REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DR. YAHIA FARES DE MEDEA
FACULTE DES SCIENCES



Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention de diplôme de Master en sciences agronomiques
Option : phytopathologie

Thème :

Impact de l'extrait de la spiruline *Arthrospira plantensis* sur quelques paramètres morpho-physiologiques et biochimique du haricot vert et sur la réduction des populations du puceron noir de la fève *Aphis Fabae*

Présenté par :

- BOUCHHER Hayet
- TERCHI Feriel

Devant le jury composé de:

-M^me^ F.Z.TCHAKER	M.C.A	Univ. Médéa	Promotrice
-M^me^ F. SAFIDDINE	M.A.A	Univ. Médéa	Co-promotrice
-M^me^ K.CHAOUATI	M.A.A	Univ. Médéa	Présidente
-M^me^ S. ALI KACEM	Doctorante	Univ. Médéa	Examinatrice

Année Universitaire : 2022/2023

Résumé

Impact de l'extrait de la spiruline *Arthrospira platensis* sur quelques paramètres morpho-physiologiques et biochimiques du haricot vert et sur la réduction des populations du puceron noir de la fève *Aphis fabae*

La croissance, le développement et la défense de la plante de haricot vert, Phaseolus vulgaris, nécessitent un large éventail de nutriments. Traditionnellement, ces nutriments étaient principalement fournis par l'utilisation d'engrais chimiques. Cependant, cette méthode a été associée à des conséquences néfastes telles que la dégradation de la biodiversité, la pollution de l'environnement et une détérioration de la qualité des aliments. Par conséquent, il est crucial d'explorer des alternatives aux intrants chimiques, comme les biofertilisants.

Cette étude vise à promouvoir l'utilisation des biofertilisants afin d'améliorer les rendements agricoles. L'objectif de ce travail était d'évaluer le pouvoir bio-stimulant des défenses naturelles de différentes dilutions (dilué 15; dilué 10; dilué 5) de l'extrait de spiruline Spirulina platensis sur les caractéristiques morpho-physiologiques et biochimiques du haricot vert Phaseolus vulgaris, ainsi que sur la réduction de l'abondance du puceron noir Aphis fabae Scopoli, (1763) (Hémiptera / Aphididae).

Les résultats illustrant que l'extrait de spiruline utilisé a une action fertilisante importante sur les différents paramètres de croissance des plants de haricot vert par rapport au témoin. De plus, les résultats des paramètres de croissance révèlent une croissance végétative particulièrement favorable chez les plantes traitées avec la forte dilution de l'extrait de la spiruline par comparaison à celles traitées avec les autres dilutions.

L'analyse des paramètres physio-biochimiques des feuilles de haricot vert Phaseolus vulgaris a révélé que l'application de différentes molécules avait un effet stimulant sur la concentration de chlorophylle, de proline et de sucres totaux par rapport au témoin. L'effet stimulant observé semblait être influencé par la dilution d'extrait appliquée, montrant une tendance croissante selon le gradient suivant : dilution 5% < dilution 10% < dilution 15%.

Les résultats indiquent que l'utilisation de l'extrait de la spiruline *spirulina Plantesis* réduit la gravité des attaques de puceron noir de la fève *Aphis fabae* par rapport au groupe témoin.

Mots clés: Abondance, Biofertilisants, Croissance, *Phaseolus vulgaris*, Qualité phytochimique, *Spirulina Platensis*

Abstract:

Impact of spirulina *Arthrospira platensis* extract on some morpho-physiological and biochemical parameters of green bean and on the reduction of populations of the black bean aphid *Aphis fabae*.

development and defense of the green bean plant, *Phaseolus vulgaris*, requires a wide range of nutrients. Traditionally, these nutrients were mainly provided through the use of chemical fertilizers. However, this method has been associated with adverse consequences such as biodiversity degradation, environmental pollution and deterioration in food quality. Therefore, it is crucial to explore alternatives to chemical inputs, such as bio fertilizers.

This study aims to promote the use of bio fertilizers to improve agricultural yields. The objective of this work was to evaluate the bio-stimulating power of the natural defenses of different dilutions (diluted 15; diluted 10; diluted 5) of the spirulina extract *Spirulina platensis* on the morpho-physiological and biochemical characteristics of green beans. *Phaseolus vulgaris*, as well as on the reduction in the abundance of the black aphid *Aphis fabae Scopoli,* (1763) (Hémiptera / Aphididae)

The results illustrating that the spirulina extract used has a significant fertilizing action on the various growth parameters of green bean plants compared to the control. In addition, the results of the growth parameters reveal a particularly favorable vegetative growth in the plants treated with the high dilution of the spirulina extract compared to those treated with the other dilutions.

The analysis of physio-biochemical parameters of *Phaseolus vulgaris* green bean leaves revealed that the application of different molecules had a stimulating effect on the concentration of chlorophyll, proline and total sugars compared to the control. The stimulating effect observed seemed to be influenced by the dilution of extract applied, showing an increasing trend according to the following gradient: 5% dilution < 10% dilution < 15% dilution.

The results indicate that the use of spirulina *Arthrospira platensis* extract reduces the severity of black bean aphid attacks on *Aphis fabae* compared to the control group.

Keyword: Abundance, Bio fertilizers, Growth, *Phaseolus vulgaris*, phytochemical quality, *Spirulina Platensis*

ملخص

تأثير مستخلص سبيرولينا أرثروسبيرا بلاتنسيس على بعض المعايير المورفولوجية والفيزيوكيميائية للفاصوليا الخضراء، وتقليل من شدة انتشار حشرة المن الأسود أفيس فابي.

يتطلب نمو وتطور دفاع نبات الفاصولياء الخضراء مجموعة واسعة من العناصر الغذائية، التي يتم توفيرها بشكل أساسي باستخدام الأسمدة الكيماوية.

مع ذلك، فقد ارتبطت هذه الطريقة بعواقب ضارة مثل تدهور التنوع البيولوجي والتلوث البيئي وتدهور جودة الغذاء ولهذا ، من الأحسن استكشاف بدائل للمدخلات الكيميائية ، مثل الأسمدة الطبيعية.

تهدف هذه الدراسة إلى تعزيز استخدام الأسمدة الطبيعية لتحسين المحاصيل الزراعية كان الهدف من هذا العمل هو تقييم قوة التحفيز الحيوي للدفاعات الطبيعية باستعمال تخفيفات لمختلفة (المخفف 15 ؛ المخفف 10 ؛ المخفف (5) لمستخلص سبيرولينا سبيرولينا بلاتنسيس على الخصائص المورفولوجية الفيزيولوجية والكيميائية الحيوية للفاصوليا الخضراء ، وكذلك بشأن الحد من وفرة حشرة المن الأسود *Aphis fabae Scopoli (1763) (Hemiptera /Aphididae).*

توضح النتائج أن مستخلص السبيرولينا المستخدم له تأثير قوي كسماد على معايير النمو المختلفة لنبات الفاصوليا الخضراء مقارنة بمجموعة التحكم بالإضافة إلى ذلك ، تكشف نتائج معاملات النمو عن نمو خضري ملائم بشكل خاص في النباتات المعالجة بالتخفيف العالي لمستخلص السبيرولينا مقارنة بتلك المعالجة بالتخفيفات الأخرى.

أظهر تحليل المعالم الفيزيائية والكيميائية لأوراق الفاصوليا الخضراء *Phaseolus vulgaris* للنباتات المعالجة أن تطبيق الجزيئات المختلفة كان له تأثير محفز على تركيز الكلوروفيل والبرولين والسكريات الكلية مقارنة بالنباتات الغير , كما يبدو أن التأثير المحفز الذي لوحظ قد تأثر بتخفيف المستخلص المطبق ، مما يدل على اتجاه متزايد وفقًا معالجة للتدرج التالي: تخفيف 5% 10% تخفيف 15% تخفيف.

تشير النتائج إلى أن استخدام مستخلص نبات السبيرولينا يقلل من شدة انتشار حشرة المن السوداء *Aphis fabae* مقارنة بالمجموعة الشاهدة.

الكلمات المفتاحية: الأسمدة الحيوية، النمو، السماد الطبيعي، الجودة الكيميائية النباتية، سبيرولينا بلاتنسيس. *Phaseolus vulgari*

Remerciement

Avant tout, Nous remercions Dieu le Tout Puissant de nous avoir donné la force, le courage, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience pour pouvoir produire ce modeste travail

On tiens particulièrement à remercier notre promotrice, madame ***TCHAKER Fatma Zohra*** *, maitre de conférences à l'université Yahia Fares de Médéa, pour sa patience, sa disponibilité tout au long de la préparation de ce mémoire , et surtout ses judicieux conseils et ses critiques constructives pour l'élaboration de ce travail.*

Nous sommes très honorées que Mme ***Chaouati Karima*** *maitre assistante à l'université Yahia Fares de Médéa ait accepté la présidence du jury, que Melle* ***ALI kacem sara*** *doctorante assistante à l'université Yahia Fares de Médéa a accepté d'examiner ce mémoire . Leur présence nous apporte une incontestable caution scientifique*

On tient à remercier la directrice et tous l'équipe de de l'Institut Technologique Spécialisé dans la Formation en Agriculture (ITSFA) particulièrement Mr. ***Bouyahya***

Un grand merci au Dr ***Djedilat Lakhdar*** *qu'il nous a donné des aides, des idées et des informations et pour son soutien moral et son encouragement dans ce travail.*

On tient à exprimer mes remerciements les plus profonds à Melle ***skandri mounia***

Pour sa disponibilité son orientation et son encouragement.

Nos remerciements vont également à tous ceux qui ont contribué, de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail.

Dédicaces

A mon très cher père ***Ameur Bouchher***

Tu as toujours été pour moi un exemple du père respectueux, honnête, de la personne méticuleuse, je tiens à honorer l'homme que tu es.

Grâce à toi papa j'ai appris le sens du travail et de la responsabilité. Je voudrais te remercier pour ton amour, ta générosité, ta compréhension... Ton soutien fut une lumière dans tout mon parcours. Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour l'estime et le respect que j'ai toujours eu pour toi.

Ce modeste travail est le fruit de tous les sacrifices que tu as déployés pour mon éducation et ma formation.

Je t'aime papa et j'implore le tout-puissant pour qu'il t'accorde une bonne santé et une vie longue et heureuse.

A mon paradis Maman Khadîdja, tout ce que j'ai n'aurait pas été possible sans toi. Merci de m'aider, de m'encourager et de me pousser vers le bonheur que j'ai atteint. Sans vous, rien n'aurait été possible

À Ma Grand-Mère, A Mes Oncles Et Tantes Et Mes Cousins

À mes très chers frères

À mes très chères sœurs

A mon beau frère

Mes petits-enfants

A mon binôme terchi feriel

A Tous Mes collègues spécialement lami khaoula

A Toutes La Famille « Bouchher»

Bouchher hayet

Dédicaces

A l'aide de dieu tout puissant, qui à tracé le chemin de ma vie,

J'ai pu réaliser ce travail que je dédie :

La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma vie mes très ***chers parents*** *sources de mes joies et secret de ma force, vous serez toujours le modèle : mon père dans ta détermination, ta force et ton honnêteté, ma mère dans ta bonté, ta patience et ton dévouement pour nous. Merci pour vos sacrifices.*

C'est à vous que je dois cette réussite.

Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous ne cessez de faire depuis ma naissance à ce jour.

A mon cher amour, mon bras droit, mon futur, mon mari ***Amine*** *merci de m'avoir soutenu m'avoir supporté tu m'as redonné l'envie d'avancer pas pour la réalisation de mon mémoire seulement mais aussi dans ma vie.*

A ma seule et unique Sœur, ma bien-aimée mon bonheur et ma joie ***Soundous*** *, toujours disponible pour m'écouter à cœur ouvert pleine d'amour.*

A mes très cher frères ***Abdelhak*** *et* ***Sabeur****.*

A mon Binôme ***Hayet*** *merci infiniment pour votre encouragement et votre aide.*

Terchi Feriel

TABLE DES MATIÈRES

RÉSUMÉ
ABSTRACT
ملخص
REMERCIEMENTS
DÉDICACES
TABLE DES MATIÈRES
LISTE DES FIGURES
LISTE DES TABLEAUX
INTRODUCTION GENERALE…….. 14
CHAPITRE I. SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE
I.1. Généralité sur la plante hôte *Phaseolus vulgaris* L.,1753……..... 17
I.1.1. Intérêts et utilisation du haricot……. 17
I.1.2. État phytosanitaire du haricot *Phaseolus vulgaris*…… 19
I.2. Généralité sur le puceron noire de la fève *Aphis fabae* Scopoli, 1763……. 19
I.2.1. Position systématique…… 19
I.2.2. Description morphologique……... 19
I.2.3. Cycle de vie……... 20
I.2.4. Plantes hôtes…… ……. 21
I.2.5. Dégâts…… 21
I.2.5.1. Dégâts directs…… 22
I.2.5.2. Dégâts indirects……. 22
I.2.6. Méthodes de lutte…….. 22
I.3. Nutrition minérale chez les plantes …… 23
I.3.1 Définition de la nutrition minérale …….. 24
I.3.2. Classification des éléments minéraux……... 24
I.3.2.1. Macro-éléments…… 24
I.3.2.2. Micro-éléments ou oligo-éléments…….. 25
II.3.3. Effet de la nutrition sur la santé végétale……. 25
I.4. Généralité sur les Biofertilisants …… 26
I.4.1. Définition ……. 26
I.4.2. Types de Biofertilisants……. 26
I.4.2.1. Biofertilisants à base des bactéries solubilisatrices des éléments minéraux Solubilisateurs de phosphore……. 27
I.4.2.2. Solubilisateurs de potassium et de zinc…… 27
I.4.2.3. Biofertilisants à base des bactéries fixatrices d'azote…... 27
I.4.2.4. Bactéries non-symbiotique: Azotobacter…….. 28
I.4.2.5. Bactéries symbiotique……... 28
I.4.3. Spiruline…… 29
I.4.3.1. Répartition géographique naturelle ……. 29
I.4.3.2. Histoire de la classification ……. 30
I.4.3.4. Cycle biologique…….. 32
I.4.3.5. Situation de la culture de spiruline dans le monde ……. 33
I.4.3.6. Composition de la spiruline……. 35
I.4.3.7. Intérêts et domaine d'utilisation ……. 35
I.4.3.7.1. Aspect thérapeutique……. 36

I.4.3.7.2. Aspect cosmétique……. 36
I.4.3.7.3. Aspect alimentaire chez l'animal……... 36
I.4.3.7.4. Aspect agricole ……. 36
I.4.4. Stimulation de défende naturelle chez les plantes(SDN)……. 37
I.4.4.1. Définition …… 37
I.4.4.2. Atouts et limites des produits de stimulation…….. 38
I.4.4.2.1. Atouts des produits de stimulation…… 38
CHAPITRE II.MATÉRIEL ET MÉTHODES
II.1. Objectif…… 42
II.2. Matériel d'étude biologique…… 42
II.2.1. Obtention du matériel végétale……. 42
II.2.1.1. Présentation de la chambre de culture……. 42
II.2.1.2. Obtention des plantules du haricot vert…… 43
II.2.2. Obtention des populations inféstantes du puceron noir de la fève *Aphis fabae*…… 45
II.2.3. Obtention du biofertilisant…… 46
II.2.3.1. conditions de culture…… 46
II.2.3.2. Milieu de culture…… . 47
II.3. Méthodes d'étude ……..... 48
II.3.1. Préparation de l´extrait aqueux de spiruline Spirulina platensis…... 48
II.3.2. Dispositif expérimental et application des traitements……. 50
II.4. Paramètres étudiés……..... 52
II.4.1. Mesure de la croissance en longueur de la partie aérienne et souterraine …….. . 52
II.4.2. Mesure de la croissance en poids frai de la partie aérienne et souterraine……..... 52
II.4.3. Estimation du nombre de feuilles et de bouquets floraux …… 52
II.4.4. Extraction et quantification de la Proline…….. 52
II.4.5. Extraction et quantification des sucres totaux solubles……. 52
II.4.6. Extraction et quantification de la chlorophylle totale……... 53
II.4.7. Evaluation de l'abondance des formes biologiques d'*Aphis fabae*.. 53
III.1. Analyse statistique…… 54
CHAPITRE III. RESULTATS ……
III.1. Evaluation de l'effet de l'extrait de la spiruline *Spirulina platensis* sur les paramètres morphologiques du haricot vert *Phaseolus vulgaris* L…….. 57
III.1.1. Evolution de l'effet de l'extrait de la spiruline sur la croissance cumulative des plantes du *Phaseolus vulgaris* L……... 57
III.1.2. Evolution de l'effet des extraits de la spiruline sur la croissance racinaire du *Phaseolus vulgaris* L……. 59
III.1.3. Evolution de l'effet des extraits de la spiruline sur la biomasse aérienne du haricot vert …… 59
III.1.4. Evolution de l'effet des extraits de la spiruline sur la biomasse souterraine du haricot vert …… 62
III.1.5. Évolution de l'effet des extraits de la spiruline sur le nombre de feuilles du haricot vert …….. 62

III.1.6. Évolution de l'effet des extraits de la spiruline sur le nombre de bouquets floraux du haricot vert 65

III.2. Effets des extraits de la spiruline sur les paramètres physiologiques du haricot vert *Phaseolus vulgaris* 65

III.2.1. Evaluation de l'effet des extraits de la spiruline sur la quantité de la proline du haricot vert 65

III.2.2. Evaluation de l'effet des extraits de la spiruline sur la quantité des sucres totaux du haricot vert 68

III.2.3. Evaluation de l'effet des extraits de la spiruline sur la concentration en Chlorophylle du haricot vert 68

III.3. Evaluation de l'effet des extraits de la spiruline sur l'abondance du puceron noir de la fève *Aphis fabae* 71

CHAPITRE IV. DISCUSSION GENERALE 75
CONCLUSION 81
REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE 83

LISTE DES ILLUSTRATIONS

Liste des figures

Figure I.1.	Différentes formes d'A*phis fabae*……..	20
Figure I.2.	Cycle biologique d'*Aphis fabae*……..	22
Figure I.3.	*Les éléments essentiels indispensables à la croissance des plantes*	25
Figure I.4.	Spiruline vue au microscope……	31
Figure I.5.	Différents aspect de la spiruline…..……	32
Figure I.6.	Cycle biologique de spiruline……...	33
Figure I.7.	Principales exploitations de micro-algues à travers le monde……..	34
Figure I.8.	Ferme à spiruline Tamanrasset, Algérie……...	35
Figure II.1.	Présentation de la Serre de culture……...	43
Figure II.2.	Présentation de la Serre de culture……...	44
Figure II.3.	Obtention des plants de haricot infesté par *Aphis fabae*……..	45
Figure.II.4.	Protocole de la préparation de l'extrait de la spiruline…….	49
Figure.II.5.	dispositif expérimental des traitements appliqués……	51
Figure.II.6.	Différentes formes d'*Aphis fabae*…….	54
Figure III.1.	Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur la croissance des plants du haricot *Phaseolus vulgaris* L……	58
Figure III.2.	Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur la croissance racinaire des plants du haricot *Phaseolus vulgaris* L….	60
Figure III.3.	Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur le poids de la partie aérienne des plants du haricot *Phaseolus vulgaris* L…….	61
Figure III.4.	Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur le poids de la partie souterraine des plants du haricot *Phaseolus vulgaris* L. ……..	63
Figure III.5.	Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur le poids de la partie souterraine des plants du haricot *Phaseolus vulgaris* L. …….	64
Figure III.6.	Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur le nombre de bouquets floraux des plants du haricot *Phaseolus vulgaris* ……	66
Figure III.7.	Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur la quantité de la proline des plants du haricot *Phaseolus vulgaris*…..	67
Figure III.8.	Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur la quantité des sucres totaux des plants du haricot *Phaseolus vulgaris* ……	69

Figure III.9. Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur la concentration en Chlorophylle des plants du haricot *Phaseolus vulgaris* …… 70

Figure III.10. Evolution temporelle des abondances d'*Aphis fabae* sous l'effet de différentes des extraits de la spiruline……... 72

Figure III.11. Etude comparée de l'effet des extraits de la spiruline sur l'abondance d'*Aphis fabae*……... 73

Liste des tableaux

Tableau I.2. Distribution géographique naturelle de *Spirulina platensis* dans le monde (Sguera, 2008) …….. 30

Tableau II. 1. Composition chimique du milieu Zarrouk (Zarrouk, 1966) ……. 47

Tableau II.2. Composition chimique de la solution A5 (Zarrouk, 1966). ……. 47

Tableau II.3. Composition chimique de la solution B6 (Zarrouk, 1966)…… 48

Introduction Générale

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Au cours des dernières décennies, plusieurs phénomènes ont modifié profondément la physionomie de l'agriculture. La spécialisation, l'intensification et la concentration des productions animales et végétales, soutenues par le développement de moyens de production de type industriel et intrants chimiques, ont contribué à la problèmes environnementaux et sociaux tels que l'érosion des sols, le lessivage des nutriments et la pollution des cours d'eau, le dégagement d'importants gaz à effet de serre (CO_2, CH_4 et N_2O), la diminution de la biodiversité, l'apparition de grandes épidémies de parasites, la contamination par les pesticides, les engrais, et plusieurs autres (Ministère de l'Environnement, 2003; Dion, 2019; Diop *et al.,* 2020).

Les nutriments intégrés aux sols à des doses excédant les besoins agronomiques, tels que l'azote et le phosphore, constituent une source de pollution. La chaux agricole et les engrais minéraux ont été les premiers intrants introduits de façon intensive dans les sols pour favoriser la croissance des plantes, laquelle dépendait autrefois surtout de l'épandage des fumiers produits par les animaux (Ministère de l'Environnement, 2003). Avec les années, l'utilisation accrue de ces engrais a amené une nouvelle source de polluants dans l'environnement. C'est dans ce contexte actuel de prise de conscience des dégâts causés à la santé humaine, animale et celle des écosystèmes par l'utilisation massive d'engrais chimiques de synthèse que de nouvelles stratégies agricoles visant la préservation de la vie des sols tout en maintenant une haute productivité sont développées. Il s'agit de l'agro-écologie. En effet, pour les producteurs, le recours à des techniques agricoles alternatives capables d'améliorer la fertilité des sols et la productivité des cultures demeure primordial (Diop *et al.,* 2020). Les produits naturels communément appelés biofertilisants sont utilisés comme engrais biologique pour une agriculture durable présentant un impact environnemental et sanitaire positif tout en préservant la biodiversité naturelle (Aadel, 2017 *in* Diop *et al.,* 2020). De plus, ils répondent aux besoins nutritionnels des cultures en fournissant tous les éléments nécessaires à leur croissance (Nanan, 2016 *in* Diop *et al.,* 2020) et a leur défense (Safiddine *et al.,* 2019).

Parmi les biofertilisants, les cyanobactéries ont un potentiel important en tant que biofertilisants. Elles suscitent un intérêt scientifique et agronomique considérable, car elles jouent un rôle crucial dans l'amélioration de la qualité du sol et le développement des plantes (FAO, 1981 *in* Bouchenafa, 2020). Parmi ces cyanobactéries, la spiruline (*Spirulina platensis*) se distingue particulièrement. La spiruline est reconnue pour sa richesse en protéines, en vitamines, en substances minérales et en phycocyanine (Bluden *et al.,* 1997; Belay *et al.,* 1993; Bouchenafa, 2020). Plusieurs auteurs ont révélé les avantages d'extraits de la spiruline sur les plantes tel que l'amélioration de la performance des cultures et le rendement et l'amélioration de la résistance au stress biotique et abiotique (Jean et *al*., 2015 *in* Bouchenafa, 2020).

Dans cette optique, l'étude abordée a pour objectif de promouvoir les cultures biologiques en élaborant un protocole biologique approprié. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité de divers types de biofertilisants à base d'extrait de *Spirulina Platensis* pour améliorer la croissance des plants de haricots verts *Phaseolus vulgaris* et stimuler leurs activités métaboliques. De plus, nous souhaitons examiner l'impact de ces biofertilisants sur la dynamique populationnelle du puceron noir de la fève *Aphis fabae* Scopoli, 1763.

Chapitre I

CHAPITRE I
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Généralité sur la plante hôte *Phaseolus vulgaris* L., 1753

Selon la répartition géographique, la plupart des espèces appartenant au genre Phaseolus sont originaire d'Amérique centrale et d'Amérique du Sud (Andes) (Mansouri, 2021). Il fut par la suite introduit en Europe et en Afrique par les espagnols et les portugais au 16ème siècle (Nyabyenda, 2005 *in* Mansouri, 2021). Le genre Phaseolus est grand, comprenant environ 80 espèces cultivées et sauvages, mais P. vulgaris est l'espèce la plus cultivée (Porch *et al.*, 2013 *in* Mansouri, 2021). La culture de cette légumineuse a pris une très grande importance en raison de la place qu'e**l** e occupe dans l'alimentation humaine. Elle est utilisée soit pour sa gousse (consommation en vert), soit pour ses graines à l'état frais ou sec ou encore pour la conserve (Laumonier, 1979). Les graines du haricot sont particulièrement riches en protéines. Toutes les espèces du genre ***Phaseolus*** sont diploïdes et ont 22 chromosomes (2n = 22), à l'exception de quelques-unes qui ont subi une réduction aneuploïde à 20 chromosomes (Goust, 2003).

I.1.1. Intérêts et utilisation du haricot

i. Sur le plan agronomique

Sur le plan agronomique et en tant que légumineuse, le haricot peut s'intégrer dans les systèmes de production biologique qui utilisent la bio-fertilisation. En effet, sa culture laisse des reliquats azotés. A cet effet, il est utilisé avec d'autres légumineuses dans les systèmes des rotations et d'associations culturales avec d'autres cultures notamment les céréales dans le but d'assurer la mei**l** eure efficacité d'utilisation des ressources en azote (Canado *et al.*, 2003 *in* Mansouri, 2021). Le haricot en tant que légumineuse; constitue un bon précédant cultural dans les systèmes de rotation, il peut être avantageusement cultivé après les Solanacées, les Cucurbitacées et les Brassicacées et il offre un meilleur rendement s'il succède à l'orge, le blé ou le maïs (Canado et *al* , 2003). Le haricot possède un système de fixation symbiotique de l'azote atmosphérique très efficace, du fait qu'il associe cette fixation à la photosynthèse (Pochon, 1981). Il favorise également le développement des mycorhizes, qui améliorent l'absorption du phosphore par les plantes en cas de carence, et augmente l'infection des autres plantes par ces micro-organismes (Mozafar *et al.*, 2000; Jansa *et al.*, 2002). De plus, il fournit une quantité importante de résidus fermentescibles, qui favorisent l'activité microbienne du sol (Abdenour, 1982). Enfin, il contribue efficacement à rompre le cycle des maladies et des ravageurs des céréales à paille.

ii. Sur le plan nutritionnel

Le haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) dispose d'exce**l** entes qualités nutritionne**l** es, notamment une teneur élevée en protéines, qui est en fait un aliment de choix en complément des aliments riches en amidon (riz, tubercules…). Dans la famille des

Papilionacées, le haricot commun (*Phaseolus vulgaris* L.) est le plus consommé dans le monde. Il dispose d'une haute qualité nutritionnelle. Les protéines provenant du haricot présentent une forte teneur en lysine qui est relativement déficiente dans le maïs, le manioc ou le riz. Le haricot est également moins riche en matière grasse et exempt de cholestérol et réduit ainsi les risques de maladies comme le cancer, le diabète, les maladies cardiaques. La consommation régulière de cette légumineuse est ainsi largement préconisée par l'OMS (Leterne et Muñoz, 2002 *in* Razafintsalama, 2018). Selon les estimations de la FAO en 2006, la production mondiale de haricot était de 11 à 12 millions de tonnes (Beebe *et al.*, 2013 *in* Razafintsalama, 2018).

iii. Sur le plan économique

Sur le plan économique le haricot constitue un aliment de base pour près de 500 millions d'êtres humains d'une part, grâce à sa richesse en protéines (25% environ) et d'autre part en oligo-éléments (potassium, magnésium, de fer, cuivre, du phosphore, du zinc, de la thiamine, de la niacine et de la vitamine B6 (Pujola *et al.*, 2007 *in* Chekkal et *al*., 2015).

Durant la période allant de 1994 à 2004 la production mondiale de haricot sec a connu des fluctuations mais la tendance est légèrement à la hausse. Pendant cette période, la production a varié d'un plancher de 15,5 millions de tonnes à un sommet de 18,9 millions de tonnes (FAO, 2004 *in* Hamdani, 2012).

En 2006, la production mondiale de haricots, selon les statistiques publiées par la FAO, s'est élevée à 28,6 millions de tonnes, dont 19,6 de haricots secs (68 %), 6,4 de haricots frais (22 %) et 2,6 de haricots verts (9 %) (https://www.techno-science.net/glossaire-definition/Haricot-page-7.html). Elle s'élevait à près de 30 millions d'hectares de haricot sec 2 en 2012, soit environ 24 millions de tonnes produites, et 1,5 million d'hectares de haricot frais, soit une production d'environ 21 millions de tonnes. Les principaux producteurs de haricot sec sont l'Inde (3,7 millions de tonnes en 2012) et le Brésil (2,7 millions de tonnes en 2012). Concernant les haricots verts, le premier producteur mondial est de loin la Chine, qui produisait plus de 16 millions de tonnes en 2012, soit 75% du total ! Face à ces "géants" mondiaux du haricot, la production européenne est largement en retrait. En effet, l'ensemble des pays européens ont produit seulement 500 000 tonnes de haricot sec et 800 000 tonnes de haricot frais en 2012. L'Albanie et l'Espagne sont respectivement les premiers producteurs de haricots secs et de haricots verts. La France reste l'un des producteurs principaux en Europe, avec 3 600 hectares pour 7 400 tonnes produites en haricot sec, et 4 700 hectares pour 70 500 tonnes de haricots frais (FAO, 2012 *in* Dutartre, 2015).

La production de semences suit globalement les mêmes tendances que la production de graines pour la consommation. Ainsi, le marché est dominé par l'Inde et le Brésil, qui produisaient respectivement 273 000 et 121 600 tonnes de semences en 2012. Viennent ensuite la Chine, le Mexique et les Etats-Unis. Les pays européens ont produit 36 500 tonnes de semences en 2012 (FAO, 2012 *in* Dutartre, 2015).

I.1.2. État phytosanitaire du haricot *Phaseolus vulgaris*

De nombreux bioagresseurs représentent une menace pour les cultures de haricots, ainsi que pour les graines entreposées, notamment les gastéropodes, les insectes, les acariens et les nématodes. L'impact de ces bioagresseurs varie considérablement en fonction de la gravité des symptômes qu'ils provoquent sur la plante hôte. Les maladies et les ravageurs sont extrêmement variés, parmi lesquels les plus importants sont le flétrissement bactérien, la rouille, les maladies à sclérose, l'acarien jaune, la pyrale du maïs (*Ostrinia nubilalis*), le puceron des racines (*Trifidaphis phaseoli*), le puceron noir de la fève (*Aphis fabae*), etc. (Hamdani, 2012; Tahri, 2018).

I.2. Généralité sur le puceron noire de la fève *Aphis fabae* Scopoli, 1763

Le puceron noir de la fève, *Aphis fabae*, est un insecte suceur-piqueur qui se regroupe en colonies denses à l'extrémité des plantes de fèves. Il entraîne le flétrissement, le dessèchement et la chute des feuilles. Il cible en particulier les nouvelles pousses, les jeunes feuilles et même les gousses. Si aucune mesure n'est prise rapidement, il peut entraîner des pertes de rendement importantes en raison de la déshydratation qu'il provoque en se nourrissant de la sève (Boukemaya et Messaoudi, 2015).

I.2.1. Position systématique

D'après Balachowesky et Mesnil (1934), Remaudiere et *al* (1997) la classification *Aphis fabae* est la suivante:

- Règne : Animal
- Embranchement : Arthropodes
- Sous embranchement : Mandibulates
- Classe : Insectes
- Sous-classe : Ptérygotes
- Section : Neoptères
- Super ordre : Hémiptéroïdes
- Ordre : Homoptères
- Superfamille : Aphidoidea
- Famille : Aphididea
- Genre : *Aphis*
- Espèces : *Aphis fabae* Scopoli, 1763

I.2.2. Description morphologique

L'adulte aptère mesure environ 2 mm, trapu, noir mat à verdâtre, avec trois paires de tâches blanches cireuses sur l'abdomen (Hu**l** e et *al*., 1999). Le tégument est d'aspect velouté ou légèrement pruneaux. Les antennes sont courtes, ne dépassent jamais les deux

tiers de la longueur du corps. Les cornicules sont courtes de 0,25 à 0, 35mm, entièrement noires, de forme cylindrique, dépourvues de gouttière terminale et légèrement rétrécies à leurs extrémités (Saharaoui, 1999). La cauda est de couleur noire, conique et épaisse, ne dépassant guère la moitié de la longueur des cornicules.

La **forme ailée** est plus élancée que la forme aptère il mesure entre 1,6 et 2,3 mm de long (Benoufella Kitous, 2005). La tête et le thorax sont noirs et bril ants, l'abdomen est noir, parfois à reflet verdâtre ou vert épinard sombre (Balachowsky et Mesnil, 1934). Les cornicules sont noires, de longueur moyenne et peu épaisses et la cauda est sombre, arrondie à l'extrémité (Autrique et Ntahimpera, 1994).

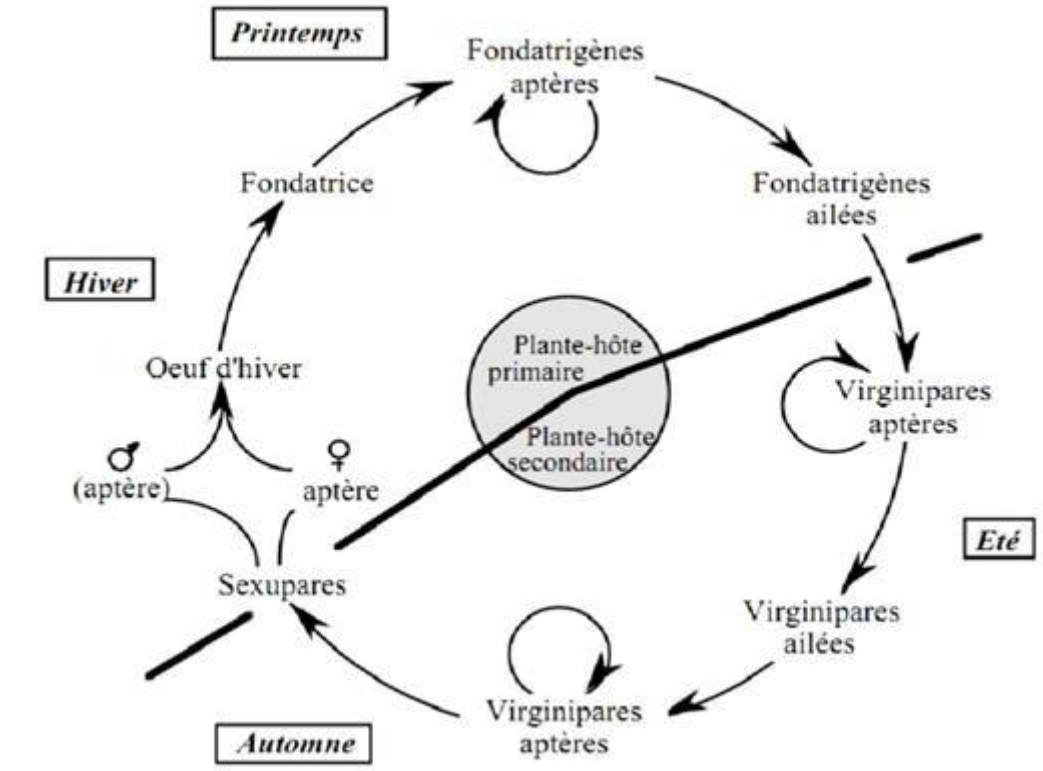


Figure I.1. Différentes formes d'A*phis fabae* (Godinet *et al.,* 2002)
A: Adulte ailé; b:Adulte aptère

I.2.3. Cycle de vie

Selon Hulle et *al*. (1999), *A. fabae* est holocyclique diœcique. Cette espèce alterne donc entre son hôte primaire, en général le Fusain, et son hôte secondaire, des plantes herbacées appartenant à de très nombreuses familles botaniques. Dans les conditions défavorables de l'hiver, la plupart des pucerons hivernent sous forme d'œufs sur les plantes vivaces ou dans les débris végétaux (Eaton, 2009 *in* Bakroune, 2012). Au printemps, les œufs éclosent et donnent naissance à des femel es qui se reproduisent par parthénogénèse. Les fondatrices sont vivipares et sont à l'origine d'une succession de générations composées de femelles parthénogénétiques appelées fondatrigènes qui se développent au cours du printemps jusqu'au début de l'été sur l'hôte primaire. Les fondatrigènes ailées quittent la plante sur laquelle elles se sont développées et vont s'alimenter sur d'autres végétaux de la même espèce ou d'espèces différentes, sur lesquels el es engendrent plusieurs générations d'aptères et d'ailés parthénogénétiques appelées virginogènes (Hul e et *al.*, 1998). La capacité de multiplication est très élevée entre 40 à 100 descendants par femelle, ce qui équivaut à 3 à 10 pucerons par jour pendant plusieurs semaines (Kos et *al*., 2008). En automne, la diminution de la température, de la durée de jour et de la qualité de la plante induit le retour des ailés vers leur hôte primaire et l'apparition de femel es

capables d'engendrer des sexués. Ces sexupares produisent des mâles (andropares) ou des femelles (gynopares) ou les deux (amphotères) (Labrie, 2010). Généralement, le mâle est ailé et la femel e aptère. Cette dernière pond l'œuf d'hiver. Ces œufs éclosent au printemps suivant et le cycle recommence (Klass., 2009 *in* Bakroune, 2012).



s

Figure I.2. Cycle biologique d'*Aphis fabae* (Aphidinae, Aphidini) (Bakroune, 2012)

I.2.4. Plantes hôtes

Aphis fabae est une espèce très polyphage, plus de 200 plantes hôtes partagé entre hôtes primaires et hôtes secondaires. Les hôtes primaires sont principalement des arbustes : Fusain d'Europe (*Euonymus europaeus*), la boule de neige (*Viburnumopulus*) et seringat (*Philadelphus coronarius*). Tandis que ses hôtes secondaires peuvent appartenir aux Fabacées, Chénopodiacées, Astéracées, Brassicacées, Solanacées, ainsi que diverses cultures florales et ornementales (Hulle *et al*. 1999).

I.2.5. Dégâts

D'après Christel e (2007) et Eaton (2009), les pertes que causent les pucerons sont de types directs ou indirects:

I.2.5.1. Dégâts directs

Les pucerons sont responsables de dommages significatifs aux cultures en se nourrissant directement des vaisseaux criblés du phloème, où ils prélèvent la sève phloemienne riche en sucres, composés azotés et autres nutriments essentiels à leur développement et leur reproduction (Harmel et al., 2008; Dinant et al., 2010). Les piqûres alimentaires des pucerons sont également irritantes et toxiques pour la plante, ce qui entraîne la formation de galles. Cela se traduit par la déformation des feuilles ou des fruits, entraînant ainsi une perte de rendement (Christelle, 2007).

I.2.5.2. Dégâts indirects

- **Production de miellat et fumagine:** Les résidus non assimilés issus de la digestion de la sève, riches en sucre, sont excrétés sur la plante sous forme de miellat. Cette substance peut perturber la capacité de la plante à effectuer la photosynthèse, soit en obstruant directement les stomates, soit en favorisant indirectement la croissance de champignons saprophytes. Ces champignons provoquent la formation de fumagines qui affectent la respiration et l'absorption de la chlorophylle, ou qui souillent les parties comestibles de la plante (par exemple, les fruits), les rendant ainsi impropres à la commercialisation (Christelle, 2007; Giordanengo *et al.*, 2010; Fekir, 2014).

- **Transmission virale:** En se déplaçant d'une plante à une autre, les pucerons créent des contacts indirects entre les végétaux distants et immobiles (Brault et *al.*, 2010). Cette caractéristique a été efficacement exploitée par les virus des plantes, 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.

I.2.6. Méthodes de lutte

i. Lutte préventive

Cette approche de lutte contre les ravageurs repose sur l'adoption de diverses pratiques culturales et de mesures d'entretien de la culture. Il s'agit de déterminer soigneusement la date de semis et de récolte afin de garantir une période optimale pour éviter les infestations de ravageurs. Une autre mesure importante consiste à enfouir les plantes pendant l'hiver, car e**l** es peuvent abriter des œufs de ravageurs. De plus, il est crucial de détruire les plantes sauvages qui pourraient héberger des espèces nuisibles aux plantes cultivées au début du printemps. Enfin, une rotation des cultures appropriée peut être mise en place, incluant une plante attractive pour les pucerons et favorisant des associations bénéfiques entre les différentes cultures (Wang *et al.*, 2000 ; Lambert, 2005).

ii. Lutte chimique

Pour réduire les dégâts d'insectes, l'utilisation des pesticides reste le moyen le plus largement utilisé et le plus efficace (Ferrero, 2009). Selon Hulle et *al.* (1999 *in* Benramdane, 2015): L'empêchement d'acquisition du virus lors de piqûres d'essai par l'utilisation d'huiles végétales non phytotoxiques. Le choix des produits: ils doivent être avant tout sélectifs afin de préserver la faune utile. Ces produits doivent aussi être dotés d'un effet de choc élevé, et d'une bonne rémanence, en plus ils doivent appartenir à des familles chimiques différentes afin d'éviter ou de retarder le phénomène de résistance. Il est préférable que le choix porte sur des produits systémiques qui touchent même les pucerons protégés par l'enroulement des feuilles.

iii. Lutte physique

Cette méthode consiste à engendrer une élévation de la température qui perturbe les pucerons sans endommager la plante. Le choc thermique est provoqué en fermant les ouvertures de la serre pendant quelques heures (3 heures) et s'avère très efficace. Dans ces conditions, la température peut atteindre jusqu'à 45°C, ce qui peut entraîner la mort d'environ 90% des jeunes populations de pucerons, sans causer de dommages à la culture (Jourdheuil, 1979 *in* Abdelkader et ouadah, 2016).

iv. Lutte Biologique

Ce fait par l'emploi de plusieurs ennemis naturels tels que les coccinelles (Coleoptera, Coccinellidae) qui sont très voraces consommant jusqu'à 100 pucerons par jour, les chrysopes (Neuroptera, Chrysopidae) qui ont des larves qui peuvent chacune manger jusqu'à 500 puceron par jour, les larves de syrphes (Diptera, Syrphidae) qui dévore chaque jour 40 à 50 pucerons (Georcret et Scheromm ,1995 *in* Ben Hamza et Laib, 2020 *in* Zemmouri et Belhadj, 2022). Les parasitoïdes dont les larves se développent dans les pucerons et vivent au détriment de ces derniers, tels que les guêpes Pompilidae, les Hyménoptères Chrysididae qui peuvent parasiter jusqu'à 250 pucerons (Leclant, 1999 *in* Zemmouri et Belhadj, 2022).

I.3. Nutrition minérale chez les plantes

Pour vivre, se développer et survivre à toutes menaces, la plante a besoins de nutriments très variés qui présentent à la fois sa source de matières et de l'énergie (Tourte *et al.*, 2005 *in* Kemiha et Bounit, 2008). Il s'agit des besoins nutritifs qui peuvent être sous deux aspects: une nutrition organique et une nutrition minérale qui rend compte le mode de l'acquisition des éléments minéraux prélevés dans le sol (Hopkins, 2003) et qui peuvent être partager entre substances principales et substances à l'état de trace en fonction des quantités liées au besoin des plantes (Billieffert et Perraud, 2003 *in* Kemiha et Bounit, 2008).

I.3.1 Définition de la nutrition minérale

La nutrition végétale peut être définie comme l'ensemble des processus qui permettent aux végétaux d'absorber dans le milieu ambiant et d'assimiler les éléments nutritifs (minéraux et non minéraux) nécessaires à leurs différentes fonctions physiologiques : croissance, développement, reproduction... (Hopkins, 2003).

La nutrition fait appel à des processus d'absorption de gaz et de solutions minérales soit directement dans l'eau pour les végétaux inférieurs et les plantes aquatiques, soit dans le cas des végétaux vasculaires dans la solution nutritive du sol par les racines ou dans l'air par les feuilles (Hamdani, 2020).

I.3.2. Classification des éléments minéraux

Chez la plupart des plantes, un nombre relativement faible de nutriments suffit à l'accomplissement du cycle de développement. Les éléments requis pour assurer la croissance et le développement des plantes sont considérés comme étant essentiels. Selon Epstein (1972 *in* Kemiha et Bounit, 2008), un élément est dit essentiel si (i) en son absence la plante est incapable d'accomplir son cycle complet de développement, ou (ii) les éléments fait partie d'un constituant ou d'un métabolite essentiel (Hopkins, 2003). Ces éléments sont classés, selon les quantités absorbées, en macroéléments principaux : azote(N), phosphore(P), potassium(K) ; et secondaires: calcium(Ca), magnésium(Mg), soufre(S), sodium(Na), et en microéléments comme le fer, me cuivre, le molybdène…

I.3.2.1. Macro-éléments

Ce groupe est constitué des minéraux les plus abondants dans les cellules végétales et requis en grandes quantités par la plante afin d'assurer sa croissance et son développement. Les macroéléments sont carbone (C), l'oxygène (O), l'hydrogène (H), l'azote (N), le potassium (K), le phosphore (P), le calcium (Ca), le magnésium (Mg) et le soufre (S), présents à des doses de 10-3 à 10-2 gramme par gramme de tissus secs, à l'exception des quatre constituants fondamentaux, à savoir l'oxygène, le carbone, l'hydrogène et l'azote, qui sont présents en proportions relativement élevées. À l'échelle de la plante entière, les prélèvements peuvent atteindre des quantités de l'ordre de 100 kg/ha (parfois 300 kg/ha pour le potassium). Les quantités prélevées varient d'un élément à l'autre, selon la plante, et sont réparties de manière très inégale entre les différents organes végétaux (Mazliak et Martin, 1995 *in* Kemiha et Bounit, 2008).

I.3.2.2. Micro-éléments ou oligo-éléments

Les micro-éléments, également appelés "éléments traces", sont des éléments essentiels dont les plantes ont besoin en concentrations relativement faibles. Ils jouent un rôle crucial dans la santé, la croissance et de nombreuses fonctions vitales de la plante. Parmi les micro-éléments figurent le bore (B), le cuivre (Cu), le fer (Fe), le manganèse (Mn), le molybdène (Mo), le sodium (Na), le chlore (Cl) et le zinc (Zn). Ces éléments sont présents à des concentrations de 1000 à 10 000 fois inférieures à celles des macro-éléments (Mazliak et Martin, 1995 *in* Kemiha et Bounit, 2008). Selon Skiredj (2005), les valeurs typiquement relevées pour ces éléments dans les analyses de végétaux sont les suivantes : Fer : 40-250 ppm (MS), Bore: 10-500 ppm, Manganèse: 15-400 ppm, Zinc : 5-200 ppm, Cuivre : 5-30 ppm, Chlore : 5-20 ppm et Molybdène : moins de 1 ppm.

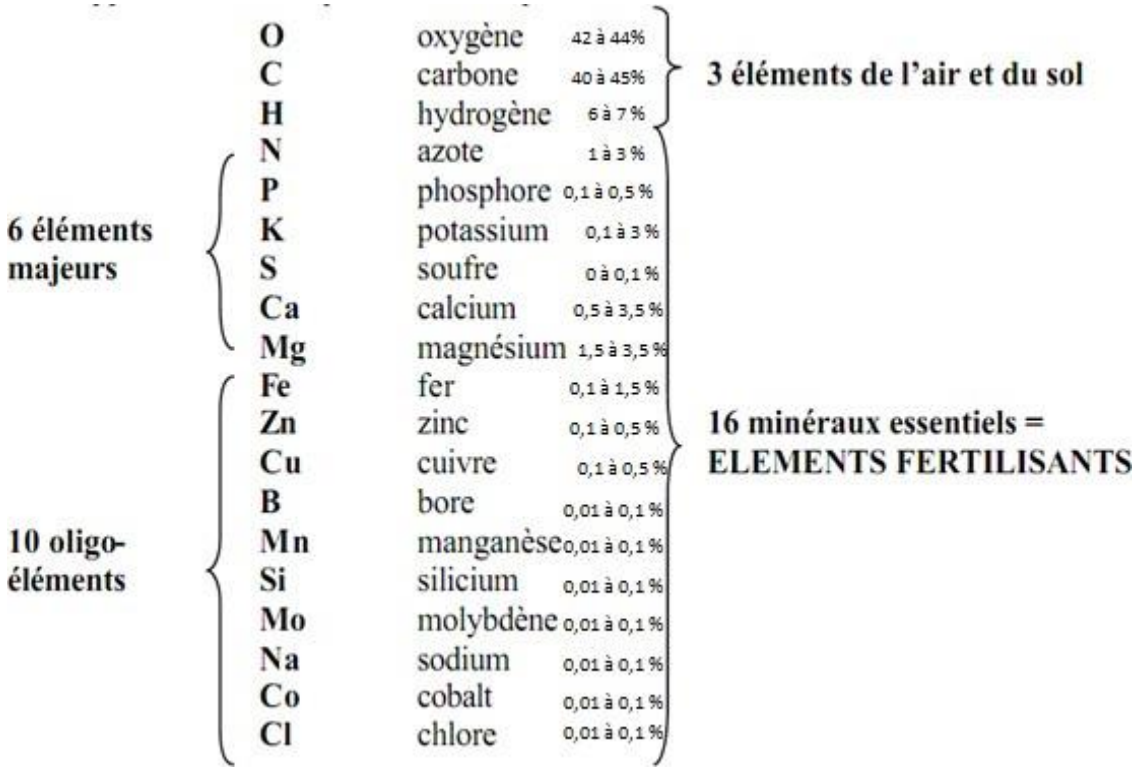


Figure I.3. Les éléments essentiels indispensables à la croissance des plantes (Osman et Milthorpe, 1971.)

II.3.3. Effet de la nutrition sur la santé végétale

La littérature notifie que les plantes fertilisées avec des matières organiques présentent peu de problèmes liés aux ravageurs et aux maladies (Chaichi, 2018). Selon Chaboussou (1981 *in* Bouchenafa, 2020), la sensibilité d'une plante cultivée par rapport aux bioagresseurs dépend de son état nutritionnel. Les ravageurs et les maladies n'attaqueront pas une plante saine. La santé d'une plante est directement liée à son équilibre interne qui est en perpétuelle mutation. Selon le même auteur, les ravageurs et les maladies n'attaquent pas toutes les plantes, mais uniquement celle qui pourraient servir

d'aliment à l'insecte ou au pathogène. Le panel des facteurs qui affectent l'équilibre interne et le fonctionnement d'une plante peut diminuer ou accroitre sa sensibilité aux attaques des ravageurs et des maladies. Ceci pourrait être des facteurs liés à la plante (adaptation au climat local, âge de la plante, greffage) à l'environnement (climat, lumière, température, humidité, vent) ou aux pratiques de gestion (fertilité de sol, moment de la plantation, espacement, labour, type d'engrais utilisé) (Chaichi, 2018).

I.4. Généralité sur les Biofertilisants

I.4.1. Définition

Les biofertilisants sont définis comme des préparations contenant des cellules vivantes ou des cellules latentes de souches de micro-organismes efficaces qui aident à l'absorption des éléments minéraux par les plantes cultivées suite à leurs interactions dans la rhizosphère lorsqu'ils sont appliqués sur les semences ou dans le sol (Mishra *et al.,* 2013 *in* Assemien, 2018). Les biofertilisants accélèrent certains processus microbiens dans le sol qui contribuent à augmenter la disponibilité des éléments nutritifs sous une forme facilement assimilable par les plantes (Vessey, 2003 *in* Assemien, 2018).

D'après Kannaiyan, (2002), le biofertilisant est largement reconnu comme étant une source prometteuse, respectueuse de l'environnement, renouvelable et rentable en termes d'apport d'éléments nutritifs pour les plantes, en complément des engrais chimiques. De plus, il peut être utilisé pour dépolluer les sols contaminés. Les biofertilisants sont devenus une solution pour remédier à la fertilité des sols pollués par le chrome et ainsi atténuer leurs effets nocifs. L'utilisation d'eau polluée par des métaux toxiques pour l'irrigation affecte fortement la productivité des cultures. Dans cette optique, l'assainissement des sols pollués à l'aide de biofertilisants représente une approche cruciale et significative pour préserver l'environnement de manière durable (Kannaiyan, 2002). Dans le même contexte, les travaux de recherche menés par Hanef *et al.* (2014) et Ahmad *et al.* (2015) ont montré que les biofertilisants peuvent être utilisés pour favoriser la croissance des plantes et améliorer leur tolérance au cadmium (Cd). En effet, ces études ont révélé que les biofertilisants permettaient d'obtenir des concentrations accrues de proline et de composés phénoliques, ce qui suggère un rôle clé de ces derniers dans l'amélioration de la croissance et du rendement des plantes. De plus, les biofertilisants peuvent être utilisés pour restaurer la santé des sols, y compris sur des sites fortement contaminés.

I.4.2. Types de Biofertilisants

Plusieurs types de biofertilisants peuvent être différenciés, en fonction des micro-organismes qui les composent. Actuellement, les micro-organismes identifiés comme ayant les propriétés les plus intéressantes pour une utilisation agricole sont les suivants :

I.4.2.1. Biofertilisants à base des bactéries solubilisatrices des éléments minéraux Solubilisateurs de phosphore

Le phosphore (P) est un macronutriment majeur du sol qui joue un rôle crucial dans la croissance et le développement des plantes, en participant à de nombreuses fonctions biologiques fondamentales (Chibani, 2017). Dans le sol, la solubilisation du phosphore est principalement assurée par les bactéries solubilisatrices de phosphore (BSP) (*Pseudomonas putida, Bacillus megaterium, Rhodococcus, Arthrobacter, Serratia, Chryseobacterium, Gordonia, Phyllobacterium, Delftia sp., Azotobacter , Xanthomonas, Enterobacter, Pantoea,* et *Klebsiella*.) et dans une moindre mesure par des champignons solubilisateurs de phosphore (CSP) (*Aspergillus, Penicillium* et *Trichoderma*) (Khan *et al.,* 2009; Chibani, 2017). Il est estimé que les bactéries et les champignons contribuent à satisfaire entre 20 et 25 % des besoins en phosphore des plantes. En outre, certains actinomycètes sont connus pour leur capacité à solubiliser le phosphore et sont de plus en plus appréciés pour leur capacité à survivre dans des environnements extrêmes (Kumar *et al.,* 2018).

I.4.2.2. Solubilisateurs de potassium et de zinc

Le potassium (K) est un macronutriment essentiel pour le développement des plantes. Bien qu'il soit présent en abondance dans le sol, seuls 1 à 2% se trouvent sous une forme assimilable pour les plantes (Zörb *et al.,* 2014). Les bactéries, les champignons et les actinomycètes peuvent dissoudre le potassium dans le sol en utilisant diverses réactions chimiques (Sattar *et al.,* 2018). Selon des expériences menées sur le riz et le concombre, *Bacillus licheniformis, Pseudomonas azotoformans* et *Enterobacter hormaechei* ont été identifiés comme étant parmi les solubilisateurs de potassium les plus efficaces (Meena *et al.,* 2015). Selon Sheraz Mahdi *et al.* (2010), le zinc (Zn) peut être dissous par différentes espèces microbiennes, notamment *Bacillus subtilis, Thiobacillus thioxidans* et *Saccharomyces sp.* L'utilisation de ces micro-organismes en tant que biofertilisants peut augmenter la disponibilité du zinc sous une forme assimilable par les plantes.

I.4.2.3. Biofertilisants à base des bactéries fixatrices d'azote

Certaines souches bactériennes ont la capacité de fixer l'azote atmosphérique (N) et de le restituer sous des formes assimilables par les plantes, telles que l'ammoniac et le nitrate, par un processus appelé fixation biologique de l'azote (Peoples *et al.,* 2000). Cette méthode permet l'utilisation de certains micro-organismes en tant que biofertilisants pour remplacer les engrais azotés minéraux, aidant ainsi à préserver les réserves d'azote dans le sol de manière naturelle (Peoples et Craswell, 2021). Les bactéries fixatrices d'azote sont des bactéries qui peuvent exister soit sous forme libre (seules ou en symbiose avec d'autres bactéries du sol) (*Azobacter* et *Azospirillium*), soit en symbiose avec des plantes (*Rhizobium, Frankia* et *Azolla*) tout en assurant la fixation de l'azote atmosphérique (N2).

I.4.2.4. Bactéries non-symbiotique: Azotobacter

Les Azotobacter fixent mieux l'azote atmosphérique dans les sols où les apports d'azote minéral sont réduits. Les souches d'Azotobacter offrent de nombreux autres effets bénéfiques qui stimulent la croissance et améliorent l'absorption des nutriments par les plantes (Jnawali *et al.,* 2015). Les propriétés physico-chimiques des habitats ont une influence considérable sur l'importance de la fixation d'azote non symbiotique par les Azotobacter (Dommergues, Mangenot, 1970 *in* Zombre, 2006). Les facteurs abiotiques peuvent altérer la composition des communautés microbiennes spécifiques et leur potentiel biochimique (Alexander, 1977 *in* Zombre, 2006). Les Azotobacter sont capables de fixer au moins 10 μg d'azote par gramme de glucose consommé, mais ils ont besoin de sources organiques importantes pour le carbone. Parmi les espèces d'Azotobacter, Azotobacter chroococcum est l'espèce dominante dans les sols cultivés, capable de fixer le N2 à partir d'une source de carbone dans les milieux de culture, avec une dose variant de 2 à 15 mg N2/g de sol (Amutha *et al.,* 2014 *in* Alamri *et al.,* 2015).

I.4.2.5. Bactéries symbiotique

I.4.2.5.1. Azospirillum

Parmi les bactéries fixatrices d'azote associatives, *Azospirillum* a été l'une des premières à être découverte et est maintenant l'une des mieux caractérisées. La capacité d'*Azospirillum* à stimuler la croissance des plantes est attribuée à divers mécanismes, notamment la résistance aux maladies et la tolérance à la sécheresse. Plus précisément, la fixation biologique d'azote (FBA) est considérée comme l'un des mécanismes clés qui favorisent la croissance des plantes grâce à *Azospirillum* (Van Dommelen *et al.,* 2007).

I.4.2.5.2. Rhizobia

Les *Rhizobia* sont des bactéries fixatrices d'azote symbiotiques, responsables de la formation de nodules sur les légumineuses avec lesquelles elles entrent en symbiose. Cette forme de symbiose est une source importante d'azote dans la biosphère (Poole, 2017), ce qui est particulièrement intéressant étant donné que les légumineuses sont parmi les cultures et plantes fourragères les plus importantes au monde.

I.4.2.5.3. Azolla

Azolla est une fougère flottante qui établit une association symbiotique avec l'algue bleue-verte *Anabaena azollae*, permettant ainsi la fixation de l'azote atmosphérique. Les frondes d'*Azolla* se composent de sporophytes avec un rhizome flottant, de petites feuilles et de racines bilobées qui se chevauchent les unes les autres. Elle est couramment utilisée comme engrais biologique pour le riz dans les zones humides, car elle peut fournir environ 40-60 kg d'azote par hectare de riz récolté (Roger, 1993 *in* Skanderi et Mammeri, 2022).

I.4.2.5.4. Cyanobactéries

Les cyanobactéries, également connues sous le nom d'algues bleues ou de cyanophycées, sont des micro-organismes photosynthétiques qui présentent une morphologie similaire à celle des algues microscopiques. Elles se trouvent principalement dans les eaux douces et à la surface des sols (Roger et Dreyfus, 2009). Les cyanobactéries font partie des organismes largement étudiés parmi les vastes associations phyto-planctoniques et existent souvent dans des relations symbiotiques avec d'autres espèces fongiques et plantes (Inamuddin *et al.,* 2021). Lorsqu'elles meurent, l'azote atmosphérique qu'elles ont incorporé dans leur biomasse retourne dans l'environnement sous une forme pouvant être absorbée par les plantes. Dans les années 1980, de grands espoirs ont été placés dans l'inoculation des rizières avec des cyanobactéries fixatrices d'azote, dans le but d'augmenter la production de riz en apportant de l'azote organique considéré comme économique. Ces biofertilisants semblaient constituer une alternative ou un complément aux engrais azotés chimiques (Roger et Dreyfus, 2009). Selon Amutha *et al.* (2014), dans des conditions idéales, les cyanobactéries sont capables de fixer entre 20 et 30 kg d'N / ha, mais leur utilisation n'est pas encore répandue en raisons des contraintes liées à la préparation du biofertilisant et du non-respect général des mesures de contrôle de la qualité. Selon Aghofack-Nguemezi *et al.* (2015), les cyanobactéries peuvent être utilisées pour optimiser quantitativement et qualitativement la production agricole. La spiruline ou *Arthrospira*, parmi les cyanobactéries, utilisée comme engrais naturel ou bio-stimulant respectueux de l'environnement, de la santé humaine et animale (Aghofack-Nguemezi *et al.,* 2015).

I.4.3. Spiruline

La spiruline est un procaryote gram négatif appartenant aux cyanobactéries qu'ils possèdent des caractéristiques propres aux algues, il s'agit en réalité de bactéries. La spiruline est une cyanobactérie spiralée de couleur bleu-vert photo-autotrophe. C'est un organisme procaryote qui partage avec les plantes la capacité d'effectuer de la photosynthèse. À partir de composés minéraux, d'eau, et de l'énergie lumineuse captée grâce à leur chlorophyl e, el es transforment le gaz carbonique et dégagent l'oxygène (Who, 1999 *in* Ahounou, 2018).

I.4.3.1. Répartition géographique naturelle

La spiruline se développe préférentiellement dans des eaux douces et chaudes, alcalines et riches en nutriments azotés et phosphorés. Plus communément, on la retrouve dans les eaux saumâtres, ainsi que dans les lacs salins de régions tropicales et semi-tropicales. Son caractère thermophile et ses besoins importants en lumière limitent son aire de répartition à une bande intertropicale située entre 35° de latitude Nord et 35° de latitude Sud. Sa forte plasticité écologique permet de la retrouver à l'état naturel à la fois dans les

lacs alcalins en Afrique (Tchad, Ethiopie, Tunisie), en Amérique latine (Mexique, Pérou), en Asie du Sud (Inde, Sri Lanka, Thaïlande). Cet organisme est dit ubiquiste. Il est cependant beaucoup moins abondant en Amérique du Nord et en Europe (Charpy et al., 2008 ; Goulamabasse, 2018).

Tableau I.2. Distribution géographique naturelle de *Spirulina platensis* dans le monde (Sguera, 2008)

AFRIQUE	
Algérie	Tamanrasset
Tchad	Région du Kanem : lacs Latir, Ouna, Borkou, Katam, Yoan, Leyla, Bodou, Rombou, Moro, Mombolo, Liwa, Iseirom, Ounianga kebir
Soudan	Cratère de Djebel Marra
Djibouti	Lac Abber
Ethiopie	Lacs Aranguadi, Lesougouta, Nakourou, Chiltu, Navasha, Rodolphe
Congo	Mougounga
Kenya	Lacs Nakuru, Elmenteita, Cratère, Natron
Tanzanie	Lac Natron
Tunisie	Lac Tunis; Chott el Jerid
Zambie	Lac Bangweoulou
Madagascar	Beaucoup de petits lacs près de Toliara
ASIE	
Inde	Lacs Lonar et Nagpur
Myanmar	Lacs Twyn Taung, Twyn Ma et Taung Pyank
Sri Lanka	Lac Beira
Pakistan	Mares près de Lahore
Thaïlande	Lacs d'effluents d'une usine de tapioca, province de Radburi, 80 km au S.O. de Bangkok
Azerbaidjan	*non précisé*
AMERIQUE DU SUD	
Pérou	Réservoir d'eau près de Paracas Près de l'Ile d'Amantani dans le lac Titicaca
Mexique	Lac Texcoco ; lac Cratère
Uruguay	Montevideo
Equateur	Lac Quiliotoa : cratère de 1km de diamètre
AMERIQUE DU NORD	
Californie	Oakland ; Del Mar Beach
Haïti	Lac Gonâve
République Dominicaine	Lac Enriquillo
EUROPE	
Hongrie	*non précisé*
France	Camargue
AUTRES SITES POSSIBLES	
Partout où vivent le flamant nain, *Phoenoconaias minor* (Afrique et Asie) et le flamant de James, *Phoenicoparrus jamesi* (Amérique du sud)	
Ethiopie	Lac Abiata
Kenya	Lac Rodolphe ; lac Hannington
Tanzanie	Lac Manyara ; lac Rukua
Zambie	Lac Mweru
Botswana	Makgadigka Salt Pans
Namibie	Etosha Salt Pan
Afrique du Sud	Etat libre d'Orange, près de Vaaldam
Bolivie	Lacs Colorado, Poopo, Chalvin, Salar de Uyuni
Chili	Aguas Calientes, Lagunas Brava, lac Vilama, Salar de Surire
Mauritanie	Côte sud
Inde	Rann of Kutch ; Gujarat
Madagascar	Côte Ouest

I.4.3.2. Histoire de la classification

La spiruline était à l'origine considérée comme une algue. En 1960, la distinction entre les procaryotes et les eucaryotes est établie. Elle se base sur la différenciation d'organisation cellulaire (nucléoles et des mitochondries) (Durand-Chastel 1993 *in*

Goulamabasse, 2018). En 1962, (Stanier *et al* 1974 *in* Goulamabasse, 2018) constataient que cette algue bleu-verte était dépourvue de compartiments cellulaires, et donc faisait partie des procaryotes, ils proposaient de désigner ce microorganisme de «Cyanobactérie». Cette nouvelle désignation est acceptée et figure pour la première fois au « Bergey's Manual of Determinative Bacteriology » en 1974 (Stanier 1974 *in* Goulamabasse, 2018 ; Ahounou, 2018).

La position systématique de la *Spirulina platensis* selon Fox (1999) est la suivante:

- Règne : Monera ou Bacteria
- Sous- règne : Prokaryota
- Phylum : : Cyanobacteria ou Cyanophyta
- Classe : : Cyanophyceae
- Ordre : : Nostocales
- Famille : : Oscillatoriceae
- Genre : : *Arthrospira*
- Espèce : : *Arthrospira platensis* ou *Spirulina platensis*

I.4.3.3. Morphologie et caractères généraux

Les espèces d'Arthrospira (Spiruline) démontrent une importante plasticité morphologique. Cette plasticité est en relation directe avec les conditions écologiques rencontrées dans leur habitat (Gershwin et Amha Belay, 2007). La Spiruline est une cyanophycée microscopique pluricellulaire de couleur bleu-verte d'une longueur moyenne d'environ 250µm. El e est composée de filaments mobiles de 10 à 12 µm de diamètre non ramifiés et enroulés en spirale, généralement en 6 ou 7 spires. Cette forme hélicoïdale lui donnant l'al ure d'un minuscule ressort lui a valu son appel ation de « Spiruline ». Cependant les Spirulines présentent différentes formes. On trouve des formes spiralées classiques, ondulées et parfois droites (Figure I.4.) (Cruchot, 2008 ; Goulamabasse, 2018 ; Ferhat et Lakehal, 2019).

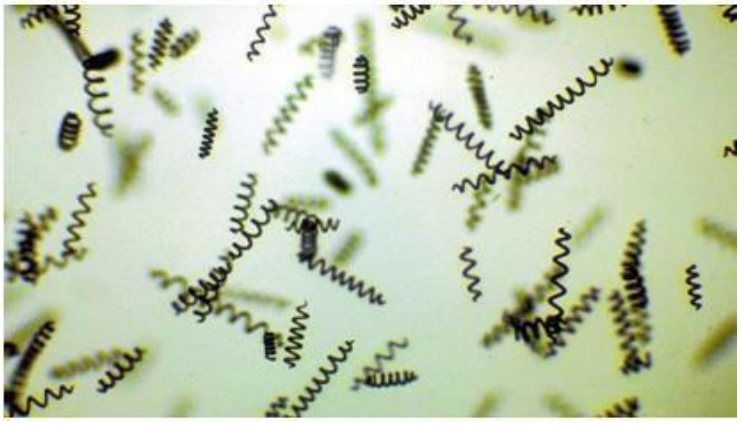


Figure I.4. Spiruline vue au microscope (Goulamabasse, 2018)

En ce qui concerne les souches, on distingue (Figure I.5.) (Antenna technologies, 2009 *in* Goulamabasse, 2018):

- **Souches spiralées:** les filaments ont la forme d'une queue de cochon tel**l**e que le type « lonar» d'Inde.

- **Souches ondulées:** les filaments sont en spirale étirée telle que le type « paracas » du Pérou.

- **Souches droites:** les filaments sont très étirés donnant l'impression d'être rectilignes tel que le type M2.

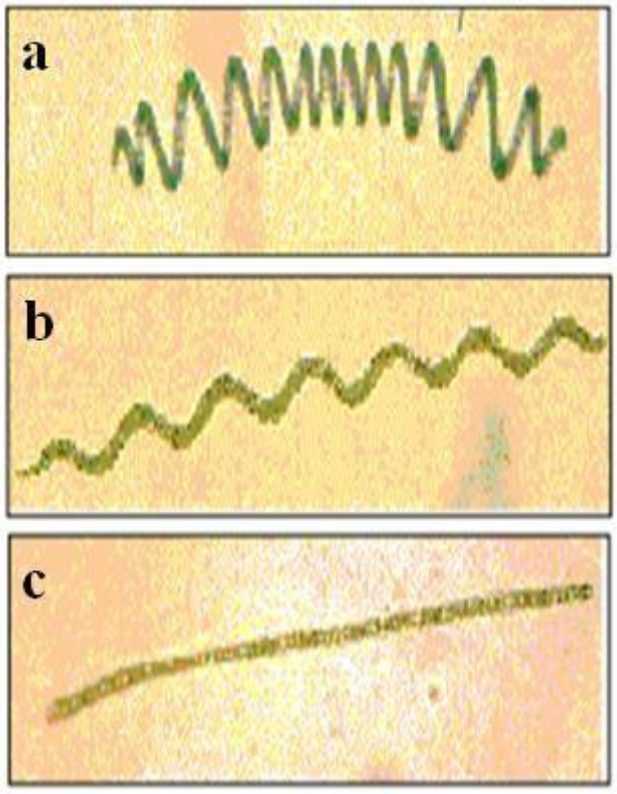


Figure I.5. Différents aspect de la spiruline (G:0,1mm) (Goulamabasse, 2018)
a: Forme spiralée; **b**: Forme ondulée; **c**: Forme droite.

I.4.3.4. Cycle biologique

La spiruline se développe de 25% chaque jour, sa quantité doublant en 4 jours. Elle se reproduit suivant un mode végétatif, une multiplication asexuée qui suit le principe de la bipartition. C'est donc une scission simple par segmentation des filaments qui s'effectue en plusieurs étapes. Une fois la **maturité** atteinte, les filaments de la spiruline forment des cellules spéciales appelées Nécridies. Elles se différencient des autres cellules par leur aspect biconcave et sont assimilées à des disques de séparation. A partir de ces derniers, le

trichome se **fragmente** pour donner de nouveaux filaments de 2 à 4 cellules appelés Hormogonies. Ces derniers croissent par division binaire et prennent la forme typique hélicoïdale, chacune des cellules donne deux cellules par **scissiparité** (Figure II.6.) (Balloni *et al.*, 1980 *in* Charpy, 2008; Goulamabasse, 2018).

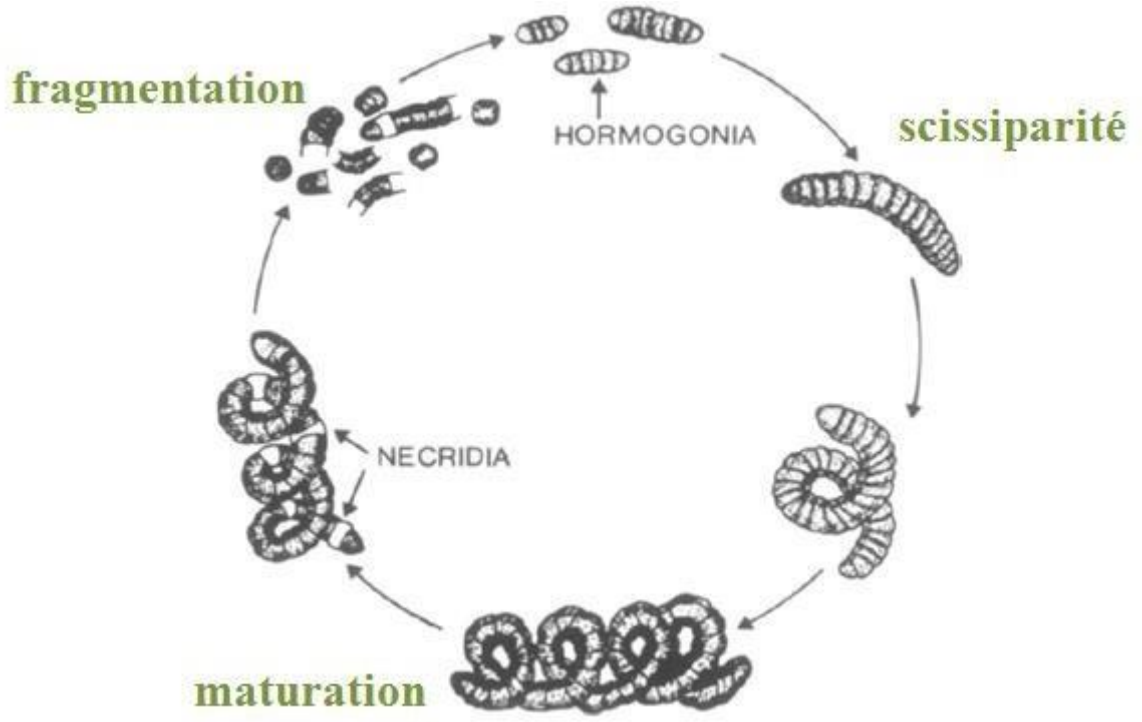


Figure I.6. Cycle biologique de spiruline (Ciferri, 1983 *in* Kashani, 2015.)

I.4.3.5. Situation de la culture de spiruline dans le monde

La spiruline est une cyanobactérie qui présente des qualités nutritionnelles remarquables. Produite dans le lac Texcoco, au Mexique depuis les années 1970, et par la suite en France dans les années 1990. La plus grande partie de la production vient des Etats-Unis d'Amérique (fermes Earthrise (DIC) en Californie, Cyanotech à Hawa**i**), de la Chine (DIC à Hainan) et de l'Inde (Doumenge et *al*., 1993; Sguera, 2008; N'Goran Urbain, 2017). Selon N'Goran Urbain, (2017), L'Afrique reste l'un des continents où la production de spiruline est la plus faible malgré les conditions de culture favorables. La majorité des sites de production est créée par des ONG et autres organismes de soutien pour la lutte contre la malnutrition en Afrique (Figure II.7.).

La production mondiale a régulièrement augmenté surtout depuis 1995. De 1400 T en 1995, 3500 T en 2000, elle est supérieure à 4000 T en 2012, en 2013, la production mondiale a été estimée à 5000 tonnes. Les Etat-Unis détiennent 50% de la production mondiale. Deux pays seulement en Europe produisent de la spiruline ; il s'agit de la France et de la Hongrie (https://www.planetoscope.com/Autre/1027-production-mondiale-de-spiruline.html).



Figure I.7. Principales exploitations de micro-algues à travers le monde (Sguera, 2008 ; https://www.terre-net.fr/economie-agricole/article/141333/spiruline-une-filiere-paysanne-francaise-en-developpement)

a: Bassin de la spiruline à Californie; **b**: Bassin de la spiruline en France, **c**: Bassin de la spiruline à Hawaï, **d**: Bassin de la spiruline en Inde

La culture de la spiruline en Algérie se trouve encore à un stade artisanal et expérimental. L'Algérie est l'un des pays ou la spiruline est cultivée de manière semi-industrielle a Tamanrasset et à Oran. Une ferme pilote a été établie au début des années 2000 dans la wilaya de Tamanrasset, au sud de l'Algérie, par le Dr Hiri Abdelkader, l'un des rares experts connaissant les processus de production de la spiruline (Chenafi, 2016; Bouchenafa, 2020; Skanderi et Mammeri, 2022). Cette ferme est deux bassins en béton couverts d'une surface de 4 m2 chacun, ainsi que trois bassins en plastique montés par le fer, servant de réservoirs (Figure II.8.). Dans l'ensemble, ces bassins ont une capacité de production maximale de 20 kg de spiruline par an (Bouchenafa, 2020; Skanderi et Mammeri, 2022).

Un autre projet de ferme de culture de la spiruline, avec une capacité de production théorique de deux tonnes par an, est projeté dans la wilaya de Ghardaïa, Géré par une jeune ingénieure en aquaculture. Cette ferme occupe un terrain de 5 hectares situé dans la

commune de Mansourah, à 70 km au sud de Ghardaïa (Bouchenafa, 2020 *in* Skanderi et Mammeri, 2022). Selon Chenafi (2016), deux autres projets de production de spiruline sont en cours de développement à Ouargla et à Biskra.

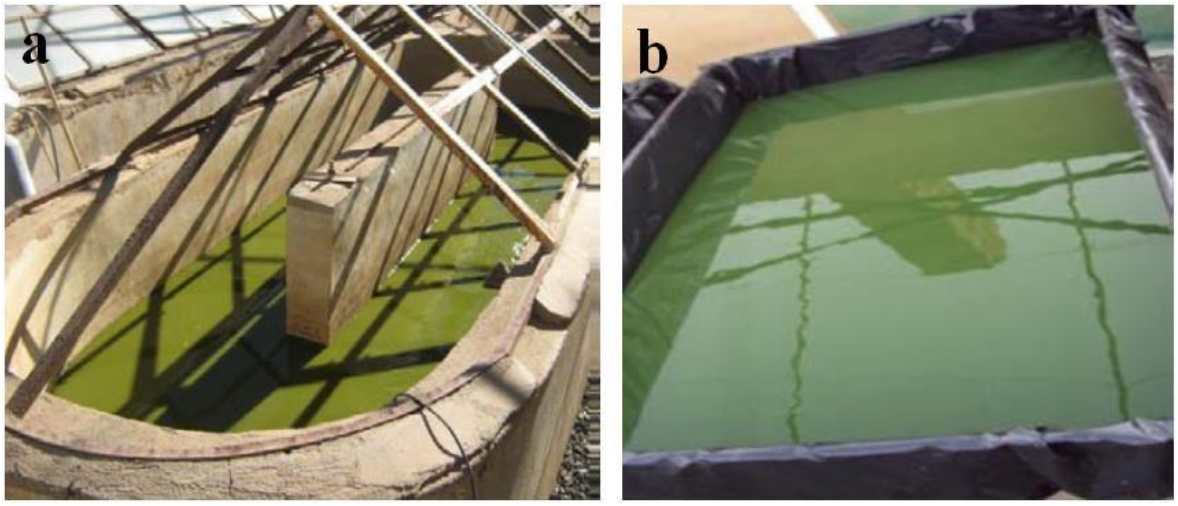


Figure I.8. Ferme à spiruline Tamanrasset, Algérie (Lounici, 2010 *in* Skanderi et Mammeri, 2022).
a : Bassins en dur ; b : bassins en plastique

I.4.3.6. Composition de la spiruline

Il existe de fortes variations en ce qui concerne la composition de la spiruline. Ces divergences sont liées à plusieurs facteurs. L'existence de différentes souches de spirulines, l'origine géographique, les conditions de production (Eléments chimiques entrant dans la composition du milieu de culture, techniques de séchage, broyage, récolte), le taux d'ensoleil ement, sont autant d'éléments qui influent la composition de la spiruline. En poids sec, la spiruline contient en moyenne 50 à 70% de protéines ; 15 à 25% de glucides ; 11% de lipides ainsi que des vitamines, des minéraux (principalement des oligoéléments), de la chlorophylle et des phycobiliprotéines (Falquet et Hurni, 2006; Charpy *et al.*, 2008).

I.4.3.7. Intérêts et domaine d'utilisation

La *Spirulina platensis* (SP) est une cyanobactérie, également connue sous le nom d'algue bleu-vert, qui est riche en composés bioactifs (Bitam et Ourida, 2020). Sa teneur élevée en protéines a attiré l'attention des chercheurs et des industriels. De nombreuses propriétés nutritionnellement intéressantes ont été découvertes, notamment une composition protéique équilibrée, la présence de lipides essentiels rares, d'oligo-éléments tels que le zinc, le magnésium, le manganèse et le sélénium, ainsi que des pigments tels que la phycocyanine, le β-carotène et la riboflavine. En plus de son intérêt nutritionnel, la spiruline présente des propriétés thérapeutiques, car elle renferme plusieurs molécules ayant fait l'objet d'études pour leurs activités biologiques.

I.4.3.7.1. Aspect thérapeutique

La spiruline a attiré l'attention des chercheurs pendant de nombreuses années en raison de son potentiel bénéfique. Des études réalisées in vitro et in vivo ont expérimentalement démontré son efficacité dans le traitement et la prévention de certaines maladies. La composition exceptionnelle de la spiruline lui confère de multiples applications thérapeutiques, notamment des activités antioxydantes, anti-inflammatoires, anticancéreuses, hépato-protectrices, anti-hypercholestérolémiques et antivirales (Sguera, 2008). De plus, elle s'avère être un allié efficace pour réduire les risques cardiovasculaires, le diabète, soulager les douleurs rhumatismales et l'arthrose, ainsi que lutter contre l'ostéoporose, l'hypertension et les allergies (Khan *et al.,* 2005; Kulshreshtha *et al.,* 2008; Karkos *et al.,* 2008; Sguera, 2008).

I.4.3.7.2. Aspect cosmétique

La spiruline se distingue comme un ingrédient actif important des produits cosmétiques naturels. Actuellement, la spiruline est incorporée dans des formulations topiques de soins de la peau, telles que des hydratants, des anti-rides, des anti-âge et des agents anti-acné. De plus, cette micro-algue est utilisée par les formulateurs cosmétiques pour favoriser la protection solaire, traiter les troubles de la pigmentation de la peau et favoriser la cicatrisation des plaies. La plupart des produits cosmétiques commerciaux revendiquent un large éventail de propriétés de la spiruline, notamment son action anti-oxydantes, revitalisante, reminéralisante, hydratante et protectrice, ainsi que son pouvoir nettoyant et apportant de la brillance, tant pour les cheveux que pour la peau.

I.4.3.7.3. Aspect alimentaire chez l'animal

L'augmentation de la demande en protéines, en particulier les protéines d'origine animale, ainsi que la nécessité de fournir de grandes quantités de protéines pour la production alimentaire, ont stimulé la recherche sur la spiruline en tant qu'aliment pour les animaux. Dans l'ensemble, la spiruline apparaît comme une source prometteuse de protéines pour la production avicole et l'aquaculture. La spiruline renforce aussi les défenses naturelles de l'animal. E**l** e joue un grand rôle dans le maintien de son système immunitaire, lui permet de lutter contre certaines maladies et agit contre son vieillissement et sa fatigue. Les chiens, les chats, les poissons et les chevaux sont les animaux pour lesquels la spiruline et couramment utilisée (Casal, 2019 *in* Skanderi et Mammeri, 2022). La spiruline est utilisés en tant que bio-stimulant respectueux de l'environnement, de la santé des hommes et des animaux (Aghofack -Nguemezi *et al.,* 2015).

I.4.3.7.4. Aspect agricole

La biomasse cyanobactérienne présente des propriétés bénéfiques pour le sol, telles que, l'amélioration de sa rétention en eau et de son état minéral (Singh *et al.,* 2016). Les cyanobactéries ont la capacité d'utiliser l'azote atmosphérique comme source d'azote, ce

qui est connu sous le nom de fixation de l'azote (Bhowmik *et al.,* 2010 ; Mishra et Pabbi, 2004 ; Singh *et al.,* 2016). Cela permet de réduire la quantité d'engrais azotés synthétiques utilisés en agriculture (Bhowmik *et al.,* 2010 ; Hegazi *et al.,* 2010). Les travaux de Hegazi *et al.* (2010) suggèrent qu'en utilisant certaines espèces de cyanobactéries capables de fixer l'azote, il est possible de réduire d'un quart à la moitié la dose recommandée d'engrais azoté minéral. Des expériences menées par Mishra et Pabbi (2004) ont démontré que l'ajout d'algues au sol peut augmenter le rendement du riz de 15 à 20 % lors de tests sur le terrain.

La spiruline joue un rôle crucial dans l'agriculture durable en contribuant à la fertilité du sol, à la croissance et au rendement des cultures, ainsi qu'à l'amélioration de la qualité de l'environnement (Singh et al., 2016 ; Osman et al., 2016). La *Spirulina platensis* peut être utilisée comme une source riche en macro et micronutriments, vitamines, acides aminés, polypeptides, phytohormones (gibbérellines, auxines, cytokinines), antioxydants et composés ayant des propriétés antibactériennes et antifongiques (Bhowmik *et al.,* 2010; Osman et al., 2016 ; Nawrocka *et al.,* 2017).

I.4.4. Stimulation de défende naturelle chez les plantes(SDN)

I.4.4.1. Définition

Les stimulateurs des défenses naturelles des plantes (SDN) sont des molécules capables d'être reconnues par la plante et qui déclenchent des événements moléculaires, biochimiques et cytologiques conduisant à l'expression de la résistance. En d'autres termes, les SDN font partie d'une catégorie spéciale de pesticides souvent appelés les "vaccins des plantes". Contrairement aux pesticides traditionnels qui attaquent directement les champignons et les bactéries, les SDN aident la plante à se défendre contre ces pathogènes (Blanchrard, 2018). Les stimulateurs des défenses naturelles des plantes (SDN) ont en effet la particularité d'aider la plante à se défendre contre les champignons et bactéries au lieu de les attaquer directement. Comme les vaccins, les SDN simulent une attaque ou mettent en branle les mécanismes moléculaires de défense, qui pourront réagir plus vite et plus efficacement à la prochaine véritable attaque (Blanchard, 2018). Les SDN peuvent avoir une origine végétale (acides aminés issus d'algues ou de plantes des vitamines, des hormones de croissance (auxines, cytokinines), animale (acides aminés, microorganismes) ou minérale (oligo-éléments) ou synthétique. Ce sont soit des extraits bruts (extraits bruts d'algues, de sauge, de bourdaine, d'ortie, de prêle, etc.), soit des composés plus ou moins purifiés du produit d'origine, ou le résultat d'une fermentation des extraits bruts. À l'exception de quelques produits qui sont homologués comme stimulateurs des défenses naturel es, la plupart des autres composés sont commercialisés en tant qu'engrais ou fertilisants même s'ils prétendent, de façon plus ou moins explicite, stimuler la stratégie défensive des plantes. Ce n'est au final pas l'origine et la nature qui importent, mais bien le mode d'action « stimulation» (Benhamou et Rey, 2012).

I.4.4.2. Atouts et limites des produits de stimulation

I.4.4.2.1. Atouts des produits de stimulation

D'après Benhamou (2009) et Faessel *et al.,* (2014), l'utilisation des stimulateurs de défense naturelle (SDN) joue plusieurs rôles pour sensibiliser les plantes à répondre plus rapidement et plus efficacement à des stress biotiques et/ou abiotiques:

- **Un large champ d'action**

o La plupart des SDP induisent des réponses chez plusieurs espèces végétales ;
o Les mécanismes de défense induit par les SDP ne sont pas spécifiques à un agent pathogène donné et permettent ainsi de lutter contre un large spectre de bioagresseurs (bactéries, champignons, insectes etc.) de manière simultanée;
o Les SDN présentent l'avantage de conserver leur activité biologique sur une longue période grâce à une formulation appropriée;
o Ce large spectre d'action permet de lutter contre des maladies bactériennes et virales pour lesquelles peu ou pas de moyens de protection sont disponibles. *f*

- **Une résistance qui peut se propager**

o Le transport du signal de résistance peut dans certains cas (Propagation de l'acide salicylique) se faire dans toute la plante ce qui a pour effet une protection de la plante entière (résistance induite systémique);
o Dans certains cas, possibilité d'introduction de resistance chez les plantes voisines via des molécules volatiles.*f*

- **Un faible risque d'apparition de résistance chez les agents pathogènes et ravageurs**

o Les SDP activent diverses voies de signalisation en parallèle dont les processus complexes impliquent un grand nombre de gènes, ce qui contribue à limiter le risque d'apparition de résistance chez les populations pathogènes.

- **Une complémentarité avec d'autres stratégies de protection des plantes**

o Les SDP, qui s'utilisent préférentiel ement dans des programmes de traitement combinant d'autre produits phytosanitaires, permettent généralement d'espacer et/ou de retarder les traitements «classiques»;
o Les SDP n'ont pas d'action biocide directe, ils n'engendrent donc aucun effet délétère sur les auxiliaires des cultures ce qui les rend compatibles avec les programmes de lutte biologique.

o Les SDN n'exercent pas de phytotoxicité répertoriée et leur toxicité pour l'environnement est réduite, voire inexistante. De plus, ils sont biodégradables.

- **Une (éco) toxicité généralement réduite**

o Plusieurs SDP sur le marché ne sont associés à aucune phrase de risque;
o Un bon nombre de SDP sont des analogues ou des dérivés de molécules issues du vivant qui sont biodégradables et qui présentent un risque très limité;
o En général, les SDP ne présentent pas de contrainte de Limite Maximale de Résidus (LMR) et de Délai Avant Récolte (DAR), d'où une meilleure flexibilité ;
o Les SDN sont sécuritaires pour la santé humaine et animale.

- **Une économie basée sur le savoir et l'innovation**

o Le secteur emploie du personnel à haute qualification pour la R&D, que ce soit dans la recherche publique ou dans les nombreux partenariats recherche/industriels.

I.4.4.2.2. Limites des SDN

L'emploi de SDN comme méthode de contrôle des déprédations et maladies des plantes présente cependant certaines limites (Faessel *et al.,* 2014):

- **Une efficacité limitée en comparaison aux produits « classiques »**

o En règle générale, l'utilisation d'un SDP seul ne peut pas protéger une culture tout le long d'un cycle;
o Le système de défense intrinsèque à la plante peut être dépassé par une pression d'agent pathogène ou de ravageur trop importante.
o L'efficacité dépend de plusieurs facteurs, encore peu connus ou mal maitrisés (type de culture et variétés, conditions environnementales, stade de développement de la plante, modalité d'application des produits, etc). Il y a un manque de connaissances scientifiques sur l'intégration optimale des produits dans les itinéraires techniques. *f*

- **Une utilisation qui nécessite un suivi rigoureux de la culture**

o L'utilisation des SDP peut s'avérer plus contraignant que pour les produits « classiques ». Le mode d'action des SDP nécessite d'être très précis sur les périodes d'utilisation, puisqu'il est souvent nécessaire de faire l'apport en préventif de l'arrivée de l'agent pathogène ou du ravageur, mais il faut également que la plante soit à un stade physiologique réceptif. *f*

- **Ressources naturelles nécessaires pour la production de SDP ?**

- Dans une perspective de long terme, si le marché des SDP se développe très largement au niveau mondial, il faudra produire des quantités importantes de substances issues de la biomasse (extraits d'algues, de plantes…) sans impacter les écosystèmes et les productions agricoles à vocation alimentaire. Le problème sera toutefois moins prégnant pour la production de microorganismes. *f*

Chapitre II

CHAPITRE II.
MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1. Objectif

Les méthodes de production biologique encouragent l'utilisation de matières organiques comme substituts aux engrais chimiques. Plusieurs sources organiques de nutriments sont actuellement, étudiées afin de trouver de bonnes alternatives qui fourniront des éléments nutritifs aux cultures sans inconvénient des intrants chimiques. L'utilisation des micro-algues cas des cyanobactéries en agriculture permet une meilleure durabilité et productivité des cultures en améliorant la qualité des productions végétales. La spiruline peut être recommandée pour leur utilisation en tant que biofertilisants, biopesticides et stimulateurs de la défense naturelle des plantes.

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'efficacité de différentes dilutions de la spiruline *Spirulina platensis* (Nostocales / Oscillatoriacées) (5%, 10% et 15%) sur la croissance et la qualité phytochimiques des plants haricots verts *Phaseolus vulgaris* L. (1753), ainsi que sur la structure populationnelle des pucerons noirs de la fève, *Aphis fabae* Scopoli (1763) (Hémiptera / Aphididae).

II.2. Matériel d'étude biologique

II.2.1. Obtention du matériel végétale

II.2.1.1. Présentation de la chambre de culture

Nous avons réalisé notre expérience dans une serre de culture semi-contrôlée, située au sein de l'Institut Technologique Spécialisé dans la Formation en Agriculture (ITSFA), qui se trouve dans le quartier de Takbou, au centre de la ville de Médéa (Figure II.1).

La serre a une superficie de 128 m², avec des dimensions de 16 m de longueur, 8 m de largeur et 3,20 m de hauteur (Figure II.1). Tout au long de l'expérience, la température dans la serre oscillait entre 25 et 28°C, tandis que l'humidité relative était maintenue dans une fourchette de 50 % à 70%.



Figure II.1. Présentation de la Serre de culture (Originale, 2023).

II.2.1.2. Obtention des plantules du haricot vert

Les essais ont été réalisés sur plants de haricots verts de la variété naine "El Jadida" *Phaseolus vulgaris* L. Cette variété a été sélectionnée en raison de sa précocité, avec un cycle de végétation court de 90 à 120 jours, ainsi que pour sa vigueur.

Avant leur utilisation, les graines ont été soumises à un premier trempage dans de l'eau de javel pendant cinq minutes afin de les désinfecter et d'éliminer les impuretés. Ensuite, elles ont été rincées à plusieurs reprises à l'eau distillée pour éliminer toute trace de chlore. Les graines de haricot ont été immergées dans de l'eau pendant 24 heures. Ensuite, ces graines ont été déposées sur du papier absorbant imbibé d'eau et placées dans une boîte en plastique pour la pré-germination pendant 5 jours (Figure I.2).

Dès l'émergence de la radicule, les graines ont été plantées dans des alvéoles en plastique remplies de tourbe stérilisée, avec une graine par cellule (Figure II.2.c). Lorsque les plants ont développé 2 à 3 feuilles, ils ont été délicatement repiqués dans des pots en plastique contenant un mélange stérilisé de sol, de tourbe et de sable dans un rapport de 3:1:1. Ce mélange avait été préalablement stérilisé dans une autoclave pendant 1h30 à 360°C. Les plantules ont été régulièrement irriguées tout au long de la période de l'expérience (Figure II.2.d).

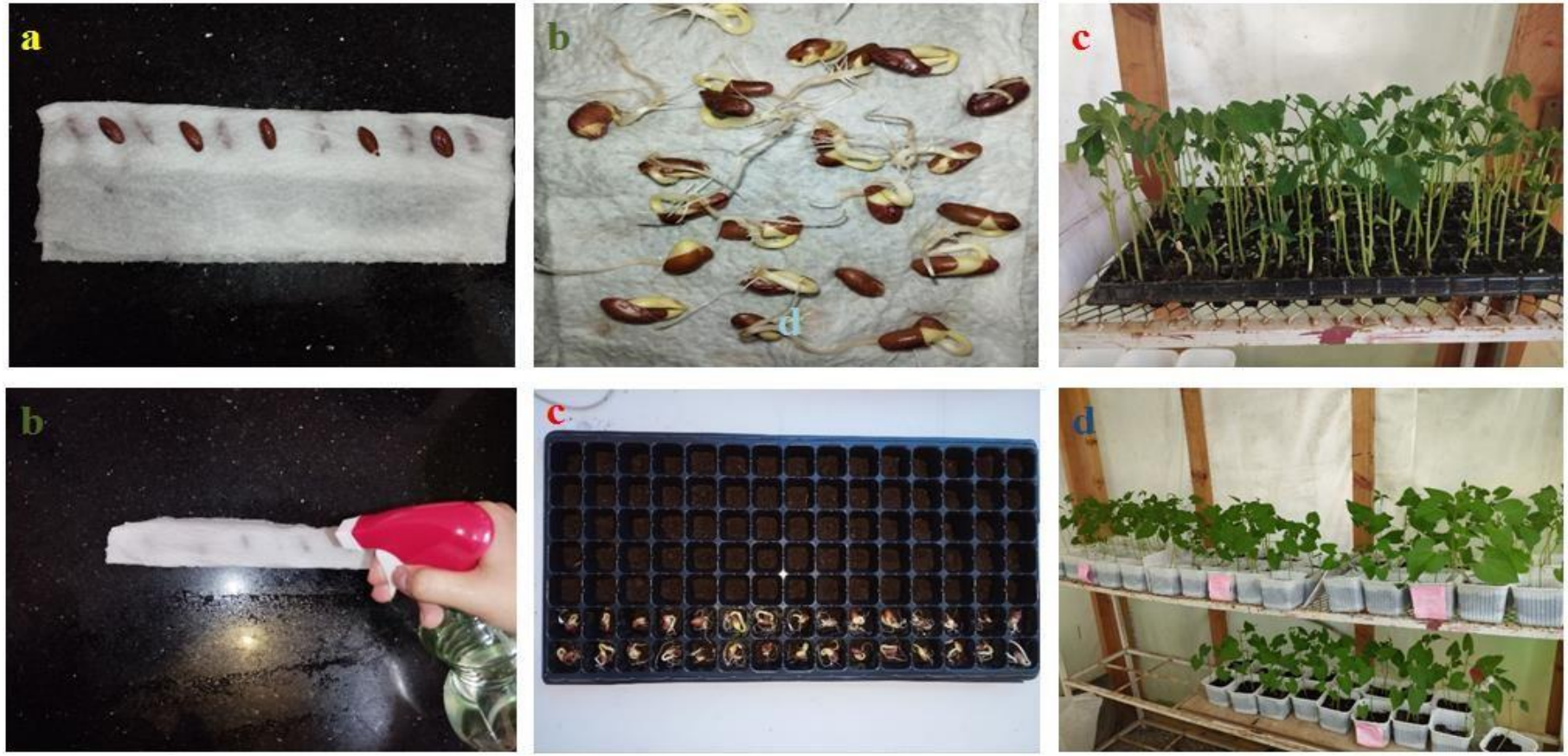


Figure II.2. Présentation de la Serre de culture (Originale, 2023).
A: Graines de haricot ; b: Pré-germination; c: Plantation dans des alvéoles; d: Transplantation.

II.2.2. Obtention des populations inféstantes du puceron noir de la fève *Aphis fabae*

Des infestations artificielles du puceron *Aphis fabae* ont été réalisées afin d'assurer une infestation homogène et uniforme sur les unités expérimentales. Les plantules de haricots, à un stade de développement de quatre feuilles, ont été infestées avec des plants de fèves contenant les différents stades du puceron noir de la fève *Aphis fabae*. Ces plantes de fèves infestées ont été fournies par un agriculteur de la région de Benchicao, Médéa.

Les infestations ont été réalisées en déposant une plante de fève infestée au centre des plantules de haricots saines (Figure II.3). La disponibilité des différentes formes biologiques (larves, adultes aptères et ailés) a été évaluée chaque semaine avant l'application des biofertilisants.



Figure II.3. Obtention des plants de haricot infesté par *Aphis fabae* (Originale, 2023).
A : Plant de fève infeste, b : Méthode d'infestation, c : Plant de haricot après infeste

II.2.3. Obtention du biofertilisant

Le matériel biologique utilisé dans cette étude est une micro-algue bleue-verte: *Spirulina platensis* (Nostocales / Oscillatoriacées). Est une cyanobactérie de petite taille, filamenteuse et multicellulaire, présentant une structure en forme de spirale. La longueur moyenne du filament, comprenant 5 à 7 spires, est d'environ 250 μm, tandis que le diamètre du filament spiralé est d'environ 10 μm (Vu Thi Nguyet et al., 2017). Nous avons obtenu cette souche en culture dans des flacons de 500 ml, provenant de la ferme pilote de la wilaya de Tamanrasset, où elle a été cultivée dans des conditions de culture spécifiques.

II.2.3.1. conditions de culture

L'expérimentation a été réalisée au laboratoire du Département des sciences de la vie et de la nature, faculté des sciences, Université Dr YAHIA Farès (Médéa).

La souche de la spiruline a été inoculée dans des flacons Erlens-mayers de 500 ml contenant le milieu de culture synthétique Zarrouk, qui avait été préalablement stérilisé à l'autoclave à 120°C pendant 20 minutes. Pour démarrer l'expérience, nous avons utilisé un volume de 600 ml de la culture mère de la spiruline. La densité optique a été mesurée à une longueur d'onde de 630 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. La dilution de la spiruline a été réalisée lorsque sa densité optique atteignait 2,5 g/L avec le milieu de culture Zarrouk.

La culture a été réalisée en respectant les conditions suivantes (Aouir, 2017 ; Ould Bellahcen *et al.*, 2013 ; Skanderi et Mammeri, 2022) :

- Un éclairage constant a été assuré à l'aide d'une lampe fluorescente émettant une lumière blanche d'une intensité lumineuse de 6000 lux. L'intensité lumineuse a été contrôlée à l'aide d'un luxmètre portable, maintenant une plage de 2500 à 3500 lux. Un cycle de 12 heures d'éclairage suivi de 12 heures d'obscurité a été programmé à l'aide d'une prise programmable.

- La température a été maintenue à une valeur optimale de 32°C à l'aide de thermostats réglables.

- Le pH de la culture a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre et maintenu entre 9 et 10 pour assurer la stabilité de la culture. Le pH devait être supérieur à 8,5.

- Une agitation a été réalisée pendant 12 heures par jour à l'aide d'une pompe à air de type aquarium avec un débit de 18 L/h/jour. L'agitation était nécessaire pour homogénéiser la culture, favoriser les échanges gazeux (élimination de l'oxygène et absorption du dioxyde de carbone) et assurer une bonne répartition de l'éclairage dans le liquide.

La récolte de la Spiruline platensis a été réalisée par filtration une fois la culture atteignait sa phase exponentielle, c'est-à-dire une densité optique de 2,5 g/L.

II.2.3.2. Milieu de culture

Les cultures de spiruline sont réalisées en utilisant un milieu artificiel décrit par Zarrouk en 1966. Ce milieu est composé d'une solution d'eau et de sels minéraux qui fournissent à la spiruline tous les éléments nutritifs chimiques nécessaires (Tableau IV.1). En raison de son pH fortement alcalin, ce milieu est peu propice à la croissance d'autres plantes ou formes de vie. Le milieu Zarrouk est plus utilisé et reconnu comme le standard dans ce domaine (Zarrouk 1966 in Florent, 2017; Skanderi et Mammeri, 2022).

Tableau II. 1. Composition chimique du milieu Zarrouk (Zarrouk, 1966)

Composés	**Concentration (g/L)**
Hydrogénocarbonate de sodium($NaHCO_3$)	16.80
Phosphate dipotassique (K_2HPO_4)	0.50
Nitrates de sodium ($NaNO_3$)	2.50
Sulfate de potassium (K_2SO_4)	1.0
Chlorure de sodium (NaCl)	1.0
Sulfate de magnésium ($MgSO_4$, $7H_2O$)	0.20
Chlorure de calcium ($CaCl_2$)	0.04
Sulfate de fer ($FeSO_4$, 7 H_2O)	0.01
Acide éthylène diamino tétracétique (EDTA)	0.08

A 1 L de la composition chimique de milieu Zarrouk ci-dessus, on a ajouté 1 ml de chacune des solutions d'oligo-éléments A5 et B6 (Tableau II.2; Tableau II.3). Les réactifs doivent être dissouts dans l'eau distil**l** ée. L'agitation du milieu est assurée par agitateurs magnétiques à fin que les réactifs se dissolvent. Le milieu de culture testé est ajusté à pH = 9 par addition de NaOH (4N). Il est conservé à l'abri de la lumière, après stérilisation à l'autoclave à 121°C pendant 20 minutes.

Tableau II.2. Composition chimique de la solution A5 (Zarrouk, 1966).

Composés	**Concentration (g/L)**
Acide borique (H_3BO_3)	2.86
Chlorure de manganèse ($MnCl_2$, 4 H_2O)	1.81
Sulfate de zinc ($ZnSO_4$, 7 H_2O)	0.222
Sulfate de cuivre ($CuSO_4$, 5 H_2O)	0.079
Oxyde de molybdène (MoO_3)	0.015

Tableau II.3. Composition chimique de la solution B6 (Zarrouk, 1966).

Composés	**Concentration (g/L)**
Vanadate d'ammonium (NH_4VO_3)	0.02296
Alun de chrome ($K_2Cr_2(SO_4)_4$, 24 H_2O)	0.096
Sulfate de nickel ($NiSO_4$, 7 H_2O)	0.04785
Tungstate de sodium (Na_2WO_4, 2 H_2O)	0.01794
Sulfate de titanium ($Ti_2(SO_4)_3$)	0.04
Nitrate de cobalt ($Co(NO_3)_2$, 6 H_2O)	0.04398

II.3. Méthodes d'étude :

II.3.1. Préparation de l´extrait aqueux de spiruline Spirulina platensis

Pour préparer de l'extrait, 1 L de *Spiruline platensis* cultivée a été prélevée à la fin de la phase exponentielle. La solution prélevé est centrifugée pendant 20 min à 3000 t/min à température ambiante, filtrés sur papier filtre de 11 micromètre, par la suite le résidu est lavé deux fois avec de l'eau distillée. Une macération aqueuse a été effectuée où 0,5g de résidus de spiruline a été additionné à 500 ml d'eau distil ée. L'échantil on a été agité vigoureusement puis stérilisé dans l'autoclave pendant 20 min. Après stérilisation la suspension a été refroidi et conservée à -5°C jusqu'à l'utilisation ultérieure (Shimaa *et al.*, 2017) (Figure V.4).

Trois dilutions de l'extrait ont été recommandées, à savoir la dilution 5%, 10% et 15%, ce qui correspond à 50 ml, 100 ml et 150 ml respectivement de l'extrait pur dissous dans 1 L d'eau distillée (Shimaa *et al.*, 2017). Ces dilutions ont été appliquées par voie racinaire sur des plants de Phasoleus vulgaris infestés par le puceron noir de la fève *Aphis fabae* afin d'évaluer leur efficacité sur les paramètres de croissance, la production métabolique des plants, ainsi que pour tester leur impact sur la structure de la population cible. Le suivi des plantes a été effectué pendant une période de 2 mois.

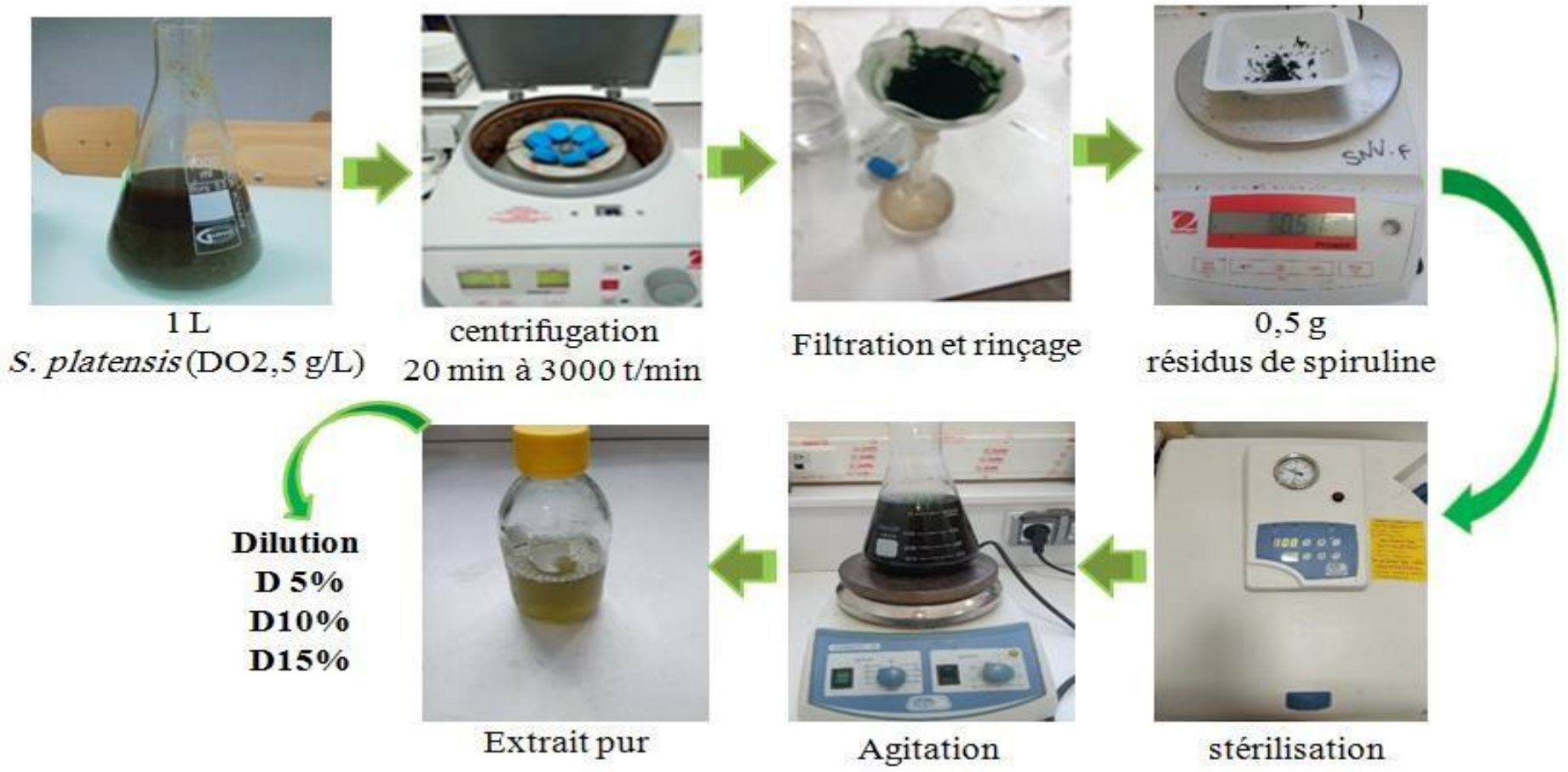


Figure. II.4. Protocole de la préparation de l'extrait de la spiruline (originale, 2023)

II.3.2. Dispositif expérimental et application des traitements

L'essai est réalisé en bloc aléatoire complet dans une serre tunnel, le dispositif composé de 4 blocs à raison de 45 plants par traitement (180 plants =unité expérimentale) à savoir (Figure II. 7):

- Bloc 1 : Extrait de spiruline dilué a 5%,
- Bloc 2 : Extrait de spiruline dilué a 10%.
- Bloc 3 : Extrait de spiruline dilué a 15%.
- Bloc 4 : Témoin (utilisation d'eau courante).

Les blocs sont distants de 30cm les uns des autres. Les différents extraits sont appliqués par voie racinaire sur les plantules de haricot *Phaseolus vulgaris L*. infestées par le puceron noir de la fève *Aphis fabae*. L'application racinaire a été effectuée à l'aide d'un récipient de 400 ml afin d'administrer le même volume à toutes les plantes. Les plants ont été régulièrement irrigués selon leurs besoins en eau. Les apports sont renouvelés chaque 08 jour pendant toute la période de l'étude. Avant chaque ajout de biofertilisants, nous avons prélevés trois plantes de chaque bloc pris au hasard afin d'évaluer l'impact des biofertilisants sur le haricot vert et le puceron noir de la fève *Aphis fabae*. Le suivi temporaire des plantes a duré 2 Mois.

À partir des échantillons de plantes prélevés, nous avons examiné diverses caractéristiques morphologiques, telles que la croissance en longueur de la partie aérienne et racinaire, le poids frais de la partie aérienne et racinaire, ainsi que le nombre de feuilles et de bouquets floraux de haricot vert. L'évaluation de la toxicité des différents apports sur les individus d'*A. fabae* a été évaluée chaque semaine tout au long de la période d'investigation. À partir des trois plantes précédemment prélevées, nous avons sélectionné au hasard cinq feuilles afin d'estimer l'abondance des pucerons. Les stades biologiques d'Aphis fabae ont été déterminés en se basant sur les caractéristiques morphologiques externes observées à l'aide d'une loupe binoculaire (8x10). Après avoir prélevé les pucerons, les feuilles des trois plantes de haricot ont été conservées pour l'extraction et la quantification de la qualité phytochimique de la plante à savoir la chlorophylle, la proline et les sucres totaux.



Figure. II.5. dispositif expérimental des traitements appliqués (Originale, 2023).

II.4. Paramètres étudiés

II.4.1. Mesure de la croissance en longueur de la partie aérienne et souterraine

La croissance en longueur de la partie aérienne et de la partie racinaire est évaluée après chaque prélèvement. Les mesures de la longueur de la partie aérienne et souterraine sont effectuées à l'aide d'un double décimètre.

II.4.2. Mesure de la croissance en poids frai de la partie aérienne et souterraine

La biomasse fraîche de la partie aérienne et souterraine a été mesurée en milligrammes en pesant les deux parties séparément à l'aide d'une balance de précision.

II.4.3. Estimation du nombre de feuilles et de bouquets floraux

Au niveau des blocs élémentaires expérimentaux de la culture du haricot 3 plants sont choisis aléatoirement chaque semaine afin d'apprécier le nombre de feuil es ainsi que le nombre de bouquets floraux.

II.4.4. Extraction et quantification de la Proline

La méthode suivie est celle de Troll et Lindsley (1995), simplifiée et mise au point par Dreir et Goring (1974). Mettre 100 mg de matière végétale fraîche dans un tube à essai. On ajoute 2 ml de méthanol à 40%, le tout est chauffé à 85°c pendant 60 min tout en prenant le soin de recouvrir les tubes avec du papier aluminium. Après refroidissement, on prélève 1 ml d'extrait auquel on ajoute 1 ml d'acide acétique, 25 mg de Ninhydrine et 1ml de mélange (120 ml d'eau distillée + 300 ml d'acide acétique + 80 ml d'acide ortho phosphorique) (0,4 : 1 : 0,26). La solution obtenue est portée à ébullition pendant 30 min au bout desquelles, la couleur vire au rouge. Après refroidissement, on rajoute 5 ml de toluène induisant la séparation en deux phases de la solution : la phase supérieure contient la proline et celle inférieure en est dépourvue. Après avoir récupéré la phase supérieure, on ajoute du Na2SO4 à l'aide d'une spatule pour éliminer l'eau qu'elle contient ; enfin, lire la densité optique à 528 nm. Les valeurs obtenues sont converties en teneur de la proline à partir de courbe étalon dont la relation est la suivante :

$$Y = 0{,}1043\ X$$

Avec :

- Y : Absorbance (nm)
- X : Concentration de L- proline (mg/ml.)

II.4.5. Extraction et quantification des sucres totaux solubles

Les solubles totaux sont dosés par la méthode de Dubois *et al.* (1956). Elle consiste à additionner 3ml d'éthanol à 80 % à 100mg de matière végétale fraiche. Le mélange est mis à température ambiante pendant 48 heures. Au moment du dosage, l'éthanol est évaporé par passage à l'étuve à 80°C. L'extrait obtenu est additionné à10 ml d'eau distillée. Une prise d'essai de 0,5 ml de la solution à analyser est mélangée à 0,5 ml de phénol 5%, dont on ajoute rapidement 2,5ml d'acides sulfurique concentré 96%. Le mélange vire en couleur jaune orange, après homogénéisation au vortex, l'échantil**l** on est placé au bain-marie pendant 10 à 20min à une température de 30°C. La couleur de la solution est stable pendant plusieurs heures. L'absorbance a été mesurée à 485nm au spectrophotomètre.

$$Y= 4,3918\ X – 0,1946$$

Avec :

- Y : Absorbance (nm)
- X : Concentration des sucres totaux (mg/ml.)

II.4.7. Extraction et quantification de la chlorophylle totale

La méthode a été utilisée pour mesurer la chlorophylle à été proposée par Lichtenthaler (1987). Des feuilles fraîches (0,1 g) ont été mélangées avec 4 ml d'acétone à 80% et centrifugées à 3000 tr / min pendant 10 min. l'absorption du surnageant a été lue à 647, à 664 et à 470 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les taux de chlorophylle a, de chlorophylle b, le contenu en chlorophylle totale b totale ont été déterminés comme suit:

La chlorophylle a, la chlorophylle b, le contenu en chlorophylle totale et les caroténoïdes exprimés en mg/g. M.S., ont été déterminés comme suit:

- **Chl a = 12,21 (A664) – 2,79(A647)**
- **Chl b = 21,21 (A647) – 5,1 (A664)**
- **Chl T = Chla + Chlb**
- **Carotenoide= (1000×A470-1,8×Chla -85,02 ×Chlb)/198**

II.4.6. Evaluation de l'abondance des formes biologiques d'*Aphis fabae*

À l'aide d'une loupe binoculaire (G×40), les différentes formes biologiques d'*Aphis fabae* et de *Chaitophorus leucomelas* ont été identifiées et dénombrées après chaque prélèvement.



Figure. II.6. Differentes formes d'*Aphis fabae* (8X10) (Originale, 2023).

III.1. Analyse statistique

L'analyse statistique a concerné l'évaluation de l'effet de biofertilisant à base d'extrait de la spiruline *Spiruline platensis* sur les paramètres de croissance des plantes de haricot *Phaseolus vulgaris* et ses retombées sur la fluctuation temporelle de puceron noir de la fève *A. fabae.*

Les analyses de la variance sont faites sur des moyennes homogènes adoptées sur la base d'un coefficient de variance (C.V. <15%). L'ensemble des tentatives ont été répétés au minimum trois fois. Les résultats, présentés sous forme de courbes ont été réalisés par le logiciel Microsoft Excel.

L'analyse en composantes principales (ACP) a été réalisée, afin d'apercevoir l'assemblage variétale dans les relations entre les traitements apportés et l'expression

végétative et la sévérité de puceron. Les analyses suscitées sont réalisées par le logiciel Past ver. 1,37.

La description statistique des tendances de la variation temporelle des différents paramètres (Croissance, abondance…..) sous l'effet des différents traitements ont été établies par une présentation en BoxPlot réalises par logiciel XLSTAT.

Lorsque le problème est de savoir si la moyenne d'une variable quantitative varie significativement selon les conditions (Types de bio-fertilisants, mode d'administration, etc...), il est préconisé de réaliser une analyse de variance. Les comparaisons des moyennes été réalisées par analyses de la variance (one-way ANOVA) et à l'aide du test F pour les variables suivant la loi normale. L'analyse de la variance type GLM a été adoptée pour déterminer les différences significatives ($p \leq 0,05$). L'analyse statistique des données a été effectuée à l'aide du logiciel SYSTAT vers. 12.

Chapitre III

CHAPITRE III.
RESULTATS

Les résultats relatifs à l'effet des extraits de la spiruline du sur l'état phytosanitaire et sur les paramètres morpho-physiologiques du haricot vert *Phaseolus vulgaris* sont présentés dans ce chapitre.

III.1. Evaluation de l'effet de l'extrait de la spiruline *Spirulina platensis* sur les paramètres morphologiques du haricot vert *Phaseolus vulgaris* L.

III.1.1. Evolution de l'effet de l'extrait de la spiruline sur la croissance cumulative des plantes du *Phaseolus vulgaris* L.

L'évolution hebdomadaire de la croissance cumulative du haricot vert *Phaseolus vulgaris* a été étudiée sous l'effet de différentes dilutions d'extrait de la spiruline (Figure III.1.).

Les résultats dévoilés, que l'ensemble des traitements apportés ont montré une élévation remarquable et continue jusqu'à la fin de suivi sur la croissance cumulative du haricot vert par rapport au témoin. Les résultats illustrent que, les différentes dilutions de l'extrait de la spiruline (5%; 10%; 15%) ont un effet presque similaire sur la longueur aérienne des plantes traitées (Figure III.1 a). Les resultats, montrent que la croissance des plants traités est beaucoup plus favorisée que celle des plants témoins (Figure III.1. a).

Le modèle géométrique linéaire G.L.M. a été appliqué pour évaluer l'effet strict des dilutions de l'extrait de la spiruline sur la croissance aérienne du haricot. À partir des résultats ce test, nous observons que les différentes dilutions enregistre un effet hautement significatif sur la croissance des plants traités par rapport au témoin (Test : G.L.M.: p=0,000***; p<1‰) (Figure III.1.b).

La présentation graphique en Box Plot des données expérimentales est avancée dans le but d'évaluer la fluctuation de la croissance cumulative du haricot vert *Phaseolus vulgaris* sous l'action des différentes dilutions d'extrait de la spiruline (Figure III.1.c).

L'activité stimulatrice se trouve influencer par la dilution de l'extrait de la spiruline, et par conséquent elle parait obéir à un gradient positif: **Témoin** (Q_2=20,10: Groupe homogène **c**) < **dilution 5%** (Q_2=25,50: Groupe homogène **b**) < **dilution 10%** (Q_2=27,30: Groupe homogène **ab**) < **dilution 15%** (Q_2=28,46: Groupe homogène **a**) (Figure III.1.c).

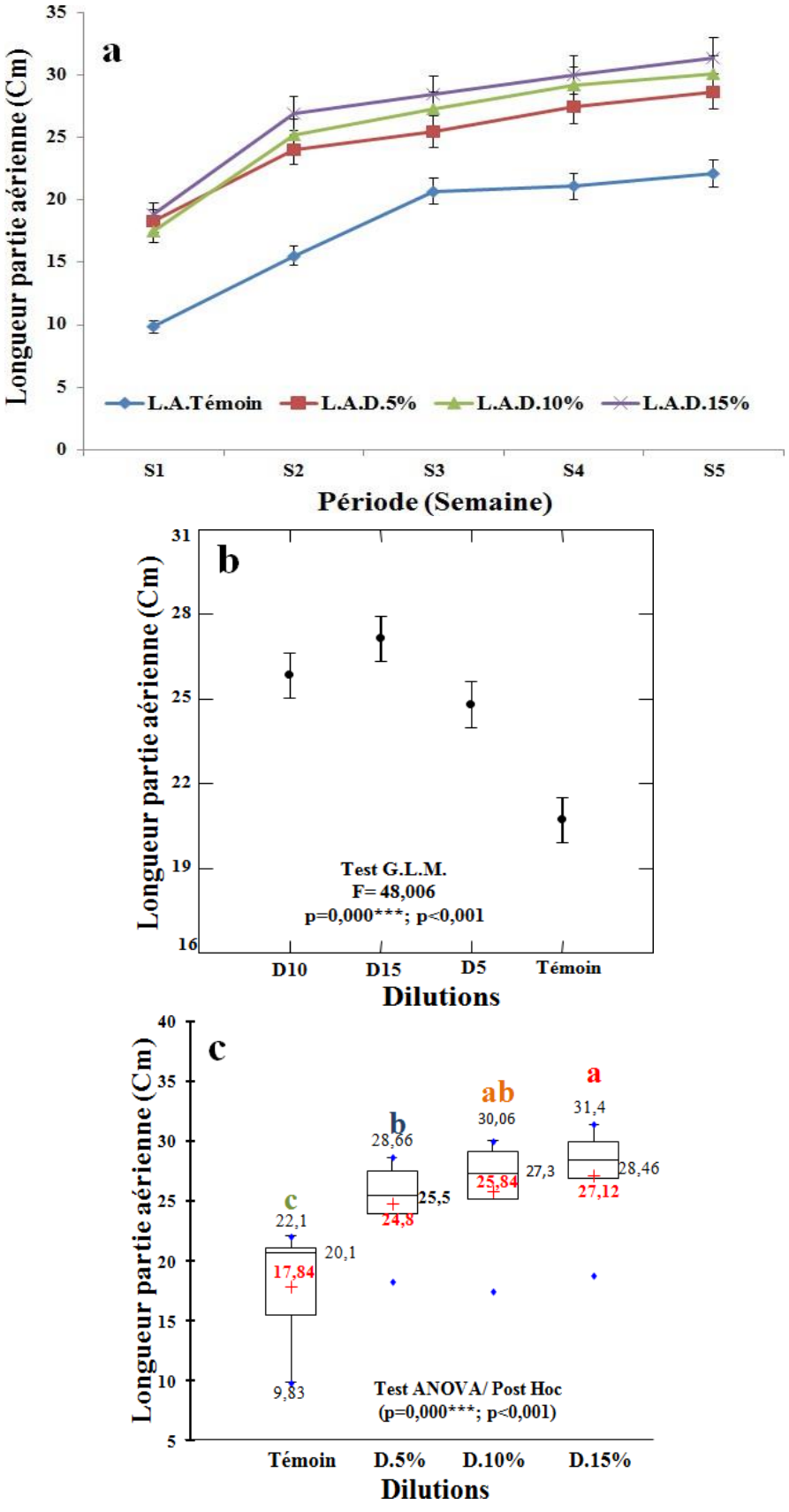


Figure III.1. Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur la croissance des plants du haricot *Phaseolus vulgaris* L.
L:Longueur; A:Aérienne; D:Dose; T:Témoin.

III.1.2. Evolution de l'effet des extraits de la spiruline sur la croissance racinaire du *Phaseolus vulgaris* L.

La Figure III.2 présente l'effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur la croissance racinaire des plants de haricot vert. L'analyse des résultats révèle que les différentes dilutions de l'extrait de spiruline provoquent une augmentation importante de la longueur racinaire du haricot vert par rapport au groupe témoin. De plus, on observe que les dilutions de 10% et 15% ont un effet fertilisant plus favorable sur la longueur racinaire des plants que la dilution de 5% (Figure III.2a).

Le bio-fertilisant à base d'extrait de spiruline utilisé a contribué de manière significative à l'augmentation de la croissance racinaire du haricot vert Phaseolus vulgaris par rapport au groupe témoin (Test G.L.M.: p=0,0001*; p<0,01) (Figure III.2.b).

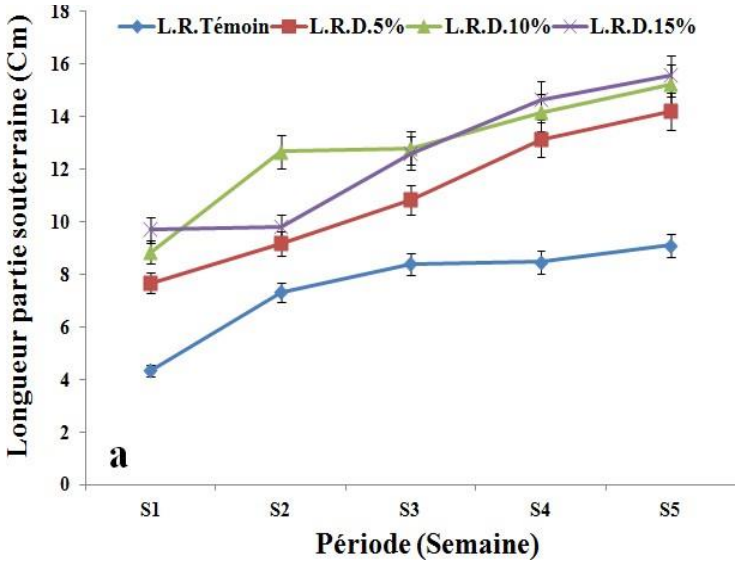
La représentation graphique des boîtes à moustaches illustre que le facteur dilution a un effet significatif sur la croissance racinaire des plants traités par rapport au bloc témoin (Test ANOVA.: p=0,0001*; p<0,01) (Figure III.2.c). Le Test Post Hoc révèle que les meilleures longueurs racinaires sont presque équivalentes pour les extraits dilués à 10% et 15% (Groupe homogène a), et que les longueurs enregistrées dans le groupe témoin sont inférieures (groupe homogène c).

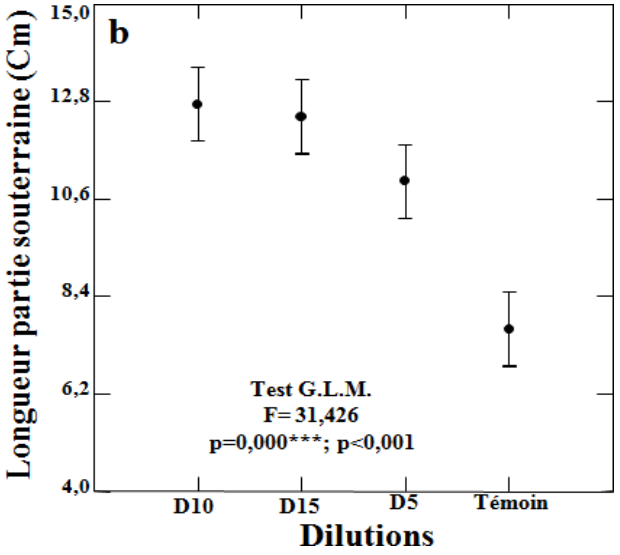
III.1.3. Evolution de l'effet des extraits de la spiruline sur la biomasse aérienne du haricot vert

La fluctuation temporelle de la biomasse aérienne des plantes de haricot a été évaluée en fonction de différentes dilutions des bio-fertilisants à base d'extrait de la spiruline. Les résultats révèlent une augmentation significative du poids aérien dans les blocs traités par rapport au bloc témoin (Figure III.3.a). De plus, les résultats illustrent que dilution la plus forte (D 15%) a une action fertilisante favorable sur les plants de haricot par comparaison aux autres dilutions (D 10%, D 5%). Il est important de souligner que le poids aérien des blocs traités est supérieur à celui du bloc témoin (Figure III.3.a).

Le poids aérien enregistré chez les plantes traitées par l'extraits de la spiruline est significativement supérieur a celui du témoin (Test G.L.M.: p=0,000*; p<0,001) (Figure III.3.b).

La représentation graphique de Box plot, indiquent que le facteur dilution a une action fertilisante sur la biomasse aérienne des plants traités (Test ANOVA.: p=0,0001*; p<0,01) (Figure III.3.c). Les résultats du Test Post Hoc, révèlent une augmentation progressive du poids aérien selon le gradient suivant: témoin (groupe homogène c). < Extraits dilué a 5% < Extraits dilué a 10% < Extraits dilué a 15% (Groupe homogène a) (Figure III.3.c).





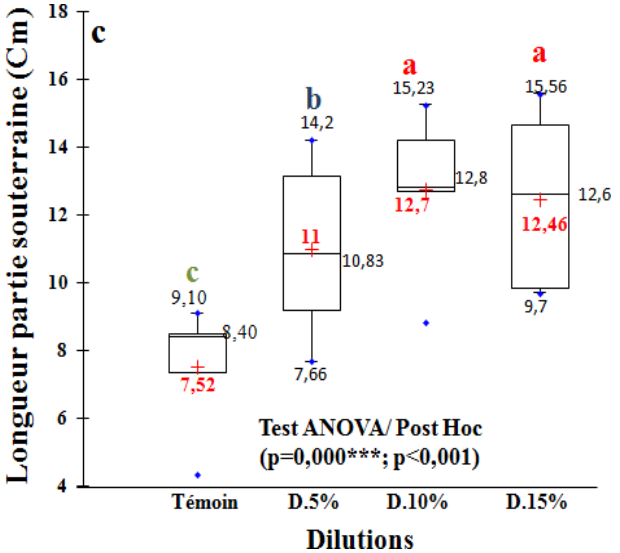


Figure III.2. Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur la croissance racinaire des plants du haricot *Phaseolus vulgaris* L.

L:Longueur; A:Racinaire; D:Dose; T:Témoin.

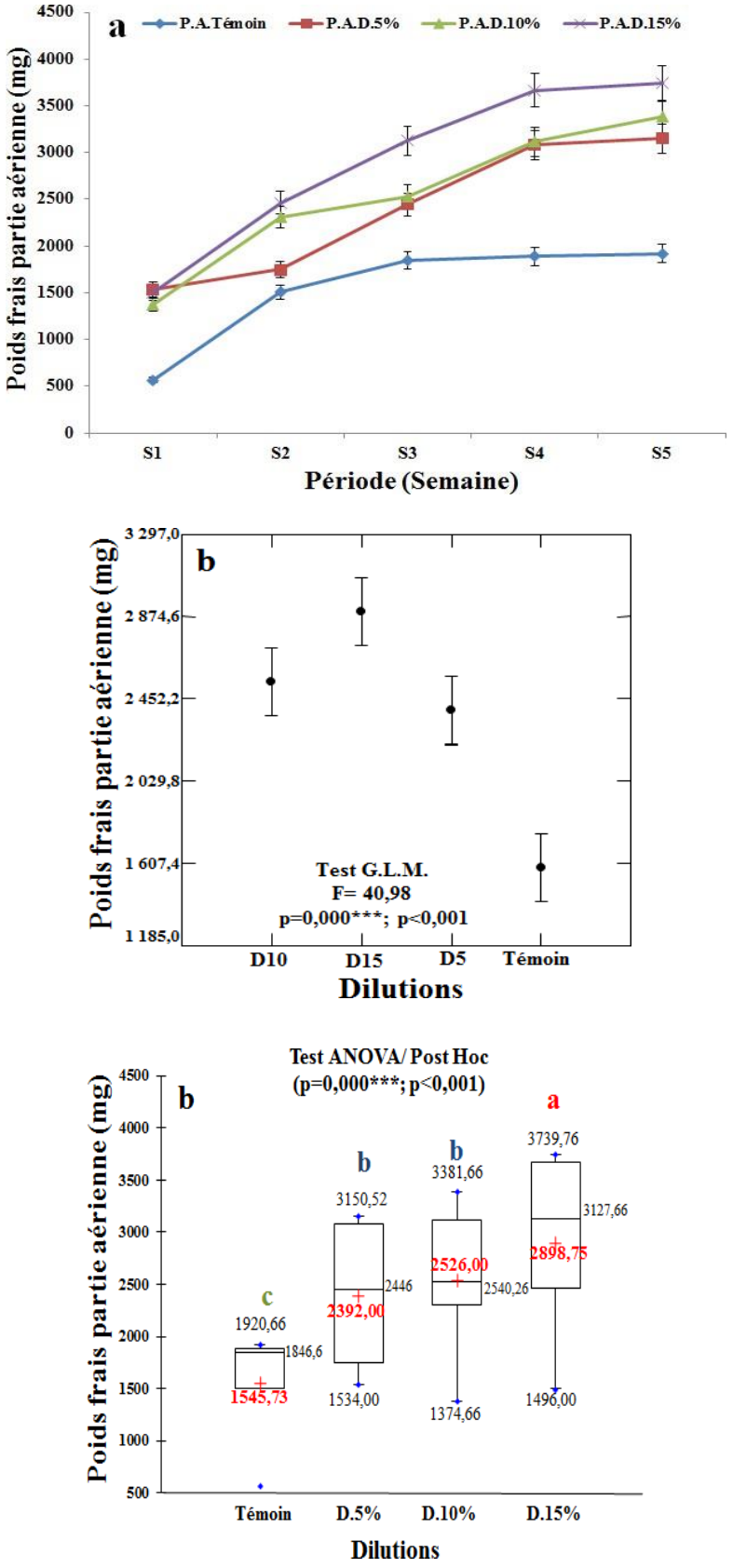


Figure III.3. Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur le poids de la partie aérienne des plants du haricot *Phaseolus vulgaris* L.
P:Poids; A:Aérienne;D:Dose; T:Témoin.

III.1.4. Evolution de l'effet des extraits de la spiruline sur la biomasse souterraine du haricot vert

Après avoir appliqué les extraits de spiruline, on constate une augmentation assez importante du poids souterrain des plants de haricots verts traités par rapport au témoin (Figure III.4.a). Les différentes dilutions d'extraits de spiruline appliquées ont un effet fertilisant presque comparable sur le poids des racines pendant les trois premières semaines. Au-delà de cette période, on observe que la dilution à 15% a un effet fertilisant plus favorable que les autres dilutions.

Les extraits de spiruline utilisés ont contribué de manière significative à l'augmentation du poids souterrain du *Phaseolus vulgaris* par rapport au témoin (Test G.L.M.: p=0,000**; p<0,001) (Figure III.4.b).

Les diagrammes en boîtes et moustaches démontrent que les différentes dilutions ont un effet stimulateur sur le poids des racines des plants traités par rapport au groupe témoin (Test ANOVA.: p=0,0001*; p<0,01) (Figure III.4.c). Le Test Post Hoc révèle que la dilution à 15% a enregistré le meilleur poids racinaire et est associée au groupe homogène (a), tandis que le poids le plus faible est enregistré dans le groupe témoin, associé au groupe homogène (b) (Figure III.4.c.).

III.1.5. Évolution de l'effet des extraits de la spiruline sur le nombre de feuilles du haricot vert

Les résultats de l'étude montrent que le nombre de feuilles des plants de haricots traités avec le bio-fertilisant à base de la spiruline est significativement plus élevé que celui des plants non traités (Figure III.5.a.). Dès les deux premières semaines de suivi, une distinction dans le nombre de feuilles entre les plants traités et le groupe témoin devient évidente. De plus, l'analyse de la variation du nombre de feuilles démontre que la dilution la plus forte, à 15%, a l'impact le plus important par rapport aux autres dilutions (10% et 5%).

Cette observation est soutenue par l'analyse statistique effectuée à l'aide d'un modèle G.L.M., qui confirme l'effet significatif des différentes molécules présentes dans la spiruline sur Le nombre des feuilles des plants de haricot (Test : G.L.M. : p=0,000*** ; p<0.001%) (Figure III.5.b).

La présentation graphique en Box Plot des données expérimentales est avancée que l'activité stimulatrice se trouve influencer par la dilution de l'extrait de la spiruline, et par conséquent elle parait obéir à un gradient positif: **Témoin** (Groupe homogène **c**) < **dilution 5%** (Groupe homogène **b**) < **dilution 10%** (Groupe homogène **ab**) < **dilution 15%** (Groupe homogène **a**) (Figure III.5.c).

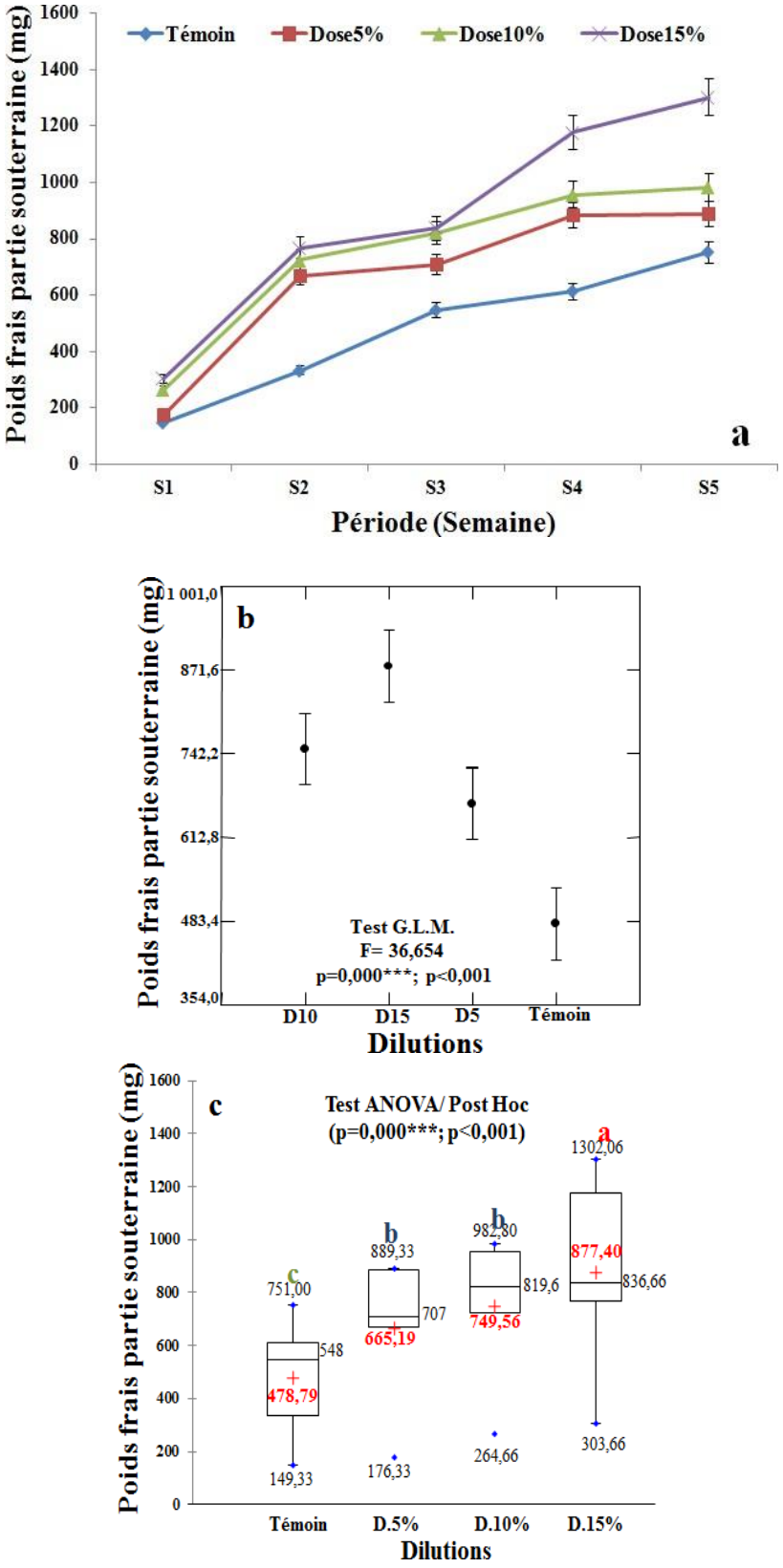


Figure III.4. Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur le poids de la partie souterraine des plants du haricot *Phaseolus vulgaris* L.
D:Dose; T:Témoin.

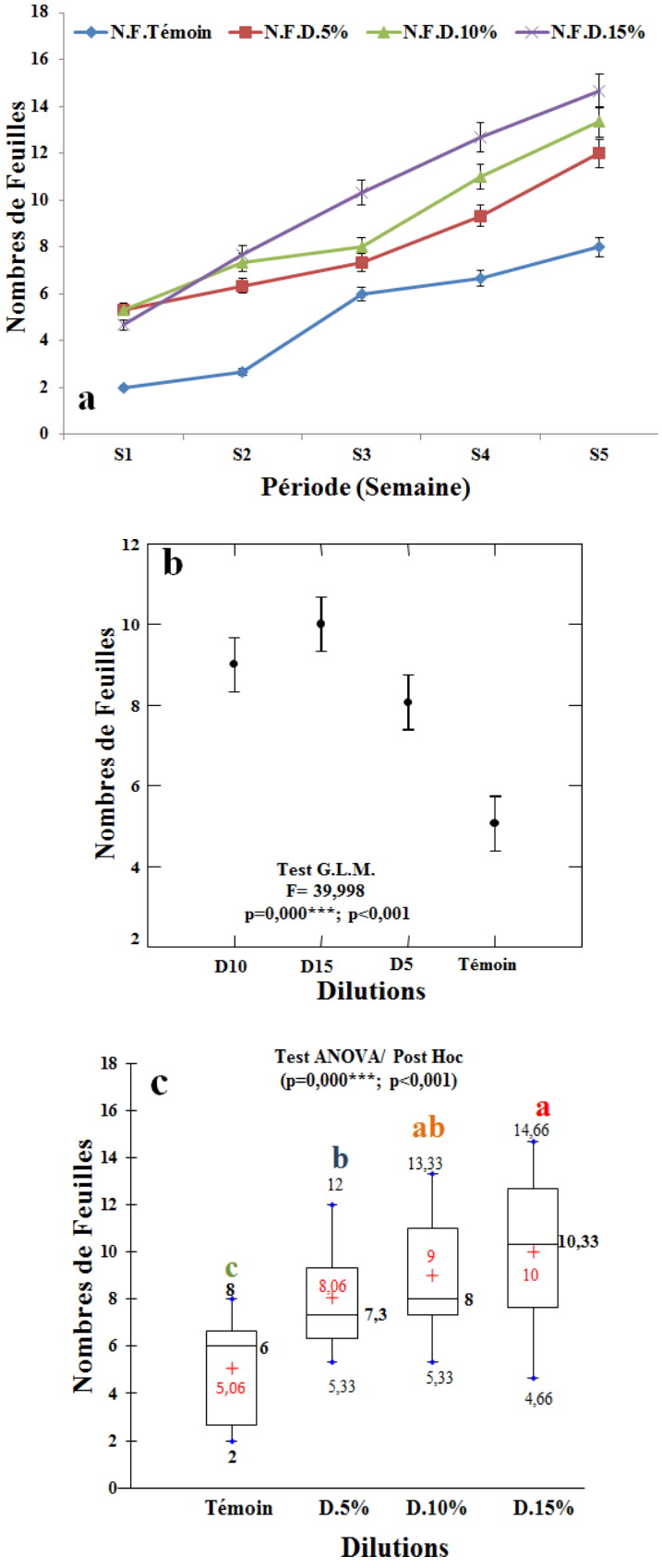


Figure III.5. Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur le poids de la partie souterraine des plants du haricot *Phaseolus vulgaris* L.
N:Nombre; F:Feuilles; D:Dose; T:Témoin.

III.1.6. Évolution de l'effet des extraits de la spiruline sur le nombre de bouquets floraux du haricot vert

Nous avons considéré le nombre de bouquets floraux comme paramètre possédant la capacité de montrer l'aptitude de bio-fertilisant à base de la spiruline à stimuler la production des plants de haricot.

Les résultats montrent que le nombre de bouquets floraux est plus important chez les plants traités en comparaison au témoin. Il est à noter qu'à partir de la 4^{ière} sortie de traitement on note une augmentation remarquable du nombre de bouquets sous l'effet des extraits appliques. Suite aux résultats, le nombre de bouquets est sous la dépendance de la forte dilution (Figure III. 6. a).

À partir des analyses, nous observons que le facteur dilutions enregistre un effet significatif sur le nombre de bouquets floraux du Haricot vert *Phaseolus vulgaris* (Test ANOVA: Test Post Hoc) (Figure III.6.b). L'analyse, montre que la forte dilution de l'extraits de la spiruline affiche un effet stimulateur important sur le nombre de fleurs par rapport aux autre dilutions et au témoin.

III.2. Effets des extraits de la spiruline sur les paramètres physiologiques du haricot vert *Phaseolus vulgaris*

III.2.1. Evaluation de l'effet des extraits de la spiruline sur la quantité de la proline du haricot vert

La Figure III.7 illustre l'effet stimulant de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur la quantité de proline dans les haricots verts. Les profils de proline chez les plantes soumises aux différents traitements montrent une accumulation significativement plus importante au fil du temps par rapport aux plantes non traitées (Figure III.7.a).

Les résultats de l'analyse de variance (ANOVA) révèlent que les différentes dilutions ont un effet hautement significatif sur la quantité de proline dans les plantes traitées par rapport au témoin ($p=0,000^{***}$; $p<1‰$) (Figure III.7.b).

L'activité stimulante est influencée par la dilution de l'extrait de la spiruline, suggérant ainsi un gradient d'effet régressif : **Témoin** (Groupe homogène d) > **dilution 5%** (Groupe homogène **c**) > **dilution 10%** (Groupe homogène **b**) > **dilution 15%** (Groupe homogène **a**) (Figure III.7.b).

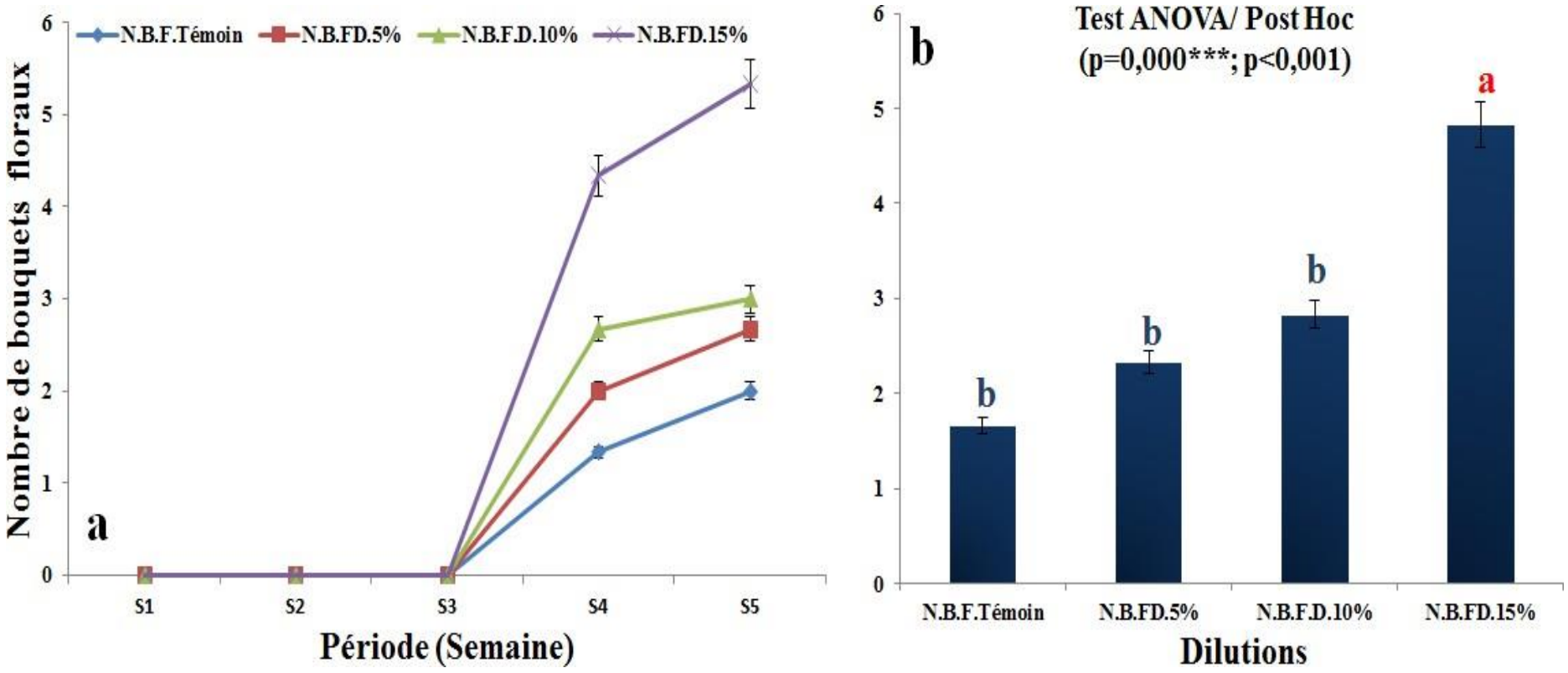


Figure III.6. Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur le nombre de bouquets floraux des plants du haricot *Phaseolus vulgaris*

N:Nombre; B: bouquets floraux; D:Dose;. T:Témoin.

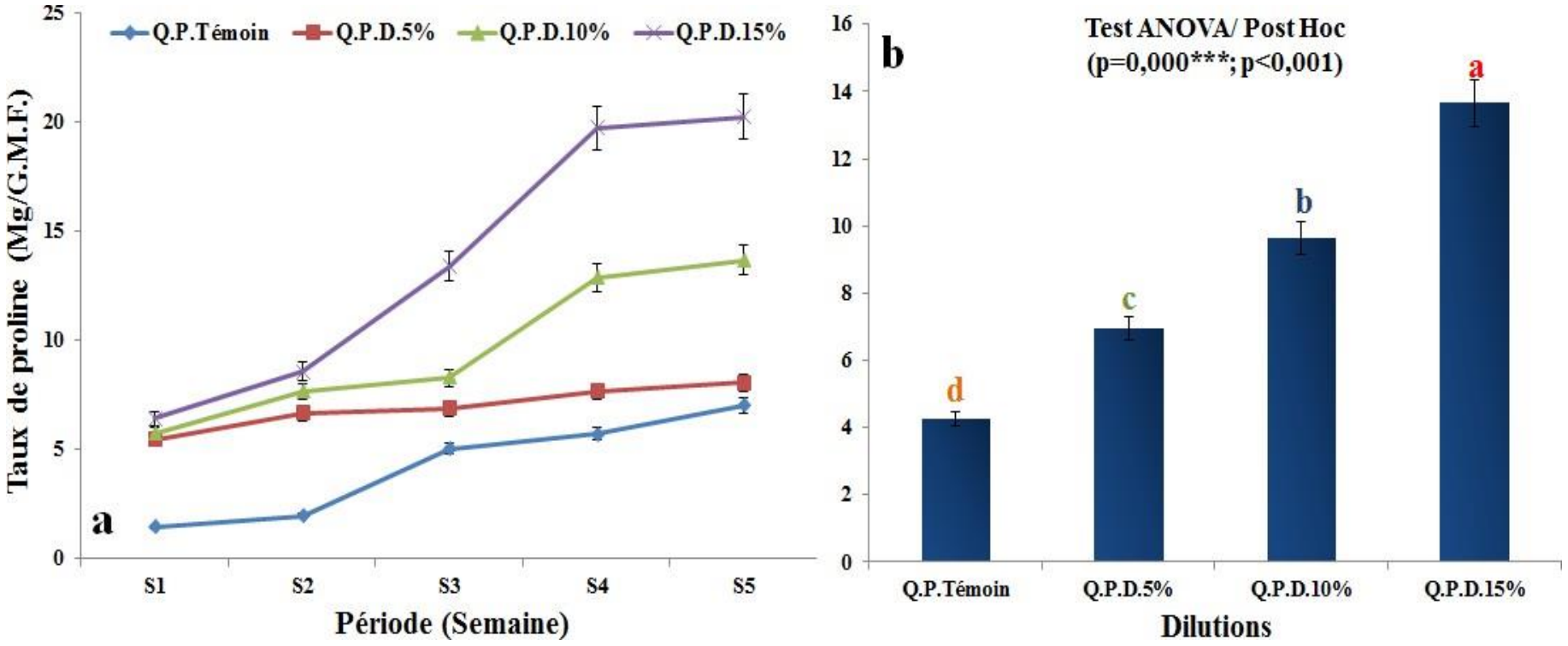


Figure III.7. Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur la quantité de la proline des plants du haricot *Phaseolus vulgaris*

Q.P.: Quantité de la proline; D:Dose; T:Témoin.

III.2.2. Evaluation de l'effet des extraits de la spiruline sur la quantité des sucres totaux du haricot vert

La Figure III.8 illustre les résultats de l'expérience sur l'effet de différentes dilutions des extraits de spiruline sur la quantité de sucres totaux présents dans les plants de haricots verts. Les observations montrent une accumulation remarquable de sucres totaux au fil du temps chez les plantes traitées par rapport à celles qui n'ont pas été traitées (Figure III.8.a).

Les résultats de l'analyse de variance (ANOVA) indiquent que les différentes dilutions ont un impact hautement significatif sur la quantité de sucres totaux chez les plantes traitées par rapport au groupe témoin ($p=0,000^{***}$; $p<1‰$) (Figure III.8.b).

L'activité stimulante est influencée par la dilution de l'extrait de spiruline, ce qui suggère un effet régressif graduel : **Témoin** (Groupe homogène d) > **dilution 5%** (Groupe homogène **c**) > **dilution 10%** (Groupe homogène **b**) > **dilution 15%** (Groupe homogène **a**) (Figure III.8.b.).

III.2.3. Evaluation de l'effet des extraits de la spiruline sur la concentration en Chlorophylle du haricot vert

La Figure III.9 montre la variation de la concentration en chlorophylle a, b et totale du haricot vert *Phaseolus vulgaris* sous l'effet des diffirents extraits apportés.

Les variations temporelles de la concentration en chlorophylle a (Figure III.9.a), en chlorophylle b (Figure III.9.c) et en chlorophylle totale (Figure III.9.e) du haricot vert indiquent une augmentation notable de la teneur en chlorophylle tout au long de la période d'observation sous l'effet des extraits de la spiruline par rapport au groupe témoin (Figure III.9).

Les résultats de l'analyse de variance (ANOVA) révèlent un impact hautement significatif des différentes dilutions sur la concentration en chlorophylle a, b et totale chez les plantes traitées par rapport au groupe témoin ($p = 0,000^{***}$; $p < 1‰$) (Figure III.9.b, d et f.).

L'effet stimulant est influencé par la dilution de l'extrait de spiruline, et par conséquent elle parait obéir à un gradient régressif : **Témoin** (Groupe homogène d) > **dilution 5%** (Groupe homogène **c**) > **dilution 10%** (Groupe homogène **b**) > **dilution 15%** (Groupe homogène **a**) (Figure III.9.b, d et f.).

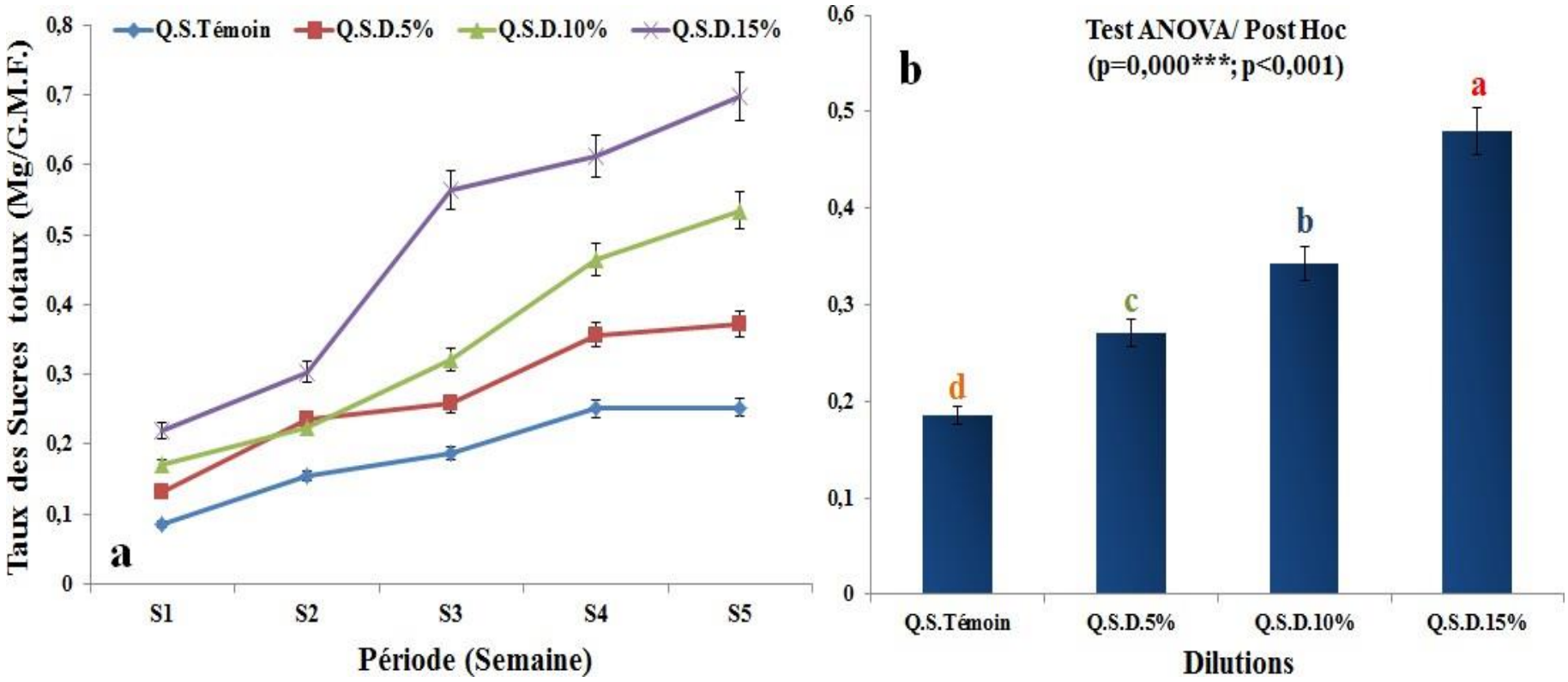


Figure III.8. Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur la quantité des sucres totaux des plants du haricot *Phaseolus vulgaris*

Q.P.: Quantité des sucres totaux ; D:Dose; T:Témoin.

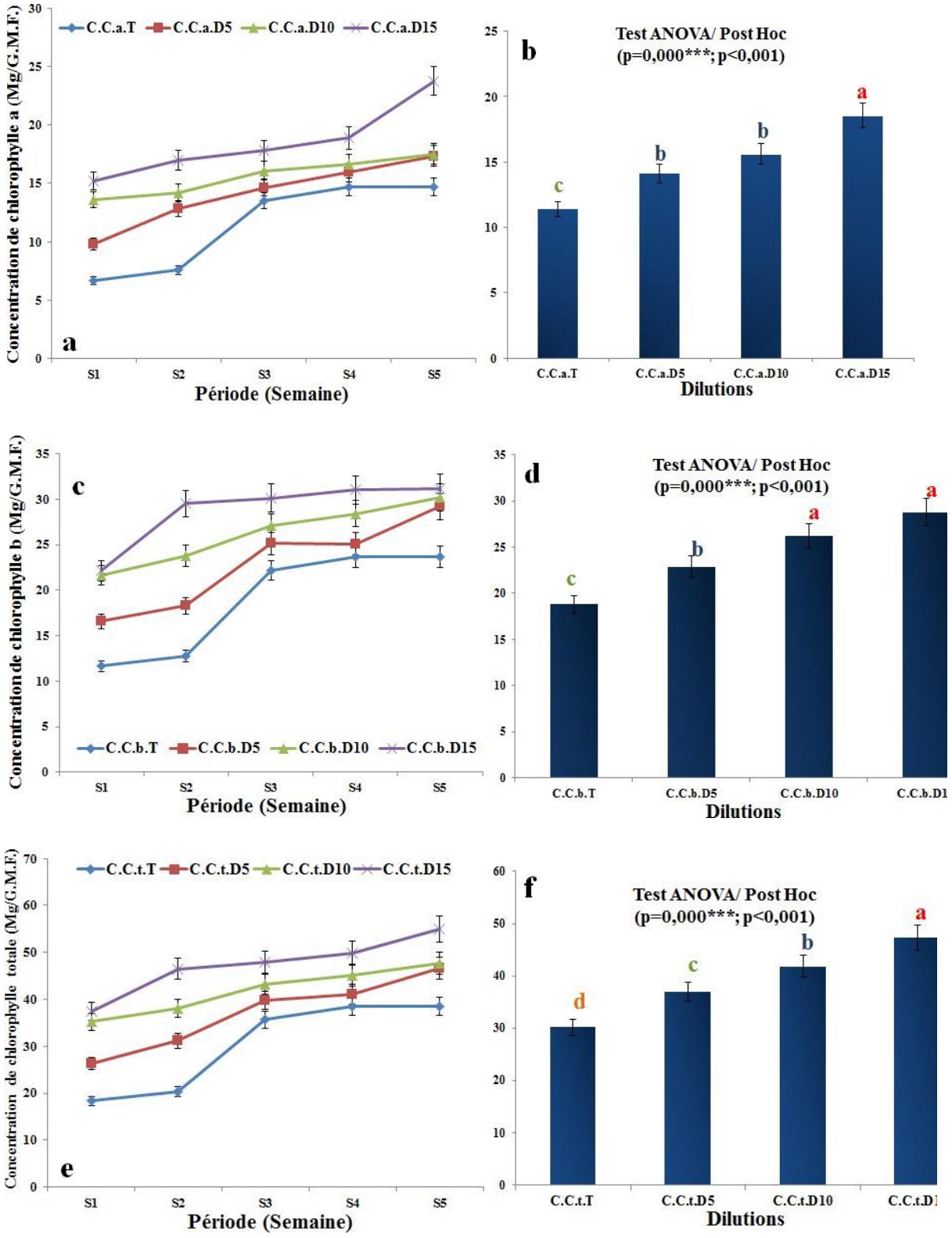


Figure III.9. Effet de différentes dilutions de l'extrait de la spiruline sur la concentration en Chlorophylle des plants du haricot *Phaseolus vulgaris*

C:Concentration; c. a: Chlorophylle a; c. b: Chlorophylle b; c.t. Chlorophylle totale; D:Dose; T:Témoin.

III.3. Evaluation de l'effet des extraits de la spiruline sur l'abondance du puceron noir de la fève *Aphis fabae*

Cette partie des résultats est consacrée à la présentation des fluctuations des populations du puceron noir d'*Aphis fabae* sous l'effet de différentes dilutions de bio-fertilisants à base de l'extrait de la spiruline.

Les extraits appliqués démontrent une action marquée sur la réduction du taux d'infestation des plants du haricot par les individus de puceron noir de la fève *Aphis fabae* en comparaison au témoin. La lecture des résultats illustrent que l'abondance d'*A. fabae* présente une tendance moyennement importante à la baisse chez les blocs traités, par comparaison au bloc témoin (Figure III.10 a et b).

Le modèle G.L.M. a été appliqué pour évaluer l'effet strict de la période, des dilutions des extraits de la spiruline sur l'abondance d'*A. fabae.* L'ensemble des résultats sont consignés dans la figure III.11. L'efficacité temporel e des traitements appliqués désigne une différence hautement significative entre les abondances d'*Aphis fabae* durant toute la période d'investigation (FigureIII.11. a).

Les résultats révèlent que les différentes dilutions des extraits de spiruline signalent une différence significative sur les abondances d'*Aphis fabae* en comparaison au témoin ($p= 0,000$; $p < 0,001$) (Figure III.11.b). Nous signalons que l'effet le plus important est observé sous l'effet de la forte dilution (15%).

Les résultats démontrent que l'abondance le plus important est signalée chez le stade larvaire, en comparaisons au stade adulte (Figure III. 11. c).

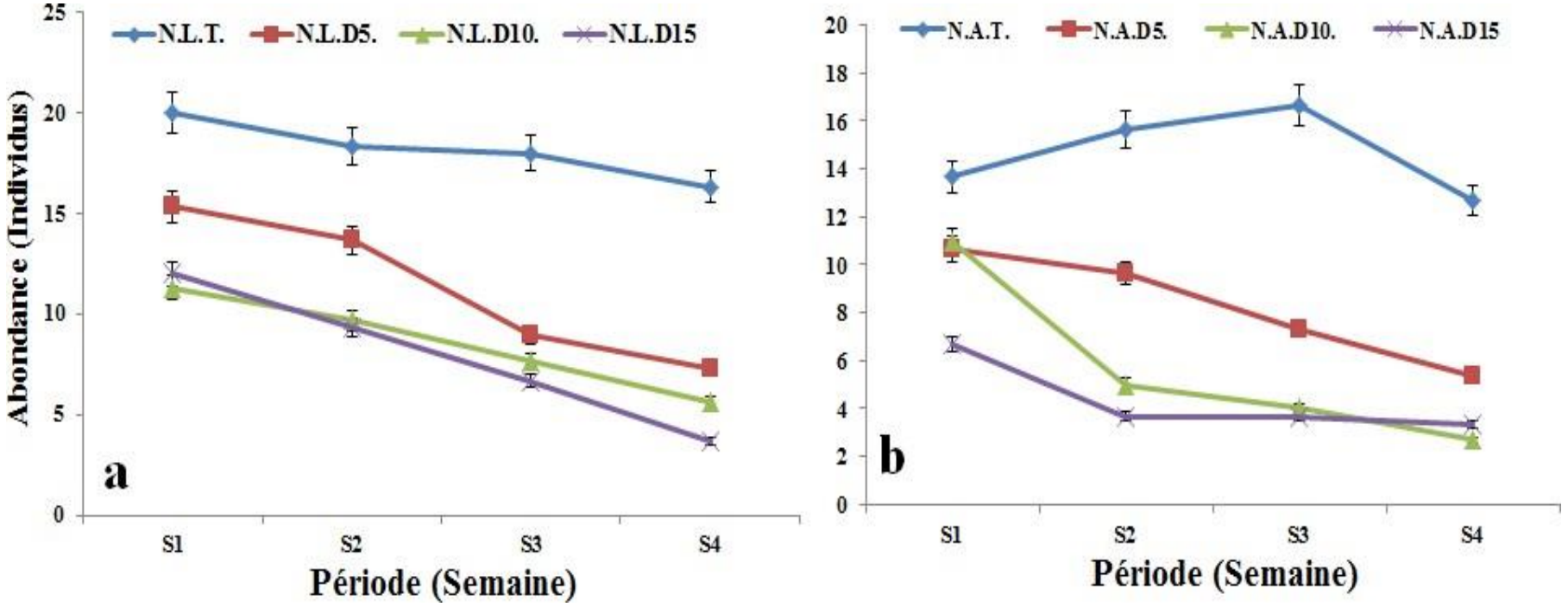


Figure III.10. Evolution temporelle des abondances d'*Aphis fabae* sous l'effet de différentes des extraits de la spiruline

N.L.: Nombre Larve; D:Dose; T:Témoin.

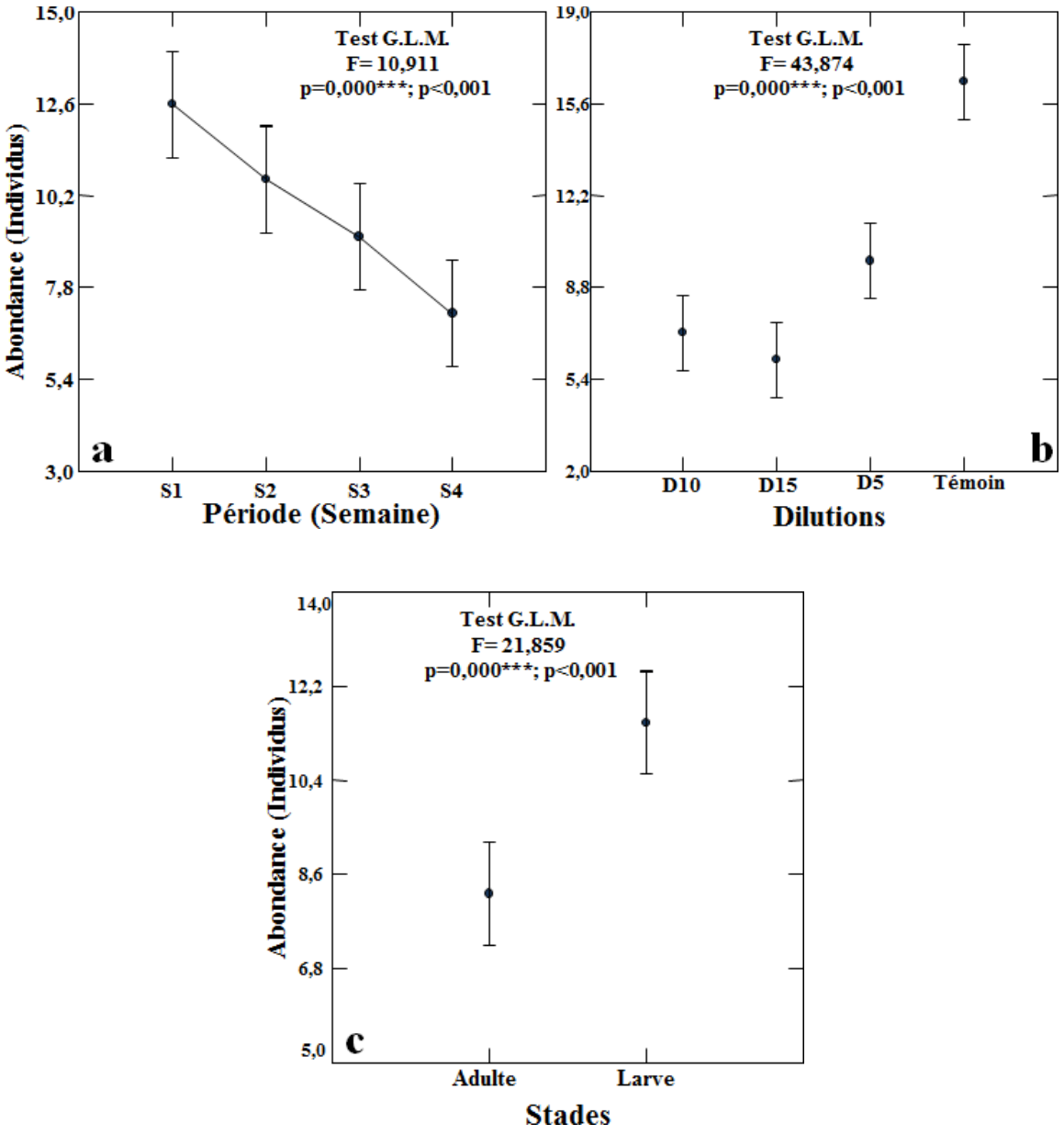


Figure III.11. Etude comparée de l'effet des extraits de la spiruline sur l'abondance d'*Aphis fabae*

Chapitre IV

CHAPITRE IV.
DISCUSSION GENERALE

La fertilité des sols est en déclin en raison de plusieurs facteurs tels que la culture continue, l'érosion des sols, la perte de nutriments et le déséquilibre nutritionnel. L'utilisation d'engrais joue un rôle crucial dans l'amélioration de la croissance des racines, la disponibilité des nutriments et la résistance des plantes aux ravageurs et aux maladies, ce qui entraîne une augmentation du rendement agricole (Huang *et al.*, 2014). Les engrais chimiques fournissent aux plantes les nutriments essentiels dont elles ont besoin, qui sont facilement absorbables, ce qui améliore la productivité des cultures. Cependant, une utilisation excessive d'engrais peut entraîner une augmentation des coûts de production et avoir des effets néfastes sur l'environnement (Adesemoye *et al.*, 2009). En effet, les résidus chimiques se retrouvent dans les plans d'eau par le biais des eaux de pluie, ce qui entraîne l'eutrophisation des masses d'eau. De plus, cela peut réduire la capacité du sol à retenir l'eau, perturber l'équilibre des éléments nutritifs et diminuer la fertilité du sol, ce qui peut avoir des conséquences négatives sur les micro-organismes vivant dans le sol (Youssef et Eissa, 2014).

Il est donc essentiel d'explorer des alternatives aux produits chimiques, comme les biofertilisants, afin de répondre à ces problématiques. Les biofertilisants naturels constituent une source alternative de nutriments pour favoriser la croissance des plantes, offrant ainsi une alternative aux engrais chimiques. Ils contribuent à la réduction des déchets, au recyclage des nutriments dans le sol, à l'augmentation des niveaux d'éléments nutritifs disponibles pour les plantes, à l'amélioration de la santé des organismes vivants, qu'ils soient animaux ou humains, et garantissent une approche respectueuse de l'environnement, économique et efficace pour améliorer la fertilité et la structure des sols (Shakankery *et al.,* 2014; Aggani, 2013). La bio-fertilisation est considérée donc comme un élément prometteur dans l'intégration des systèmes d'approvisionnement en nutriments dans l'agriculture. Elle favorise une approche durable et respectueuse de l'environnement (Bloemberg *et al.,* 2000).

Cette étude a permis de mettre en évidence les effets stimulants des biofertilisants à base d'extrait de la spiruline *Spirulina platensis* (Nostocales / Oscillatoriacées) sur les paramètres morpho-physiologiques et biochimiques des plants de haricots verts *Phaseolus vulgaris* L., 1753 et d'évaluer le degré de renforcement de la résistance du haricot vert à l'attaque du puceron noir *Aphis fabae* Scopoli, 1763 (Hemiptera / Aphididae).

IV.1. Evaluation de l'effet de l'extrait de la spiruline *Spirulina platensis* sur les paramètres morphologiques du haricot vert *Phaseolus vulgaris* L.

Les résultats relatifs à l'action de biofertilisant à base d'extrait de la spiruline sur l'expression végétative, ont prouvé que d'extrait à différents dilutions (dilué à 5%, dilué à

10% et dilué à 15%), a stimulé efficacement la croissance (la croissance aérienne cumulative, la croissance racinaire, la biomasse aérienne, la biomasse racinaire, le nombre de feuilles) des plants du haricot vert en comparaison au témoin. De plus, les résultats montrent que les fortes dilutions de 15% et 10% ont un effet fertilisant plus favorable sur la croissance des plants que la dilution de 5%. Les résultats obtenus suggèrent que les biofertilisants sont riches en éléments minéraux et en hormones, ce qui leur confère la capacité d'augmenter la division cellulaire et l'élongation des cellules chez les plantes. Plusieurs auteurs ont confirmé notre hypothèse selon laquelle les cyanobactéries peuvent être utilisées comme biofertilisants efficaces, offrant une alternative aux produits chimiques fertilisants, et bénéfiques pour la croissance des plantes et la production agricole (Maqubela *et al.,* 2009). De copieux travaux ont démontré que les cyanobactéries ont la capacité de fixer l'azote, ce qui en fait un biofertilisant favorisant la croissance des plantes (Genuárioa *et al.,* 2017 *in* Skanderi et Mammeri 2021; Raia *et al.,* 2018 *in* Hamouda *et al.,* 2019). Ces auteurs ont également constaté que les cyanobactéries contiennent des composés minéraux nutritifs ainsi que des composés actifs, tels que des hormones de croissance (auxines, cytokinines et gibbérellines), qui ont un impact sur la santé des plantes (Raia *et al.,* 2018 *in* Hamouda *et al.,* 2019; Skanderi et Mammeri 2021). Selon Nirmal *et al.,* 2018, les cyanobactéries, en tant que micro-algues, représentent une source riche en métabolites pour l'agriculture.

Parmi ces cyanobactéries on distingue la spiruline *Spirulina Platensis*. Jean *et al.* (2015) ont observé que l'utilisation de la Spiruline en tant qu'amendement a entraîné une amélioration de la croissance, du rendement et de la résistance de la culture face au stress biotique et abiotique. De plus, Venkataraman (1981), a démontré que la Spiruline possède la capacité de fixer l'azote atmosphérique, ce qui joue un rôle crucial dans l'augmentation de la fertilité du sol. Les effets bénéfiques de la poudre et de l'extrait de *S. platensis* peuvent être attribués à sa composition riche en acides aminés, en minéraux (notamment des oligoéléments), en protéines, en vitamines, en cytokinines en phycobiliprotéines et en auxines (Crouh *et al.,* 1992 *in* Aghofack-Nguemezi *et al.,* 2015; Jufri *et al.,* 2016; Godlewska *et al.,* 2019). Ces substances ont un impact sur le métabolisme cellulaire des plantes, ce qui conduit à une amélioration de leur croissance et de leur rendement. Par ailleurs, les polysaccharides présents dans ces extraits peuvent contribuer à améliorer la capacité du sol à retenir l'eau, favoriser le développement des racines et des bactéries bénéfiques au sol, ainsi que faciliter l'absorption des minéraux par les racines (Jeannin *et al.,* 1991 *in* Aghofack-Nguemezi *et al.,* 2015; N'Goran Urbain, 2017). Bluden (1991) et Norrie et Keathley (2006) ont rapporté que l'utilisation de la spiruline en tant qu'amendement a entraîné une amélioration de la croissance et du développement du haricot (*Phaseolus vulgaris*).

IV.2. Effets des extraits de la spiruline sur les paramètres phytochimique du haricot vert *Phaseolus vulgaris*

Les résultats indiquent que l'extrait de la spiruline a un effet significatif sur la synthèse de la chlorophylle par rapport au témoin. Ces résultats suggèrent l'extrait de la spiruline est riche en éléments minéraux et organiques, ce qui favorise une activité photosynthétique accrue. L'étude d'Al Dayel et El Sherif (2022) confirme cette hypothèse en démontrant que l'extrait de spiruline entraîne une augmentation du rendement en rhizomes et des pigments photosynthétiques chez les plantes de *Curcuma longa* par rapport au traitement témoin. De même, Yanni *et al.* (2020) ont constaté que l'application de spiruline augmentait la surface foliaire, la teneur en chlorophylle a, b et en caroténoïdes, ainsi que la teneur en gibbérelline. Ils ont également observé une augmentation de la hauteur de la plante, du nombre de branches fructifères, du nombre de capsules ouvertes par plante, du rendement en graines de coton et de l'indice des graines après égrenage, de la longueur des fibres, de la finesse et de la résistance, par rapport aux plantes non traitées.

L'application de la spiruline au sol a également montré des effets bénéfiques, notamment une augmentation de la teneur en chlorophylle, en protéines et en acides aminés dans les feuilles (Bhowmik *et al.,* 2010; Osman *et al.,* 2016; Mala *et al.*, 2017), ainsi qu'une augmentation de la teneur en vitamine A (Mala *et al.,* 2017) et de l'activité antioxydante de la biomasse cultivée (Mala *et al.,* 2017). La présence d'une plus grande quantité de chlorophylle dans les feuilles peut également résulter d'une surface foliaire accrue grâce à l'action de l'hydrolysat de spiruline (Mógor *et al.,* 2018) ou à l'utilisation d'une biomasse d'algues sèches pour enrober les graines (Hegazi *et al.,* 2010). Les micro- et macroéléments, ainsi que d'autres nutriments présents dans les produits à base de spiruline, jouent un rôle essentiel dans le métabolisme des plantes, notamment dans les activités physiologiques telles que l'organisation cellulaire et les métabolismes des protéines et des acides nucléiques (Anitha *et al.,* 2016). Des études antérieures ont également montré que l'application de produits à base de spiruline peut augmenter la teneur en micro- et macroéléments dans les cultures, les fruits et les légumes (Tuy *et al.,* 2015).

Les résultats obtenus suggèrent que l'application de l'extrait de la spiruline a un effet positif sur la production de sucres totaux et la quantité de proline chez les plantes traitées. En observant les variations des paramètres physiologiques, nous pouvons déduire que la composition spécifique de l'extrait de la spiruline influe sur l'enrichissement du contenu métabolique. Les effets bénéfiques de l'extrait de *S. platensis* peuvent être attribués à sa composition riche en acides aminés, en minéraux (notamment des oligoéléments), en protéines, en vitamines, en cytokinines en phycobiliprotéines et en auxines (Crouh *et al.,* 1992 *in* Aghofack-Nguemezi *et al.,* 2015; Jufri *et al.,* 2016; Godlewska *et al.,* 2019). Nos propres résultats confirment les conclusions antérieures d'Uprety et Yadava (1985), qui ont démontré que les plantes cultivées avec des fertilisants présentent une accumulation élevée de sucres totaux solubles dans les feuilles. Cette accumulation de sucres entraîne des modifications des glucides qui revêtent une grande

importance en raison de leur lien direct avec des processus physiologiques tels que la photosynthèse, la translocation et la respiration. Chez les plantes, les sucres sont nécessaires pour soutenir la croissance et la régulation de l'expression génique. Ils sont également considérés comme de bons osmorégulateurs qui peuvent jouer un rôle important dans l'adaptation des plantes au stress osmotique. Les sucres , ont un double rôle chez les plantes, ils participent aux événements métaboliques et agissent comme signaux moléculaires pour la régulation des différents gènes, en particulier ceux qui sont impliqués dans la photosynthèse, le métabolisme du saccharose et de la synthèse d'osmolyte (acides aminés comme la proline, les ammoniums quaternaires comme la glycine bétaine et les carbohydrates comme le tréhalose), ces derniers protègent les structures cellulaires des dommages liés au stress. Les sucres solubles agissent comme molécules de signalisation en situation de stress. Le taux des sucres augmente considérablement chez des plantes soumises aux différents types de stress. Ils sont aussi impliqués dans les réponses aux stress, tout en agissant comme des molécules signal activant des voies de régulation des réponses (Tchaker, 2018).

Les recherches menées par Tahri et al. (1998 *in* Abdessemed, 2014) ont démontré que l'accumulation de proline est observée dans de nombreuses espèces végétales soumises à diverses conditions de stress. Cette accumulation de proline n'est pas une réaction d'adaptation au stress, mais plutôt le signe d'une perturbation métabolique (Tchaker, 2018). La particularité dans l'accumulation de la proline par les plantes hautement stressées peut être un des paramètres pour caractériser le développement de la tolérance. En outre, Monneveux (1991) a constaté que l'accumulation de proline joue un rôle dans la protection de la membrane cellulaire et contribue à l'ajustement osmotique. Ainsi, l'accumulation de proline est l'une des stratégies adaptatives couramment observées chez les plantes pour atténuer les effets des différents types de stress.

IV.3. Evaluation de l'effet des extraits de la spiruline *Spirulina platensis* sur l'abondance du puceron noir de la fève *Aphis fabae*

A partir des résultats obtenu sur la fluctuation des abondances du puceron noir d'*A. fabae* il apparaît nettement une réduction importante d'abondance sous l'effet des extraits de la spiruline *Spirulina platensis* en comparaison au témoin. Nos résultats nous conduisent à formuler l'hypothèse selon laquelle l'application du biofertilisant a stimulé les mécanismes de défense naturels de la plante.

Cette hypothèse est cohérente avec de nombreuses études qui ont examiné l'utilisation d'éliciteurs sur les plantes, lesquels activent préventivement leurs réactions de défense, renforçant ainsi leur résistance aux bio-agresseurs. Les fertilisants ont stimulé les défenses naturelles de la plante cet état physiologique a permis à travers une cascade de mécanisme de défenses induits d'extérioriser l'effet répressif et/ ou répulsif à l'encontre de l'évolution numérique des densités des ravageurs selon pajot (2010). D'après Jean et *al*., (2015), l'extrait de la *Spiruline* peut participer à la résistance de la culture au stress

biotique et abiotique. Une étude antérieure, à suggérer que l'extrait de la spiruline réduisent la population de puceron noire de la fève. Selon l'étude de Sharaf *et al.* (2016), il est reconnu que la *Spirulina Platensis* possède des propriétés nématicides, c'est-à-dire qu'elle est efficace contre les nématodes.

Conclusion Générale

CONCLUSION GENERALE

Dans cette étude, nous avons évalué l'impact de différents extraits de *Spirulina Platensis* à différentes dilutions (D5%, D10%, 15%) sur plusieurs paramètres morpho-physiologiques et biochimiques (les croissances cumulatives aériennes et racinaires, la biomasse aérienne et racinaire, la formation de bouquets floraux, la teneur en chlorophylle, ainsi que la quantité de proline et de sucres totaux) du haricot vert *Phaseolus vulgaris*. Nous avons également examiné les effets de ces extraits sur la fluctuation populationnelle du puceron noir de la fève, *Aphis fabae*. Suite à une observation rigoureuse de l'expérimentation, nous avons obtenu les conclusions suivantes:

- L'utilisation de différentes dilutions d'extraits de la Spiruline a un effet fertilisant remarquable sur l'amélioration de l'expression végétative par rapport au contrôle.

- Parmi toutes les concentrations étudiées, la dilution de 15% s'est avérée être l'extrait le plus efficace, démontrant les meilleurs résultats pour tous les paramètres morphologiques évalués.

- Les différentes molécules appliquées ont influencé les réponses physiologiques et biochimiques de la plante, entraînant la synthèse et l'accumulation de métabolites simples tels que les sucres totaux solubles et la proline, ainsi que des variations dans la teneur en pigments (chlorophylle totale) chez le haricot vert par comparaison au témoin.

- Les extraits de cette cyanobactérie semblent agir comme un bio-stimulateur efficace pour renforcer la défense naturelle des plantes de haricot vert. Cela est démontré par la diminution de l'abondance du puceron noir *Aphis fabae*.

- La dilution de spiruline à 15% présente le taux le plus faible d'infestation par rapport aux autres dilutions.

Ces résultats suggèrent que les extraits de *Spirulina Platensis* pourraient être utilisés comme une méthode prometteuse pour améliorer la croissance et la résistance des plantes de haricot vert, tout en réduisant l'infestation par les pucerons noirs. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour mieux comprendre les mécanismes sous-jacents de ces effets bénéfiques et optimiser les concentrations et les méthodes d'application des extraits.

Référence Bibliographique

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abdelkader F.Z. et Ouadah A., 2016. Etude de l'activité insecticide des extraits hydro alcoliques de *Ricinus communis* L. et *Sapindus saponaria* L. sur le puceron noire de fève « *Aphis fabae* ». Mémoire de master, université de mostaganem, 56p

Abdessemed N., 2014. Implication des phytofortifiants dans la régulation du stress salin sur une culture du haricot: *Phaseolus vulgaris* L.var Djedida. Cas d'un biofertilisant issu de lalombriculture, SDB, Alger, 65 p

page **Ahounou M. N., 2018.** La SPIRULINE : un complément alimentaire en conseil à l'officine. Enquête d'utilisation. Thèse de doctorat, Université de Rouen.

Aghofack-Nguemezi J., Passannet A. S. et Valère T., 2015. Effets des extraits ou de la poudre de *Spirulina platensis* et *Jatropha curcas* sur la croissance et le développement de la tomate. J. *Appl. Biosci*, 90:8413 – 8420

Alamri R., Ben Abdallah M., et Ben Hamza A., 2015. Installation d'une unité de production de biofertilisants. Rapport de séminaire, Institut National Agronomique de Tunisie**.** https://www.memoireonline.com/01/16/9399/Installation-d-une-unitede-production-de-biofertilisants.html

Al Dayel Munirah F., et El Sherif Fadia., 2022. Spirulina platensis Foliar Spraying Curcuma longa Has Improved Growth, Yield, and Curcuminoid Biosynthesis Gene Expression, as Well as Curcuminoid Accumulation. *Horticulture*, https://doi.org/10.3390/horticulturae8060469.

Aouir A., 2017. Extraction des composés bioactifs de la spiruline par le champ électrique pulsé. Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Supérieure Agronomique - El Harrach –Alger, 190p.

Assemien E. F. L., 2018. Impact de pratiques agricoles conventionnelles et innovantes sur la fertilité des sols et les acteurs microbiens impliqués dans la zone de savanes humides de Côte d'Ivoire. Biochimie [q-bio.BM]. Université de Lyon. Français. ffNNT : 2018LYSE1103ff. fftel-01896147.

Belay A., Ota Y., Miyakawa K., Shimamatsu H., 1993. Connaissances sur les bienfaits de la Spiruline sur la santé. Journal of Applied Phycology 5: 235-241.

Blanchard A., 2018. Les stimulateurs des défenses naturelles des plantes (SDN), histoire d'une innovation phytosanitaire (1977-2007). Cahiers COSTECH - Cahiers Connaissance, organisation et systèmes techniques, 1. ffhal-01633345v2f

Bluden G., Jenkins T., Liu Y., 1997. Enhanced leaf chlorophyll levels in plants treated with seaweed extract. Journal Applied Phycology 8: 535-543.

Benramdane N., 2015. Etude des pucerons vecteurs de virus sur trois variétés de pomme de terre en plein champs (ENSA-El Harrach). Mémoire du magister en Agronomie, Ecole supérieure des sciences Agronomiques, El Harrach, 90p.

Ben Hamza H.et Laib A., 2020. Etude de L'activité insecticide de *Nerium oleander* L contre *Aphis fabae* Scopoli, 1763 (Hemiptera ,Aphididae). Mémoire de master. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi- B.B.A, 22p.

Bouchenafa H., 2020. Évaluation de l'effet des fertilisants sur la croissance de la tomate et la dynamique de ravageur. Mémoire de Master, Université de Médéa, 88p.

Chaichi W., 2018. Effets des biofertilisants sur la bio-fourniture et la correction des stress. Thèse de doctorat, université de Blida, Algérie, 189p.

Chekkal K., et Derradji S., 2015. Evaluation de l'effet insecticide de deux huiles essentielles formulées (*Thymus vulgaris* et *Eucalyptus globulus*) en combinaison avec un bioadjuvant *Silena juscata*) sur *Aphis fabae* (Homoptera : Aphididae) sur haricot en comparaison avec un produit chimique. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi, 68p.

Chibani H.R., 2017. Sélection et caractérisation des bactéries solubilisant le phosphate isolées du sol salin dans l'ouest algérien: effet sur la promotion de la croissance du blé (*Triticum* sp.). Thèse de doctorat, Université de Mostaganem, 125p.

Dion P. P., 2019. Minéralisation et prélèvement direct de l'azote organique dans les cultures légumières biologiques en serre. Doctorat en biologie végétale, Québec, Canada

Diop A., Ngom A., Gielge B., Diome T. et Noba K., 2020. Effet de différents biofertilisants sur la croissance du gombo, du maïs et du pois d'angole dans la région de Louga (Sénégal). *International Journal of Development Research,* 10(02):33589-33593.

Doumenge F., Durand-Chastel H., et Toulemont A., 1993. Spirulina, algue of life. Bulletin de l'Institut Océanographique de Monaco. Numéro spécial 12.Monaco. Musée Océanograhique. 222 p

Dreir W. et Goting M., 1974. Der einfluss bother. Salzkonzentrationen auf physiologische parameter von aiswurzelu. Wiss. Der H. V. Berlin, Nath. Naturwiss, 23, pp: 641- 646.

Dubois M.K.A., Gilles Y.K. et Hamilton P.A., 1956. Colemetric method for determination of sugars and related substance. *Anal and Chem. Jour*: 28. P: 350-356.

Dutartre M., 2015. Santé et adaptation du haricot commun Phaseolus vulgaris L. HAL Id: hal-01458648, https://hal.science/hal-01458648, 70 p.

Faessel L., Gomy R., Nassr N., Tostivint R.C., Dechanteloup R.A., 2014. Produits de stimulation en agriculture visant à améliorer les fonctionnalités biologiques des sols et des plantes – Étude des connaissances disponibles et recommandations stratégiques. Rapport d'étude au ministère de l'Agriculture, de l'Agroalimentaire et de la Forêt, Bio by Deloitte et RITTMO Agroenvironnement, p 155.

FAO., 1981. Blue-green algae for rice production. *FAO Soils Bulletin*. Rome, 1981.

Fekir N., 2014. Impact du puceron noir (Aphis fabae Scop). sur la variation temporelle des polyphénoles de la fève (*Vicia faba* L.). Mémoire de master. Universite Saad Dahleb-Blida 1, 53p.

Ferhat W.,et Lakehal., 2019. En vue de l'obtention du diplôme de Master Académique Filière : Biologie cellulaire et moléculaire Spécialité : Toxicologie Fondamental et appliqué. Mémoire de master. université d'El-Oued, 54p.

Fox RD., 1999. La spiruline: technique, pratique et promesse. Aix-en-Provence: Edisud; 1999.

Goulamabasse T. R., 2018. La spiruline : activités thérapeutiques et son intérêt dans la lutte contre la malnutrition à Madagascar. Thèse doctorat, Univ. Lille, France, 125p.

Hamdani D., 2012. Actions des poudres et des huiles de quelques plantes aromatique sur les paramètres biologiques du bruche du Haricot *Acanthoscelides obtectus* Say (Coleoptera, Bruchdae). Mémoire Magister, Université Mouloud Mammeri Tizi Ouzou ,96p.

Hamouda Ragaa, A.; Al-Saman Mahmoud A., et El-Ansary Mostafa S. M, 2019. Effect of *Saccharomyces cerevisiae* and *Spirulina platensis* on Suppressing Root-knot Nematode, *Meloidogyne incognita* Infecting Banana Plants under Greenhouse Conditions**.** *Egypt. J. Agronematol*. Vol. 18, No.2, PP. 90-102

f **Irene R, Giulia N N, Samuele Z, Walter B and Emanuele A.,** 2021. Spirulina for Skin Care : A Bright Blue Future. cosmetics, 8(7) : 19p.

Jean Aghofack-Nguemezi., Schinzoumka Passannet Augustin., et Tatchago Valère., 2015. Effets des extraits ou de la poudre de *Spirulina platensis* et *Jatropha curcas* sur la croissance et le développement de la tomate. Journal of Applied Biosciences 90:8413 – 8420.

Jufri A.F.; Sudradjat et Sulistyono. E.,2016. Effects of Dry *Spirulina platensis* and Antitranspirant on Growth and Yield of Chili Pepper (*Capsicum annuum* L.). J. *Agron. Indones*., 44, 170–175.

Kashani A., 2015. Genetic and Dietary Enhancement of n-3 Fatty Acids in Sheep Meat. Thèse de Doctorat, Université de Tasmania, Australie, 177p.

Kemiha S. et Bounit D., 2008. Effet de la salinité sur, la nutrition minérale des végétaux. Mémoire de magistère, université de Jijel, Algérie, 120p.

Lichtenthaler H.K., 1987. Chlorophyls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148:350-382.

Mansouri L. M., 2021. Etude des effets des facteurs biotiques et abiotiques sur la nodulation chez le haricot (Phaseolus vulgaris L.). Thèse de doctorat, université de Batna, 123p.

Ministère de l'Environnement, 2003. Synthèse des informations environnementales disponibles en matière agricole au Québec. Direction des politiques du secteur agricole, ministère de l'Environnement, Québec, Envirodoq ENV/2003/0025, 143 p.

N'Goran Urbain F. N., 2017. Optimisation de la culture de la spiruline en milieu contrôlé : éclairage et estimation de la biomasse. Optique / photonique. Université Paul Sabatier – Toulouse III, 2017. Français. NNT : 2017TOU30378. Tel 02013829, 144p.

Osman A. M. et Milthorpe F. L., 1971. Photosythesis of wheat in relation to age, illuminance and nutrient supplies. Result, *Photosunthetica*, 11(5): 61- 70.

Ould Bellahcen A, bouchabchoub A., Massoui.M., et El yachioui M., 2013. Culture et production de *Spirulina platensis* dans les eaux usées domestiques. Larhyss Journal, N°14, Juin 2013, pp. 107-122.

Razafintsalama H., 2018. La culture du haricot (*Phaseolus vulgaris* L.) dans le moyen ouest du vakinankaratra : effets d'apports de phosphore et de l'inoculation par des rhizobia. Thèse de doctorat, Université d'Antananarivo, 129p.

Safiddine F., 2012. Effet des biofertilisants sur l'évolution des métabolites

secondaires des plants de tomate et le développement des nématodes a galles dans des conditions contrôlées. Mémoire de Magister, Université de Saad Dahleb, Blida, 121p.

Safiddine F., Nebih D., Merah O. et Djazouli Z-E., 2019. Impact de différents types de vermicompost sur la réduction du nombre de galles de meloidogyne et l'expression végétative des plants de tomate. *Revue Agrobiologia* (2019) **9**(1): 1415-1427.

Sguera S., 2008. *Spirulina platensis* et ses constituants : intérêts nutritionnels et activités thérapeutiques. Sciences pharmaceutiques. HAL Id: hal-01732214. https://hal.univ-lorraine.fr/hal-01732214

Sharaf Abd El-Monem M.A., Kailla Atef M., Attia Mohamed S., et Nofal Mohamed M.,2016. Induced resistance in tomato plants against root knot nematode using biotic and abiotic inducers. J.*International Journal of Advanced Research in Biological Sciences.* ISSN: 2348-8069. DOI: 10.22192/ijarbs

Shimaa Hassan M. Ashour M. et Soliman A. A. F. 2017. Anticancer Activity, Antioxidant Activity, Mineral Contents, Vegetative and Yield of *Eruca sativa* Using Foliar Application of Autoclaved Cellular Extract of *Spirulina platensis* Extract, Comparing to N-P-K Fertilizers. *J. Plant Production, Mansoura Univ.,* 8 (4):529 – 536.

Skanderi M. et Mammeri A., 2022. *Effets des extraits de la spiruline Spirulina platensis sur les défenses naturelles des plantes.* . Mémoire de Master, Université de Médéa, 100 p.

Tahri M., 2018. Recherche de paramètres liés à la tolérance au sel chez l'haricot (Phaseolus vulgaris L.). Thèse de doctorat, université de Mostaganem, 130p.

Tchaker F.Z., 2018. Étude de l'efficacité globale des biopesticides et des pesticides de synthèses sur les ravageurs des essences forestières et des arbres fruitiers. Thèse de doctorat, Université de Blida, Algerie, 243 p.

Troll W. et Lindsley J., 1955. A photometric method for the determination of proline. *J.Biol. Chem.*, 216, pp: 655- 660.

Uprety M. et Yadava R. B.R., 1985. Effect of CCC on lodging, yield, and grain quality of Oat (*Avena sativa*) cultivar Kent *Indian Journal Plant Physiol* 28(1): 103-106.

Zemmouri F. et Belhadj S., 2022. Impact du the de vermicompost sur la réduction des populations de ravageurs et l'expression végétative des plants. Mémoire de Master, Université de Médéa, 78p.

Zombre N., 2006. Variation de l'activité biologique dans les zipella (sols nus) en

zone subsahélienne du Burkina Faso et impact de la technique du zaï (techniques des poquets). *Biotechnol. Agron. Soc. Environ ;* 10 (2), 139 – 148.