une activité protectrice sur les plantes vis-à-vis d'agents phytopathogènes, Ils peuvent, aussi, être des substances d'origines naturelles tels que des extraits végétaux ou phéromones (**Thakore, 2006**).

La lutte biologique, précisément par l'utilisation de micro-organismes entomopathogènes, est une alternative très prometteuse pour assurer une protection phytosanitaire performante de par l'ubiquité naturelle des agents microbiologiques dans les écosystèmes, leur grande variété, leur dissémination facile, leur spécificité d'action et aussi leur persistance dans l'environnement. Les micro-organismes utilisés en lutte microbiologique appartiennent à plusieurs taxons à savoir les virus, les bactéries, les microchampignons, les nématodes et les protozoaires (**Kouassi , 2001**).

## 1.2 Les bactéries entomopathogènes

Les bactéries entomopathogènes appartiennent surtout à trois grandes familles qui sont les Bacillaceae, Enterobacteriaceae et Pseudomonaceae (Greathead et al., 1994). Les bactéries *Bacillus thuringiensis* et *B.sphaericus* sont les micro-organismes entomopathogènes les plus utilisées comme insecticides biologiques (Lacey et Siegel, 2000).

Elles appartiennent aux règnes eubactéries. Ce sont des micro-organismes procaryotes (unicellulaires) qui ne possèdent pas de noyau, mais un ADN chromosomique circulaire situé dans le cytoplasme. De nombreuses bactéries contiennent une autre structure d'ADN extra-chromosomique, appelée plasmide. Elles sont entourées d'une paroi complexe et possèdent souvent des flagelles (Cohn, 1870),(Figure 1).



**Figure 1 :** Schéma vectoriel montrant la structure d'une cellule bactérienne (Zhabska,2018)

### 1.2.1 Mode d'action

La Bactérie doit pouvoir pénétrer à l'intérieur de son hôte et échapper à son système immunitaire. Afin de s'établir de manière durable et coloniser l'insecte, elle doit altérer sa physiologie, notamment par la production de toxines. Des barrières physiques et chimiques empêchent les agents pathogènes d'envahir ou d'endommager le corps de l'insecte. La cuticule externe, le péristaltisme intestinal et la membrane péri trophique (couche interne de l'intestin moyen de l'insecte) sont des exemples de barrières physiques (Vallet-Gely et al., 2008).

### 1.3 Les champignons entomopathogènes

Les champignons représentent l'un des plus importants groupes d'organismes sur terre et jouent un rôle clé dans un grand nombre d'écosystèmes (**Mueller et Schmit, 2007**). Ce sont des organismes eucaryotes unicellulaire ou pluricellulaire (avec une paroi cellulaire chitineuse), à mode de reproduction sexuée ou asexuée. Leur mode de nutrition est de type osmotrophe. Ils dépendent de la présence de matières organiques préformées. Ces organismes sont dépourvus de chlorophylle et sont tous hétérotrophes (**Carlile et Watkinson, 1994 ; Redecker, 2002**). Ils ne peuvent pas faire de photosynthèse.

Les champignons entomopathogènes représentent un vaste groupe hétérogène. Ils se répartissent en 700 espèces appartenant approximativement à 100 ordres, dont les plus importants appartiennent à l'ordre des Zygomycètes et des Ascomycètes. Les espèces des genres *Beauveria*, *Metharizium*, *Verticillium*, *Erynia*, *Hirsutella*, *Entomophthora* et *Entomophaga* sont les plus utilisées en lutte biologique (**Wraight et Roberts, 1987 ; Goettel, 1992**).

Les champignons entomopathogènes infectent un large éventail d'insectes hôtes. Au sein d'une population d'insectes, ils peuvent être transmis de trois façons : horizontalement (au sein d'une même génération par des individus infectés), verticalement (entre générations) ou être déplacés par des vecteurs. Cette troisième méthode joue un rôle important dans la dissémination des champignons vers de nouveaux habitats. Le cycle de vie des champignons entomopathogènes comprend une phase parasite (de l'infection à la mort) et une phase saprophyte (après la mort).

#### 1.3.1 Mode d'action

Les microchampignons entomopathogènes sont aptes à infecter l'hôte par ingestion ou par simple contact rendant tous les stades, œuf, larve et adulte, sensibles (**Carruthers et Soper, 1987**). Les champignons entomopathogènes doivent coloniser leur hôte pour l'utiliser comme source nutritive. Les champignons ectoparasites se développent superficiellement sur le corps des insectes sous forme de thalles. Ils obtiennent leur nourriture à la surface de leur hôte ou en pénétrant légèrement dans le tégument (**Kuno, 1973**).

Les champignons entomopathogènes possédant un mode d'action endoparasitique incluent toutes les espèces qui pénètrent dans le corps et tuent habituellement leur hôte, en envahissant et/ou en digérant les tissus. La sécrétion de toxine a généralement été identifiée comme activité complémentaire pour ces mycètes. Quelques espèces d'endoparasites, tel que

*Penicillium sp.*, sont capable d'infecter leur hôte via une blessure au niveau de la cuticule (Vey et Riba, 1989).

Les moyens par lesquels les champignons entomopathogènes pénètrent dans leur hôte sont les suivants :

- **Par cavité buccale et système digestif :** L'infection via le système intestinal est peu courante. Parfois, les mycètes vivants dans le tube digestif de l'insecte peuvent devenir pathogène quand l'insecte est en condition de stress suite à la famine, à la chaleur excessive, à l'humidité trop élevée ... etc. D'autre part, les enzymes digestives ou les substances fongistatiques peuvent détruire les spores ou les hyphes de champignons qui ne font pas partie de la microflore habituelle du tube digestif. Dans certains cas, l'ingestion de structure fongique peut causer la mort par toxicose plutôt que par mycose (Dillon et Charnley, 1991).
- **Pénétration par invasion cuticulaire :** La cuticule des insectes est la première barrière contre l'attaque des micro-organismes (Kramer et al., 1988 ; St.Leger, 1993). Elle possède deux couches principales formées par les cellules épidermiques. La première couche est l'épicuticule et la deuxième couche est la procuticule.

Les propriétés physiques et biochimiques de ces tissus offrent à la cuticule, la rigidité et l'élasticité nécessaire pour résister aux dommages causés par certains mycopathogènes (Charnley et St-Leger, 1991).

#### 1.4 Les virus entomopathogènes

Les virus sont des organismes ultra microscopiques et intra cellulaires. Ils se composent d'un noyau d'acide nucléique, d'ADN ou d'ARN, et d'une enveloppe protectrice de nature protéine ou lipoprotéine appelée capsule, qui joue un rôle important dans le processus d'infection de la cellule hôte.

Les virus sont des parasites obligatoires et ne peuvent se reproduire que dans les cellules vivantes. On connaît environ 650 espèces de virus pathogène d'insectes (Khachatourians, 1986). Actuellement, les virus entomopathogènes sont distribués en 15 familles dont les principales sont les Baculoviridae, les Reoviridae, les Poxviridae et les Iridoviridae. La famille des Baculoviridae est sans contexte celle qui est responsable de la majorité des infections. On distingue au sein de cette famille 3 genres différents :

les Nucleopolyhedrovirus (NPV), les Granulovirus (GV) et les virus non nucléés ou en forme de tige (Murphy et Coll, 1995).

Les virus entomopathogènes sont des germes doués de facultés de résistance étendues qui ont fait l'objet d'investigations en lutte biologique jusqu'à présent. Autrement dit, ils sont des virus à corps d'inclusion (polyèdres nucléaires ou cytoplasmiques, granules), pathogènes pour de nombreuses espèces de Lépidoptères et certains Hyménoptères (Tenthredine).

Les caractéristiques principales des bio-insecticides viraux sont la spécificité, la haute virulence, la rapidité d'action et le niveau raisonnable de persistance dans l'environnement (**Dent, 1991**). La rémanence des virus est cependant affectée par les radiations UV. Par exemple, les NPV et GV sont inactivés après quelques heures d'exposition au rayonnement solaire (**Franz, 1971**).

#### 1.4.1 Mode d'action

Les baculovirus infectent le noyau des cellules. Ils forment des corps d'inclusion appelés polyèdres qui sont constitués de nombreuses particules virales dans une matrice protéinique composée, principalement, d'un simple polypeptide, la polydrine. Les polyèdres ingérés vont être dégradés par les protéases du tube digestif de l'insecte et les virions libérés traversent les cellules intestinales pour se multiplier dans les hématocytes et dans les tissus adipeux. Il est rapporté par (**Meynadier et al., 1993**) que dans certains cas, les virus liquéfient les corps gras entraînant une turgescence de l'insecte, suivie de sa mort.

Les insectes infectés arrêtent de s'alimenter et prennent une couleur blanchâtre à jaunâtre. L'intérieur du corps se liquéfie alors en l'espace de 5 à 10 jours. Seul le tégument reste intact mais se déchire au moindre contact libérant avec son contenu nauséabond des millions de virus. Un des exemples les mieux connus est la granulose du carpocapse de la pomme, désormais commercialisé en tant que biocontrôle sous le nom de carpovirusine (**Flexner et Belnavis, 2000**).

## Partie 2 : Aperçu général sur les insectes ravageurs

### 2.1 Données Générales

Les ravageurs sont des organismes qui entraînent des dégâts sur les plantes cultivées, c'est-à-dire une perte de rendement liée à une baisse de la qualité ou de la quantité de la production (INRA,2015).

Les insectes et autres arthropodes sont les ravageurs les plus nombreux, en raison de leur spécialisation, de leur petite taille, de leur mobilité, de leur capacité sensorielle et de leur fécondité (Strangang et kigawa,2021).

Les insectes ravageurs diminuent le rendement et propagent plusieurs maladies lorsqu'ils se nourrissent sur les plants et les tubercules. Parmi les plus importants de ces insectes, on trouve les insectes « broyeurs », qui vont manger la plante directement (feuille, tige...) (ex : les chenilles, taupins, criquets, blattes...) et les insectes « piqueurs-suceurs » (ex : cigales, mouches noires, brûlots...), qui peuvent impliquer des dégâts directs par le prélèvement de sève et l'installation de toiles (certaines larves et acariens), mais également des dégâts indirects en servant de vecteur à différentes maladies virales (ex : pucerons), ou en favorisant l'installation d'organismes non désirés (ex : la fumagine liée à la présence de pucerons, d'aleurodes ou de cochenilles) (INRA, 2015).

Les ravageurs coutent des milliards de dollars chaque année en production agricole perdue. On estime qu'environ 30 % des cultures seraient détruites par les insectes chaque année en l'absence de lutte antiparasitaire, et que l'on réduit ces pertes à moins de 3% en combattant les insectes nuisibles (Anonyme, 1994).

Parmi ces ravageurs qui causent beaucoup de dégâts en agriculture, on retrouve la teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella*, qui est considéré comme un ravageur très important en raison des dégâts qu'il provoque sur les plants de pomme de terre. Cette dernière est la quatrième culture vivrière la plus importante au monde, après le blé, le riz et le maïs (Nyabyenda, 2005 ; Pelletier et al., 2011 ). En Algérie, elle est la culture légumière la plus essentielle (FAOSTAT, 2010), en raison de sa demande sur le marché national de légumes et grâce au PNDA, le secteur de la pomme de terre a connu une augmentation de la superficie occupée par cette culture qui a atteint 105.121 ha en 2009 représentant 22 % de la superficie des cultures maraichères (FAOSTAT, 2010).

On trouve aussi comme ravageur le puceron farineux *Hyalopterus pruni* (Geoffroy,1762) qui a plus d'une plante hôte, y compris le pêcher (Turpeau et al.,2018). Le pêcher est l'un des fruits consommés les plus populaires dans le monde et le très important économiquement et nutritionnellement (Zhao et al., 2015) en raison de son activité antioxydante et de sa teneur élevée en polyphénols et de leur effet positif sur la santé (Iordănescu et al., 2015).

## 2.2 La teigne de la pomme de terre

### 2.2.1 Généralités

Les lépidoptères sont des insectes de type suceur. Leur tête est petite par rapport au corps. Ils portent de gros yeux composés ainsi que fréquemment des ocelles (Leraut, 1990).

La teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella* est un insecte nuisible majeur de la culture de la pomme de terre en plein champ et dans les structures de stockage après récolte (Abdallah et al., 2012). Elle est répandue dans l'ensemble des régions tropicales et subtropicales de la plupart des pays producteurs de pommes de terre (Lacey et Neven, 2006).

### 2.2.2 Classification systématique

D'après Ndiaye (1997), la classification systématique de la teigne de la pomme de terre est comme suit :

Règne ..... Animalia  
 Embranchement ..... Artopoda  
 Classe ..... insecta  
 Ordre ..... lepidoptera  
 Superfamille ..... Tineoidae  
 Famille ..... Gelechiidae  
 Genre ..... *Phthorimaea*  
 Espèce ..... *Phthorimaea operculella* (Zeller, 1873)

### 2.2.3 Description

*P. operculellase* passe par quatre états de développement : l'œuf, larve, chrysalide et l'adulte. (Figure 2)

- **Les Œufs** : Les œufs sont petits (0.5 mm) et de couleurs variant du blanc au jaune. Ils sont déposés individuellement à différents endroits : sur la face inférieure des feuilles, sur les tiges et sur les tubercules près des yeux (au champ et dans les lieux de stockages) (**Raman et al., 1987**),(Fig.02.a).
- **Les larves** : L'état larvaire comporte 4 stades (**Cuartas et al., 2009**). La larve de stade 1 récemment émergée. Elle mesure environ 1,30 mm pour atteindre 10 à 12 mm au stade L4 de son développement. La couleur générale est jaunâtre avec la tête et le prothorax marron. En conditions favorables, le cycle larvaire peut s'accomplir en 14 jours (**Raman et al., 1987**),(Figure 2.b).
- **Les chrysalides** : Les chrysalides sont brunâtres, atteignent 6 mm de long. Elles peuvent se trouver dans divers endroits tels que : vieilles feuilles sèches sur la plante, murs des entrepôts, tubercules, Sacs,...etc. Les chrysalides donnent des adultes en 8 jours (**Raman et al., 1987**),(Figure 2.c).
- **Les adultes** : Les adultes ont un corps argenté et une envergure de 15 mm. Les ailes antérieures sont gris brun avec une minuscule taches sombres et une frange étroite de poils. Les ailes postérieures sont de couleur blanc sale (**Raman et al., 1987**),(Figure 2.d).



2a : Œuf (chorion transparent) et larve de stade 1 ; 2b : larve (stade4) ; 2c : Chrysalide ; 2d : adulte

**Figure 2** : Différents stades de développement de la teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella* (**Espinel-Correal, 2010**)

### 2.2.4 Cycle biologique

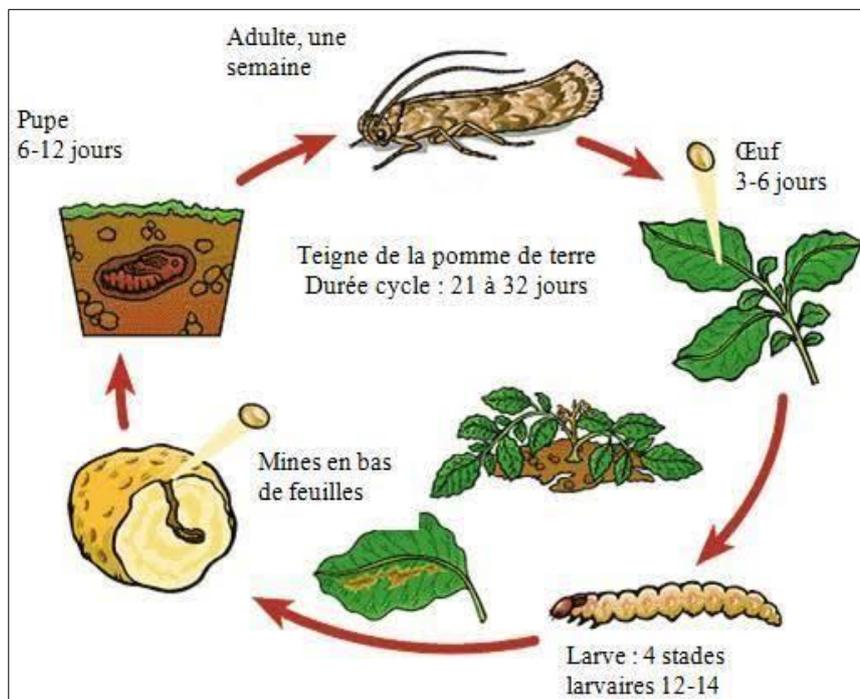
Pendant le jour, les adultes se cachent sous le feuillage et au début de la nuit leur activité commence avec des vols saccadés pour aboutir à l'accouplement (**López-Avila, 1996 ; Estrada et Sierra, 1997**).

L'accouplement commence généralement peu de temps après l'émergence des adultes et dure 4 à 6 heures. En moyenne, une seule femelle accouplée pond 150 œufs. La ponte commence 24 heures après l'accouplement. Elle se produit pendant 2 à 5 jours et diminue considérablement au bout de 7 jours (**Raj, 1991**).

Les femelles déposent leurs œufs le plus souvent sur la face inférieure des feuilles (**Alvarez et al., 2005**). À l'éclosion, la jeune larve creuse une mine. La durée du développement larvaire est variable et dépend principalement de la température (**Budeta, 1950**).

En fin d'évolution larvaire, la chenille se confectionne un cocon parmi les amas de débris laissés sur le sol, sur la plante, le cocon solidement fixé aux supports. A l'intérieur, la chenille reste quelque temps inactive puis se transforme en une chrysalide qui donne des adultes après 8 jours (**Henderson et al., 1999**).

La durée totale du cycle est de 3 semaines, au minimum. Elle peut être beaucoup plus longue à basses températures. Il peut y avoir jusqu'à 12 générations par an (**Delobel, 1996**).



**Figure 3** : Cycle biologique de la teigne de la pomme de terre *P. operculella* (**St-Amour,2021**)

### 2.2.5 Dégâts

La larve de la teigne est considérée comme le ravageur le plus redoutable des tubercules de pomme de terre, notamment en période de stockage. Ses chenilles mineuses s'attaquent à toutes les parties végétatives de cette culture, par perforation et forage des mines pouvant affaiblir les plantes. Elle pénètre à l'intérieur des tiges et fissures du sol pour atteindre les tubercules qu'elles rendent impropres à la consommation et cela durant la phase de développement et même en période de stockage (Estrada et Sierra, 1997).

La première attaque se fait sur les feuilles initiales et au point de croissance du tubercule-semence lorsque ces dernières n'ont pas été couvertes proprement. La seconde attaque se produit entre le buttage et la floraison sans conséquence négative sur le rendement, et la troisième attaque a lieu juste avant la récolte, sur les tubercules exposés. Ce qui entraînera l'infestation dans les entrepôts (Ortega et Fernandez, 2000).

- **Description des symptômes en végétation**

- **Sur feuillage** : Dégâts sur les feuilles et les pétioles par perforations et forage de mines pouvant affaiblir les plantes. Feutrage gris en surface (Allahom,2020).(Figure 4.a)
- **Sur tubercule** : Les chenilles creusent des galeries superficielles dans les tubercules, tapissées de fil de soie et les excréments noirâtres sont rejetés vers l'extérieur. D'autres pathogènes peuvent s'installer dans ces galeries et entraîner des pourritures de tubercules (Allahom,2020).(Figure 4.b)



(a).Dégâts sur les feuilles



(b).Dégâts sur les tubercules

**Figure 4** : Dégâts de *Phthorimaea operculella* sur la pomme de terre (Allahom, 2020).

### 2.2.6 Méthode de lutte

La méthode la plus courante de lutte contre *P. operculella* est l'utilisation de pesticides (Dillard et al., 1993). Dans les pays en développement, les pesticides constituent un intrant coûteux. Une sur utilisation pollue l'environnement, augmente la résistance aux insecticides et peut entraîner des risques pour la santé des consommateurs (Raman, 1988).

Pour une bonne gestion de la teigne de la pomme de terre, l'accent doit être mis sur l'utilisation de variétés résistantes, de phéromones sexuelles, de luttés biologiques et d'autres méthodes de lutte intégrée qui permettent une lutte adéquate, tout en réduisant la dépendance aux insecticides (CIP, 1990).

- **Lutte culturale :** Ce type de pratique est destiné à détruire les sources d'infestation des ravageurs, en créant des conditions défavorables à leur développement, pour stopper la génération de descendance (Corredor et Flórez, 2003). Les méthodes de la lutte culturale qui peuvent être envisagées sont les suivantes (Anonyme, 1990) :
  - La rotation des cultures tous les 5 à 6 ans pour maintenir une bonne teneur du sol en humus, et éviter son dessèchement.
  - Un bon buttage en période de croissance (6 à 7 semaines après la plantation).
  - Une bonne irrigation qui doit être périodique et adéquate pour réduire les craquelures du sol et ainsi, l'infestation de tubercule.
  - A la récolte, tous les tubercules doivent être enlevés du sol et transportés rapidement hors du Champ.
  
- **Contrôle éthologique :** Des pièges contenant la phéromone sexuelle synthétique de la femelle sont utilisés pour capturer les adultes. Ils se placent autour et à l'intérieur de la culture. Généralement, les agriculteurs les utilisent aussi pour surveiller le taux de teignes et ainsi obtenir les informations nécessaires pour prendre des décisions de contrôle comme l'usage des insecticides (Ait Hamou et Sadouk , 2017).
  
- **Lutte chimique :** La lutte chimique a été employée par pulvérisations du feuillage et du sol, et par pulvérisations ou fumigations des tubercules pendant leur stockage. Les insecticides les plus utilisés sont à base de pyrethroides, Acéphate, Chlorpyrifos et Profenofos, avec des caractéristiques toxicologiques allant de modérément à extrêmement toxique. L'utilisation de ces insecticides peut occasionner des problèmes

environnementaux pour la faune utile, l'eau, le sol, et pour la santé humaine due aux effets cancérigènes de ces insecticides chimiques. Leur utilisation dans le long terme peut aussi conduire à la sélection de populations d'insectes résistants (phénomène souvent appelé « apparition » ou « développement » de résistances) impliquant l'utilisation de doses de plus en plus élevées (Arévalo et Castro, 2003).

- **Lutte biologique :** Le contrôle biologique est un des principaux moyens de lutte intégrée. *P. operculella* est attaqué par différentes espèces de parasitoïdes appartenant à quatre familles, Braconidae (11 espèces), Ichneumonidae (4 espèces), Encyrtidae (3 espèces) et Trichogrammatidae (1 espèce). La présence de cette diversité (19 espèces au total) dans l'aire andine est cohérente avec une origine de *P. operculella* dans les Andes (Ortega et Fernández, 2000).

Une autre méthode de contrôle biologique est l'utilisation de micro-organismes entomopathogènes, les bactéries *Bacillus thuringiensis* sont très efficaces contre les stades larvaires de la teigne de pomme de terre, et l'utilisation du virus de la granulose ou granulovirus (Baculovirus) par épandage en plein champ est particulièrement recommandé (Das et al., 1992; Hamilton et Mac Donald, 1990 ; Kroschel et al., 1996 ; Zaddam et al., 2003). Dans le cas de *B. thuringiensis*, l'efficacité des formulations commerciales sur *P. operculella* en tubercules en conservation a été démontrée (Ortega et Fernández, 2000).

En laboratoire, l'utilisation du champignon *Beauveria bassina* a influé sur la durée de vie d'adultes issus de nymphe traités et sur le nombre d'œuf émis (Hafez et al., 1994).

## 2.3 Puceron farineux de prunier (*Hyalopterus pruni*)

### 2.3.1 Généralité

Les pucerons verts sont les plus importants groupes des insectes nuisibles suceurs de la sève. Ils appartiennent à l'ordre des Homoptera et répartis en plus de 4 000 espèces (Harmel et al., 2008; Kamphuis et al., 2013). Ils causent des dégâts à leur plante hôte directement en modifiant son métabolisme et en épuisant ses nutriments du phloème et indirectement par la transmission des virus pathogènes des plantes (Ng et Perry, 2004; Kamphuis et al., 2013).

Le puceron farineux du prunier est le ravageur qui attaque un grand nombre de plantes cultivées. Le pêcher, prunier, abricotier, et l'amandier sont ses hôtes primaires. (Hullé et al., 1998 ; Jerraya, 2003) (Figure 5).



**Figure 5** : Colonie de pucerons farineux du pêcher (Serfel, 2012)

### 2.3.2 Classification systématique

D'après Geoffroy (1762), la classification systématique de puceron farineux est comme suit :

Règne..... Animalia  
 Embranchement..... Arthropoda  
 Classe..... Insecta  
 Ordre.....Homoptera  
 Famille..... Aphididae  
 Genre..... *Hyalopterus*  
 Espèce..... *Hyalopterus pruni*

### 2.3.3 Description

L'adulte aptère mesure de 1.5 à 2.6 mm. Il a un corps allongé, de couleur vert pâle et recouvert d'une pruinosité blanche d'aspect farineux (Figure 6). L'aile est pâle avec des antennes courtes. L'abdomen est allongé avec des cornicules très courtes, légèrement renflées, et pâles. La cauda est longue et pointue (Smali et Medjouz, 2017),(Figure 7).



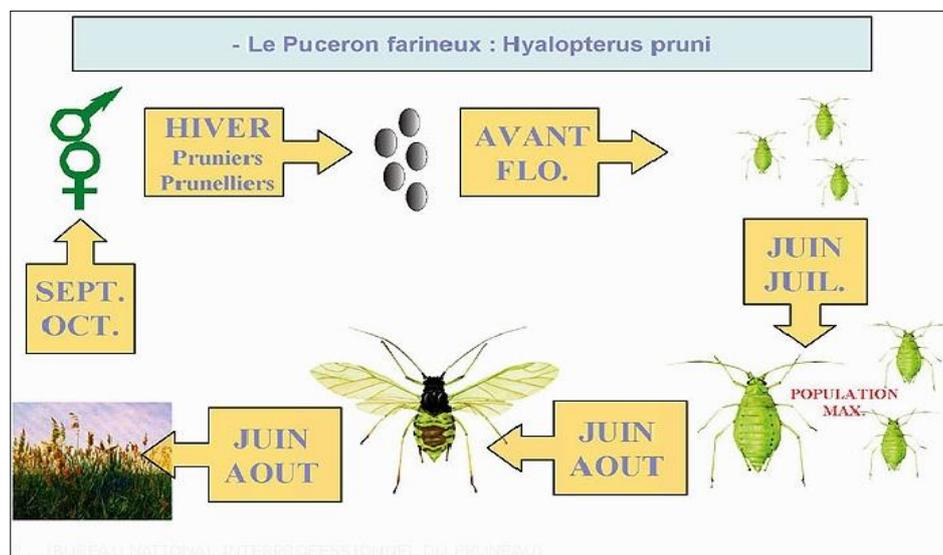
**Figure 6** : Puceron farineux du prunier (Individu aptère). (Hullé et al., 1998)



**Figure 7**: Puceron farineux du prunier (Individu ailé). (INRA, 2015)

### 2.3.4 Cycle biologique

Le puceron farineux manifeste souvent un Holocyclique diœcique. Il alterne entre un hôte primaire et secondaire. Les œufs d'hiver sont déposés en très petit nombre sur les troncs et branches des hôtes primaires et éclosent dans le courant du mois d'avril. Les colonies se développent sur la face inférieure des feuilles ou des jeunes pousses, sans causer de déformation. Les colonies les plus importantes s'observent en juin-juillet. Les formes ailées apparaissent fin mai et émigrent sur les plantes hôtes secondaires. Ils donnent naissance à des aptères qui se tiennent à la face supérieure des feuilles. A partir de fin août, les sexupares ailés mâles retournent sur les plantes hôtes primaires. Les œufs sont pondus à la base des bourgeons ou dans les anfractuosités des rameaux et ils sont recouverts de courts filaments blanchâtres (Smali et Medjouz , 2017),(Figure 8).



**Figure 8 :** Cycle biologique du puceron farineux, *Hyalopterus prun.* (INRA, 2015)

### 2.3.5 Dégâts

En s'attaquant aux tissus jeunes des plantes, ce puceron peut atteindre de très hautes densités en causant des dégâts directs et indirects :

- **Directs :** Le puceron farineux colonise la face inférieure des feuilles, sans causer de déformation du limbe. L'arrêt de croissance des pousses peut être préjudiciable à l'arbre. Des attaques abondantes s'accompagnent d'une forte production de miellat, et donc d'apparition de fumagine qui déprécie gravement les fruits, provoque la chute précoce du feuillage voire compromet la floraison de l'année suivante (Chamont, 2012).

- **Indirects** : En se déplaçant d'une plante à une autre, les pucerons farineux du prunier créent des contacts indirects entre les végétaux distants et immobiles. Cette caractéristique a été efficacement exploitée par les virus des plantes dont celui de la variole du prunier, incapables de se déplacer d'un hôte à un autre de façon autonome. Ainsi, de très nombreuses espèces virales utilisent l'action itinérante des pucerons pour se propager et se maintenir dans l'environnement (**Brault et al., 2010**).

### 2.3.6 Méthode de lutte

Plusieurs moyens de lutte peuvent être utilisés pour lutter contre les pucerons :

- **Lutte préventive** : Elle se base sur les différentes pratiques culturales à travers l'entretien de la culture. Parmi les exemples de moyens de lutte culturale contre les pucerons, on retrouve les suivants :
- Le retrait des mauvaises herbes qui poussent dans les champs et qui sont des sources possibles de virus que les aphides peuvent transmettre aux cultures saines avoisinantes (**Blackman et Eastop, 2007**).
  - La création de barrières physiques via l'utilisation de cultures de couverture entre les rangées,  
L'installation de filets protecteurs ou la pose de paillis, comme les paillis de polyéthylène (**Blackman et Eastop, 2007; Farias-Lario et Orozco-Santos, 1997**).
  - L'utilisation de cultures intercalaires qui présuppose qu'une hétérogénéité et une diversité des cultures sur une même parcelle favorisent la régulation naturelle des populations des ravageurs par le fait d'accentuer les populations d'ennemis naturels (**Gontijo et al., 2017; Karungi et al., 2010**).
- **Lutte chimique** : Se fait par l'utilisation des insecticides à base de carbamates et pyréthrinoïdes et les néonicotinoïdes. Elle est la plus utilisée et qui présente une excellente efficacité contre les pucerons à travers le monde (**Wang et al., 2002**) .
- Ce groupe d'insecticides a prouvé une efficacité plus importante contre les ravageurs par leur mode d'action, qui consiste à affecter le système nerveux de l'insecte ciblé en induisant sa paralysie et sa mort par la suite (**Blackman et Eastop, 2007; Buchholz et Nauen, 2002**).

Malgré la bonne capacité de ces insecticides, ils ont plusieurs inconvénients. Ils nuisent à l'écosystème et à l'environnement et tuent les insectes auxiliaires. En plus, les pucerons peuvent développer des résistances aux différents molécules chimique utilisées (**Dogimon et al., 2010**).

- **Lutte biologique :** La lutte biologique microbienne est basée sur l'utilisation des micro-organismes entomopathogènes. C'est une méthode qui peut être efficace et sans risque sur l'environnement et sur la santé humaine. Parmi ces microorganismes, figurent les champignons, les virus et les bactéries entomopathogènes (**Mascarin et Jaronski, 2016**).

La bactérie *B. thuringiensis* est la plus utilisée en lutte biologique microbienne (**Bravo et al., 2011; Lacey et Goettel, 1995; Mazid et al., 2011; Tanada, 1959**), car elle agit d'une façon rapide comparable à celle des insecticides chimiques envers ses hôtes, se conserve pour une longue durée, possède un processus de formulation, de production et d'application facile et économique et finalement ne constitue pas un risque pour l'environnement (**Lacey et al., 2015**).

La plupart des champignons entomopathogènes qui contribuent à la régulation des pucerons appartiennent à l'ordre des Entomophthorales (**Blackman et Eastop, 2007**), chez les 500 espèces d'*Hyphomycètes*, les genres *Beauveria* *Metarhizium*, et *Verticillium* sont les plus utilisés pour la lutte biologique (**Sabbahi, 2008**).

## Partie 3 : Utilisation des bactéries entomopathogènes

### 3.1 Genre *Bacillus*

#### 3.1.1 Généralités

Le genre *Bacillus* appartient à l'embranchement des Firmicutes. Ces bactéries sont fréquemment isolées de différentes niches écologiques (Medjeber,2016). Certaines peuvent agir comme des pathogènes des animaux, des plantes ou des champignons, alors que d'autres sont des bactéries bénéfiques vivant librement dans le sol. Ces bactéries sont peu pathogènes pour l'homme, à deux exceptions près: *B.anthraxis*, qui est responsable du charbon, et *B.cereus* qui est l'espèce la plus fréquemment isolée de produits pathologiques. (Teyssou et al.,1998).

Le genre *Bacillus* est constitué de bactéries sporulées et telluriques, ubiquitaires, rencontrées dans des habitats très variés (le sol, l'eau, les poussières ...) (Bounoua, 2006). Il comprend 268 espèces réparties en 3 groupes sur la base de la morphologie, de l'endospore et du corps bactérien (Bouhairi, 2017).

#### 3.1.2 Classification taxonomique

Selon Bergey's Manual of systematic Bacteriology (2ème ed 2004):

Règne..... Bacteria.  
Embranchement..... Firmicutidae.  
Classe..... Bacilli.  
Ordre..... Bacillales.  
Famille..... Bacillaceae.  
Genre..... *Bacillus*.  
Espèce..... *Bacillus* *sp*

### Caractéristiques

#### ➤ Caractères morphologiques

- Le genre *Bacillus* comprend des bactéries en forme de bâtonnets, généralement mobiles, sporogènes, de forme bacilles (Larpen,1990).

- Ils sont à Gram positif. Les dimensions de ces bactéries sont variables ; elles peuvent aller de (0.5 × 1.2 µm) à (2.5 × 10 µm), aérobies stricts ou anaérobies facultatifs. Elles tirent leur énergie par respiration ou fermentation (**Perry et al.,2004**).
- Les *Bacilles* sont généralement mobiles avec des flagelles peritrichous (**Cohn, 1872**).
- Les colonies sont grisâtres, larges, arrondies, aplaties, mates ou brillantes à contours irréguliers avec une large hémolyse sur la gélose (**Alexander et Priest, 1989 ; Logan et al., 2004**).
- Ces bactéries sont capables de produire des endospores en présence d'oxygène et d'azote et qui peuvent se réduire à des endospores ovales restant dans cet état dormant pendant des années leur permettant de résister à des conditions environnementales défavorables (**Medjeber, 2016**)

➤ **Caractères cultureux**

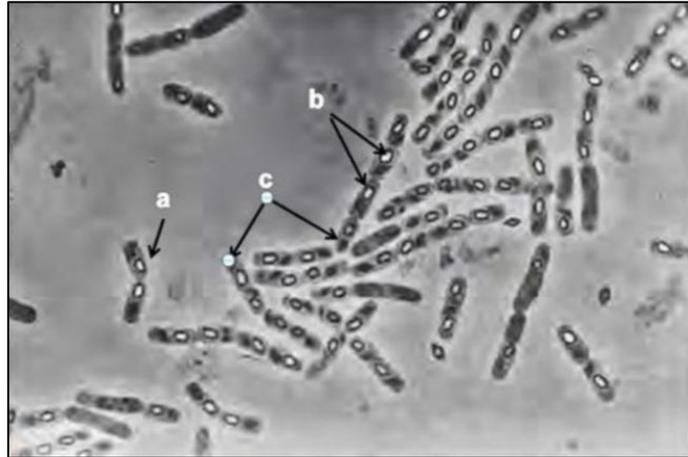
- Les *Bacillus* sont hétérotrophes, saprophytes et ubiquitaires. Elles sont fréquemment retrouvées dans le sol ou certaines espèces ont un rôle dans le cycle du carbone et de l'azote. (**Medjeber, 2016**).
- Le pH de 7 pH paraît le plus convenable à la croissance de la plupart des *Bacillus* ; certaines (*B.alcalophilus*) se multiplient à un pH élevé, compris entre 9 et 10 ; d'autres (*B. acidocaldarius*) en sont capables entre pH 2 et 6 avec un optimum de 3 à 4 (**Oueld et Haddar, 2008**).
- Cette même diversité est rencontrée dans leur comportement à la température ; les plus nombreuses sont mésophiles ; certaines, thermophiles se développent de 45°C à 75°C et même au-delà ; d'autres sont psychrotrophes (**Leclerc et al.,1989**).

➤ **Caractères biochimiques**

L'identification du genre et de l'espèce d'une souche bactérienne doit se poursuivre par la recherche de caractères biochimiques. Parmi ces caractères (**Aryal, 2016**), on retrouve :

- **Métabolisme respiratoire** catalase (+), oxydase (±) aérobies stricts ou anaérobiose facultative suivant les espèces.
- **Nitrate réductase.** (il est présent ou non suivant l'espèce).
- **Citrate** (+).
- **Gaz** (-).

- **Indole (-).**
- **Gélatinase(+).**
- **Indole : rarement positive.**
- **Uréase(-).**



**Figure 9 :** *Bacillus thuringiensis* sous microscope en contraste de phase  
A : *Bacillus thuringiensis*, b : spores, c : cristaux (**Rampersad et al., 2003**)

### 3.1.3 Effet entomopathogènes des *Bacillus*

Différentes espèces bactériennes de la famille des Bacillacées font, depuis longtemps, l'objet d'études portant sur leur relation pathogène avec les invertébrés, en particulier les insectes. Ce groupe d'entomopathogènes est bien représenté par *Bacillus thuringiensis*, l'espèce bactérienne la plus étudiée et la plus utilisée commercialement (**Ruiu, 2018**).

Leurs efficacités et leur production relativement peu coûteuse font de *Bacillus thuringiensis* le bio pesticide le plus largement utilisé dans le monde. Il permet de lutter contre de nombreux ravageurs de cultures, essentiellement des larves de lépidoptères, diptères et de coléoptères (**Morris, 1983 ; Ahmed et al., 1994**).

*Bacillus thuringiensis* produit, principalement, des différentes protéines et enzymes et d'autres facteurs de virulence, qui peuvent avoir un rôle dans le pouvoir entomopathogènes contre différents ordres d'insectes dans des conditions naturelles et contribuer au développement de la bactérie dans les larves d'insectes mortes (**Gohar et al., 2005**).

➤ **Facteurs de virulences des *Bacillus***

- **La sporulation :** Le *Bacillus thuringiensis* cultive facilement dans les milieux artificiels. En milieu liquide, lorsque la population cellulaire a atteint un maximum, les cellules végétatives sporulent.

La formation d'une endospore est un processus de division cellulaire qui inclut la formation de protoplastes dans le cytoplasme de la cellule. La séquence du développement des spores et de la formation des cristaux para-sporaux chez *Bt* est résumée selon des étapes classiques de la sporulation qui est influencée par des facteurs tels que la température, le pH et la disponibilité de certains cations divalents et des composés contenant du carbone et de l'azote.

Les spores formées dans différentes conditions ont différentes stabilités et degrés de résistance à la chaleur, au rayonnement, aux produits chimiques, à la dessiccation et à d'autres conditions hostiles (**Vilas-Bo, 2004**).

- **Les protéines :** *B. thuringiensis* produit aussi deux autres protéines portées par des plasmides et pouvant agir en synergie avec les toxines Cry : les protéines Vip (Vegetative Insecticidal Proteins) et Cyt (Cytolytic toxins). Les toxines Cyt ont une action décrite comme similaire aux 21 toxines Cry, et pouvant avoir une action synergique avec Cry (**Bravo et Soberón, 2007; Palma et al., 2014**).

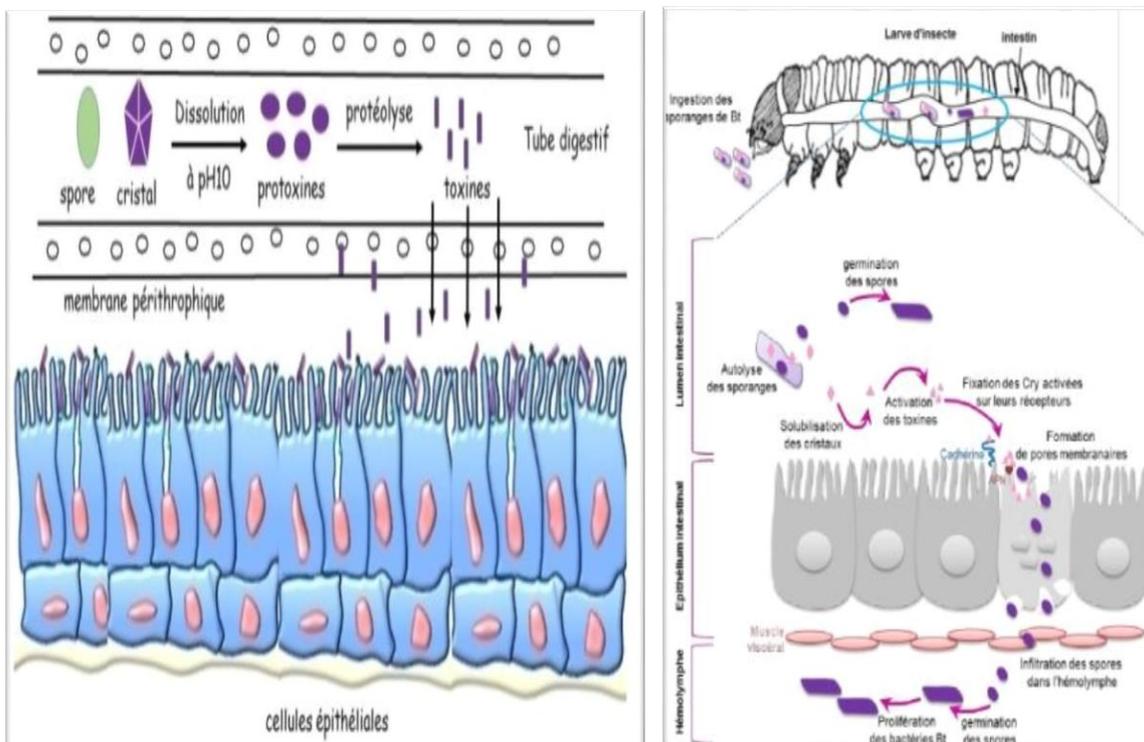
- Les protéines Cry :** Les toxines Cry constituent les inclusions cristallines sont suffisamment létales pour tuer les larves d'insectes infectées, qui sont produites durant la sporulation. Pour une grande majorité de ces toxines, les cibles ne sont pas connues et ne peuvent être reliées à une structure et un ordre d'invertébré ou d'insecte particulier (**Crickmore et al., 1998**). Lorsqu'ils sont ingérés par les larves d'insectes sensibles, ces cristaux de protéines sont dissous et activés dans le tube digestif des insectes. Ils se lient à des récepteurs spécifiques situés sur les cellules épithéliales de l'intestin moyen, provoquant des pores transmembranaires et causant la lyse cellulaire. Cette toxémie peut entraîner, par elle-même, la mort des larves d'insectes (**Grochulski et al., 1995 ; Agaisseef et al., 1999**).

- Protéines VIP :** Les Vips sont produits durant la phase végétative du cycle de vie de *B. thuringiensis*. Il existe présentement environ 100 Vips différentes qui se classent dans trois

groupes (VIP 1, VIP 2, VIP 3) selon leur degré de similarité en acides-aminés. Elles forment des toxines binaires. Celles appartenant aux familles Vip1 et Vip2 ont une activité contre les coléoptères, celles de la famille Vip3 sont toxiques contre les lépidoptères (**Chakroun et al., 2016**).

Les VIPs sont actives à l'intérieur de l'intestin des insectes, se lie aux cellules épithéliales et forme des pores dans celle-ci, entraînant la mort de l'insecte (**Chakroun et al., 2016**).

- **Les enzymes** : Les plus importantes enzymes produites par *Bt* ce sont les chitinases, enzymes V hydrolysant la chitine (un homopolymère de (B-1,4-acétyl-alignés glucosamine) . Il a été suggéré que la chitinase pourrait accroître la toxicité du *Bt* par perforation de la barrière de la membrane péritrophique de l'intestin moyen des larves et donc d'accroître l'accessibilité de la delta-endotoxine de *Bt* aux récepteurs sur les membranes des cellules épithéliales (**Regev et al., 1996**). La perforation de la membrane péritrophique par la chitinase permet la pénétration des spores et des cristaux de *Bt* dans l'hémolymphe des larves.



**Figure 10** : Mode d'infection du *Bacillus thuringiensis* dans l'intestin d'un lépidoptère (**Sanchis, 2016**)

### 3.1.4 Lutte microbiologique par les *Bacillus*

Les bactéries du genre *Bacillus* sont parmi les agents de lutte biologique les plus étudiés et les plus utilisés contre les maladies et les ravageurs en serre (Mnif et Ghribi, 2015). Il comporte, pas moins de 74 espèces différentes, Il y a quatre espèces entomopathogéniques qui sont actuellement utilisées ou qui possèdent le potentiel d'être utilisées comme insecticide. Parmi celles-ci, l'espèce *Bacillus thuringiensis* est utilisée comme biopesticides depuis plusieurs années. (Schallmey et al., 2004).

#### ➤ Exemples d'utilisation de *Bacillus*

- La souche *Bacillus cereus* a la capacité de réduire les maladies des plantes causées par les Oomycètes (Handelsman et Stabb, 1996), grâce à la production des antibiotiques Zwittermicine (Milner et al., 1996) et Kanosamine (Milner et al., 1996)
- Utilisation du *Bacillus thuringiensis* contre la chenille du bombyx (Humble et Stewart, 1994).
- L'activité insecticides du *B.subtilis* a été décrit sur les larves d'*Anopheles culicifacies*, vecteur de la maladie en Inde et sur *Drosophila melanogaster* (Gupta et Vyas , 1989 ; Lazare et al., 1996).
- *B. subtilis* peut aussi faire diminuer le nombre de stades larvaires de l'aleurode de tabac *Bemisia argentifolii* (Weber et Marahiel, 2002).
- *Bacillus anthracis*, responsable de la maladie du charbon (Mock et Fouet, 2001).
- *B.pumilus* se caractérise par un important potentiel de production de la chitinase et il a été suggéré qu'elle peut être utilisée comme un agent puissant de lutte biologique. En fait, lors d'une étude réalisée en Espagne, une souche de *B.pumilus* a été identifiée comme hautement toxique aux larves de la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* ( Molina et al., 2010).

## 3.2 Genre *Pseudomonas*

### 3.2.1 Généralité

Les *Pseudomonas* sont des bactéries que l'on rencontre communément dans l'eau, le sol et en particulier au niveau des rhizosphères (Kanyinda et al., 2014). Dans ce dernier milieu, elles sont vraiment abondantes et dans certains cas elles représentent plus de 60 % de la microflore bactérienne totale du sol (Digat, 1994), grâce à leur capacité de coloniser les racines et à y maintenir une forte densité de population qui est très remarquable (Ouserir et al., 2018).

Parmi ces bactéries rhizosphériques, on retrouve celles qui sont les plus majeures : les *Pseudomonas fluorescens* (Jayamohan et al., 2018).

Les *Pseudomonas fluorescens* possèdent plusieurs caractéristiques intrinsèques et entomopathogènes qui les rendent particulièrement intéressantes pour une utilisation comme agents de lutte biologique (Höfte et Altier, 2010 ; Stockwell et Stack, 2007). De plus, elles sont très faciles à isoler et à cultiver en laboratoire (Moore et al., 2006). Ce qui leur a permis d'être utilisées en agriculture comme biofertilisants ou biopesticides (Bakli et Zenasni, 2019).

### 3.2.2 Classification taxonomique

La classification du genre *Pseudomonas* a été tracé par Migula (1894) dans le manuel de Bergey 1923 (Das et al., 2020) :

Domaine ..... Bacteria.

Phylum ..... Proteobacteria.

Classe ..... Gammaproteobacteria.

Ordre ..... Pseudomonadales.

Famille ..... Pseudomonadaceae.

Genre ..... *Pseudomonas* .

Espece ..... *Pseudomonas fluorescens* (Palleroni, 1992)

### 3.2.3 Caractéristiques

Les *Pseudomonas fluorescens* sont caractérisées par :

#### ➤ Caractères morphologiques

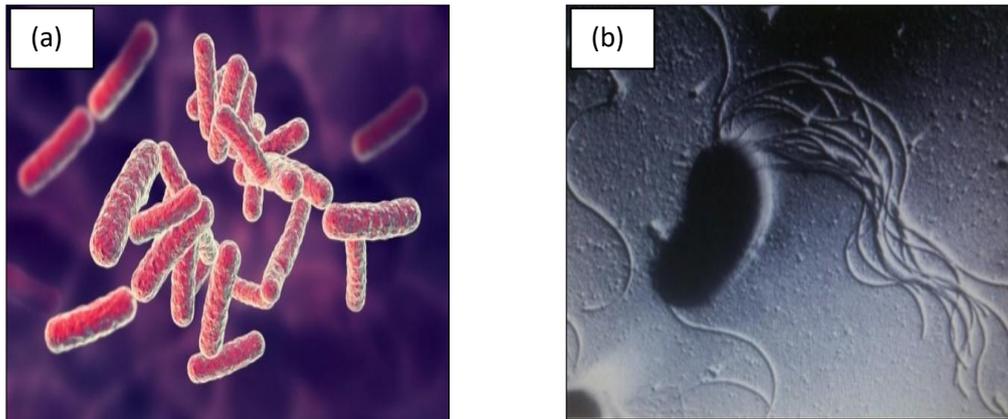
- Bacilles à Gram négatif de 0,5 à 1 µm de diamètre sur 1,5 à 5µm de long, asporulées (**Bell-Perkins et Lynch, 2002**).
- Cellules bâtonnets courtes et les colonies sont grandes avec une surface irrégulière, et des Flagelles polaires qui lui assurent la mobilité ( **Bossis et al.,2000**).

#### ➤ Caractères cultureux

- Elles peuvent se développer à un pH compris entre 4 et 8 en plus à température de croissance optimale se situe entre 25 et 30°C (**Brittan et al., 2014**).
- Elles se cultivent sur des milieux usuels non enrichis et sont capables d'utiliser de nombreux substrats hydrocarbonés comme sources de Carbone et d'énergie (**Meliani, 2012**).

#### ➤ Caractères biochimiques

- Elles fermentent le glucose mais pas le lactose, et sont positives dans les tests d'oxydase, catalase et citrate (**Deshwal et al., 2013**).
- *P. fluorescens* sont capables de synthétiser le pigment jaune-vert, fluorescent, soluble dans l'eau. Ce pigment fluorescent c'est d'un complexe stable qui s'appelle le Pyoverdine (**Meyer, 1978**).
- Ce sont des aérobies obligatoires, à l'exception de certaines qui peuvent utiliser le NO<sub>3</sub> comme accepteur d'électrons. (**Moore et al., 2006**)
- Certaines populations de *Pseudomonas fluorescens* ont la possibilité d'assimiler l'azote (**Clays-Josserand et al., 1995**).
- Elles ont un métabolisme mésophile et chimio-Organotrophe oxydatif (**Moore et al., 2006**)
- Elles ont la capacité de dégrader des composés complexes, telles que les protéines et les polysaccharides complexes comme l'amidon et la cellulose (**Palleroni, 1984**).
- Elles sont souvent capables de résister à de nombreux antiseptiques ou antibiotiques (**Euzeby, 2008 ; Visca et al., 2007**)



**Figure 11** : Observation par microscope électronique à balayage d'une souche de *Pseudomonas sp* (a) (Saddiki,1999), et photographie microscopique électronique à balayage de *Pseudomonas fluorescens* (b) (Brittan Starr Scales et al., 2014 )

### 3.2.4 Effet entomopathogènes des *Pseudomonas*

*Pseudomonas fluorescens* est le principal agent biologique vital appliqué contre diverses maladies des plantes et possède également des propriétés de bio-contrôle les insectes ravageurs des cultures, Donc, il peut être utilisé comme des bactéries entomopathogènes pour lutter contre les insectes nuisibles (Wahengbam et al., 2020).

Les souches de *P. fluorescens* produisent des exo-toxine (Picot et al., 2001), des exo-enzymes comme protéases (Koka et Weimer,2000 ; Liao and Mc-Callus, 1998 ; Sacherer et al., 1994),et aussi des lipases (Dieckelmann et al., 1998) , et une enzyme de type cholinestérase (Rochu et al., 1998). Ces molécules qui en font des candidates idéales pour la lutte biologique contre des nombreux insectes ravageurs et maladies des plantes (Chen et al., 2014).

Deux types toxines qui ont un pouvoir insecticides produites par *P.fluorescens* (Péchy-Tarr et al., 2008) :

- **La toxine insecticide fluorescents (FitD)** : Ce qui provoque la mort de l'insecte dès qu'il est attaqué par cette toxine (Péchy-Tarr et al., 2008).
- **La toxine complexe protein (Tc)** : Ce qui nécessite les trois composants «A,B,C» pour une toxicité totale (Ffrench-Constant et al., 2000), le composant A servant de toxine primaire, et le composants B et C considérés comme des potentialisateurs qui vont

augmenter la toxicité du complexe protéique (Ffrench-Constant et al., 2006 ; Waterfield et al., 2005)

### 3.2.5 Lutte microbiologique par les *Pseudomonas*

Les *Pseudomonas fluorescens* ont été étudiés depuis des décennies pour leurs effets bénéfiques sur la suppression efficace des maladies telluriques des Plantes (Bakker et al., 2007), et leurs effets enthomopathogènes qui provoquent des maladies chez les insectes (Oulebsir-Mohandkaci et al., 2015).

Au cours de ces dix dernières années, de nombreuses publications ont été publiées sur des essais réalisés en serre ou au champ qui montre l'intérêt potentiel des *P. fluorescens* non pathogènes autant qu'agents de lutte biologique contre plusieurs agents phytopathogènes y compris les insectes ravageurs (Weller et Cook, 1983).

#### ➤ Exemples d'utilisation des *Pseudomonas fluorescens* dans le bio-contrôle

- En 2012, l'Agence de réglementation de la lutte antiparasitaire a évalué la Souche de *P. fluorescens* appelée **CL145A** aux fins d'utilisation en tant que biopesticide pour lutter contre la moule zébrée.
- Certaines souches de *P. fluorescens* utilisées pour la lutte biologique contre un large éventail d'espèces, y compris les mauvaises herbes (p. ex. le brome des toits et le pâturin annuel), les pucerons, les termites, les nématodes, les moules zébrées et divers insectes, ainsi que contre une variété d'organismes nuisibles dans le blé, la betterave à sucre, les pois chiches, la tomate, le coton et le chou (Kamilova et al., 2006 ; Khan et al., 2006 ; Schmidt et al., 2004 ; Someya et al., 2007 ; Srivastava et al., 2001 ; Weller, 2007).
- La souche de *P. fluorescens* **MSS-1** produit une exotoxine moustiquocide qui est mortelle en cas d'ingestion par voie orale par les moustiques (Rajan et al., 2008).

---

## **CHAPITRE II**

# **MATÉRIELS ET MÉTHODES**

## Objectif de travail

Notre travail a été réalisé au niveau du Laboratoire de Recherche Sur les Plantes Médicinales et Aromatiques (LPRMA) de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie (SNV), Université Saad Dahleb Blida -1- (USDB-1). Les principaux objectifs de ce travail sont d'isoler et d'identifier des souches des genres *Bacillus* et *Pseudomonas* à partir du sol, afin de tester leur entomopathogénicité contre les deux insectes ravageurs cibles.

## II.1 Isolement et purification des isolats bactériens à partir du sol

### II.1.1 Échantillonnage du sol

Les échantillons de sol ont été prélevés dans les régions d'Oued El Alleug, Mouzaïa, Bougara, Beni Mered et Tabainat dans la Wilaya de Blida (**Figure 12**). La technique d'échantillonnage consiste à prélever une quantité suffisante de sol au niveau de quatre endroits aléatoires dans chaque verger d'agrumes. Puis les placés dans des sacs en papiers.

Deux prélèvements ont été effectués :

- À partir de la rhizosphère (à proximité du système racinaire), dans le but d'isoler des bactéries du genre *Pseudomonas* (**Bikram et al., 2020**).
- À partir des bordures dans la couche superficielle du sol environ 5 à 10 cm de profondeur, pour isoler les bactéries du genre *Bacillus* (**Mihir et al., 2017**).



**Figure 12** : Les parcelles de prélèvement des échantillons (**Original**)

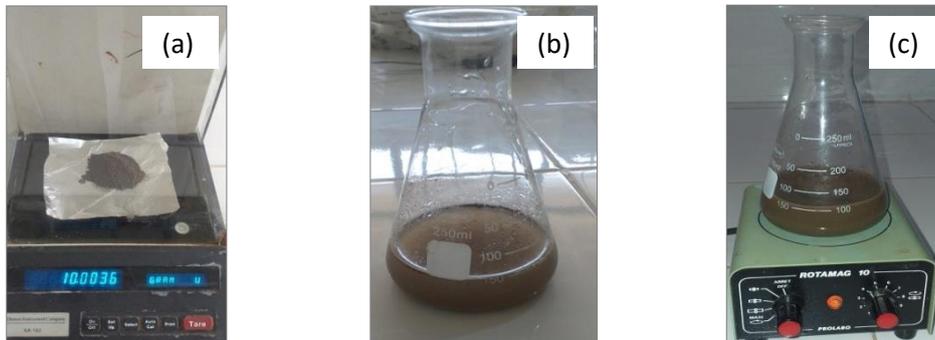
### II.1.2 Préparation des dilutions

- Nous avons commencé par le tamisage du sol pour éliminer les pierres et les débris végétaux (**Figure 13**)



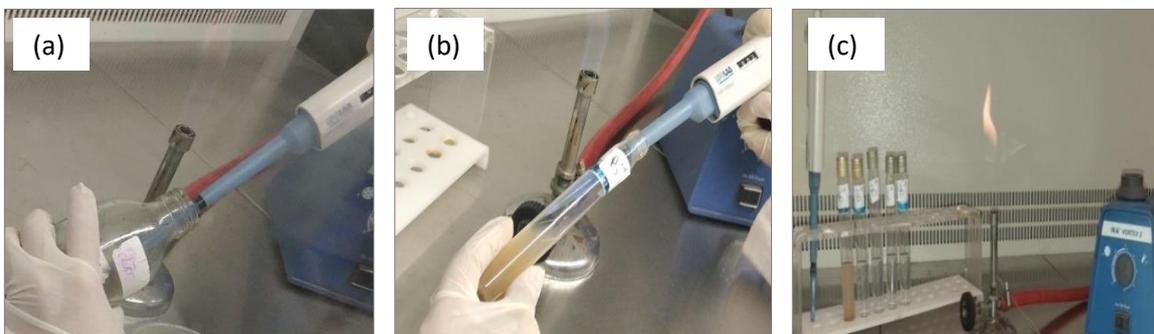
**Figure 13 : Etape de tamisage (Original)**

- 10 grammes de sol (**Figure 14.a**). a été mis dans un erlenmeyer qui contient 90 ml d'eau physiologique (**Oulebsir-Mohandkaci et al., 2015**) (**Figure 14.b**). Cette suspension est homogénéisée avec un agitateur magnétique pendant 30 minutes (**Figure 14.c**).



**Figure 14 : Préparation de la solution mère (Original)**

- La préparation de la solution mère (10g sol + 90 ml d'eau physiologique stérile) a été suivie par une série de dilutions successives par la méthode suivante :
- On prélève 1 ml de la suspension mère à l'aide d'une micropipette graduée à 1000  $\mu\text{l}$  (**Figure 15.a**), et on l'introduit dans un tube à essai qui contient 9 ml d'eau physiologique stérile pour l'obtention de la dilution  $10^{-1}$  (**Figure 15.b**). Par cette méthode, on réalise la suite des dilutions décimales jusqu'à la dilution  $10^{-5}$  (**Figure 15.c**)



**Figure 15 : Réalisation des dilutions (Original)**

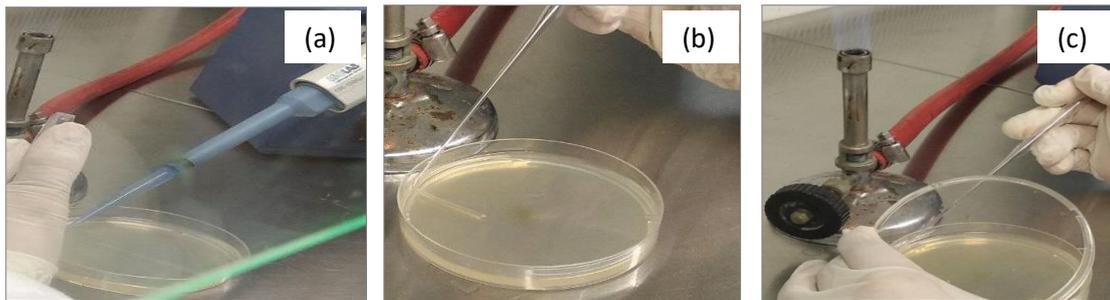
- Pour la sélection des bactéries de genre *Bacillus*, les dilutions préparées à l'isolement de ce genre sont chauffées à 80°C pendant 10 minutes (**Figure 16**) pour éliminer toutes les bactéries non sporulantes (**Zelege et al., 2009**).



**Figure 16** : La sélection des bactéries de sol dans le chauffage à 80°C (**Original**)

#### a) Etalement des dilutions préparées

Après avoir préparé les différentes dilutions, à l'aide d'une micropipette graduée à 100 µl nous avons prélevé 0.1 ml de chaque dilution que nous déposons à la surface de boîtes de pétri (**Figure 17.a**). Nous avons étalé à l'aide d'une pipette Pasteur stérile sous forme d'un râteau sur les boîtes de Pétri contenant les milieux de culture (**Figure.17.b et c**).

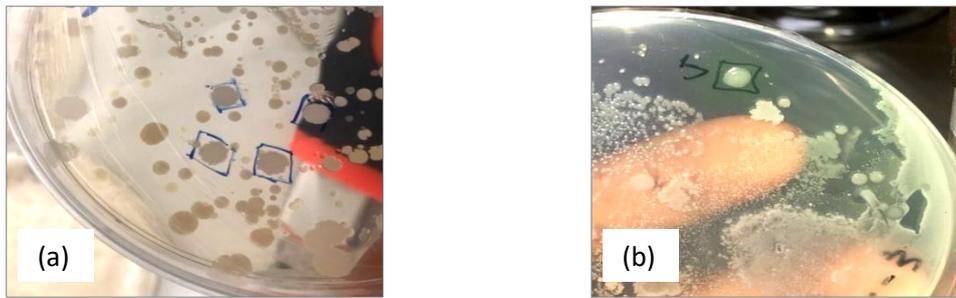


**Figure 17** : Etalement des dilutions (**Original**)

- Le milieu utilisé dans l'isolement et la purification de la souche bactérienne du genre *Bacillus*, c'est la gélose nutritive (GN) qui est employée pour la croissance des micro-organismes non exigeants. Par rapport aux *Pseudomonas*, le milieu utilisé c'est le milieu King B qui permet la production de la fluorescéine (**Guiraud, 2003**).

#### II.1.3 Purification des isolats bactériens

Les colonies présentant des caractéristiques macroscopiques préliminaires correspondant au genre *Bacillus* (très grandes, colonies sèche et irrégulière) (**Figure 18.a**) et *Pseudomonas* (colonies assez grandes, nacré avec un contour dentelé et une pigmentation jaune-vert) (**Figure 18.b**) sont repiquées sur les boîtes Pétri de façon successive jusqu'à l'obtention de cultures pures. Ces dernières sont soumises aux étapes d'identification afin de déterminer le genre recherché.



**Figure 18 :** Colonies suspectes d'un isolat de *Bacillus* sur milieu GN et d'un isolat de *Pseudomonas* sur milieu King B. (Original)

## II.2 Identification des isolats Bactériens

L'identification et la caractérisation taxonomique des bactéries isolées reposent principalement sur l'étude de plusieurs caractères macroscopique et microscopiques correspondant principalement au type des colonies, la forme des cellules bactériennes et leur mobilité. L'identification des espèces isolées a nécessité en plus, des caractères physiologiques et biochimiques tel que la mise en évidence du type de Gram, recherche de l'enzyme catalase, oxydase, test TSI, citrate et mannitol.

### II.2.1 Identification macroscopique

L'aspect macroscopique des colonies est déterminé après incubation visuellement à l'œil nu. Les cultures de deux souches cultivées sur les boites de pétri contient deux milieux (KB, GN), qui y a pour but de sélectionné selon des caractères morphologiques, les colonies susceptibles d'appartenir aux genres ciblés.

### II.2.2 Identification microscopique (Coloration au bleu de méthylène)

#### a) Principe

Ce test permet d'observer les bactéries et de se renseigner sur la forme, la taille et le mode de regroupement des bactéries isolées.

#### b) Protocole

On réalise un frottis de la bactérie sur une lame propre et sèche. On fixe le frottis à la flamme en passant la lame trois fois dans la flamme du bec Bunsen. On la recouvre d'une solution de bleu de méthylène pendant une minute (Figure 19)



**Figure 19 :** Coloration au bleu de méthylène. (Original)

puis on rince et on sèche entre deux papiers filtres, l'observation a été faite au microscope optique à l'objectif X 100, par une goutte d'huile à immersion.

### II.2.3 Testes d'orientation

#### 1) Coloration de gram

##### a) Principe

C'est la coloration qui permet de distinguer les bactéries Gram positif et Gram négatif, en fonction de la composition chimique de leur paroi. Celles qui possèdent une couche de peptidoglycane mince sont décolorées lors du lavage à l'alcool (Gram-), alors que celles qui possèdent une couche de peptidoglycane épaisse vont retenir la couleur violet (Gram+).

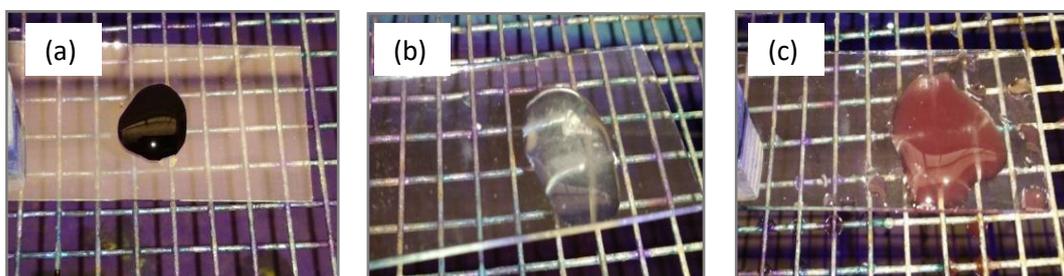
##### b) Protocole

Un frottis est fixé à la chaleur (**Figure 20**), puis recouvert par le violet de Gentiane pendant une minute (**Figure 21.a**), puis on rince à l'eau distillée. On recouvre la lame de Lugol pendant une minute (**Figure 21.b**), puis on rince à l'eau distillée. Le frottis est ensuite décoloré avec de l'alcool en le versant goutte par goutte sur la lame pendant 10 secondes, puis on rince à l'eau distillée. A ce stade, les cellules Gram négatives seront incolores et les cellules Gram positives violettes.



**Figure 20:** Préparation du frottis (**Original**)

Ensuite, le frottis est soumis à une contre coloration de une minute à la fuchsine (**Figure 21.c**), pour colorer les cellules Gram négative présentes. Après un bref rinçage, le frottis est séché puis examiné, à l'objectif X 100.

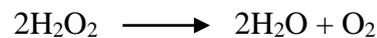


**Figure 21 :** Coloration de gram (**Original**)

## 2) Test de catalase

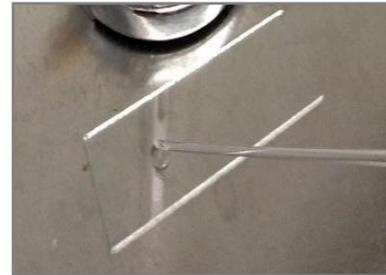
### a) Principe

La catalase est une enzyme ayant la propriété de décomposer le peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) avec dégagement d'oxygène selon la réaction suivante:



### b) Protocole

Sur une lame et à l'aide d'une pipette Pasteur, on dépose une colonie bactérienne à laquelle on ajoute de l'eau oxygénée (**Figure 22**). La présence d'une catalase est révélée par l'apparition immédiate de bulles de gaz qui correspondent à l'oxygène dégagé (**Tortora et al., 2003**).



**Figure 22 : Test de catalase. (Original)**

## 3) Test d'oxydase

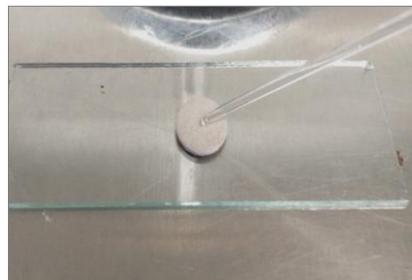
### a) Principe

L'oxydase est une enzyme qui catalyse la fixation d'hydrogène et des électrons sur une molécule d'oxygène (**Leveau et Bouix, 1991**).

- Bactérie oxydase + : s'il y'a apparition d'une couleur violet sur le disque.
- Bactérie oxydase - : si le si le disque reste incolore.

### b) Protocole

On dépose sur une lame en verre stérile un disque d'oxydase stérile et on rajoute au dessus une colonie bactérienne fraîchement cultivée avec une pipette Pasteur stérile. (**Figure 23**)



**Figure 23 : Test d'oxydase (Original)**

#### 4) Testes biochimiques

##### 4.1 Aspect sur milieu TSI

###### a) Principe

La gélose TSI (Triple Sugar Iron) permet la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose (avec ou sans production de gaz), du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène (H<sub>2</sub>S) (le culot : glucose, la pente : lactose/saccharose). (**Figure 24**)

- La fermentation du glucose : lorsque en anaérobiose la souche qui fermente le glucose, elle va former l'acides organiques qui acidifient

le milieu et entraînent le virage du culot du rouge au jaune causé par l'indicateur du pH (rouge de phénol).

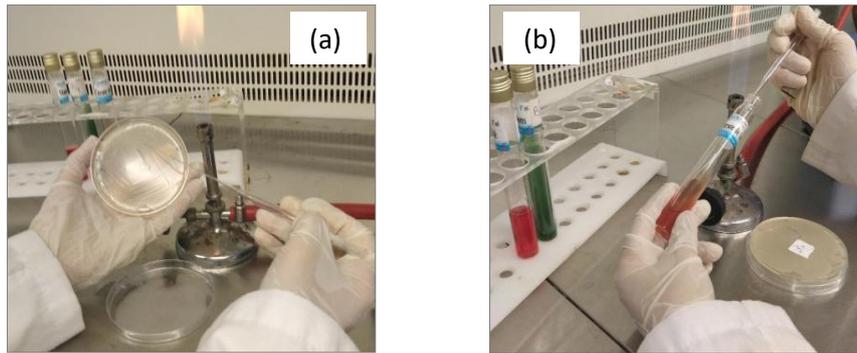


**Figure 24 :**  
Milieu TSI  
(Original)

- La fermentation du lactose et/ou saccharose (sur la pente) : Cette fermentation témoigne de la production d'une bêta-galactosidase qui hydrolyse le lactose en galactose et en glucose. Les souches qui ne produisent pas de bêta-galactosidase (lactose -) ne peuvent pas acidifier le milieu, donc la couleur de la pente reste rouge.
- Production de gaz (CO<sub>2</sub>) : Dans le processus fermentaire du glucose, la décarboxylation du pyruvate est à l'origine d'un dégagement de dioxyde de carbone (CO<sub>2</sub>) dont la pression dans le tube décolle la gélose ; la souche est ainsi dite gaz (+).
- Production d'Hydrogène sulfuré H<sub>2</sub>S : Elle est marquée par un dépôt noirâtre sur la gélose issue de sa combinaison avec les ions ferriques. L'absence de production de H<sub>2</sub>S ne provoque pas de coloration noire du milieu.

###### b) Protocole

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, on prélève une colonie bactérienne pure et jeune de 18h à 24h (**Figure 25.a**). On ensemence la surface de la pente par des stries, puis on effectue une pique centrale dans le culot (**Figure 25.b**), les tubes sont incubés à 37°C pendant 24h sans serrer les bouchons



**Figure 25 : Réalisation de test TSI. (Original)**

## 4.2 Citrate de Simmons

### a) Principe

Ce milieu ne contient qu'une seule source de carbone, le citrate de sodium et un indicateur du pH le bleu de bromothymol. Seules les bactéries possédant un citrate perméase seront capables de se développer sur ce milieu. ( **Figure 26** )

- Les bactéries qui utilisent le citrate comme seule source de carbone, vont alcaliniser le milieu (Citrate +). Cette réaction est indiquée par le changement de couleur (le vert vers le bleu) causé par l'indicateur de pH.
- Les bactéries qui n'utilisent pas le citrate comme seule source de Carbone sont dites : Citrate négatif (-), la couleur reste inchangée.



**Figure 26 :  
Milieu citrate  
(Original)**

### b) Protocole

On ensemence la pente du milieu à l'aide d'une pipette pasteur préalablement stérilisée à la flamme ( **Figure 27** ), à partir d'une colonie jeune isolée prélevée sur gélose nutritive ( **Figure 25.a** ). On Incube les tubes à  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  pendant 24 heures.



**Figure 27 : Ensemencement  
sur la pente (Original)**

## 4.3 Mannitol-Mobilité

### a) Principe

Le milieu Mannitol-Mobilité est utilisé pour l'identification des bactéries par la fermentation du mannitol et la mobilité de la bactérie. ( **Figure 28** )

- La fermentation du mannitol provoque un virage au jaune du milieu. Dans le cas contraire, il garde sa couleur initiale (Mannitol + / Mannitol).
- Les bactéries mobiles envahissent tout le milieu à partir de la piqûre centrale. Les bactéries immobiles cultivent uniquement le long de la strie d'ensemencement (Mobilité + / Mobilité -).



**Figure 28 : Milieu Mannitol-Mobilité (Original)**

### b) Protocole

On prélève une jeune colonie de 18h à 24h à partir d'une gélose nutritive (**Figure 25.a**), et on ensemence au moyen d'une pipette pasteur stérile par piqûre centrale jusqu'au fond du milieu (**Figure 29**), et on incube les tubes à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  pendant 24 h.



**Figure 29 : Ensemencement par piqûre centrale (Original)**

## II.3 Tests de pathogénicité des isolats bactériens vis-à-vis des insectes ravageurs

Après l'isolement et la purification des colonies bactériennes porteuses des caractères généraux de genre *Bacillus* et *Pseudomonas*, nous avons testé nos isolats sur 2 ravageurs des cultures : le puceron farineux *Hyalopterus pruni* et les larves de la teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella*, pour étudier leurs potentiels insecticides.

### II.3.1 Traitement sur le puceron farineux

Nous avons obtenu des pucerons farineux (**Figure 30.a**) de verger de pêcher situé au niveau de la station de l'université Saad Dahleb Blida-1- (**USDB-1**) (**Figure 30.b**)



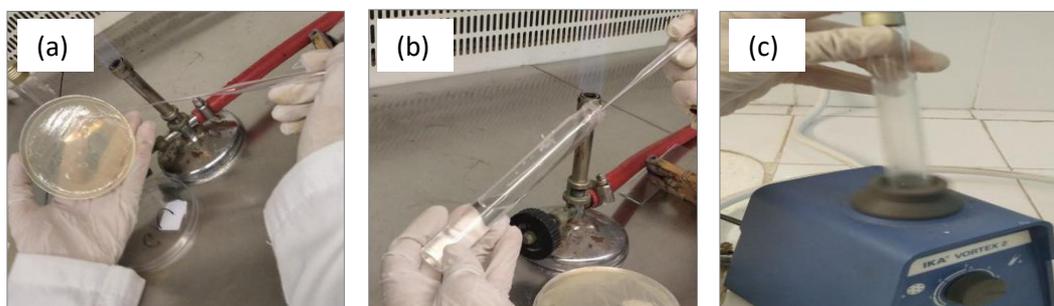
**Figure 30 ;** Verger du pêcher infesté par le puceron farineux.  
(Original)

#### II.3.1.1 Test de sélection avec des solutions de même concentration

Afin d'évaluer l'efficacité insecticide de nos isolats, et sélectionner les isolats qui ont un taux élevé et éliminer les autres qui n'ont pas un effet insecticide, nous avons réalisé des traitements par nos 26 isolats avec des solutions bactériennes de même concentration.

##### a) Préparation des suspensions bactériennes

- On racle une quantité suffisante de la crème bactérienne à partir d'une culture jeune de 18h à 24h à l'aide d'une pipette pasteur stérile (**Figure 31.a**), puis on la dissout dans 9 ml d'eau distillée stérile dans un tube à essai (**Figure 31.b**) et on l'agite par un dispositif vortex. (**Figure 31.c**)



**Figure 31 :** Préparation des suspensions bactériennes (Original)

- On calcule la concentration de chaque suspension en utilisant un spectrophotomètre (**Figure 32.a**) ; où on ajuste la turbidité de la solution pour qu'elle soit équivalente à celle d'un standard Mc Farland 0,5 et qui représente une densité de 0.08 à 0.1 (CLSI), c'est-à-dire qui correspond à la concentration de  $1 \times 10^6$  UFC/ml (**Bru et al., 2020**) et cela pour une longueur d'onde de 625 nm. (**Figure 32.b**)



**Figure 32 : Fixation de la turbidité par un Spectrophotomètre (Original)**

### b) Application des traitements

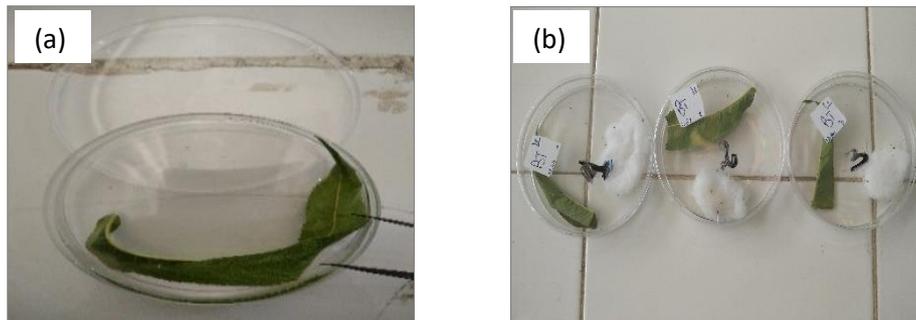
- On cueille des feuilles de pêcher non infectées, puis on les désinfecte avec l'eau de javel à 2° de chlorométrie pendant 2 minutes. puis on les rince trois fois avec de l'eau distillée stérile (**Figure 33**)



**Figure 33 : Désinfection des feuilles (Original)**

- Ensuite, on trempe les feuilles désinfectées dans la solution bactérienne de tous les côtés à l'aide de pinces stériles jusqu'à ce qu'ils soient bien trempés (**Figure 34.a**). Dans des boîtes de pétri stériles, on met les feuilles trempées avec 15 individus du puceron dans chaque boîte en raison de 3 répétition par isolat additionnées à un morceau du coton

mouillé par l'eau distillée stérile pour maintenir l'humidité et garder la vitalité des jeunes pousses ( **Figure 34.b**).



**Figure 34 : Réalisation de traitement (Original)**

- Quant aux témoins, on a trempé les feuilles par l'eau distillé stérile pour les témoins négatifs et les feuilles des témoins positifs étaient trempées dans une solution bactérienne d'une souche référencée de *Bacillus thuringiensis* (BM12) fournie par le laboratoire VALCORE, Université M' Hamed Bougara - Boumerdes (**Oulebsir-Mohandkaci, 2020**).

### II.3.1.2 Test avec des différentes concentrations

Les traitements ont été effectués après avoir sélectionné les isolats efficaces lors du premier test, afin de spécifier les différentes concentrations d'entomopathogénicité précise.

#### a) Préparation des suspensions bactériennes

A partir des solutions bactériennes de concentration  $1 \times 10^6$  UFC/ml qui sont déjà préparées dans le test de sélection, nous avons effectué des dilutions décimales ( $10^{-1}$ ) jusqu'à la concentration  $1 \times 10^3$  UFC/ml.

#### b) Application des traitements

- Les traitements ont été appliqués en suivant le protocole de test de sélection, des solutions concentrées susmentionné, avec 3 répétitions pour chaque concentration :

Concentration 01 :  $1 \times 10^6$  UFC/ml

Concentration 02 :  $1 \times 10^5$  UFC/ml

Concentration 03 :  $1 \times 10^4$  UFC/ml

Concentration 04 :  $1 \times 10^3$  UFC/ml.

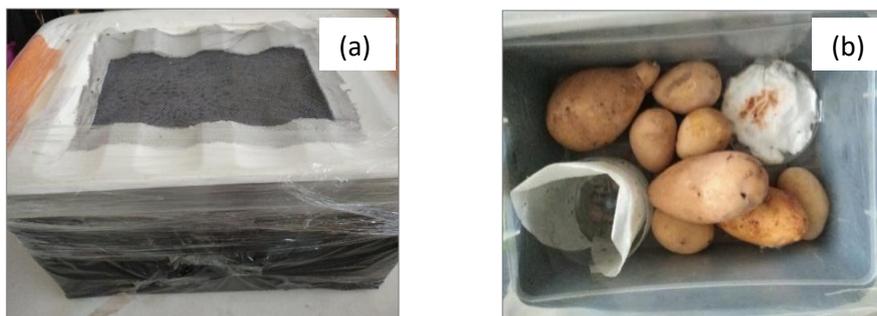
- Et les témoins négatif et positif ont été traités respectivement par l'eau distillée stérile et par des solutions bactériennes à base d'une souche référencée de *Bt*.

### II.3.2 Traitement sur la teigne de la pomme de terre

Afin de confirmer la perspective de mettre en évidence l'efficacité des isolats qui avaient un effet entomopathogènes contre les pucerons farineux, nous avons appliqué des traitements pour 7 isolats sur la teigne de la pomme de terre.

#### II.3.2.1 Elevage en masse de *Phthorimaea operculella*

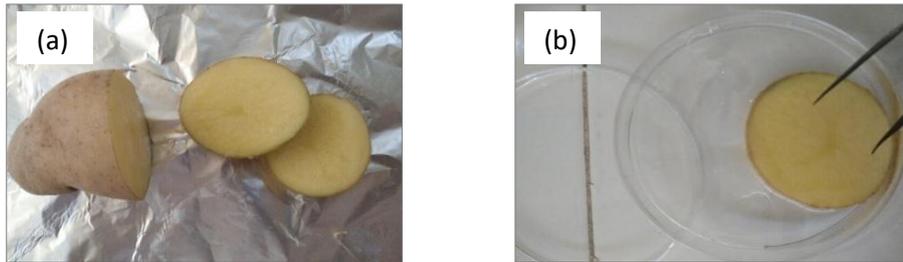
Des tubercules de pomme de terre infestés par *Phthorimaea operculella*, sont collectés du marché local (Blida). Ils sont placés, par la suite, dans des cages rectangulaires en plastique pourvues d'une ouverture supérieure qui est recouverte de tissu en tulle à mailles très fines (**Figure 35.a**) laquelle du carton est fourni comme milieu de nymphose pour permettre une récolte facile des chrysalides, additionné au coton humide. L'élevage est maintenu dans des conditions de stockage appropriées. Les adultes qui émergent ont reçu dans un abreuvoir une solution sucrée à 10%. (**Figure 35.b**)



**Figure 35** : Boîte d'élevage de masse de *Phthorimaea operculella* (Original)

### II.3.2.2 Application des traitements

- Tout d'abord, nous avons préparé des solutions bactériennes de même concentration isolats, comme expliqué précédemment.
- Après, on coupe des tranches de pommes de terre saines de 1 cm d'épaisseur (**Figure 36.a**), puis on les trempe dans les solutions bactériennes (**Figure 36.b**), et l'eau distillée stérile pour le témoin négatif.



**Figure 36** : Préparation et trempage des tranches de pomme de terre saines dans les solutions bactériennes (**Original**)

- Enfin, on cherche des larves de *Phthorimaea operculella* au niveau des galeries des tubercules de pomme de terre infestées (**Figure 37**). Quatre larves en raison de 3 répétitions pour chaque traitement sont ensuite mises dans une boîte Pétri contenant déjà un coton humidifié par de l'eau distillée stérile pour garder la vitalité des tranches et réduire leur dessèchement. (**Figure 38**)



**Figure 37** : Pomme de terre infestée par *Phthorimaea operculella* (**Original**)



**Figure 38** : Répétition de traitement (**original**)

- Les témoins négatifs sont traités par de l'eau distillée stérile. Concernant les traitements par le témoin positif, nous avons utilisé une souche de référence *Bt* (*Bacillus thuringiensis*) (BM12) fourni par le laboratoire VALCORE, Université M'hamed Bougara - Boumerdes (**Oulebsir-Mohandkaci, 2020**)

## II.4 Analyse statistique des mortalités sous l'effet des traitements bactériens

- La lecture des résultats de nombre d'individus morts a été effectuée après 24h, 48h et 72h pour toutes les répétitions des traitements (solutions concentrées et différentes concentrations), en plus du témoin négatif (l'eau distillée) et le témoin positif (*Bt*).
- Le pourcentage de mortalité observée chez les individus traités et témoins a été calculé par la formule suivante :

$$\text{Mortalité observée \%} = (\text{Nombre d'individu morts} / \text{Nombre total des individus}) * 100$$

- Les pourcentages de mortalité des individus tués par les isolats bactériens sont corrigés par la formule de Schneider Orelli's (1947) qui tient compte de la mortalité naturelle (témoin).

$$\text{MC\%} = (M - M_t / 100 - M_t) * 100$$

- Mc : le pourcentage de mortalité corrigé.
  - M : le pourcentage de morts dans la population traitée.
  - Mt : le pourcentage de morts dans la population témoin.
- Les pourcentages de mortalité corrigée sont transformés en probit et représentés en fonction des logarithmes décimale des doses pour permettre d'estimer les quatre concentrations létales CL10, CL25, CL50 et CL90, selon la méthode de Fisher et Yates (1971).
  - L'analyse statistique des données est réalisée à l'aide du test (ANOVA), les facteurs étudiés sont : temps, isolats, concentration (Habout et al., 2011 )

## **CHAPITRE III**

# **RÉSULTATS ET DISCUSSIONS**

### III.1 Isolement et purification des isolats bactériens à partir du sol

L'isolement que nous avons effectué à partir du sol, nous a permis d'obtenir environ 80 isolats bactériens, dont 21 appartiennent au genre *Bacillus* et 5 appartiennent au genre *Pseudomonas*.

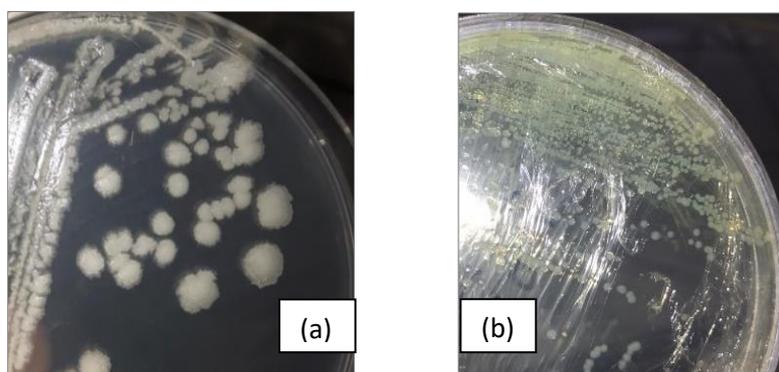
**Jayamohan et al (2018)** annoncent que les *Pseudomonas fluorescens* sont des bactéries rhizosphériques majeures, et dans certains cas d'après **Digat (1994)**, elles représentent plus de 60% de la microflore bactérienne totale du sol. Aussi, la majorité des bactéries du genre *Bacillus* vivent dans le sol où elles persistent grâce à leurs spores (**Brossard et Terry ,1984**).

### III.2. Identification des isolats bactériens

#### III.2.1 Identification macroscopique

L'identification macroscopique nous a permis d'observer différentes colonies bactériennes, où nous nous sommes intéressés seulement aux caractéristiques générales de chaque genre désiré :

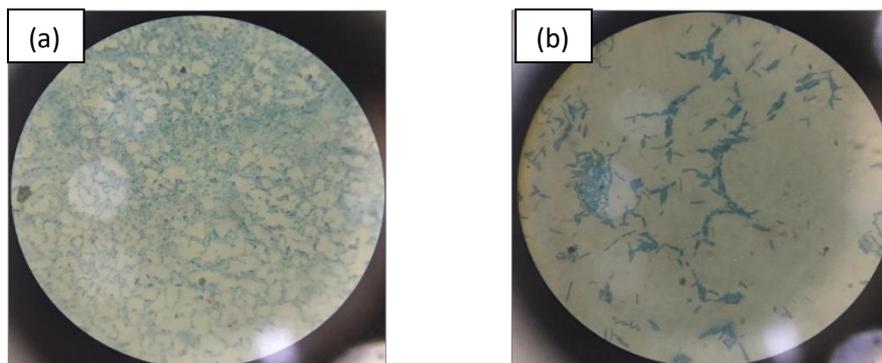
- Colonies appartenant au genre *Bacillus*, où elles apparaissent sous forme de grandes colonies de 2 à 4 mm, de couleur beige crème et un contour irrégulier (**Lon et al.,2017**) (**Figure 39.a**)
- Colonies appartenant au genre *Pseudomonas fluorescens* caractérisées par un contour régulier, opaques et rondes et la présence de pigment fluorescent (**Ravishankar et al.,2015**).( **Figure 39.b**)



**Figure 39** : Colonies pures de *Bacillus* sur milieu GN (a) et Colonies pures de *Pseudomonas fluorescens* sur milieu king B (b) (**Original**)

### III.2.2 Identification microscopique (Coloration au bleu de méthylène)

Après la coloration simple au bleu de méthylène, nous avons réalisé une étude microscopique qui a mis en évidence : des bactéries sous forme des bâtonnets avec 5 $\mu$ m de long qui appartiennent au genre *Bacillus* (Guiraud, 1998) et d'autres formes de bacilles droits et fins qui ont une taille de 0.5 à 1.3 $\mu$ m de long et appartenant au genre *Pseudomonas* (Naik et al., 2013)

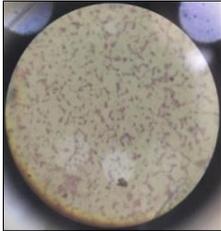


**Figure 40** : Coloration au bleu de méthylène pour les *Pseudomonas* (a), et coloration au bleu de méthylène pour les *Bacillus* (b), au microscope optique x 100 (Original)

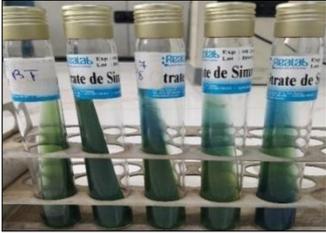
### III.2.3 Testes d'orientation

Afin de distinguer les isolats du genre *Bacillus* et *Pseudomonas*, nous avons effectué des tests d'orientation, dont les résultats sont consignés dans le tableau suivant (Tableau 1) :

**Tableau 1** : Résultats des tests d'orientation des isolats bactériens obtenus.

Test	Résultats
<ul style="list-style-type: none"> <li>Coloration de gram</li> </ul>	<p>*Gram + : couleur violet    *Gram - : couleur rose</p> <div style="display: flex; justify-content: space-around; align-items: center;">   </div>

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Test de catalase</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Catalase + : apparition de bulles, dégagement gazeux de dioxygène</li> <li>• Catalase - : Aucune bulle gazeuse n'apparaissant</li> </ul> 
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Test de l'oxydase</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Oxydase + : couleur violacé dans le disque qui indique la fixation d'oxygène</li> <li>• Oxydase - : absence de coloration</li> </ul> 
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aspect sur milieu TSI</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• La fermentation des glucides est révélée par le virage de la couleur du milieu vers le jaune (alcalisation du milieu) :             <ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Culot jaune indique que la bactérie fermente le glucose (glucose +)</li> <li>▪ Pente jaune : indique que la bactérie fermente le saccharose et lactose (saccharose+/lactose +)</li> </ul> </li> <li>• Noircissement du culot indique la production de H<sub>2</sub>S (H<sub>2</sub>S +)</li> <li>• Le découlement de la gélose indique la production de Gaz (Gaz +)</li> </ul> 

<ul style="list-style-type: none"> <li>• Citrate de Simmons</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Citrate + : développement de la bactérie et le changement de la couleur du vert au bleu indique l'utilisation du citrate comme seule source de carbone par la bactérie.</li> </ul> 
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mannitol-Mobilité</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Mannitol + : le virage de la couleur au jaune indique la fermentation du mannitol.</li> <li>• Mannitol- : le milieu garde sa couleur initiale</li> <li>• Mobilité + : diffusion des bacilles à partir de la ligne de piquer centrale en créant un trouble du milieu.</li> <li>• Mobilité - : Les bacilles immobiles cultivent uniquement au niveau de strie d'ensemencement (la pique)</li> </ul> 

D'après l'identification par les tests d'orientations :

- L'isolat bactérien possède les caractères biochimiques suivantes : (Gram +, Oxydase +/-, Catalase +, Citrate +, Glucose +, Saccharose -, Lactose-, H<sub>2</sub>S -, Gaz -), d'après **Gonzalez et al (2018)** ces isolats appartiennent au genre *Bacillus*.
- L'isolat bactérien possède les caractères biochimiques suivantes : (Gram -, Oxydase +, Catalase +, Citrate +, Glucose +, Saccharose -, Lactose -, H<sub>2</sub>S - ; Gaz -), selon **Suman et al (2015)**, ces isolats appartiennent au genre *Pseudomonas*.

### III.3 Effet de Tests de pathogénicité des isolats bactériens vis-à-vis des insectes ravageurs

#### III.3.1 Effet des isolats bactériens étudiés sur le puceron farineux

Ce que nous avons le plus remarqué sur l'effet des traitements sur les pucerons, c'est le noircissement du corps ainsi qu'un retournement dorsal, **Rodriguez et al. (2018)**. Sont également observés, des aspects similaires lors du traitement d'une population de pucerons par *Bacillus sp* (**Figure 41**)

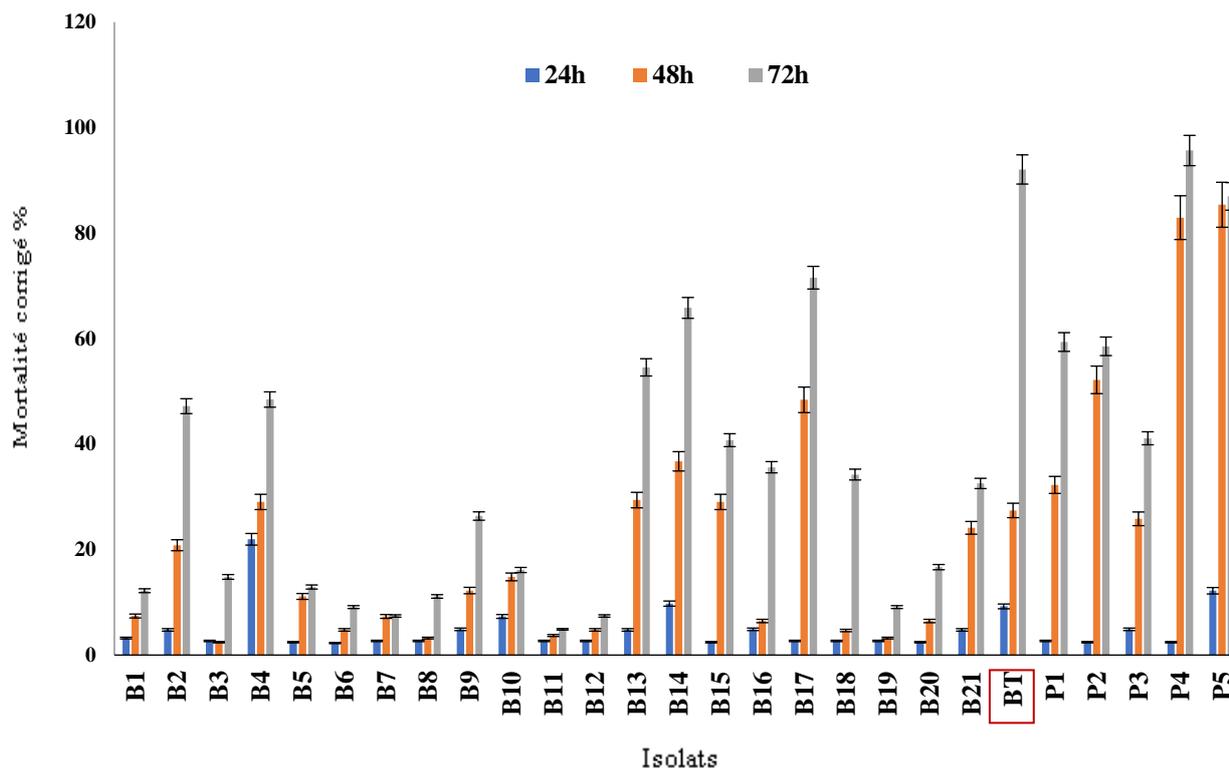


**Figure 41** : Aspect d'un individu de *Hyalopterus pruni* mort (**Original**)

##### III.3.1.1 Effet de test de sélection avec des solutions de même concentration

Nous avons testé des suspensions bactériennes contenant 26 isolats (21 du genre *Bacillus* et 5 du genre *Pseudomonas*) sur des individus adultes aptères d'*Hyalopterus pruini*. Les essais ont été réalisés à une même concentration ( $1 \times 10^6$  UFC/ml) dans un but de sélectionner les isolats bactériens à base de leurs pouvoirs insecticides. Le comptage de la mortalité a été fait quotidiennement pendant 24h, 48h, 72h.

Les mortalités enregistrées suite au traitement ont permis d'effectuer une analyse de variance (**ANOVA**) à deux facteurs (isolat, temps). Le test **ANOVA** fait référence à la probabilité de corrélation (p-value), qui on peut accepter des hypothèses alternatives par rapport au seuil de risque alpha. Sur la base des sommes de carrés de type III, les variables explicatives temps d'exposition au traitement bactérien, isolat bactérien apporte de l'information significative pour expliquer la variabilité de la variable dépendante mortalité corrigée ( $F=2,816$  ;  $p < 0.001$ ). Les comparaisons multiples par paires permettent d'identifier les modèles Plus précisément, à travers le test post hoc **Tukey**.



**Figure 42 :** Mortalités corrigées moyenne % du puceron farineux en fonction du temps et isolat

On remarque que la mortalité évolue avec le temps et la plus importante est à 72h. L'isolat *Bt*, *P4*, *P5* ont le taux de mortalité supérieur à 80%. Les isolats de genre *Bacillus* : *B13*, *B14*, *B17*, *B2*, *B4* et les isolats de *Pseudomonas* *P1*, *P2*, ont eu des effets d'environ 45 % et 70 % sur la mortalité. La mortalité moyenne des isolats restants était d'environ 7 % à 40 %, en particulier les autres isolats de *Pseudomonas* *P3*. Vraisemblablement, ces résultats mettent en évidence un effet entomopathogène des isolats bactériens.

L'analyse de comparaison des moyennes (test de Tukey) a révélé la présence de trois groupes homogènes qui ont été répartis et classés comme suit :

- Le groupe A : Avec une moyenne de mortalité de 61 %, il regroupe les trois isolats *P4*, *P5* dont les mortalités sont les plus élevées (supérieure à 80%)
- Le groupe B : Avec un intervalle de [20,457% ; 42,901%], le groupe comprend des moyennes de mortalité différentes et regroupe les isolats : *Bt*, *B17*, *B13*, *P2*, *B14*, *B4*, *P1*, *B15*, *B2*, *B21*.
- Le groupe C : Avec un intervalle de [3,752% ; 15,645%], ce groupe comporte trois isolats *B1*, *B3*, *B5*, *B6*, *B7*, *B8*, *B9*, *B10*, *B11*, *B12*, *B16*, *B18*, *B19*, *B20*

### III.3.1.2 Effet de test avec des différentes concentrations

Nous avons testé 09 isolats sélectionnés de test avec des solutions concentrées, dont 5 isolats appartiennent au genre *Bacillus* plus la souche référencé *Bt*, et 4 isolats appartiennent au genre *Pseudomonas*, et cela dans le but de confirmer leur efficacité et de spécifier les concentrations d'entomopathogénicité précise.

Le taux de mortalité corrigé de pucerons farineux après traitement avec des suspensions bactériennes aux concentrations suivantes : C1 :  $10^6$  ufc/ml, C2 :  $10^5$  ufc/ml, C3 :  $10^4$  ufc/ml et C4 :  $10^3$  ufc/ml, ont été calculés après 24h, 48h et 72h de l'application du traitement.

Les résultats ont été soumis à un test de l'analyse de la variance ANOVA à 3 facteurs (temps, isolat, concentration) (Tableau 2 et 3)

**Tableau 2 :** Analyse de la variabilité des mortalités chez le puceron farineux *Hyalopterus pruini*

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	119	233403,912	1961,377	6,055	<0,0001
Erreur	198	64135,864	323,919	/	/
Total corrigé	317	297539,775	/	/	/

❖ La variance sur la mortalité corrigée (%) est très hautement significative. (Tableau 1)

**Tableau 3 :** Résultats de l'ANOVA à 3 facteurs (isolat, concentration, temps) avec les interactions pour le puceron farineux *Hyalopterus pruini*

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Temps	2,000	82230,865	41115,432	126,931	<0,0001
Isolat	9,000	42368,401	4707,600	14,533	<0,0001
Concentration	3,000	13641,280	4547,093	14,038	<0,0001
Temps*Isolat	18,000	19835,174	1101,954	3,402	<0,0001
Temps*Concentration	6,000	6758,531	1126,422	3,477	0,003
Isolat*Concentration	27,000	22037,518	816,204	2,520	0,000
temps*isolat*Con	54,000	23349,651	432,401	1,335	0,080

Sur la base de sommes de carrés de type III, les variables explicatives fournissent le temps d'exposition au traitement bactérien, isolat bactérien, et les concentrations testées. Leurs interactions apportent de l'information significative pour expliquer la variabilité de la variable dépendante mortalité corrigée (%), à l'exception de l'interaction temps\*isolat\*Con dont la p value a indiqué une différence non significative associée à une valeur de 8% (Tableau 3).

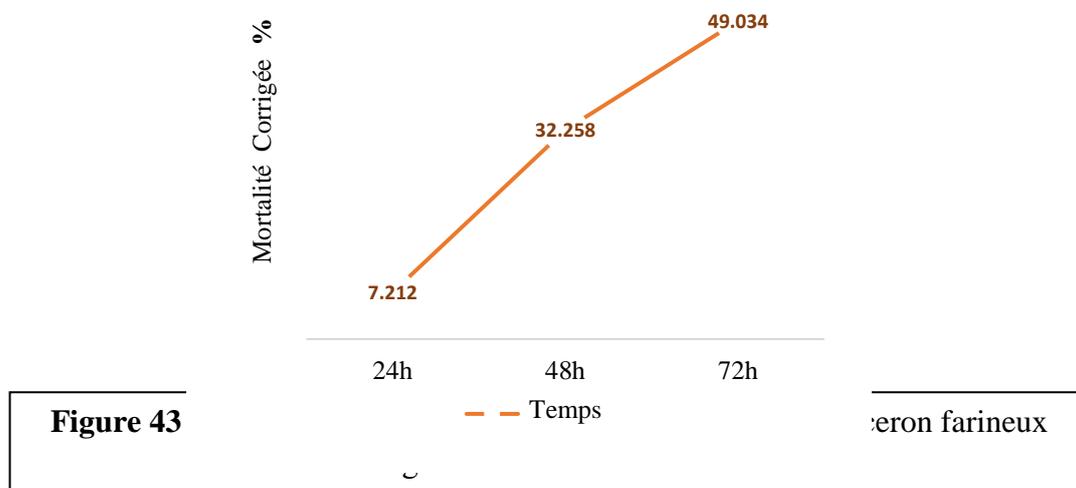
Parmi les variables explicatives, sur la base des erreurs de type III, la variable temps est la plus influente.

### 1) Effet du facteur temps

L'analyse de la variance a montré qu'il existe une différence très hautement significative due à l'effet temps sur la mortalité corrigée (%) (**Tableau 3**). Les résultats des moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet des traitements bactériens à 24h, 48h et 72h (**Tableau 4**) sont mentionnés au niveau de la figure 43 (**Figure.43**)

**Tableau 4** : Moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet des traitements bactériens à 24h, 48h et 72h.

Modalité	24h	48h	72h
Moyenne estimées	7,212±1.90	32,258±1.80	49,034±1.82



À travers la courbe de **Figure 43**, on constate que la moyenne de mortalité corrigée (%) évolue en fonction du temps et l'effet toxique du traitement apparaît significativement après 72 heures par une augmentation du taux de mortalité à près de 50%. Ceci indique que le facteur temps a un rôle influent sur l'émergence de l'effet entomopathogènes de ces isolats.

La synthèse des comparaisons multiples par paires pour l'effet du facteur temps selon le test de **Tukey (HSD)**, fait apparaître 3 groupes homogènes (**Tableau 5**).

**Tableau 5** : Synthèse des comparaisons multiples par paires pour le facteur temps chez le puceron farineux

Temps	72h	48h	24h
MC	49,034 <b>a</b>	32,258 <b>b</b>	7,212 <b>c</b>

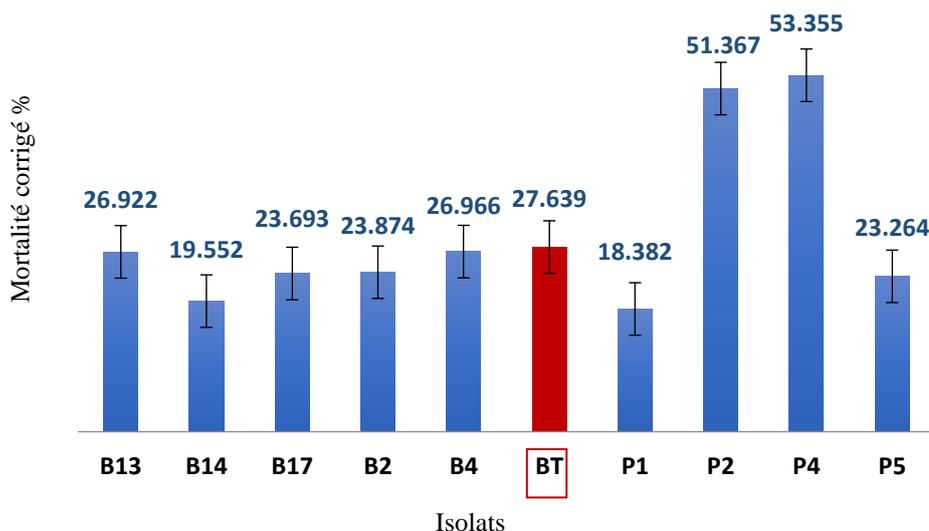
Les groupes **A** et **B**, qui comprennent un taux de mortalité élevé au bout de 72h et 48h après l'application du traitement, sont significativement différents du groupe **C** qui comprend un faible taux de mortalité au bout de 24h.

## 2) Effet du facteur isolat

L'analyse de la variance a montré qu'il existe une différence très hautement significative de l'effet de facteur isolat sur la mortalité corrigée % ( **Tableau 3**). Les résultats des moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet de facteur isolat ( **Tableau 6**) ont été traduits en histogramme ( **Figure 44**).

**Tableau 6** : Moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet du facteur isolat.

Modalité	B13	B14	B17	B2	B4	BT	P1	P2	P4	P5
Moyennes estimées	26,922± 3.77	19,552± 3.57	23,693± 3.29	23,874± 3.35	26,966± 3.18	27,639± 3.46	18,382± 3.12	51,367± 3.40	53,355± 3.12	23,264± 3.29



**Figure 44 :** Mortalités corrigées moyennes % du puceron farineux sous l'effet de chaque isolat bactérien testé.

On remarque que les isolats **B4** et **B13** qui appartiennent au genre *Bacillus*, ont un effet convergent avec l'isolat référencé **Bt**, où la mortalité corrigée (%) n'a pas dépassé 28%.

Par contre, on remarque un effet élevé de plus de 50% de mortalité corrigée (%) pour les isolats **P2** et **P4** qui appartiennent au genre *Pseudomonas*.

La synthèse des comparaisons multiples par paires pour l'effet du facteur isolat selon le test de **Tukey (HSD)** fait apparaître 2 groupes homogènes (**Tableau 7**).

**Tableau 7 :** Synthèse des comparaisons multiples par paires pour le facteur isolat chez le puceron farineux

Isolats	P4	P2	BT	B4	B13	B2	B17	P5	B14	P1
MC	53,355 <b>a</b>	51,367 <b>a</b>	27,639 <b>b</b>	26,966 <b>b</b>	26,922 <b>b</b>	23,8744 <b>b</b>	23,693 <b>b</b>	23,264 <b>b</b>	19,552 <b>b</b>	18,382 <b>b</b>

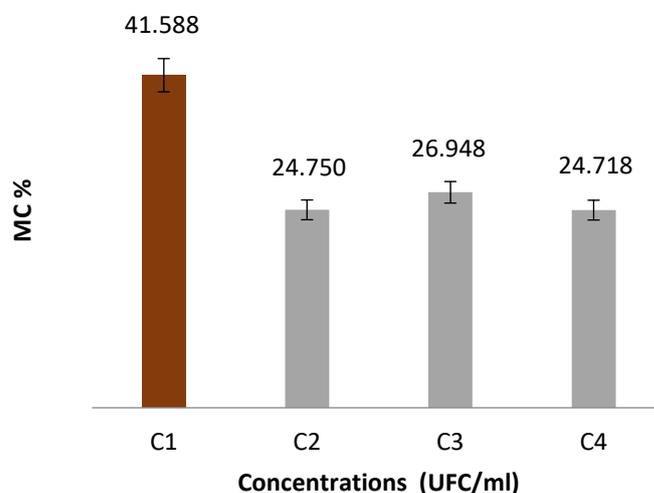
Le groupe **A** qui comprend les isolats **P4** et **P2** du genre *Pseudomonas* avec MC % supérieur à 50%, est significativement différent du groupe **B**, qui comprend le reste des isolats du genre *Bacillus*, où MC% varie entre 18% et 28%, ce qui montre que ces isolats de genre *Pseudomonas* ont un effet entomopathogènes plus élevé que le genre *Bacillus*.

## 2) Effet de facteur concentration

L'analyse de la variance a montré qu'il existe une différence très hautement significative de l'effet de concentration sur la mortalité corrigée % (**Tableau 3**). Les résultats des moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet de facteur concentration (**Tableau 8**) sont mentionnés au niveau de la figure 03 (**Figure 45**)

**Tableau 8** : Moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet du facteur concentration.

Modalité	C1	C2	C3	C4
Moyenne estimées	41,588	24,750	26,948	24,718
	±	±	±	±
	2.17	2.16	1.99	2.17



**Figure 45** : Mortalités corrigées moyennes % du puceron farineux sous l'effet de facteur concentration

On constate que le taux des mortalités évolue en fonction de la dilution des concentrations, la plus forte concentration **C1** occasionne 41,5 % de mortalité alors que la plus faible concentration **C4** occasionne 24,7 % de mortalité.

On remarque également que la concentration **C3** a un effet fort par rapport aux concentrations **C2** et **C4** qui ont un effet similaire, ce qui montre que l'effet entomopathogènes des isolats change en fonction de la densité des bactéries dans les suspensions utilisées pour le traitement.

La synthèse des comparaisons multiples par paires pour l'effet du temps selon le test de **Tukey (HSD)**, fait apparaitre 2 groupes homogènes (**Tableau 8**)

**Tableau 9 :** Synthèse des comparaisons multiples par paires pour le facteur concentration chez le puceron farineux

concentration	C1	C3	C2	C4
MC	41,588 <b>a</b>	26,948 <b>b</b>	24,750 <b>b</b>	24,718 <b>b</b>

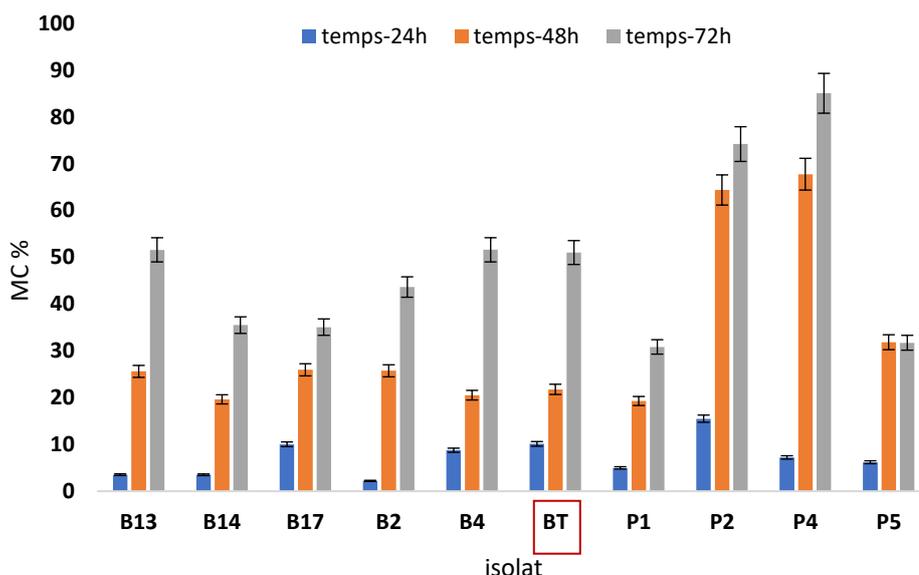
Le groupe **A**, qui comprend un taux de mortalité élevé (41%) pendant le traitement avec la concentration **C1**, est significativement différent du groupe **B**, qui comprend le reste des concentrations, où le taux de mortalité était faible et ne dépassait pas 27%. Ce qui montre que la concentration **C1** a été très efficace dans l'émergence de l'effet entomopathogène des isolats bactériens.

### 3) Effet de l'interaction temps\*isolat

L'analyse de la variance a montré qu'il existe une différence très hautement significative de l'effet de l'interaction temps\*isolat sur la mortalité corrigée % (**Tableau 3**). Les résultats des moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet de l'interaction Temps\*isolat (**Tableau 10**), sont transformés en un histogramme (**Figure 46**).

**Tableau 10 :** Moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet de l'interaction temps\*isolat

Isolat / temps	B13	B14	B17	B2	B4	BT	P1	P2	P4	P5
24h	3,553± 5,19	3,512 ± 6,62	10,039 ± 6,62	2,222 ± 6,36	8,761 ± 5,19	10,119 ± 7,11	4,992 ± 5,51	15,502 ± 6,62	7,222 ± 5,19	6,197 ± 5,19
48h	25,610 ± 7,57	19,638 ± 5,51	25,957 ± 5,19	25,744 ± 5,80	20,530 ± 5,80	21,777 ± 5,51	19,298 ± 5,19	64,392 ± 5,19	67,774 ± 5,51	31,857 ± 5,19
72h	51,602 ± 6,62	35,505 ± 6,36	35,083 ± 5,19	43,654 ± 5,19	51,607 ± 5,51	51,021 ± 5,19	30,856 ± 5,51	74,206 ± 5,80	85,069 ± 5,51	31,738 ± 6,62



**Fig.46 :** Variation des mortalités corrigées estimées % du puceron farineux sous l'effet de l'interaction temps\*isolats

Les résultats obtenus après traitement, ont montré un effet insecticide qui donne un taux de mortalité sensiblement différent en fonction du temps et isolats. Tous les isolats ont eu un faible effet après 24h qui augmente avec le temps, où on remarque que les taux de mortalité élevés étaient après 72 h.

Les isolats **P2** et **P4** de genre *Pseudomonas* ont un taux de mortalité de plus de 60% après 48h de l'application de traitement. Ce taux a continué d'augmenter au bout de 72h, où il a dépassé 70 % pour l'isolat **P2** et 80 % pour l'isolat **P4**. Par rapport au genre *Bacillus*, les isolats **B4** et **B13** ont eu un effet convergent avec l'isolat référencé **Bt**, où le taux de mortalité dépasse 50 % après 72 h de traitement.

La synthèse des comparaisons multiples par paires pour l'effet de l'interaction temps\*isolat selon le test de **Tukey (HSD)**, fait apparaître 11 groupes homogènes dont les groupes **A**, **AB**, **ABC**, **ABCD**, **BCDE** et **CDEF** où la mortalité qui varie de 85% à 43% est significativement différente des groupes **DEFG**, **EFGH**, **FGH**, **GH** et **H** où la mortalité variait de 35% à 2%.

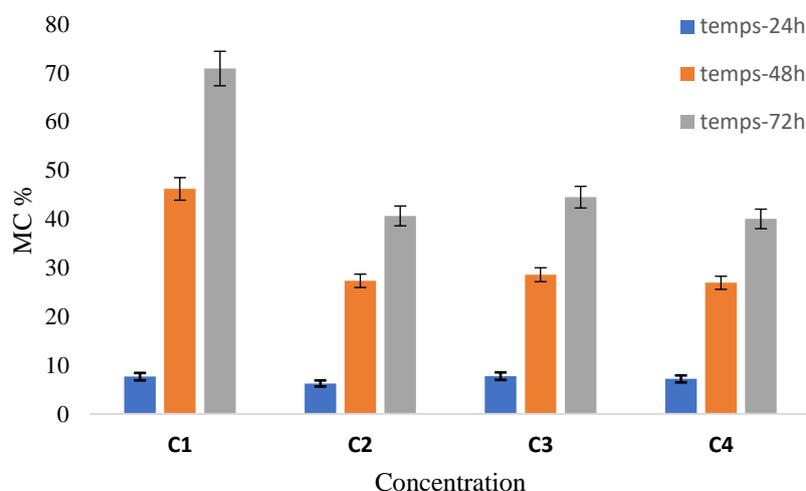
#### 4) Effet de l'interaction temps\*concentration

L'analyse de la variance a montré qu'il existe une différence très hautement significative de l'effet de l'interaction temps\*concentration sur la mortalité corrigée % (**Tableau 3**). Les résultats des moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron

farineux sous l'effet de l'interaction temps\*Concentration (**Tableau 12**) sont mentionnés au niveau de la figure 05 (**Figure 47**)

**Tableau 11** : Moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet de l'interaction temps\*concentration

temps\Con	C1	C2	C3	C4
24h	7,646±4,04	6,256±3,44	7,754±3,44	7,192±3,81
48h	46,199±3,44	27,330±3,67	28,584±3,36	26,918±3,88
72h	70,920±3,36	40,664±4,09	44,508±3,52	40,046±3,60



**Figure 47** : Variation des mortalités corrigées estimées % du puceron farineux sous l'effet de l'interaction temps\*concentration des isolats bactériens testés

À travers le graphe (**Figure 47**), on constate que les concentrations des traitements provoquent des mortalités différentes et évoluent en fonction du temps. Toutes les concentrations ont un effet similaire au bout de 24h, et un taux de mortalité élevé au bout de 72h.

La concentration **C1** a le taux de mortalité le plus élevé au bout de 48h et 72h par rapport au reste des concentrations **C2 C3** et **C4** qui ont un effet convergent durant toute la période de traitement.

La synthèse des comparaisons multiples par paires pour l'effet de l'interaction temps\*concentration selon le test de **Tukey (HSD)**, fait apparaître 7 groupes homogènes où le groupe **A** qui comprend le taux de mortalité la plus élevée (70%) après 72h de traitement avec la concentration **C1** est significativement différents des groupes **B,BC, BCD** où le taux

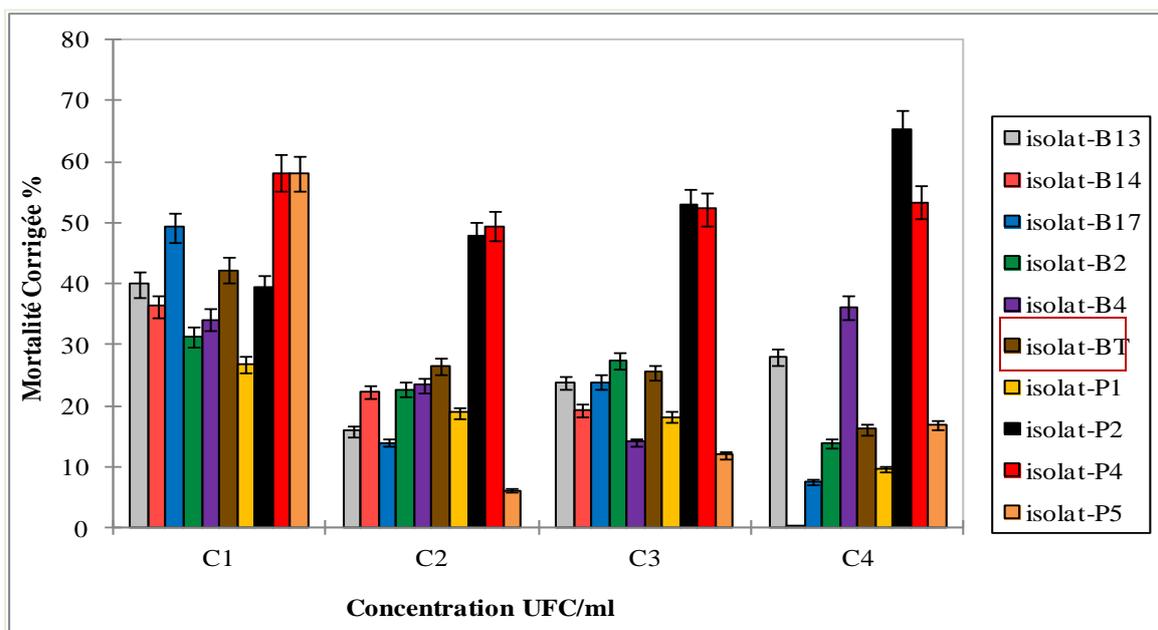
de mortalité varie entre 40% et 46% , et les groupes **CD** et **D** où le taux de mortalité variait de 26% à 28% (26 28) , et sensiblement différent du groupe **E**,qui comprend les plus faibles taux de mortalité 6 à 7 %

**5) Effet de l'interaction isolat \* concentration**

L'analyse de la variance a montré qu'il existe une différence très hautement significative de l'effet de l'interaction isolat \* concentration sur la mortalité corrigée % (**Tableau 2**). Les résultats des moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet de l'interaction isolat\*concentration (**Tableau 12**) sont repris en histogramme (**Figure 48**).

**Tableau 12 :** Moyennes estimées et l'écart types de la mortalité corrigée (%) du puceron farineux sous l'effet de l'interaction isolat\*concentration

Isolat/ Con	B13	B14	B17	B2	B4	BT	P1	P2	P4	P5
C1	39,952 ± 6,92	36,390 ± 7,74	49,288 ± 7,74	31,336 ± 8,12	34,150 ± 5,99	42,254 ± 7,74	26,789 ± 5,99	39,479 ± 5,99	58,241 ± 5,99	58,006 ± 5,99
C2	15,881 ± 9,16	22,339 ± 5,99	14,025 ± 5,99	22,721 ± 5,99	23,487 ± 6,48	26,636 ± 6,48	18,901 ± 6,48	47,849 ± 6,92	49,522 ± 6,48	6,138± 7,74
C3	23,821 ± 5,99	19,295 ± 5,99	23,892 ± 5,99	27,462 ± 6,48	14,074 ± 6,92	25,502 ± 6,48	18,186 ± 6,48	52,965 ± 6,48	52,261 ± 5,99	12,025 ± 6,48
C4	28,032 ± 7,74	0,183± 8,48	7,566 ± 6,48	13,975 ± 5,99	36,152 ± 599	16,164 ± 6,92	9,654 ± 5,99	65,174 ± 7,74	53,397 ± 6,48	16,886 ± 5,99



**Figure 48 :** Variation des mortalités corrigées estimées du puceron farineux sous l'effet de l'interaction isolats\*concentration

On observe que l'effet entomopathogènes des isolats sensiblement différents en fonction de la concentration, tous les isolats ont un effet élevé dans le traitement avec la concentration C1 par rapport au reste des concentrations sauf l'isolat **P2** qui avait un taux de mortalité plus élevé dans le traitement avec la concentration **C4** où la mortalité corrigé (%) dépasse 65 %

Les isolats **B17** et **B13** de genre *Bacillus* ont un effet convergent avec l'isolat référencé **Bt** dans le traitement avec la concentration **C1**, où la mortalité corrigée (%) ne dépasse pas les 50%. Par contre, les isolats **P5** et **P4** de genre *Pseudomonas* ont une mortalité corrigée (%) qui dépasse 58%. Quant à l'isolat **P4**, il a un effet élevé qui dépasse 49% dans toutes les concentrations.

La synthèse des comparaisons multiples par paires pour l'effet de l'interaction temps\*isolat selon le test de **Tukey** (HSD), fait apparaitre 17 groupes homogènes dont les groupes **A**, **AB**, **ABC** et **ABCD** où la mortalité corrigée dépasse 52 %. Ils sont significativement différents du reste des groupes où la mortalité corrigée était inférieur à 50%

#### 6) Les concentrations létales

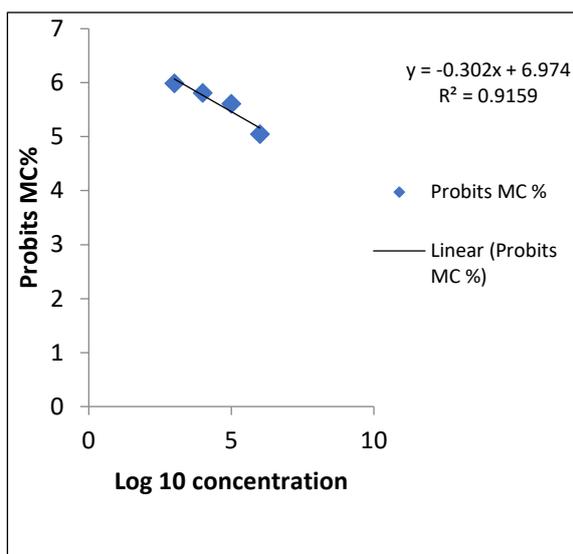
Nous avons calculé les concentrations létales pour les 2 isolats **P2** et **P4** qui ont un effet entomopathogène plus élevé par rapport à l'autre isolat.

Les pourcentages de mortalité corrigée de ces isolats au bout de 72h (le temps le plus influent) sont transformés en probits selon le tableau de probits. Ces probits sont représentés graphiquement en fonction du logarithme népérien afin d'évaluer les concentrations létales (**CL 10**, **CL 25**, **CL 50**, **CL 90**). Ces concentration sont déterminées à partir de l'équation de la droite de régression obtenue en utilisant le logiciel Excel ;  $Y = ax + b$

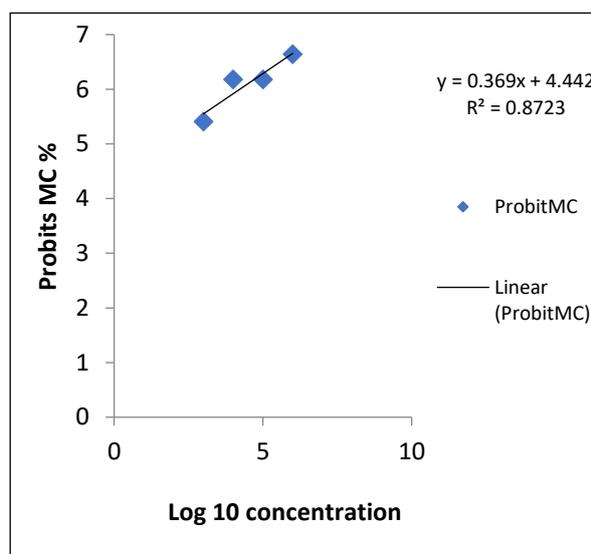
Y : étant le probit de la valeur de la mortalité corrigée.

X : le logarithme décimal de la concentration, et a la pente de l'équation de la droite de régression.

- On déterminera les probits de 10 % ( $y = 3,72$ ), 25% ( $y = 4,33$ ), 50% ( $y = 5$ ), 90% ( $y = 6.28$ )



**Figure 49 :** Droites de régression linaires log-probit de mortalité corrigée % enregistrées suite aux traitements à l'isolat **P2**



**Figure 50 :** Droites de régression linaires log-probit de mortalité corrigée % enregistrées suite aux traitements à l'isolat **P4**.

**Tableau 13 :** Valeurs des concentrations létales 10%, 25% ,50% et 90 % des deux isolats bactériens (**P2, P4**).

CL (ufc/ml) / isolat	CL 10	CL 25	CL 50	CL 90
Isolat P2	5,888 E10	5,62E+08	3388442	194,9845
Isolat P4	0,0112	0,497	32,3593	95499,25

On observe que les concentrations létales **10**, **25** et **50** pour l'isolât **P2** sont supérieures à l'isolât **P4**. Pour la concentration létale **90**, on remarque le contraire. Elle était élevée dans l'isolât **P4** par rapport à l'isolât **P2**. On note également que les 4 concentrations létales de l'isolat **P2** diminuent avec l'augmentation de la proportion d'individus à tuer, et donc l'effet pathogène de cet isolat est d'autant plus fort que la concentration est faible.

L'isolat **P4** pourrait être testé à la **CL50** de 32,36 ufc/ml pour confirmer l'effet élevé de pathogénicité de cet isolat bactérien sur le puceron farineux et sur d'autres espèces d'*Hemiptera*, et, également, testé à la **CL 10** de 0.012 ufc/ml pour perturber la croissance, la fécondité et d'autres fonctions vitales y compris le métabolisme d'insecte (**Allal-Benfekih, 2006**).

### III.3.2 Effet des isolats bactériens étudiés sur la teigne de la pomme de terre

#### III.3.2.1 Effet de test avec des solutions de même concentration

Le traitement des larves a été réalisé par des suspensions bactériennes en utilisant une même concentration ( $1 \times 10^6$  UFC/ml). Les larves ont été traitées par 07 isolats qui ont été efficaces sur le puceron. Il s'agit des isolats codés **B14**, **B13**, **B17**, **A2**, **S1** du genre *Bacillus* plus la souche référencé **Bt** et l'isolat **P4**, **P5** du genre *Pseudomonas*. Nous avons observé les chenilles sous divers traitements bactériens sur une période de 3 jours. Le premier effet que nous avons remarqué était le mouvement lent des larves, puis elles étaient complètement immobiles et la couleur a changé du blanc au clair avec un tube digestif brun distinct (**Figure 51**), probablement dû à une action bactérienne au niveau de l'épithélium intestinal comme l'on montré.

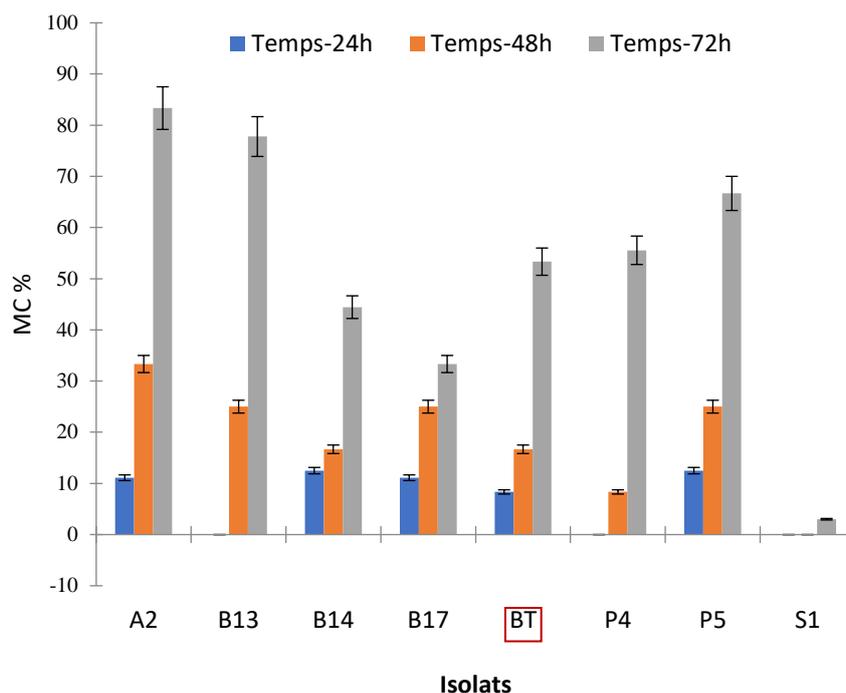


**Figure 51** : Aspect d'une larve de *Phthorimaea operculella* morte (**Original**)

La mortalité des larves dans les essais biologiques est analysée selon un test **ANOVA** (**Figure 52**). Les résultats sont soumis à une analyse de la variance à 2 facteurs (temps, isolat). Les valeurs de  $p \leq 0,05$  sont considérées statistiquement significatives (**Tableau 14**). Nous avons appliqué, en outre, le test de **Tuckey** ou test de la différence franchement significative qui permet de vérifier la significativité de la variable d'intérêt. Le logiciel utilisé est le **XLSTAT 2022**.

**Tableau 14** : Analyse de la variance des mortalités chez la teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella* au traitement à une même concentration ( $1 \times 10^6$  UFC/ml)

Source	DDL	Somme des carrés	Moyenne des carrés	F	Pr > F
Modèle	23	35613,260	1548,403	2,565	<b>0,005</b>
Erreur	38	22939,815	603,679	/	/
Total corrigé	61	58553,075	/	/	/



**Figure 52 :** Moyennes des taux de mortalité corrigée de la teigne de la pomme de terre sur une durée de 24h, 48h, 72h

D'après les résultats statistiques obtenus des essais biologiques à base des isolats testés, on constate que la mortalité évolue avec le temps. Elle se situe autour de 10% pendant les 24h pour tous les isolats, pour augmenter à 48h entre 15% et 30 %. Elle atteint des niveaux plus élevés à 72h notamment pour isolat testée du genre *Bacillus* **A2** où la mortalité dépasse les 80%. Pour les autres isolats de **B13**, **P4** et **P5**, elle dépasse les 50 %.

L'analyse des comparaisons des moyennes des taux de mortalité (test de **Tukey**) a permis de classer les 8 isolats des rhizobactéries étudiés en 03 groupes homogènes :

- Le groupe **A** : qui comprend l'isolat **A2** avec un taux de pourcentage de mortalité qui était significativement le plus élevée (supérieur à 80%).
- Le groupe **AB** : à l'intervalle de [19,4% ; 44.445%], est constitué des isolat **P5**, **P4**, **B13**, **B14**, **B17**, ainsi que la souche référencée *Bt* . Il semble qu'elles ont le même taux d'efficacité.
- Le groupe **B** : est constitué de l'isolat **S1** qui a présenté le pourcentage de mortalité le plus faible [5%].

### III.4 Discussion générale

Le puceron est un insecte piqueur-suceur. Il se nourrit de sève (**Kamphuis et al., 2013**) et comme la majorité des insectes d'après **Scholte et al. (2004)**, il est sensible aux micro-organismes telles que les bactéries. Ainsi, la FAO a recommandé la méthode d'inoculation directe par trempage comme méthode standard de la détection et de mesure de la résistance des pucerons aux insecticides (**Butt et Goettel, 2000**). Sur la base de ces recherches, nous avons effectué des tests de pathogénicité basés sur le trempage des feuilles dans des solutions bactériennes du genre *Bacillus* et *Pseudomonas*, afin de confirmer leurs pouvoirs insecticides sur les individus du puceron farineux *Hyalopterus pruni*.

Quant à la teigne de la pomme de terre, elle appartient également au groupe d'insectes de type suceur (**Leraut, 1990**). Il s'agit d'un insecte ravageur disposant des larves qui creusent des galeries dans le tubercule de la pomme de terre (**Alvarez et al., 2007**). Dans notre étude, nous avons effectué des tests de pathogénicité basés sur le trempage des tubercules dans des solutions bactériennes du genre *Bacillus* et *Pseudomonas*, afin de tester leur toxicité sur les larves.

**Lacousière et Boisvert (2004)** ont constaté que les *Bacillus* provoquent des changements au niveau du tube digestif, ce qui entraîne l'arrêt de l'alimentation de l'insecte suivi de la mort de l'individu. **Castella (2008)** a ajouté que les toxines pathogènes des insectes synthétisées par les *Bacillus* telles que la protéine (**Cry**) sont excrétées dans des impuretés cristallines qui adhèrent aux cellules de l'épithélium intestinal et les détruisent. En plus des protéines (**Sip**) et (**Vip**) qui sont sécrétées dans le milieu ont les propriétés de bio-insecticides (**Schnepf et al., 1998**). Aussi **Raymond et al. (2010)** et **Soberon et al. (2009)** ont conclu que les spores sont capables de coloniser l'hémolymphe et germer, induisant ainsi une septicémie pouvant être responsable de la mort de l'insecte dans les 24-72 heures qui suivent l'intoxication.

**Allal-Benfekih (2006)**, a expliqué que l'activité des toxines dépend fortement de l'interaction de plusieurs facteurs retrouvés dans l'intestin des insectes. Dans le cas de *Bacillus sphaericus*, la toxine est localisée dans la paroi sporale et va être libérée par une digestion partielle de la bactérie dans le tube digestif de la larve de l'insecte. La toxine pénètre dans la membrane péritrophique du tube digestif et empoisonne la larve (**De kouassi, 2001 ; Burges, 1981 ; Singer, 1981**).

**Lemanceau** en **1992** a également pu confirmer que les *Pseudomonas* affectent principalement le mésentéron, qui fait la partie de l'assimilation et de l'absorption intestinales.

**Laupent et Sanglier (1989)** annoncent que les *Pseudomonas* peuvent dégrader de multiples macromolécules grâce à des enzymes hydrolytiques exo cellulaires parmi lesquelles on peut retenir les protéases, qui est une molécule idéale pour la lutte biologique contre des nombreux insectes ravageurs et maladies des plantes.

Pour les essais biologiques de nos isolats sur la teigne de la pomme de terre, nous nous sommes basé sur le stade larvaire pour effectuer nos traitements. En effet, la teigne de la pomme de terre passe par quatre stades de développement, mais le seul stade qui cause des dégâts est l'état larvaire. Il peut aller à la perte totale de la production dans l'entrepôt et une sérieuse baisse du rendement aux champs. (**Ait-Hamdi, 2016**). Les larves de ce ravageur minent les feuilles, les tiges, les pétioles, et creusent des galeries dans les tubercules de la pomme de terre, ce qui aboutit à une réduction du rendement et à la destruction totale de la plante (**Alvarez et al., 2007**). Elles peuvent induire des pertes très importantes variant entre 50% et 100% dans certaines régions (**Das 1995 ; Trivedi et Rajagopal , 1992 ; Xu et al., 2013**).

Les résultats obtenus dans les tests sont cohérents avec ceux déjà obtenus dans plusieurs recherches sur des essais réalisés sous serre ou en plein champ. Ces essais montrent l'effet insecticide des rhizobactéries en tant qu'agent de bio-contrôle contre les insectes ravageurs (**Wahengbam et al., 2020**). Selon **Soberon (2011)**. Les bactéries du genre *Bacillus* et *Pseudomonas* sont utilisées depuis plus de 50 ans comme bio-insecticides contre les insectes nuisibles dans les cultures et la foresterie.

D'après la bibliographie des nombreuses travaux qu'ils ont été publiées sur des tests de pathogénicité prouvant l'efficacité des *Bacillus* et *Pseudomonas* comme des bio-insecticides microbiens , **Kamilova et al. (2006)** , **Khan et al. (2006)** , **Schmidt et al. (2004)** , **Someya et al. (2007)** , **Srivastava et al. (2001)** , **Weller (2007)** , **Dutton et al. (2003)** , **Palma et al. (2014)** , **Rashid et al. (2017)**, ont testé et utilisé des différentes souches de genre *Bacillus* et *Pseudomonas fluorescens* pour la lutte biologique contre un large éventail d'insectes ravageurs importants, notamment sur les pucerons.

D'autres études sur la lutte contre la teigne de la pomme de terre par utilisation des bio contrôle ont été effectuées par **Das et al. (1994)** , **Hamilton et Mac Donald (1990)** ,

**Kroschel et al. (1996)**, **Zeddami et al. (2003)** notent que *Bacillus thuringiensis* est très efficace contre les stades larvaires de la teigne.

**Palma et al. (2014)** ont découvert qu'il existe plus d'une espèce de *Bacillus* qui ont un effet insecticide spécifique selon les toxines et les protéines qu'ils sécrètent, chacun et son insecte hôte y compris : les *Bacillus sphaericus* contre les diptères (**Boisvert et al., 2006**), les *Bacillus thuringiensis* contre les coléoptères, diptères, Lépidoptères (**Morris, 1983 ; Ahmed et al., 1994**) et les *Bacillus popilliae* contre les Scarabéidés (*Popillia japonica*) (**Hutton et Burbulis, 1974**). Et cela s'explique par les résultats et la différence de taux de mortalité lorsque nous avons traité avec les suspensions bactériennes de Genre *Bacillus*. Par rapport au genre *Pseudomonas*, qui selon **Nielsen et al. (1998)** comprend de nombreuses espèces qui sont utilisées comme fertilisants des sols et ont une capacité à induire les mécanismes de défense chez la plante. Mais la seule espèce qui possède un pouvoir entomopathogène c'est les *Pseudomonas fluorescens* (**Höfte et Altier, 2010 ; Stockwell et Stack, 2007**), et qui sont les Lépidoptères, les Hémiptères et les Acridiens en tant que insectes hôtes (**Saik et al., 1990**).

## CONCLUSION

---

L'utilisation abusive des produits chimiques dans de nombreux pays a entraîné toute une série de conséquences néfastes pour l'environnement et la santé humaine. Ceci a provoqué un changement dans les mentalités qui a poussé le monde agricole à se tourner vers une agriculture plus durable et non nocive. Dans ce but, il est nécessaire de trouver des alternatives à l'utilisation de produits chimiques de synthèse.

Dans le cadre de notre travail, nous nous sommes intéressées à tester le potentiel bio insecticide des bactéries appartenant aux deux genres *Pseudomonas* et *Bacillus* isolées à partir de rhizosphère d'un verger d'agrumes dans différents endroits.

Durant ce travail, nous avons pu isoler et caractériser environ 80 isolats bactériens à travers des tests d'orientations. Nous avons pu identifier 26 isolats parmi lesquels 21 du genre *Bacillus* et 5 isolats font partie du groupe du genre *Pseudomonas*.

Les résultats des tests de pathogénicités ont été calculés après 24h, 48h et 72h. Le taux de mortalité est très important à 72 heures, après application du traitement bactérien par trempage du matériel végétal. Les mortalités les plus élevées observées sur les pucerons farineux *Hyalopterus pruini*, sont dues aux isolats du genre *Pseudomonas* **P4** et **P5** et la souche de référence **Bt**, à des taux compris entre 80% et 90%.

Les résultats des effets avec des différentes concentrations ( $10^6$ ,  $10^5$ ,  $10^4$ ,  $10^3$ ) sur le puceron farineux *Hyalopterus pruini*, ont montré que le taux de mortalité évolue en fonction de la dilution des concentrations. La plus forte concentration est **C1** qui occasionne 41,5% de mortalité à 72h. Les isolats **B17** et **B13** de genre *Bacillus*, ont un effet convergent avec la souche référencé **Bt** dans le traitement avec la concentration **C1**, où la mortalité corrigée ne dépasse pas les 50%. Par contre, les isolats **P5** et **P4** de genre *Pseudomonas*, ont une mortalité corrigée dépasse 58%. Quant à l'isolat **P4**, son effet est élevé, et il dépasse 49% dans tous les concentrations.

D'après cette étude, l'isolat **P4** pourrait être testé à la **CL50** de 32,36 ufc/ml pour confirmer l'effet élevé de pathogénicité de cet isolat bactérien sur le puceron farineux et sur d'autres espèces d'*Hemiptera*.

L'étude de l'effet des 7 isolats **A2**, **B13**, **B17**, **S1**, **B14**, **P4** et **P5** sur les larves de la teigne de la pomme de terre a été réalisée à une même concentration ( $1 \times 10^6$  UFC/ml). Elle a permis d'obtenir des différents résultats : Les deux isolats du genre *Bacillus* **A2** et **B13** ont provoqué un degré élevé de mortalité, et qui dépasse 75% , et l'isolat **P5** du genre *Pseudomonas* a causé

## CONCLUSION

---

un taux de mortalité de 77 %. Par contre, les isolats restants n'ont induit que des taux moyens à faible sur les larves.

A travers ces études, nous pouvons conclure que ces micro-organismes ont présenté un effet insecticide à l'encontre des deux ravageurs à savoir le puceron farineux *Hyalopterus pruni* et la teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella*. L'ensemble des résultats obtenus pourrait constituer des solutions alternatives ou du moins contribuer à réduire l'usage des pesticides.

De nouvelles perspectives peuvent être envisagées par une étude plus poussée de l'activité insecticide. Il serait nécessaire de faire des formulations à base de ces bio insecticides et d'évaluer leur efficacité sur le terrain, des études à grande échelle doivent être entreprises.

Par ailleurs, pour une meilleure poursuite de cette étude, il serait souhaitable d'étudier d'une façon approfondie le mode d'action de ces bactéries par leurs biomolécules contre ces ravageurs avec des tests de toxicité des mêmes bactéries sur d'autres insectes ravageurs. Cette étude va permettre de produire des insecticides spécifiques et naturels efficaces et peu pathogènes pour l'homme et les autres mammifères.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

### A

- Abdallah Y., Abdel-Wahed M., et Youssef G.h., 2012** - Life table parameters as Indicator of potato Varieties susceptibility to infestation with *Phthorimaea operculella* (Zeller). Egypt. Acad. J. Biol. Sci. Entomol. 5 : 127–136.
- Ahmed S. I. et Leather S.R., 1994** - Suitability and potential of entomopathogenic Microorganisms for forest pest management – some points for consideration. Intern. J. Pest Management 40 : 287-292.
- Ait Hamou K et Sadouk R., 2017** - Bioécologie de la teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera : Gelechiidae) sur trois variétés de pomme de terre (la Timate, la Synergy et la Fabula) dans les deux régions : Tamba et Oued Aissi, Protection des plantes cultivées, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou, p 83
- Aitmessaoud A., Hamdi L., 2016** - Bioécologie de la teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella* Zeller (1873) (Lepidoptera:Gelechiidae) sur quatre variétés de pomme de terre (la Spunta, la Kenza, la Crisper et la Désirée) dans la région des Issers.mémoire de master.Université Mouloud Mammeri,Tizi ouzou. P65
- Allahom R., 2020** - Bioécologie de la teigne de la pomme de terre *Phthorimaea operculella* Zeller (Lepidoptera :Gelechiidae) sur quelques variétés de pomme de terre et essais de lutte,Sciences Biologiques. Université Mouloud Mammeri de Tizi-ouzou,p 152
- 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 synthétiques. Thèse de Doctorat, Inst. Nati. Agro, El Harrach, 140p.
- Alexander B., Priest F., 1989** - Une matrice de fréquence pour l'identification probabiliste de certains bacilles. Journal of General Microbiology 134(11):3011-8
- Alvarez J.M., Dotseth E., Noth P., 2005** - Potato Tuberworm : Athreat for Idaho potatoes. Educ. Public., University of Idaho, 4 (4) : 448- 455 p
- Alvarez J.M., Barbour J., Clough G.H., Debano S.J., Dogramaci M., Jensen A., Rondon S.I., Schreiber A., Thornton.M. 2007** - Biology and management of the potato tuberworm in the pacific northwest.PNw 594.P3.
- Anonyme.,1990** - Principales maladies, insectes nématodes de la pomme de terre CIP .ED lima, Paris 94P
- Anonyme., 1994.** Guide pratique des défenses des cultures. ACTA. Univ. Batna,Algérie, 11 7p.
- Arevalo A et Castro R., 2003** - Evaluación post-registro de los insecticidas con Licencia de uso para controlar la *polilla guatemalteca* de la papa *Tecia solanivora* (Povolny 1973) (Lepidoptera : Gelechiidae) en Colombia. En : Memorias II Taller Nacional, *Tecia solanivora*. CEVIPAPA, CNP. Bogotá, Colombia : 86-89.
- Aryal S., 2016** - Biochemical tests and identification of *Bacillus subtilis* 2016. Available from : [http : //www.microbiologyinfo.com/ biochemical-test-and-identification-of-Bacillus-subtili](http://www.microbiologyinfo.com/biochemical-test-and-identification-of-Bacillus-subtili).

### B

- Bakker P.A.H.M., Pieterse C.M.J., et Van Loon L.C., 2007** - Induced systemic Resistance by fluorescent *Pseudomonas spp.* Phytopathology, 97 2 : 239-243.
- Bakli, M., Zenasni, A., 2019** - Isolation of *fluorescent Pseudomonas spp.* Strains from rhizosphere agricultural soils and assessment of their role in plant growth and phytopathogen biocontrol. Research Journal of Agricultural Science 51
- Bell-Perkins L. J., et J.M. Lynch., 2002** - Rhizosphere microbiology, p. 2713-2728. In G.Bitton (ed.), Encyclopedia of environmental microbiology, A Wiley-Interscience Publication,Canada.
- Bikream N., Shrestha J., Bhattarai S., 2020** - Identification of *Pseudomonas fluorescens* using different biochemical tests. International Journal of Applied Biology.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Blackman R., et Eastop V., 2007** - Taxonomic issues. In Van Emden H. F. and Harrington R., Aphid as crop pests. Edition CABI, U. K.: 1-29
- Bonnemain J.L., 2010** - Phloème sap in tricity and interplay with aphid feeding C.R. Biologies.333 : 504-515
- Bouhairi S., 2017** - *Bacillus subtilis* : caractères et applications. Thèse de doctorat. Université Mohammed V, Rabat. p16
- Bounoua M., 2008**- Essais d'utilisation des *Pseudomonas sp* et *Bacillus sp*. Dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum f.sp. lycopersici* sur tomate et *verticillium dahliae* sur l'olivier. Thèse de Magister. Biotechnologie. Université d'Oran., Algérie.
- Boisvert M et Boisvert J., 2000** - Effects of *Bacillus thuringiensis* var. israelensis on Target and Nontarget Organisms : A Review of Laboratory and Field Experiments. Biocontrol Science and Technology. 10 :517-561.
- Bossis E., Lemanceau P., Latour X., Gardan L., 2000** - The Taxonomy of *Pseudomonas fluorescens* and *Pseudomonas Putida* : current status and need for revision. Agronomie, 20 : 51-63.
- Brault V.U. , Zes M., Monsion B., jacquot E., Blanc S., 2010** - Aphids an transport devices for plant viruses les pucerons, un moyens de transport des virus de plante. C.R. Biologies.333 :525-531
- Bravo A., Gill S., Soberon M., 2007** – Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. Toxicon.49(4),423-435.
- Bravo A., Likitvivanavong S., Gill S., Soberon M., 2011** - *Bacillus thuringiensis*: a story of a successful bioinsecticide. Insect Biochem Mol Biol, 41 :423-431
- Brittan S., Scale S., Robert P., Dickso N., John J., Lipum A ., Gary B., Huffnagl E., 2014** - Microbiology, Genomics, and Clinical Significance of the *Pseudomonas fluorescens* species Complex, and appreciated colonizer of humans, Cline microbial rev.27 (4) :927–948.
- Brossard et Terry., 1984** - Bactériologie systématique. C.R.D.P, Lyon, 220p.
- Bru J.P., Caron F., Cattoen C ., Cattoir V., Dubreuil L., Lina G., Merens A., Plesiat P., Ploy M.C., Soussy C.J., Varon E., 2020** - Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. V.1.1 Avril
- Buchholz A., Nauen R., 2002** - Translocation and translaminar bioavailability of two neonicotinoid insecticides after foliar application to cabbage and cotton. Pest Manag. Sci. 58(1): 10–16.
- Budeta P., 1950** - Une mineuse ennemi du tabac *Phthorimaea Operculella* Z ou la teigne de la pomme de terre in tabacco, n° 614, 14p.
- Butt T.M et Goettel M.S., 2000** - Bioassays of entomopathogenic microbes and Nematodes. K.R.S.CABI Publishing, New York, 320p.
- Burgess H. D. 1981** - Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980. Academic Press, London, N.Y., 949p.

### C

- Carlile J., Watkinson C., 1994** - The Fungi.. (Academic Press eds), London .Vol.3 No.4
- Carruthers R., et Soper R., 1987**- Fungal diseases. In: Fuxa, J. R. and Tanada, Y. (eds), Epizootiology of Insect Diseases. Wiley-Interscience, New York, pp. 357-416.
- Castella C., 2008** - Cry1C, toxine de *Bacillus thuringiensis* : analyse des récepteurs potentiels Et du mode d'action sur lignées cellulaires Sf9. Diplôme de l'école pratique des hautes études. Science de la vie et de la terre, France
- Chakroun M., Banyuls N., Bel Y., Escriche B., Ferré J., 2016** - Correction for Chakroun et al., Bacterial Vegetative Insecticidal Proteins (Vip) from Entomopathogenic Bacteria. 80(2): 329–350.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Charnley AK., et St Léger., 1991-** Characterization of chitinase and chitinase produced by the entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae*. *J Invertebr Pathol* 58:415-426.

**Chen et al ., 2014** - Etude de la pathogénicité de quelques isolats bactériens telluriques sur des insectes ravageurs, Phytopharmacie et Protection des végétaux ,Université Saad Dahleb Blida 1,p98

**CIP., 1990** - Principales maladies, insectes et nématodes de la pomme de terre. Ed. CIP. Lima, Pérou. 94P.

**Clays-Josserand A., Lemanceau P., Philippot L., Lensi R., 1995** - Influence of two plant species (flax and tomato) On the distribution of nitrogen dissimilative abilities within Fluorescent *Pseudomonas spp.* *Appl. Environ. Microbiol.* 61 : 1745-1749.

**Comeau A., 1992** - la résistance aux pucerons : aspects théoriques et pratique .In : Morin G (éd), la lutte biologique. Canada, 433-449

**Corredor D et Flórez E., 2003** - Estudios básicos de biología y comportamiento de la polilla guatemalteca de la papa en un área piloto en el municipio de Villapinzón. En : Memorias II Taller Nacional, Tecia solanivora. CEVIPAPA. CNP. Bogotá, Colombia, 24- 25 abril 2003. P 39-45.

**Crickmore N., Maagd A., Bravo,A.,1998**-How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world.TRENDSin Genetics,17(4),19

**Cuartas P., Villamizar L., Espinel C., Cotes A.M. 2009** - Infección de granulovirus nativos sobre Tecia solanivora y *Phthorimaea operculella* (Lepidoptera :Gelechiidae). *Rev. Colomb. Entomol.* 35 (2) :122-129

### D

**Das G.P., Magallona E.D., Raman K.V., Adalla C.B., 1992** – Effects of different Components of IPM in the management of the potato tuber moth, in storage.*Agr.Ecosyst.Environ.*41, 321-325.

**Das G.P., 1995.** Plants used in controlling the potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller). *Crop Protection*, 14(8), 631–636.

**Das K., Abrol S., Verma R., Annapragada H., Katiyar N., M S., 2020** - *Pseudomonas*. Pp. 133-148 In : Amaresan N., Annapurna K., Sankaranarayanan A., Kumar S. M. et Kumar K., *Beneficial Microbes in Agro-Ecology*.

**Dedryver C., Ierelec A., Fabre F ., 2010** – The conflicting relationship between aphids damage and control strategies .*C.R Biologies*, 539-553

**DeKouassi M., 2001** - Les possibilités de la lutte microbiologique. Emphase sur le champignon entomopathogène *B. bassiana*. *Vertigo* : V2 (2)

**Delobel A, 1996** - Insectes ravageurs des tubercules et des racines en Afrique tropicale: Post-Récolte. *Principes Appl. En Zone Trop.* 63-78.

**Dent D.R., 1991** - Insect pest management, ed. CAB International, UK.v Debach, P. et B. Barlett 1951. Effects of insecticides on biological control of insect pest of citrus. *J. Econ. Entomol.* 44: 372-383.

**Deshwal V. K., Singh S.B., Chubey A ., Kumar P., 2013** - Isolation and Characterization of *Pseudomonas* strains from Potatoes Rhizosphere at Dehradun Valley, India. *International Journal of Basic and Applied Sciences.*2(2) : 53-55.

**Dieckelmann M., Johnson L.A., Beacham I.R., 1998** - The diversity of lipases from Psychrotrophic strains of *Pseudomonas* : a novel lipase from a highly lipolytic strain Of *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Microbiol.* 85 :527.

**Digat B., 1994-** Les bactéries stimulatrices de la croissance des plantes : le cas des *Pseudomonas* .*C.R. Acad Agriculture* .N°80 P 125-140.

**Dillard H.R., Wicks T.J., Philip B., 1993** - A grower survey of diseases, invertebrate Pests, and pesticide use on potatoes grown in South Australia. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 33 :653–661.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Dillon R.J., Charnley A. K., 1991**-The fate fungal spores in the insect gut. Dans: Cole, G.T. et Hoch, H. C. (Éds.) : The Fungal Spore and Disease Initiation in Plants and Animals. New York. Plenum Press, pp. 129-156.

**Dogimon C., Bendahmane A., Chovelon V., Biossot N., 2010**-Host plant resistance to aphids in cultivated crops: Genetic and molecular bases, and interactions with aphid populations. *C.R. biologies*. 333:pp 566-573

**Dutton A., Romeis J., and Bigler F., 2003**- Assessing the risks of insect resistant Transgenic plants on entomophagous arthropods Bt-maize expressing Cry1Ab as a case Study. *BioControl* 48, 611–636. Doi : 10.1023/A :1026313719424

### E

**Espinel-Correal C., 2010** - Analyse de l'évolution des populations du granulovirus PhopGV en contact avec des hôtes alternatifs *Phthorimaea operculella* et *Teciasolanivora* (Lepidoptera : Gelechiidae). Doctorat. Ecole Nationale Supérieure des Mines de Saint-Étienne. 192P.

**Estrada A., Sierra, G. 1997** - Vademécum del cultivo de la papa. Fedepapa. Federación Colombiana de Productores de Papa. Primera edición. Edición Grafemas Ltda. Bogota, Colombia. 172.p

**Euzeby J.P., 2008** - List of Prokaryotic Names with Standing In Nomenclature. URL <http://www.bacterio.cict.fr/>.

### F

**FAOSTAT., 2010** – statistiques de l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture <https://www.fao.org/statistics/fr/>

**Fao, 2014 ; Fao STAT** ; Available at : <http://www.fao.org/faostat/en/#home> [accessed April 10, 2017].

**Ffrench-Constant RH., Bowen DJ., 2000** - Novel insecticidal toxins from nematode-Symbiotic bacteria. *Cell Mol Life Sci* 57 : 828–833

**Ffrench-Constant RH., Waterfield NR., 2006** - An ABC guide to the bacterial toxin Complexes. *Adv Appl Microbiol* 58 : 169–183

**Fisher R.A et Yates F., 1938** - Statistical Tables for Biological, Agricultural and Medical Research. Oliver and Boyd. London : 8p.

**Franz, J.M., 1971**- Influence of environment and modern trends in crop management on microbial control. In: Burgess, H. D. and Hussey, N. W. (eds), *Microbial control of Insects and Mites*. Academic Press, London, pp. 407-44.

### G

**Gerson U., Cohen E., 1989** - Resurgences of spider mites (Acari : Tetranychidae) induced by synthetic synthroids. *Exp Appl acoral* 6 :29-46

**Gill H.K., Chahid G., Goyal G., Gill A.K., Gillett- khaufman J.L., 2014** - Potato Tuberworm *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera : Gelechiidae) IFAS Exe.1-7

**Goettel M.S., 1992**- Des champignons comme agent de lutte biologique. In: P. Ibadam, CAB International, IITA, La lutte biologique contre les acridiens, Nigeria, p. 122-131.

**Gohar A.S., Galal O.M., Ismail I., Foster Z., 2005** - School teacher's awareness about scholastic performance and nutritional status of Egyptian schoolchildren. *Food and nutrition bulletin*, 26, S275-S280.

**González A., Díaz R., Díaz M., Borrero Y., Rosa Y., Bruzón R., Carreras B., Gato R., 2011** - Characterization of *Bacillus thuringiensis* soil isolates from Cuba, with insecticidal activity against mosquitoes, Vol. 59 (3): 1007-1016,

**Greathead D.J., Kooyman C., launois-luong M.H., Popov G.B., 1994** - les ennemis naturels des 8 criquets du Sahel. Collection acridologie opérationnelle N CILSS/DFPV, Niamey, Bp 126 25. Niger.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Grochulski et al., 1995**-*Bacillus thuringiensis* CryIA(a) insecticidal toxin: crystal structure and channel formation J. Mol. Biol; 254(3) :447-64

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

**Guiraud J.P., 2003**-Microbiologie alimentaire ; Application à l'étude des principaux groupes microbiens .Ed.DUNDD651P

**Gupta D.K., Vyas M., 1989** - Efficacy of *Bacillus subtilis* against mosquito larvae (Anopheles culicifacies). Zeitschrift fuer Angewandte Zoologie, 76(1) : 85-91

### H

**Habout Z.A., Haougui A., Mergeai G., Haubruge E., Toudou A., Verheggen F.J., 2011** – Insecticidal effect of *Jatropha curcas* oil on the aphid *Aphis fabae* (Hemiptera : Aphididae) And on the main insect pests associated with cowpeas (*Vigna unguiculata*) in Niger Tropicultura, 29, 4, pp 225-229.

**Hafez M., Zaki F. N., Moursy A., Sabbour M., 1994** – Biological effects of Theentomopathogenic fungus, *Beauveria bassiana* on the potato tuber moth *Phthorimaea operculella*(Zeller). Journal of Islamic Academy of Sciences 7 :4 Cairo, Egypt, pp211-214

**Hamilton J.T et Macdonald J.A., 1990** – Control of potato moth, *Phthorimaea Operculella* (Zeller) in stored seed potatoes. GenAppl.Entomol.22, 3-6.

**Handelsman J., Stabb E.V., 1996**- Biocontrol of soilborne plant pathogens ,Plant Cell . V8, P1855–1869,

**Harmel N., Francis F., Haubruge E., Giordanengo P., 2008** - Physiologie des interactions. Cahiers Agricultures, 17, 395–400

**Henderson J., Jensen A., Deban S., David N., Martin M., Batchelor D., 1999** - Tuber moth survey. Potato Progress n°5, 6p.

**Höfte M, Altier N., 2010** - *Fluorescent Pseudomonas* as biocontrol agents for Sustainable agricultural systems. Res Microbiol 161 : 464–471

**Hullé M., Tuepeau –Ait ighil E., Robert Y., monet Y., 1998** - les pucerons des plantes inanciphères. Cycle biologique et activité de vol. Ed Act. A I.N.R.A. fanis P31-52

**Hullé M., Turpeau E., Leclant F., 1998** - Les pucerons des arbres fruitiers: Cycles biologiques et activités de vol. INRA, 80.

**Hullé M., Ighil E.T-A., Robert Y., Monnet Y., 1999** - Les pucerons des plantes maraichères. Cycles biologiques et activités de vol. INRA, Paris, 136 p

**Humble L et Stewart A.J., 1994** - Gypsy moth. In Service Canadien des Forêts –Librairie. Forest pest leaflet, [En ligne].<http://warehouse.pfc.forestry.ca/pfc/3456.pdf> (consulté le 28 Mars 2022)

**Hutton P.O et Burbutis P. P., 1974** - Milky disease and Japanese beetle in Delaware. Journal of Economic Entomology. 67: 247-9.DOI : 10.1093/jee/67.2.247

### I

**INRA., 2015** – Institute Nationale de la Recherche Agronomique < <https://www.inra.org.ma/> >

**Iordănescu O.A., Alexa E., Radulov I., Costea A., Dobrei A., Dobrei,A., 2015** - Minerals and Amino Acids in Peach ( *Prunus persica* L .) Cultivars and Hybrids Belonging to World Germoplasm Collection in the Conditions of West Romania Agriculture and Agricultural Science Procedia, 6, 145–150.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

### J

**Jayamohan N.S., Patil S.V., Kumudini B.S., 2018-** Validation of molecular heterogeneity of *fluorescent Pseudomonas spp.* And correlation with their potential biocontrol traits Against fusarium wilt disease. Agriculture and Natural Resources 52, 317–324

**Jerraya A., 2003-** Principaux nuisibles des plantes cultivées et des denrées stockées en Afrique du nord: Leur biologie, leurs ennemis naturels, leurs dégâts et leur contrôle. Climat pub, Tunisie.415pp.

### K

**Kamilova F., Kravchenko L.V., Shaposhnikov A.I., Makarova N., Lugtenberg B., 2006 -** Effects of the tomato pathogen *Fusarium oxysporum* f. sp. *Radialis-lycopersici* And of the biocontrol bacterium *Pseudomonas fluorescens* WCS365 on the Composition of organic acids and sugars in tomato root exudate. Mol. Plant-Microbe Interact. 19 :1121-1126.

**Kamphuis L.G., Lichtenzveig J., Peng K., Guo S., Klingler J., Siddique K. H. M., Singh K. B., 2013-** Characterization and genetic dissection of resistance to spotted alfalfa aphid (*Therioaphis trifolii*) in *Medicago truncatula*. Journal of Experimental Botany, 64(16), 5157–72.

**Kanyinda et al., 2014 -** Synthèse bibliographique sur le rôle des Rhizobactéries *Pseudomonas spp fluorescens* dans le contrôle des maladies phytopathogènes, Production végétale, Mouloud Mammeri De Tizi-Ouzou, p58

**Karungi J., Agamile P., Kovach J., Kyamanywa S., 2010-** Cover cropping and novel pesticide usage in the management of pests of hot pepper (*Capsicum chinense*). International Journal of Tropical Insect Science, Vol. 30, No. 2, pp. 84–92

**Khachatourians G.K., 1986-** Production and use of biological pest control agents. Trends Bio. Tech. 4: 120 - 124.

**Khan M.R., Fischer S., Egan D., Doohan F.M., 2006 -** Biological control of fusarium Seedling blight disease of wheat and barley. Phytopathology 96 :386-394.

**Koka R., Weimer B.C, 2000 -** Isolation and characterization of a protease from *Pseudomonas fluorescens* RO98. J. Appl. Microbiol. 89 :280-288.

**Kouassi M, 2001 -** la lutte biologique, vol (2) : [en ligne] disponible sur <https://journals.openedition.org/vertigo/4091> (consulté le 07 Juin 2022)

**Kramer K. J., Hopkins T. L., Schaefer J., 1988-** Insect cuticle structure and metabolism. dans Hedin, P. A., Menn, J. J. et Hollingworth, R. M. (Éds.): Biotechnologie for Crop protection. USA, American Chemical Society. ACS Symposium Series, pp. 160- 185.

**Kroschel J., Fritsch E. et Koch W., 1996 -** Studies on the use of chemicals, Botanicals and *Bacillus thuringiensis* in the management of the potato tuber moth in Potato stores. Crop protection, 15, pp.197-203

**Kuno G., 1973-** Biological notes of Amoebidiurn parasitism found in Puerto Rico. Journal of Invertebrate Pathology 21: 1-8

### L

**Lacey L.A., Goettel M., 1995 -** Current Development in Microbial Control of Insect Pests and Prospects for Early 21st Century. Entomophaga, 40 (I), 3–27.

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

**Lacey L.A et Neven L. G., 2006 -** The potential of the fungus, *Muscodora albus*, as a Microbial control agent of potato tuber moth (Lepidoptera : Gelechiidae) in stored Potatoes. Journal of invertebrate Pathology, Wapato, USA, pp 195- 198.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

- Lacey L.A., Shaping-Ilan D 1., 2008**-Microbial Control of insect pests in temperate orchard systems : potential for incorporation into IPM. Annual Review of entomology,53 (1) ,121-144.
- Lacey L.A., Grzywacz D., Shapiro-Ilan D. I., Frutos R., Brownbridge M., Goettel M. S., 2015**- Insect pathogens as biological control agents: Back to the future. Journal of Invertebrate Pathology, 132,1-41.<https://doi.org/10.1016/j.jip.2015.07.009> (consulté le 15 Avril 2022)
- Lacousiere J.O et Boisvert J., 2004** - Le *Bacillus thuringiensis israelensis* et le contrôle Des insectes piqueurs au Québec. Ministère de l'Environnement. Envirodoq no ENV/2004/0278,101p
- Larpent J.P et Sanglier J.J., 1989**. Biotechnologies des antibiotiques. Ed.Masson, Paris, 148p
- Lazare K., Haubruge E., Destain J., Thonart P., Lienard V., Gaspar C., 1996** - Utilisation de *Bacillus subtilis* comme insecticide à l'égard de *Drosophila melanogaster*(MEIGEN). Med. Fac. Landbouwen , 61(3a) : 887-893.
- Leclerc H., Mossel D.A.A .,Bernier J.J., FourierA.,1989** - Microbiology.Doin éditeurs,Paris
- Lemanceau P, 1992** - Effets bénéfiques de rhizobacteries sur les plantes : exemple des *Pseudomonas spp. fluorescents*. Agronomie, 12(6) : 413-443.
- Leraut P., 1990** – Les insectes dans leurs milieu. Ed. Bordas, France, 225p.
- Liao C.H., McCallus D.E., 1998** - Biochemical and genetic characterization of an Extracellular protease from *Pseudomonas fluorescens* CY091. Appl. Environ. Microbiol. 64 :914-921
- Lon S., Malik A., Padaria J., 2017** - Selection and characterization of *Bacillus thuringiensis* strain from northwestern Himalayas toxic against *Helicoverpa armigera*,[en ligne], URL [www.MicrobiologyOpen.com](http://www.MicrobiologyOpen.com) (consulté le 12 Avril 2022)
- Logan N.A., Berge O., Bishop A.H ., Busse H.J., De Vos P., Fritze D., Heyndrickx M., Kaampfer P., Salkinoja-Salonen MS., Seldin L., Rabinovitch L., ventosa A., 2009**-Proposed minimal standards for describing new taxa of aerobic, endospore-forming bacteria. *Journal of Systemetic and Evolotionary Microbiology* ; 59 :2114-2121.
- López-Ávila A., 1996** - Plagas y enfermedades. Insectos plagas del cultivo de la papa en Colombia y su manejo. En : Papas Colombianas con el mejor entorno ambiental. Editorial Comunicaciones y Asociados Ltda. Bogota-Colombia : 146-154.
- M**
- Magana C., Hernandez-Cresf P., otego F., Costan era P., 2007** - Resistance to malathion in field population of *lenatitis capitata*, J Econ entonol 100 : 1836-1843.
- Mazid S., Kalita JC., Rajkhowa RC., 2011**-A review on the use of biopesticides in insect pest management. International Journal of Science and Advanced Technology, 1(7), 169–178. <https://doi.org/10.1007/s10886-005-4244-2> (consulté le 11 Mars 2022)
- Mascarin GM., Jaronski ST., 2016** - The production and uses of *Beauveria bassiana* as microbial insecticide. World J Microbiol Biotechnol. 32(11):177. ISSN: 1573-0972.
- Medjeber., 2016** - Isolement, Identification et production des Polyhydroxyalcanoates (PHAs) chez le genre *Bacillus*.
- Meliani A., 2012** – Contribution à l'étude de la diversité écologique et fonctionnelle des *Pseudomonas fluorescens*. Thèse de Biologie. Univ. D'Oran. 272 p.
- Meyer J.M., 1978** - The Fluorescent Pigment of *Pseudomonas fluorescens* : Biosynthesis, Purification and Physico chemical Properties. Journal of General Microbiology. 107 :pp319-328.
- Meynadier G., Margier AA., Girardie J., Vago., C., 1993** - Une entomopoxvirose chez l'orthoptère *Anacridium aegyptium*. Entomophag. 37: 453-464.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Mihir R., shaswat., sharma., Sumita A., Bidyut Kumar Sarmah., 2017** - Isolation and characterization of *Bacillus thuringiensis* strains native to Assam soil of north east India,(7) 5

**Milner J.L., Stohl E.A., Handelsman J., 1996a** - Zwittermicin A resistance gene from *Bacillus cereus*. J. Bacteriol., 178, pp.4266-4272.

**Mnif I., Ghribi D., 2015** - Review lipopeptides biosurfactants: mean classes and new insights for industrial, biomedical, and environmental applications. Peptide Science, 104(3), 129-147

**Mock M., Fouet A., Anthrax., 2001-** Annu Rev Microbiol.55:647-71

**Moore E.R.B., Tindall, B.J., Martins Dos Santos V.A.P., Pieper D.H., Ramos J.L., et Palleroni N.J., 2006** - Nonmedical : *Pseudomonas*, Prokaryotes, Springer, USA. P 646- 703.

**Morris N , 1983** - Microorganisms isolated from forest insects in British Columbia. J. Entomol. Sci. BC. 80 : 29-36.

**Moreno D.A., onzalez-molina, E., Dominguez-perles, R., Garcia-viguera., 2010-** Natural bioactive compounds of citrus limon for food and health. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 51: 327-345.

**Mueller G.M., Schmit J.P., 2007-** Fungal biodiversity: what do we know ? What canwe predict? Biodiversity and Conservation. 16: 1-5

**Munyenana A., Vonoppen M .,1999-** La pomme de terre au Rwanda :une analyse d'une filière a houlés potentialités. Centre internationale de pomme de terre(CIP).101P

### N

**Naik R., Pawar V., Suryawanshi D., 2013** - In vitro Biofilm Formation of *Pseudomonas fluorescens*, A Promising Technique for Waste Water Treatment, Vol 4 [en ligne], URL [www.ijsr.net](http://www.ijsr.net) (consulté le 07 Avril 2022)

**Ng J. C. K., Perry K. L., 2004** - Transmission of plant viruses by aphid vectors. Molecular Plant Pathology, 5 (5), 505–511.

**Nielsen et al., 1998** - Secondary metabolite and endochitinase-dependent antagonism toward plant-pathogenic microfungi of *Pseudomonas fluorescens* isolates from sugar beet rhizosphere , URL <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9758768/> (consulté le 03 Avril 2022)

**Ndiaye I. 1997** - Etude bio-écologique de la teigne de la pomme de terre,*Phthorimaea operculella* (zeller)(Lepidoptera, Gelechiidae) et moyens de lutte. Thèse De doctorat, université Cheikh Anta Diop de Dakar 86 P.

**Nyabyenda P., 2005** - Les plantes cultivées en région tropicales d'altitude d'Afrique.Ed. Lavoisier. 223p.

### O

**Ortega E., Fernandez, S., 2000** - Manejo integrado de la polilla minadora de la Papa *Phthorimaea operculella*. Fonaiap, Prociandino, Pracipa. Ed. Juan F. Bolaños. IICA. Quito. 40p.

**Oulebsir-Mohandkaci H., Doumandji-Mitiche B., et Behidj N., 2015** - Evaluation de toxicité de *Pseudomonas fluorescens* et *Basillus sphaericus* a l'égard du criquet migrateur *Locusta migratoria* (Linné,1758)Revue « Nature & Technologie ». B- Sciences Agronomiques et Biologiques, n° 12/ Janvier 2015, 100-109

**Orozco-Santos M., Farias-Larios J., 1997-** La cercosporiose noire (*Mycosphaerella fijiensis*) dans l'ouest du Mexique INFOMUSA 5(1): 23-24.

**Ouserir S., Chennaoui N et Benchabane M., 2018** - Effets de la bactérisation par *Pseudomonas fluorescens* et rhizobium *Fabae* sur la stimulation de la nodulation et de la Croissance de la feve *Vicia faba*.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

### P

- Palleroni N.J., 1984. Genus I. *Pseudomonas Migula 1894*.** In : Krieg, N.R., Holt, J.G.(Eds.), Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, vol. I. Williams and Wilkins Co, Baltimore, USA, pp. 141–171.
- Palma L., Munoz D., Berry C., Murillo J., de Escudero I. R., Caballero P., 2014** - Molecular and insecticidal characterization of a novel cry-related protein from *Bacillus thuringiensis* toxic against *Myzus persicae*. *Toxins* 6, 3144–3156. Doi : 10.3390/toxins6113144
- Pelletier Y., Horgan FG., Ponpon J., 2011** - Potato resistance to insects. *The American Journal of Plant Science and Biotechnology*. 5 : 37-52.
- Péchy-Tarr M., Bruck D.J., Maurhofer M., Fischer E., Vogne C., Henkels M.D., Donahue K.M., Grunder J., Loper J.E., Keel C., 2008** - Molecular analysis of a Novel gene cluster encoding an insect toxin in plant-associated strains of *Pseudomonas fluorescens*. *Environ. Microbiol.* 10 :2368-2386.
- Picot L., Abdelmoula, S.M., Merieau A., Leroux P., Cazin L., Orange N., Feuilloley M.G., 2001** - *Pseudomonas fluorescens* as a potential pathogen : Adherence to nerve cells. *Microbes Infect.* 3 :985-995.

### Q

- Qerke E-C., 2006**- Crop losses to pests. *The journal of agricultural science*, 144(1),31-43

### R

- Raj B.T., 1991**- Potato Tuber Moth with Special Reference to India. Ed. Central Potato Research Institute : Shimla. 16P.
- Rajan V.V., Pandian R.S., 2008** - Mosquitocidal properties of the natural isolates of *Pseudomonas fluorescens Migula* (Pseudomonadales : Pseudomonadaceae). *Current Biotica* 2 :220-229.
- Raman K. V., Booth R. H., Palacios M., 1987**- Control of potato tuber moth *Phthorimaea operculella* (Zeller) in rustic potato stores. *Tropical Science*. 27 : 175-194.
- Raman K.V., 1988** - Control of Potato Tuber Moth *Phthorimaea operculella* with Sex Pheromones in Peru. *Agric. Ecosystems Environ.* 85–99.
- Rampersad J., Khan A et Ammons D., 2003**- A *Bacillus thuringiensis* Isolate possessing a spore-associated filament. *Current Microbiology* 47 : 355-357
- Rashid M. H., Khan A., Hossain M. T., Chung Y. R., 2017** - Induction of Systemic resistance against aphids by endophytic *Bacillus velezensis* YC7010 via Expressing phytoalexin deficient4 in arabidopsis. *Front. Plant Sci.* 8 :211. Doi : 10.3389/fpls.2017.00211
- Ravishankar N., Vaishali P., Deepika S., 2015** - In vitro Biofilm Formation of *Pseudomonas fluorescens*, A Promising Technique for Waste Water Treatment. *International Journal Of Science and Research (IJSR)*. 4(2) :1604.
- Raymond B., Johnston P. R et al., 2010** - « *Bacillus thuringiensis* : an impotent Pathogen ? » *Trends in microbiology* 18(5) : 189-194.
- Redecker D., 2002**-New views on fungal evolution based on DNA markers and the fossil. *Research in Microbiology* , 153 : 125-130
- Regev A., Keller M., Strizhov N., Sneh B., Prudovsky E., Zilberstein A., 1996**- Synergistic activity of a *Bacillus thuringiensis* delta-endotoxin and a bacterial endo chitinase against *Spodoptera littoralis* larvae. *Applied and Environmental Microbiology*, 62(10), 3581-3586
- Rochu D., Rothlisberger C., Taupin C., Renault F., Gagnon J., Masson P, 1998** - Purification, molecular characterization and catalytic properties of a *Pseudomonas fluorescens* enzyme having cholinesterase-like activity. *Biochim. Biophys. Acta* 1385 :126-138

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Rodríguez M., Marín A., Torres M., Béjar V., Campos M et Sampedro., 2018** - Aphicidal Activity of Surfactants Produced by *Bacillus atrophaeus* L193. *Front. Microbiol.* 9 :3114.doi : 10.3389/fmicb.2018.03114

**Ruiu L., 2018**- Microbial biopesticides in agroecosystems. *Agronomy* .8(10), 235

### S

**Sabbahi ., 2008**- Utilisation du champignon entomopathogène *Beauveria bassiana* dans une stratégie de gestion phytosanitaire des principaux insectes ravageurs en fraiseraies. Thèse. Québec, Université du Québec, Institut National de la Recherche Scientifique, Doctorat en biologie, 162 p.

**Sacherer P., Défago G., Hass, D., 1994** - Extra cellular protease and phospholipase C are controlled by the global regulatory gene *gacA* in the biocontrol strain *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *FEMS Microbiol. Lett.* 116 :155-160.

**Saddiki S., 1999** - Utilisation du Bradyrhizobium Japonicum comme rhizobactéries favorisant La croissance des plantes chez le maïs. La faculté des Etudes Supérieures de l'Université Laval, P 3.

**Saik J. E., Lacey L. A et Lacey C. M., 1990** - Safety of microbial insecticides to vertebrates – domestic animals and wildlife. In : Safety of microbial insecticides. Laird, M., L. A. Lacey & E. D. Davidson edd. CRC Press Inc., Florida : 116-130.

**Sanchis V.,2016**- La lutte biologique avec *Bacillus thuringiensis*. paroles d'experts-jardin de France 639

**Schallmeyer M., Singh A., Ward O.P., 2004**- Developments in the use of *Bacillus* species for industrial production. *Canadian Journal of Microbiology*; 50: 1-17

**Schmidt C.S., Agostini, F., Simon, A.-M., Whyte, J., Townend, J., Leifert, C., Killham, K., Mullins, C., 2004** - Influence of soil type and pH on the colonisation of Sugar beet seedlings by antagonistic *Pseudomonas* and *Bacillus* strains, and on Their control of Pythium damping-off. *Eur. J. Plant Pathol.* 110 :1025-1046.

**Schnepf E et al., 1998** - *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins *Microbiol Mol Biol Rev*, 62(3) : 775–806.

**Scholte F.J, Knols B.G et Takken W., 2004**-Auto dissemination of the Entomogenic fungus *Metarhizium anisopliae* amongst adults of the malaria vector *Anopheles gambiae* sensu stricto. *Mala .J.3* :45.

**Singer S., 1981**- Potential of *Bacillus Sphaericus* and related spore-forming bacteria for pest control. In: Burgess, H. D. (ed.) *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970-1980*. Academic Press, New York, pp. 283-98.

**Smaili R., Medjouz K., 2017**-la detection serologique et biologique du virus ppv ( SHARKA).Mém.Magister. UNIVERSITE SAAD DAHLAB BLIDA 1.p23

**Soberon M., S. S. Gill, et al.,2009** - « Signaling versus punching hole : How do *Bacillusthuringiensis* toxins kill insect midgut cells ? » *Cellular and molecular life Sciences* 66(8) : 1337-1349.

**Soberon M., Gill S.S., Bravo A., 2011**- Signaling versus punching hole: How do *Bacillus thuringiensis* toxins kill insect midgut cells? *Cellular and Molecular Life Sciences*. 66:8, 1337- 1349

**Someya N., Tsuchiya K., Yoshida T., Noguchi M.T., Sawada H., 2007** - Encapsulation of cabbage seeds in alginate polymer containing the biocontrol Bacterium *Pseudomonas fluorescens* strain LRB3W1 for the control of cabbage Soilborne diseases. *Seed Sci. Technol.* 35 :371-379

**Sponleder M., Zegarra D., Kroschel J., Huber J., Lagnaoui A., 2005** - Assesment of the inactivation time of ph Thoiarea sperelle(POGV) at different intensities of natural inrasiation.CIP Program report.1999-2000.123-128P

**Srivastava A.K., Singh T., Jana T.K., Arora D.K., 2001**- Induced resistance and Control of charcoal rot in *Cicer arietinum* (chickpea) by *Pseudomonas fluorescens*. *Rev. Can. Bot.* 79 :787-795

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**St-Amour P., 2021** - Gestion intégrée des principaux ravageurs et maladies de cultures maraichères au Niger protection de l'aubergine et de la pomme de terre. Disponible sur :<https://docplayer.fr>

**St Leger R.J., 1993**- Biology and mechanisms of insect-cuticle invasion by deuteromycete fungal pathogens, In: Parasites and pathogens of insects. Beckage NE, Thompson SN, (eds), Federici BA (eds.). Academic Press Inc., New York, USA .2 :211-225.

**Stockwell VO., Stack JP., 2007** - Using *Pseudomonas spp.* For integrated biological Control. Phytopathology 97 : 244–249

**Strang T.J.K et Kigawa R., 2006** - Activités de lutte intégrée; catégorisation en fonction de leur applicabilité dans diverses situations, des objets à l'extérieur aux installations conçues dans un but de conservation. Guide à consulter pour la conception des activités de lutte intégrée. « Levels of IPM Control: Matching Conditions to Performance and Effort. » Collection Forum 21, 1–2 , p. 96–116.

**Suman B., Reddy S., Gopal V., Sodimalla T., 2015** - Isolation and Characterization of *Pseudomonas fluorescens* from Rice Rhizospheric Soils of Rangareddy District in Telangana State, Vol. 9(Spl. Edn. 2), p. 339-344

### T

**Tanada Y., 1959**- Microbial Control of Insect Pests. Annual Review of Entomology,4,277-302.  
<https://doi.org/10.1146/annurev.en.04.010159.001425> (consulté le 13 Mai 2022)

**Teysso R., Hance P., Nicand E., Nizou J. Y., Buisson Y., 1998**- Les infections à *Bacillus cereus*: bactériologie, clinique et traitement. Lett Infect, 99-104.

**Thakore Y., 2006**-The biopesticide market for global agriculture use. Ind.Biotechnol., 2, p.194-208.

**Thiam A., Diouf H.R., Kuiseual J., Sarr A., Thiam M., 2004** - Pesticides et Alternatives- Lutte antiacridienne : Guérir c'est bien, mais prévenir c'est mieux. Pesticide Action Network (PAN) Africa, Dakar, 23p

**Tortora G.J.B., RFunki C.L., Case., 2003**- Introduction à la microbiologie édition du Renouveau pédagogique Inc.Pp.945.

**Trivedi T.P., Rajagopal D., 1992**-Distribution, biology, ecology and management of potato tuber moth, *Phthorimaea operculella* (Zeller) (Lepidoptera: Gelechiidae): A review. Tropical Pest Management, 38(3), 279–285. Available at:<http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/09670879209371709>.

**Turpeau E., Hullé M., Chaubet B., 2018** - Encyclop'Aphid : l'encyclopédie des pucerons, URL <https://www6.inrae.fr/encyclopedie-pucerons/Especies/Pucerons/Hyalopterus/H.-pruni> (consulté le 02 juillet 2022)

### V

**Vallet-Geley I., Lemaitre B., 2008**-Bacterial strategies to overcome insect defences.Nat Rev. ;6 : 202-313.

**Vilas-Bôas G T., Lemos M.V.F., 2004**- Diversity of cry genes and genetic characterization of *Bacillus thuringiensis* isolated from Brazil.Canadian journal of microbiology,50(8),605-613.

**Visca P., Imperi F., Lamont I.L., 2007** - Pyoverdine Siderophores : from biogenesis to biosignificance. Trends Microbiol. 15 : 22–30

### W

**Wahengbam J., Bhushan L. S., Patil J. B. et Pathma J., 2020**- Insecticides Derived from Natural Products : Diversity and Potential Applications, pp. 403-437 In Yadav A. N., Singh J., Singh C. et Yadav N., Current Trends in Microbial Biotechnology for Sustainable Agriculture

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

---

**Waterfield NR., Hares M., Yang G., Dowling AJ., Ffrench-Constant RH., 2005** - Potentiation and cellular phenotypes of the insecticidal toxin complexes of *Photorhabdus* bacteria. *Cell Microbiol* 7 : 373–382

**Wang Y., Ma L., Wang J., Ren X., Zhu W., 2002** - A study on system optimum control to diseases and insectpests of summersoybean. *Acta EcologicaSinica* 20 :p 502-509.

**Weber MH., Marahiel MA., 2002**-Coping with the cold: the cold shock response in the Gram-positive soil bacterium *Bacillus subtilis*. *Philos Trans R Soc Lond* 357: 895–907

**Weller D.M., Cook R.J., 1983** - Supprission of take-all of wheat by seed treatments with *Fluorescents pseudomonas* .*Phytopathology* ;73 :463-9

**Weller D.M., 2007.** *Pseudomonas* biocontrol agents of soilborne pathogens : Looking Back over 30 years. *Phytopathology* 97 :250-256.

**Wright R.J., Roberts D., 1987**- Insect control effort with fungi. *Developments in industrial microbiology* 28, p. 77-87

### X

**Xu J., Liu N., Zhang R., 2013** - Other Pests - China. In: P. Giordanengo, C. Vincent, & A. Alyokhin, eds. *Insect Pests of Potato*. 193–226.

### Z

**Zeddám J.L., Vasquez Soberon R.M., Vargas Ramos Z., Lagnaoui A., 2003** –Produccion viral y tasas de aplicacion del granulovirus usado para el control biologico De las polillas de la papa *Phthorimaea operculella* y *Tecia solanivora* (Lepidoptera : Gelechiidae).*Bol. Sanidad Vegetal Plagas*.29, 659-667.

**Zelege W., Tenssay M.A., Alexander E., Bentilson S., 2009**-Isolation and Charactenzation of *Bacillus Thuringiensis* from soils in contrasting agroecological zones of ethiopia. *Biology. Sinet Ethiopian Journal of Science*.32(2)

**Zhao X., Zhang W., Yin X., Su M., Sun C., Li X., Chen K., 2015** - Phenolic Composition and antioxidant properties of different peach [*Prunus persica* (L.) Batsch] Cultivars in China. *International Journal of Molecular Sciences*, 16, 5762–5778.

## ANNEXE



Balance



Bain marie



Agitateur a  
plaque



Agitateur vortex



Microscope  
optique



Loupe binoculaire



Autoclave



Hotte de laboratoire



Etuve



Réfrigérateur



Bec bunsen



Eprouvette graduée



Erlenmeyer



Entonnoir



Micropipette graduée



Portoir



Boites de pétri



Lames et lamelles



Pipettes pasteur



Tube à essai vide