REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE DR. Yahia Farès de Médéa

Faculté des sciences nature et vie

Mémoire de Fin d'études

En vue de l'obtention du Diplôme de Master en Sciences Agronomique

Option : Phytopathologie

Présenté par : Younsi Maroua

Kadri Amel

Essaie des bactéries entomopathogènes à partir des larves des scarabées sur quelques bioagresseurs

Soutenue publiquement le 22/06/23

Devant le jury :

Président :	M^{me}.Zergoug.	**MCA**	Université de Médéa
Promoteur :	M^{me}.Mostefaoui H.	**MCA**	Université de Médéa
Co-promoteur:	M^{lle}.Abdelaziz O	**MCB**	Université de Constantine 1
Examinateur :	M^{me}.Slifi Malika.	**MAB**	Université de Bouira

Médéa 2022/2023

Résumé

Essaie des bactéries entomopathogènes à partir des larves des scarabées sur quelques bioagresseurs

Les insectes engendrent des dégâts importants sur les plantes cultivées et des denrées alimentaires stockée, pour faire face ont fait appelles à des moyennes de lutte basée sur l'utilisation des produits chimiques qui ont des effets néfastes sur la santé humaine et l'environnement. De ce fait l'utilisation d'autres alternatives de lutte devient indispensable. Pour cela, notre travail s'inscrit en lutte biologique qui chercher activement des souches de microorganismes dotés de pouvoirs pathogènes susceptibles de contribuer dans la régulation des populations de l'insecte. Dans ce contexte nous avons porte notre expérience sur les genres *Bacillus* deux souches V16 et V17 isolées à partir du ver blanc.En effet, les résultats obtenus, nous ont permisdeconfirmeretdepréciserl'importancedupotentieltoxémiquedes souches *Bacillussp*contre le ravageur de denrée stockée *Truboluiom castaneum* par des suspensions bactériennes physiologique et osmotique. Les différents tests statistiques des souches de le genres Bacillus de deux souches V16 et V17 avec deux solutions physiologiques et osmotiques une différent significative de moralités journalières pour chaque biocide prépare, ce qui nous a permis d'estimes l'évaluation de l'activité de biocides dans le temps qui a montrépour la souches V16 une absence des différentes entre les solutions utilisent dans la préparation (physiologiques et osmotiques) par Kruskal-Wallis test, mais la souches V17 montre une différentes significative entre les deux solutions utilisé dans la préparations de biocides.

Mot clés : V17, V16, ver blanc, *Truboluiom castaneum*

Abstract

Try entomopathogenic bacteria from beetle larvae on some bioaggressors.

Insects cause significant damage to cultivated plants and stored foodstuffs, to deal with it, means of control have been called for based on the use of chemicals which have harmful effects on human health and the environment. As a result, the use of other control alternatives becomes essential. For this, our work is part of biological control which actively seeks strains of microorganisms with pathogenic powers likely to contribute to the regulation of insect populations. In this context, we have focused our experience on the Bacillus genera, two strains V16 and V17 isolated from the white grub. Indeed, the results obtained allowed us to confirm and clarify the importance of the toxemic potential of Bacillus sp strains against the stored-food pest Truboluiom castaneum by physiological and osmotic bacterial suspensions. The different statistical tests of the strains of the genus Bacillus of two strains V16 and V17 with two physiological and osmotic solutions a significant difference in daily moralities for each biocide prepared, which allowed us to estimate the evaluation of the activity of biocides over time which showed for the V16 strains an absence of differences between the solutions used in the preparation (physiological and osmotic) by Kruskal-Wallis test, but the V17 strains show a significant difference between the two solutions used in the biocide preparations .

Key words: white worm larvae, *Truboluiom castaneum***,** V16, V17.

الملخص

محاولة البكتيريا المعدلة وراثيا الممرضة للحشرات من يرقات الخنفساء على بعض الأمراض الحيوية تتسبب الحشرات في أضرار جسيمة للنباتات المزروعة والمواد الغذائية المخزنة، ولمواجهة ذلك فقد تم الاستعانة بوسائل للمكافحة تعتمد على استخدام المواد الكيميائية التي لها آثار ضارة على صحة الإنسان والبيئة. نتيجة لذلك، يصبح استخدام بدائل التحكم الأخرى أمرًا ضروريًا. لهذا، فإن عملنا هو جزء من المكافحة البيولوجية التي تبحث بنشاط عن سالالت من الكائنات الحية الدقيقة ذات قوى مسببة الأمراض من المحتمل أن تساهم في تنظيم تجمعات الحشرات. في هذا السياق، ركزنا تجربتنا على أجناس Bacillus، السلالتين V16 و V17 معزولين عن اليرقة البيضاء. في الواقع، سمحت لنا النتائج التيتم الحصول عليها بتأكيد وتوضيح أهمية القدرة السامة للسلالات Bacillus sp ضد آفة الطعام المخزنة Truboluiom castaneum عن طريق المعلقات البكتيرية الفسيولوجية والتناضحية. الاختبارات الإحصائية المختلفة لسلالتين من جنس Bacillus من سلالتين V16 و V17 مع محلين فسيولوجيين وتناضحيين فرق معنوي في الأخلاق اليومية لكل مبيد حيوي تم تحضيره، مما سمح لنا بتقدير تقييم نشاط المبيدات الحيوية بمرور الوقت مما أظهر بالنسبة للسلالات V16 ، ال توجد فروق بين المحاليل المستخدمة في التحضير (الفسيولوجية والتناضحية) بواسطة اختبار Kruskal-Wallis ، لكن سالالت V17 تظهر فرقًا كبيرًا بين المحلين المستخدم في مستحضرات المبيدات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: V16 ، V17 ، Truboluiom castaneum .

Remerciements

Là ou il y'a des ténèbres, il met la lumière ; là où il y'a l'affliction, il met l'espoir, là où il y'a anéantissement, il met le courage, le compagnon éternel …**Dieu** merci.

Nous remercions à notre encadreur Madame **Mostefaoui Houda**, M.C.A à université Yahia Farés de Médéa pour la confiance qu'elle nous a accordée en acceptant de dirigé ce mémoire, ainsi que pour son soutien scientifique, nos sincère remerciement.

Nous remercions à notre co-encadreur Madame **Abdelaziz Ouided**, M.C.B à université Mentouri Constantine qui était d'une aide précieuse et d'une grande disponibilité durant toute cette aventure prodigieuse.

Très sincères remerciements aux membres de jury, qui avec leur mission de correction servent d'appui pour le savoir et l'instruction :

Madame**Slifi** MAA à université Yahia Farés de Médéa qui a accepté d'examiner ce travail

Madame **Zergoug** MCA à université Yahia Farés de Médéa qui nous a fait l'honneur de présider le jury.

Je remercie ma chère kenza qui m'aidéé dans mon mémoire et m'a soutenue de tout son soutien

Nous voudrions aussi remercier les professeurs qui nous ont formés au long de notre parcours universitaire.

Toute notre gratitude revient à ceux qui nous ont apportés tous les jours leur soutien sans faille, nous redonnons la motivation pour aller de l'avant et sans qui nous n'aurions probablement pas su trouver les ressources pour achever cette thèse, mille et un mercis.

Dédicace

À mon ciel... mon amour... ma guerrière qui est devenue veuve à un jeune âge et a consacré sa vie à m'élever, moi et mes frères... à ma chérie qui priait pour moi tous les jours d'école pour moi... à mon précieux, grâce à qui je suis ici après Dieu Tout-Puissant... à ma sécurité, mes aspirations et ma foi Ma nation, mon réconfort, ma demeure, ma demeure, mon confort et tout mon être ... À ma mère bien-aimée, Malika

A mon défunt dont la vie ne m'a pas permis d'être satisfait de sa tendresse. Celui qui vit dans mon cœur comme un créancier malgré son absence... A mon cher père Said, que Dieu lui fasse miséricorde et lui fasse habiter spacieusement son paradis.

A mon père Thani... A celui qui m'a élevé quand il était jeune... A celui que je remercie ici... A celui qui était à la fois frère et père quand il était jeune... A celui qui travaillé dur pour nous Mourad.

A mes compagnes sur mon chemin... A mes amis décédés... A mon premier et dernier refuge... A qui j'ai appris les amours de mon coeur, mes soeurs Meriem, Nawal, Hayat, Somaia et Besma.

À ma chère grand-mère Masouda, qui prie toujours pour que je sois juste, prospère et prospère, et à mon cher grand-père bien-aimé.

A mon soutien qui ne s'incline ni ne se fatigue... A mon refuge, mes espoirs et ma force... A mes frères Amin et Salah eddine.

A mes frères que nous n'aimions pas, ma mère Said, Kamal, Mohammad, Noureddine et Khaled.

Aux douceurs de ma vie, mes neveux et toutes mes sœurs.

À mon amie qui m'a aidé pour mon mémoire de fin d'études, Kenza.

A mes chères compagnes et amies, Yousra, Zineb, Rouqia, Khoula, Celia, Douaa et amel.

Maroua

Dédicace

Je dedie ce modeste travail :

Ala femme qui m’a acompagnié durent tout mon parcours educatif ma mere Wahiba

L’homme exemplaire dans ma vie mon père Abdelaziz

A mon frère pour nos désaccord nos disputes nostalgiques Omar

A notre pièce de dominant incomparable Sarah de son soutien durant tous les biens est les movais moment

A notre jois de maison Rayhana

A mon ame sœur Ilhem

A mes freres Mohamed et Hossem

A mon neuveu Amir et ma niece Eline

A tout ma famille, mes cousins et cousine chaqu’un avec son nom

A ma binome Meroua pur sont soutiene durent se parcoure de realisation de cette etudes

A tout mes amies wiame, Nihade,Zineb,Roukaia, kenza

A qui les jours m’ont réuni.

A tous mes amis de la promo phytopathologie 2023

Liste des abréviations

API2OE AnalyticalProfileIndex(E=Enterobacteriaceae)

API20NE AnalyticalProfileIndex(NE=NonEnterobacteriaceae

UFC UnitéFormantColonie

MH milieuMuller-Hinton

PDA milieuPotato-Dextrose-Agar

Liste des tableaux

Tableau1 :Bio écologie de l'insecte..... 34

Tableau 2 : identification des souches bactériennes isolées à partir du vers blancs sur milieu GN..... 47

Tableau03 : résultats de test d'entomopathogénicité des vers blancs.

Tableau04 : efficacité des biocides des deux souches V16 et 17testes sur *Truboluiom castaneum*..... *48*

Tableau 05: l'étude de l'activité antibactérienne des colonies bactériennes entomopathogènes par la méthode directe..... 49

Liste des figures

Figure 01 : *Bacillus thuringiensis* et *Bacillus cereus*. Images en microscope de contraste de phase objectifs 100 X (A, B, C) et 40X (D)..... 21

Figure 02 : Activité insecticide des δ-endotoxines Cry et Cyt contre les ordres Diptères, Coléoptères, Lépidoptères, Hémiptères et Hyménoptères 22

Figure 03:Mécanisme d'action des protéines Cry selon le modèle de liaison séquentielle..... 23

Figure 04 : Mécanisme d'action des protéines Cry selon le modèle des voies de signalisation..... 24

Figure05 : Associations mutualistes de deux genres *Xenorhabdus* et *Photorhabdus* mutualistes avec les nématodes entomopathogènes des genres *Steinerma* et *Heterorhabditis* *26*

Figure 06 : Larve de *Tribolium castaneum*..... *32*

Figure 07 : Nymphde *Triboliumconfusum*..... *32*

Figure 08 : Adulte de *T. castaneum*..... *33*

Figure 09 : cycle biologique de *Tribolium castaneum*..... *34*

Figure 10: Dégâts de Tribolium castaneum 37

Figure 11: quelques exemples de la galerie API 20NE et API 20E..... 41

Figure 12: Technique de préparation de solution bactérienne 43

Figure 13:le taux de mortalité de*Truboluiomcastaneum* par les suspensions bactériennes physiologique et osmotique du genre bacillus V16 et V17 49

Figure 14 : efficacité des biocides des deux souches V16 et 17testes sur *Truboluiom castaneum*..... *50*

Table des matières

Introduction 14
Chapitre I : Partie bibliographique
I.1. Généralité sur les bactéries 19
I.2.Généralité sur les bactéries entomopathogènes 19
3. les bactéries entomopathogenes les plus utilisées en luttes biologique .....
20
3.1. Genre Bacillus 20
3.2 Xenorhabdus et Photorhabdus 25
3.3 Pseudomonas 26
4.Utilisation des bactéries entomopathogènes 27
4.1 la germination 27
4.2 Processus d'infection 28
5. Résistance de la bactéries à l'immunité de l'insecte 28
5.1 Résistance à l'immunité cellulaire de l'insecte 29
5.2 Résistance à l'immunité hormonale de l'insecte 29
5.3 Résistane aux peptides antimicrobiens 29
5.4 Résistance au système phénoloxydase 30
Chapitre II: Généralitéssur les Tenebrionidae
1. Classifacastion et systématique de T.castaneum 31
2. Discription Morphologique 31
3. Facteurs de développement 35
4. Dégats causés par Ttribolium Castaneum 36
4.1 Régime alimentaire 36
5. Méthodes de lutte contre Tribolium castaneum 37
5.1 La lutte tradionnelle 37
5.2 la lutte biologique 37
5.3 L a lutte physique 37
5.4 La lutte chimique 38

5.5 La lutte génétique 38
Chapitre I1I: partie expérimental
Matériel et méthodes
1. Présentation des souches de Bacillus(V16 et V17) 39
2. Isolement, purification et identification des bactéries entomopathogenes 39
2.1 Isololement des bactéries entomopathogenes 39
2.2 La purification 39
2.3 Identification 40
2.3.1.1. Examen macroscopique 40
A. La coloration de Gram 40
B. Préparation du frottis 40
C. Les étapes de la coloration de Gram 41
2.3.1.3. Les galeries API 20 E 41
A. La galerie API 20… 41
B. La galerie API 20NE 43
2 .3.1.4. Etude biochimique 43
A. Etudes des enzymes respiratoires 43
3. Test d'entomopathogénicités 43
3.1. Préparation de l'inoculum 44
3.2. Injection 44
4. Analyse statistique 44
Chapitre IV Resultats et discussion
1. Isolement, purification, et identification 46
2. Test d'entomopathogénicité 48
Conclusion 54
Références bibliographique 56
Annexe 66

Introduction

Introduction

Les insectes nuisibles peuvent entraîner des pertes partielles, voire totales, des céréales stockées (Rajashekar et al, 2010). Ils sont responsables d'une perte annuelle mondiale de grains stockés comprise entre 10 et 40% (Rajashekar et al., 2012). Le moyen le plus courant de limiter leurs activités est l'utilisation de pesticides, mais malheureusement, ces derniers ont de nombreux effets indésirables. De nombreuses études ont confirmé que l'utilisation imprudente de pesticides chimiques entraîne d'autres conséquences néfastes, telles que la réduction de la biodiversité et l'apparition de résistance aux insecticides. La résistance des insectes de stockage à différents insecticides a été observée chez de nombreux insectes, notamment *Rhyzoperthadominica* (F.), *Sitophilusoryzae* (F.), *SitophilusZeamais* (Motschulsky) et *Tribolium castaneum* (Herbst), vis-à-vis des insecticides comme du malathion, du pirimiphos-méthyl, du fenitrothion et de la phosphine (Pacheco et al., 1990 ; Sartori et al., 1990 ; Sartori, 1993).

De nos jours, de nombreuses études se concentrent sur des méthodes de lutte alternatives, notamment l'utilisation de moyens naturels. Des recherches sont menées afin de trouver des méthodes alternatives de protection des denrées stockées en utilisant des substances inertes, telles que des substances végétales possédant des propriétés insecticides (Cissokho et al, 2015).

Les huiles essentielles sont des substances naturelles produites par les plantes et ont longtemps été utilisées comme insecticides avant l'apparition des produits chimiques de synthèse pendant les deux grandes guerres mondiales (Jouault, 2012).

L'utilisation des huiles essentielles en tant que telles remonte aux traces les plus anciennes provenant de l'Égypte, datant d'environ 3000 à 2000 ans avant JC. À cette époque, il semble qu'une forme primitive de distillation était utilisée pour extraire les substances des plantes aromatiques (Jouault, 2012).

En comparaison avec les produits chimiques de synthèse, plusieurs huiles essentielles se révèlent également très efficaces contre les insectes nuisibles. Elles présentent

généralement une efficacité à large spectre, mais sont spécifiques à certaines classes ou ordres d'insectes (Chiasson et Beloin, 2007).

L'efficacité des huiles essentielles en tant qu'insecticides a été largement démontrée, que ce soit par contact, ingestion ou fumigation, contre les insectes ravageurs des produits stockés. De nombreuses études ont été menées pour évaluer leur efficacité (Saheb, 2007).

Nous avons étudié une autre alternative à la place des huiles essentielles c'est une essaie des solutions extraites des bactéries entomopathogènes à partir des vers blancs sur l'insecte de denrée stockée le ver de farine *Truboluiom castaneum.*

L'objectif principal de cette étude est une étude biologiquepour chercher l'alternative aux huiles essentielles contre les ravageurs par un biocide à base des bactéries entomopathogène, c'est dans ce contexte que s'incrtit notre étude qui comporte:

- Isolement,purification et identification des bactéries à partir des vers blancs *Rhizotrogus majalis* ;
- Etudierlavirulencedesbactériesisolées contreles insectes de deneres stockés ***trubolium castaneum***

Dans ce cadre, cette étude est organisée en trois chapitres. La première partie qui une synthèse bibliographique inclure des généralités sur les bactéries entomopathogènes, qui présente les bactéries les plus utilisés dans la lutte biologique, leurs utilisations, résistance, suivi par un chapitre qui présente l'insecte de denrée stockée *Truboluiomcastaneum*, leur description, classification, bio écologie, Facteur de développement, dégâts, régime alimentaire et moyens de lutte contre le *Truboluiomcastaneum*. La deuxième partie porte sur l'expérimentation et la troisième partie inclure les résultats, discussion et conclusion.

Synthèse bibliographique

Chapitre 01 : bactéries entomopathogènes

1. Généralité sur les bactéries

Les bactéries entomopathogènes, des micro-organismes dotés de la capacité de parasiter et d'éliminer les insectes nuisibles aux cultures, revêtent une importance considérable dans l'agriculture. Elles constituent une alternative écologique aux pesticides chimiques néfastes pour l'environnement, agissant en tant qu'agents de lutte biologique. De plus, elles peuvent être aisément produites à partir de substances naturelles et ne présentent aucun risque pour les humains, les animaux et l'écosystème. Par conséquent, leur utilisation permet de protéger les cultures des insectes nuisibles tout en préservant l'intégrité de l'environnement et la santé humaine **(Ahmed *et al*, 1994; Starnes *et al*, 1993)**

Afin d'utiliser efficacement les bactéries entomopathogènes dans le domaine agricole, il est crucial d'acquérir une compréhension approfondie des différentes souches de ces microorganismes ainsi que de leurs méthodes d'application **(Roberts et Campbell, 1977; Doberski, 1981; Stathers *et al*, 1993).**

I -2. Généralité sur les bactéries entomopathogènes

Les bactéries entomopathogènes, des microorganismes qui infectent et éliminent les insectes nuisibles, sont employées comme agents de biocontrôle dans le secteur agricole. Elles trouvent également leur utilité dans les environnements urbains en tant qu'insecticides naturels pour lutter contre les insectes ravageurs.

Les bactéries entomopathogènes sont de minuscules procaryotes dépourvus de noyau distinct et d'organites définis. Elles se caractérisent par une paroi cellulaire structurellement différente **(Starnes et al, 1993)**. Les espèces bactériennes les plus fréquemment utilisées dans le cadre du biocontrôle des ravageurs des cultures appartiennent principalement à trois grandes familles : les *Bacillaceaesont*, qui incluent *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus popilliae* et *Bacillus sphaericus* ; les *Enterobacteriaceae*, tels que *Serratia* et *Xenorhabdus* ; et les Pseudomonaceae, représentées par Pseudomonas **(Greathead et al, 1994).**

Ces bactéries produisent des toxines spécifiques à certaines espèces nuisibles, sans être toxiques pour les plantes ou les auxiliaires. L'utilisation de ces bactéries comme agents de lutte biologique est considérée comme écologique et sans danger pour l'environnement.

Les bactéries entomopathogènes possèdent la capacité de pénétrer les insectes nuisibles en contournant leur système immunitaire, ce qui les rend pathogènes pour ces prédateurs de cultures. Afin d'établir une colonisation durable de l'insecte, ces bactéries doivent modifier sa physiologie en produisant des toxines. Cependant, les insectes déploient des mécanismes de défense physiques et chimiques pour limiter la pénétration de ces agents

pathogènes et éviter les dommages. Ces mécanismes de défense physiques incluent la cuticule externe, le péristaltisme intestinal et la membrane péritrophique (une couche interne de l'intestin moyen de l'insecte). De plus, les insectes utilisent diverses stratégies de défense chimiques, telles que le pH de leur système gastro-intestinal, les protéases, les peptides antimicrobiens, les récepteurs cellulaires du système immunitaire et leur microbiote intestinal, pour contrer l'invasion des bactéries entomopathogènes **(Vallet-Gely I, Lemaitre B, et al, 2008).**

3.Les bactéries entomopathogènes les plus utilisées en luttes biologiques :

Les bactéries appartenant au genre *Bacillus* sont largement connues et étudiées en raison de leur potentiel pathogène. Alors que *Bacillus cereus* et *B. anthracis* sont des agents pathogènes chez les humains, *B. Thuringiensis* (Bt) est un pathogène spécifique aux insectes et est couramment utilisé comme agent de protection des cultures contre divers parasites, tels que les papillons, les coléoptères, les mouches, les punaises et présente également d'autres activités biologiques, telles que l'élimination des mollusques, des nématodes (parasites d'humains et d'animaux, ainsi que des espèces libres ; Rhabditida), des acariens et même des cellules cancéreuses humaines **(Lecadet MM, Frachon E 1999).**

B. *Thuringiensis* (Bt) est une bactérie qui suscite un vif intérêt et qui est présente dans de nombreux environnements écologiques tels que la rhizosphère et les tissus végétaux. Cependant, elle reste partiellement mystérieuse **(Argôlo-Filho RC, Loguercio LL 2014)**. Cette bactérie est gram-positive et facultativement anaérobie, et elle produit des inclusions cristallines (toxines Cry) lors de la sporulation, au cours de la phase stationnaire de croissance et de sporulation (Figure 1).

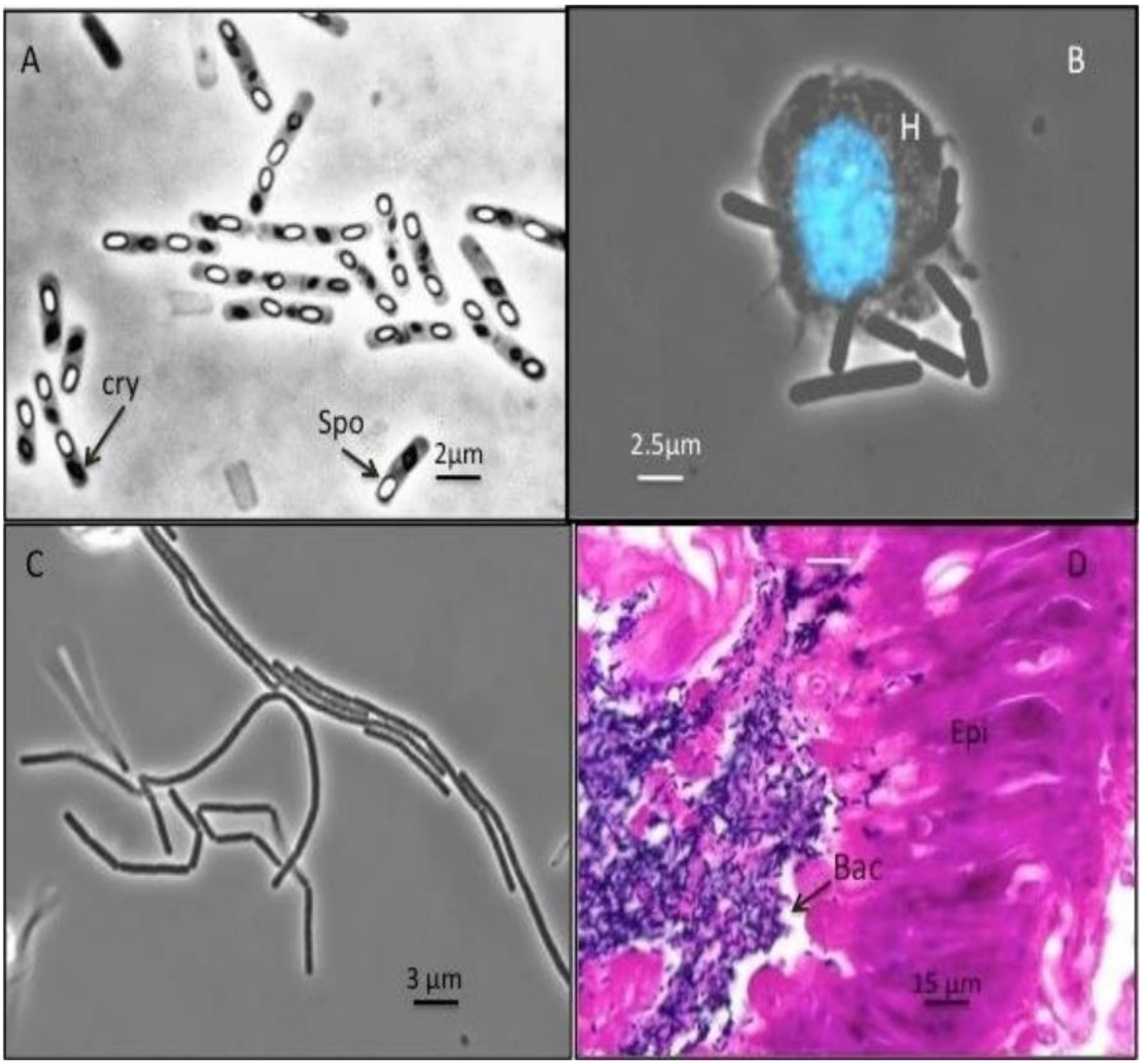


Figure 1 :*Bacillus thuringiensis* et *Bacillus cereus*. Images en microscope de contraste de phase objectifs 100 X (A, B, C) et 40X (D)(13 May2023)(Images, GME, INRA-Micalis (A, B, C) service Histopathologie Institut Pasteur).

Légende :

(A) : *B. thuringiensis* phase sporulée avec présence de spores (spo) et cristaux de toxine Cry (cry) dans des cellules non lysées.

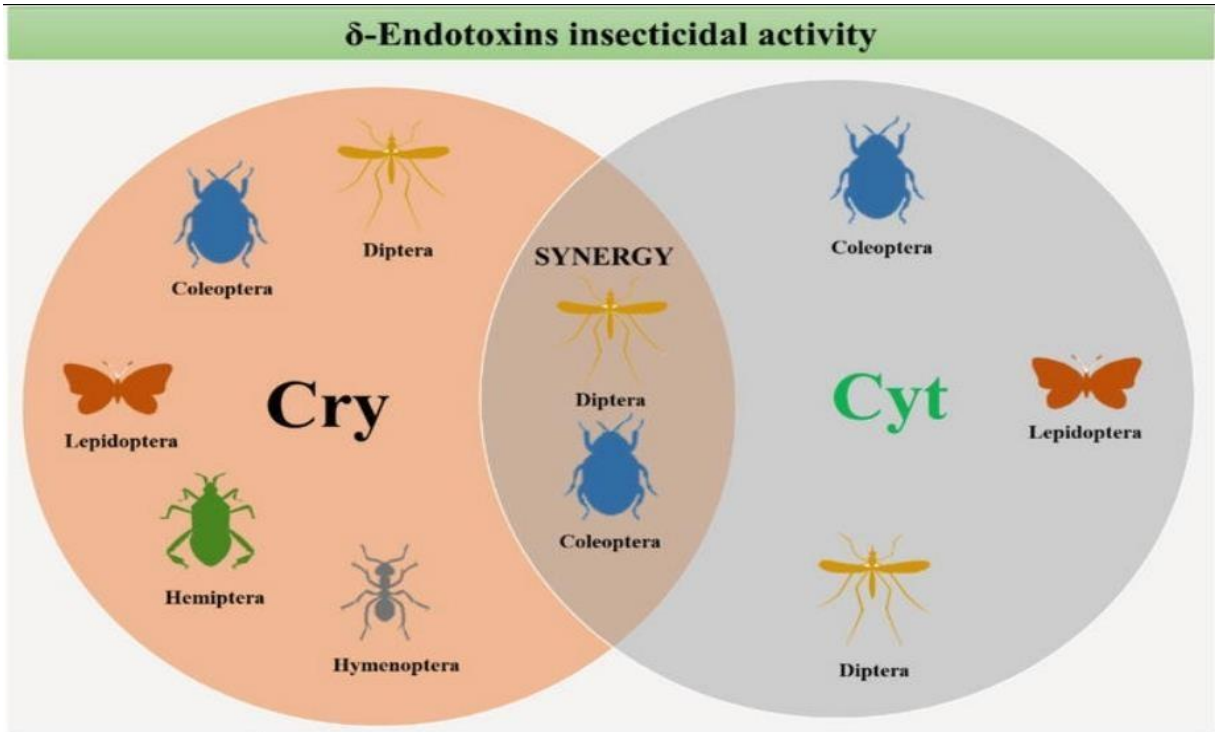
(B) : *B. thuringiensis* en contact avec un hémocyte (H) de larve de l'insecte *Galleriamellonella*; L'ADN est coloré au DAPI (bleu) sous lumière UV.

(C) : *B. cereus* ATCC 14579 (souche de cette étude) en phase végétative formant des chainettes.

(D) : *B. thuringiensis* (Bac) phase végétative en contact avec épithélium de l'intestin moyen du stade larvaire de l'insecte *G. mellonella* (Images, GME, INRA-Micalis (A, B, C) service Histopathologie Institut Pasteur).

Mécanismes d'acquisition du fer de l'hôte chez Bacillus cereus : rôle du couple bacillibactine-FeuA et expression des gènes impliqués dans l'homéostasie du fer in vivo durant l'infection intestinale chez l'insecte. - Scientific Figure on ResearchGate. Available from: https://www.researchgate.net/figure/Bacillus-thuringiensis-et-Bacillus-cereus-Images-en-microscope-de-contraste-de-phase_fig1_336274823 [accessed 13 May, 2023]

Le processus d'infection par *B. thuringiensis* se faitpar δ-endotoxine, divisée en deux familles : toxines cristallines (Cry) et cytolytiques (Cyt)**(Fernández-Chapa, 2019)** ; codées par les mêmes gènes **(Schnepf E, Crickmore N 1998)**. Ces toxines cristallines (protéines insecticides)pourraient être responsables d'autres nouvelles propriétés biologiques suggérant une nature pluripotentielle avec des spécificités différentes**. (Fernández-Chapa, 2019)**. Sur la base des séquences d'acides aminés, il existe 75 familles de protéines Cry, avec 800 différentesPleurergènestandis que les protéines Cyt se composent de trois familles avec 38 gènes **(Fernández-Chapa, 2019)**



Diptera	Cry1(A-C), Cry2(A-B), Cry4(A-C), Cry10(A), Cry11(A-B), Cry16(A), Cry17(A), Cry19(A-C), Cry20(A), Cry21(A-H), Cry24(A-C), Cry25(A), Cry27(A), Cry29(A-B), Cry30(A-G), Cry32(B-D), Cry39(A), Cry40(A-D), Cry44(A), Cry47(A), Cry48(A),Cry49(A), Cry52(A-B), Cyt1(A-D), Cyt2(A-D), Cyt3(A)
Coleoptera	Cry1(A-I), Cry2(A), Cry3(A-C), Cry7(A), Cry8(A-G), Cry9(D), Cry14(A), Cry18(A-C), Cry22(A-B), Cry23(A), Cry26(A), Cry28(A), Cry34(A-B), Cry35(A-B), Cry36(A), Cry37(A), Cry38(A), Cry43(A-C), Cry55(A), Cyt1(A), Cyt2(C)
Lepidoptera	Cry1(A-K), Cry2(A-B), Cry7(B), Cry8(D) Cry9(A-C,E), Cry15(A), Cry19(A-C), Cry20(A-B), Cry22(A), Cry32(A), Cry51(A), Cry54(A-B), Cry59(A-B), Cyt2(B)
Hemiptera	Cry3(A), Cry5(A), Cry22(A)
Hymenoptera	Cry2(A), Cry3(A), Cry11(A)

Figure 2 : Activité insecticide des δ-endotoxines Cry et Cyt contre les ordres Diptères, Coléoptères, Lépidoptères, Hémiptères et Hyménoptères **[(Fernández-Chapa, 2019)** ; 15, 21,23].

- Les protéines Cry possèdent trois domaines.
    1. Responsable de l'insertion de la toxine dans la membrane intestinale de l'hôte et la formation de pores,
    2. Joue un rôle dans la sélectivité et est responsable de la liaison toxines-récepteurs.
    3. Permet de préserver l'intégrité structurelle de la toxine.

L'un des plus grands avantages des toxines Cry est leur haute spécificité vis-à-vis de l'hôte cible. Sans effet significatif sur les organismes vertébrés ou invertébrés non ciblés, ces toxines constituent un agent de choix dans les approches de contrôle biologique **(Xu C, Wang BC 2014).**

Le processus d'infection par *B. thuringiensis* se traduit par différentes étapes. Après ingestion de la toxine, cette dernière se solubilise dans le pH alcalin de l'intestin puis est activée par l'action de protéases clivant la prototoxine en petits peptides **(Bravo A, Gilll SS, et al, 2007).** Une fois fixées aux récepteurs spécifiques de l'intestin, les toxines s'insèrent dans les membranes en formant des pores. Suite à la destruction des cellules par lyse osmotique, l'insecte va cesser de se nourrir et mourir des suites de l'infection **(Bravo A, Gilll SS, et al, 2007).**

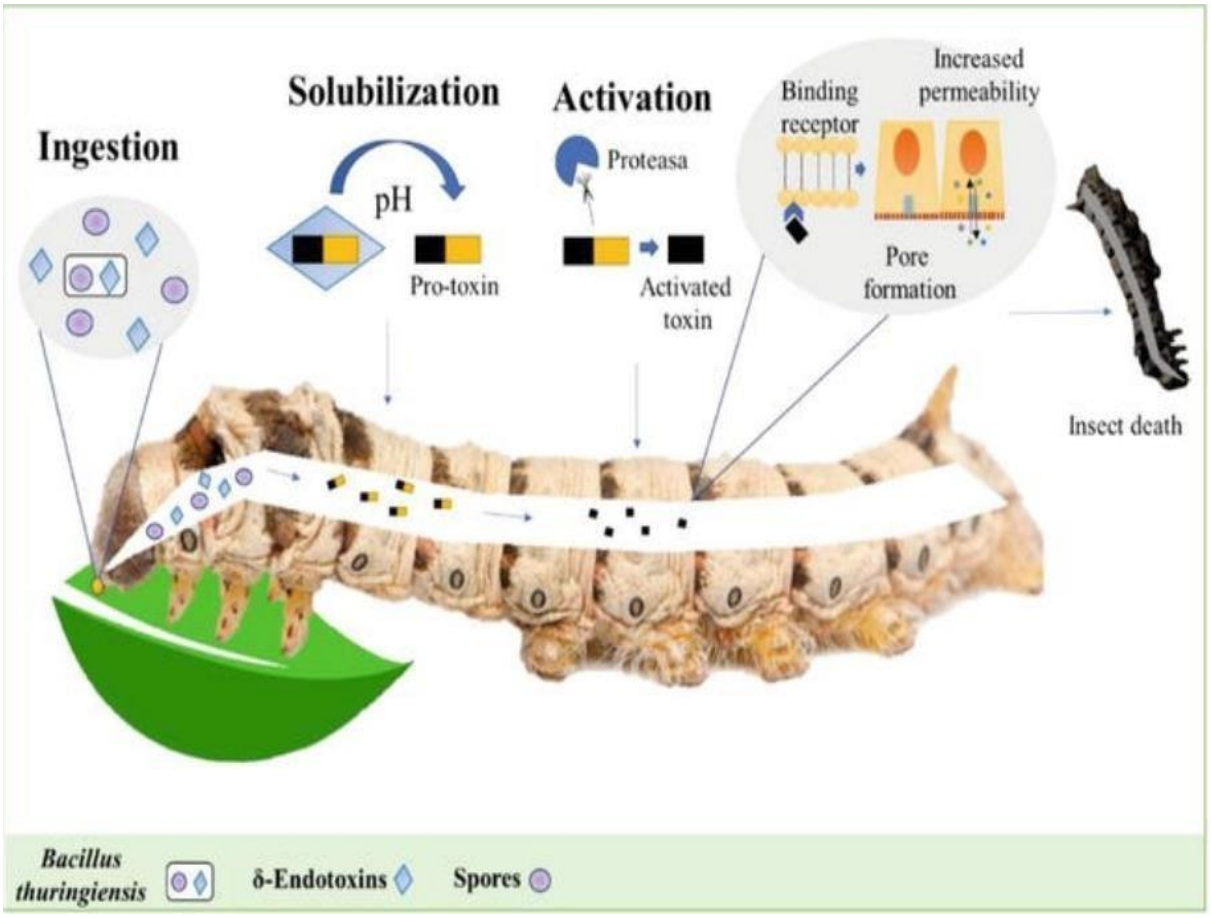


Figure 3 : Mécanisme d'action des protéines Cry selon le modèle de liaison séquentielle**.(Fernández-Chapa, 2019)**

*B. thuringiensis*peut infecter par de voie de signalisation, présente des similitudes avec le modèle précédent ; cependant, dans ce cas, d'autres causes de mort cellulaire sont attribuées. Selon cette théorie, les protéines Cry affectent la cellule de deux manières : premièrement par la formation de pores dans la membrane, comme mentionné dans le modèle de liaison séquentielle et, deuxièmement, par la production de réactions successives qui altèrent le métabolisme cellulaire. Selon cette hypothèse, les toxines Cry se lient aux récepteurs de la cadhérine, qui stimulent la protéine G hétérotrimérique et l'adénylylcyclase avec une augmentation de la production d'AMPc (Adénosine monophosphate cyclique). L'AMPc active la protéine kinase A, qui stimule l'apoptose avec une activation du Mg^{2+}canaux de la membrane plasmique. L'ouverture de ces canaux provoque un mouvement anormal des ions dans le cytosol, stimulant le processus d'apoptose**(Fernández-Chapa, 2019)**

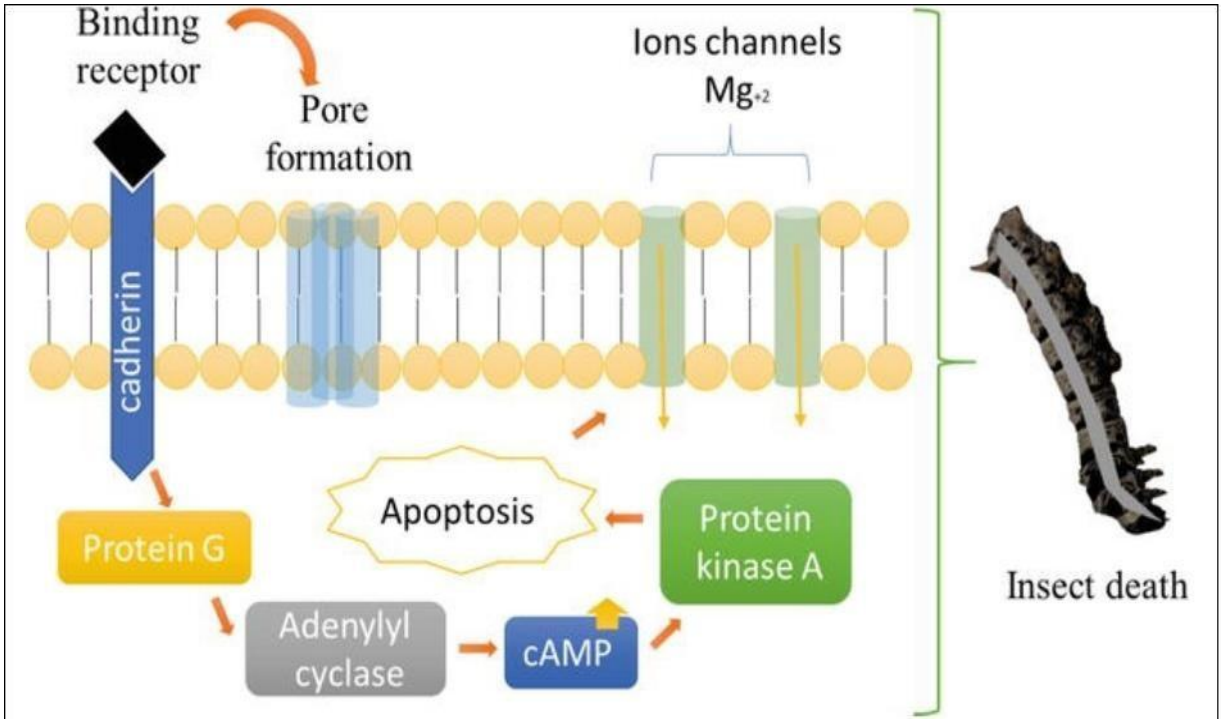


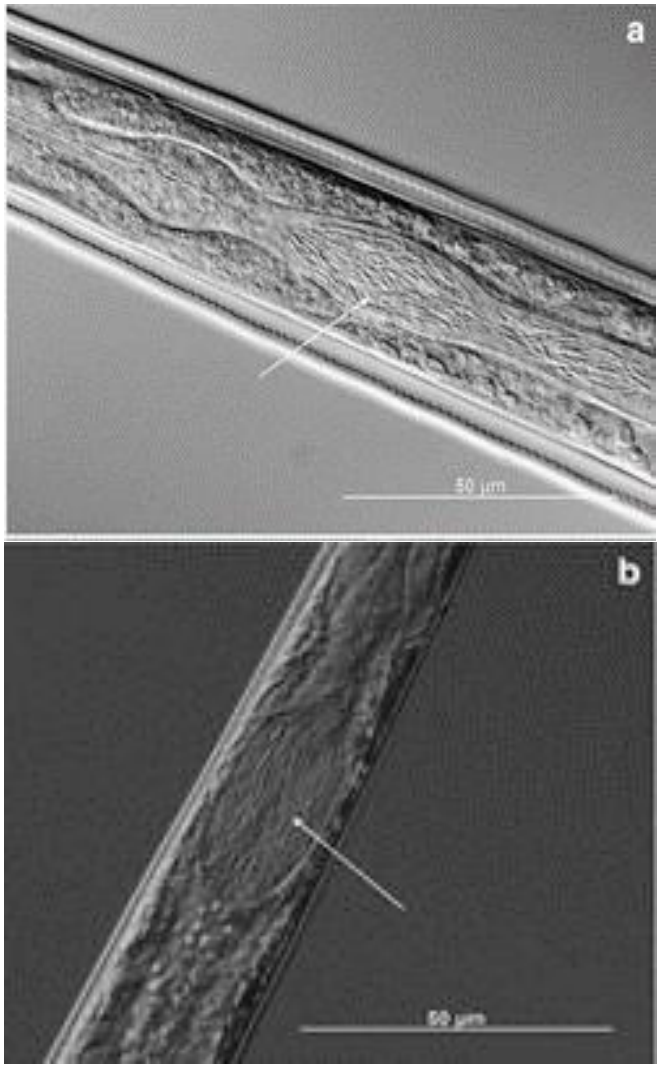
Figure 4 : Mécanisme d'action des protéines Cry selon le modèle des voies de signalisation. **(Fernández-Chapa, 2019)**

La seconde endotoxine Cyt a besoin d'un récepteur membranaire de poids compris entre 25 et 28 kDa, différents des toxines Cry. C'est une toxine cytolytique (hémolytique), Hydrophobe**(Bravo A, GilllSS, etal, 2007).** Le mécanisme d'action est encore mal compris mais semble se passer de deux manières selon la concentration de toxines. A faible dose, elle entraine la formation de pores dans les cellules membranaires. A forte dose, leur affinité avec les lipides Conduit à des désordres cellulaires, responsables de la mort **(Butko P, 2003).**

Le *Bacillus thuringiensis* (B.t) est efficace contre divers coléoptères, lépidoptères et diptères **(Morris, 1983 ; Ahmed et al, 1994).** Cependant, il ne présente pas d'efficacité contre les acridiens en raison de l'acidité de leur système digestif **(Greathead et al, 1994).** Il est important de ne pas exclure l'utilisation d'autres bactéries qui se sont révélées efficaces, telles que celles appartenant au genre *Xenorhabdus* (*Enterobacteriaceae*), connu pour sa virulence contre les acridiens. Ces bactéries sont généralement des symbiotes des nématodes, qui agissent comme vecteurs et, une fois libérées dans le corps de l'acridien, elles tuent rapidement leur hôte **(Greathead et al, 1994)**. *B. popillae* est efficace contre les Scarabaeidae et a été utilisé avec succès pour lutter contre le scarabée japonais *Popilliajaponica***(Hutton et Burbutis, 1974 ; Miller et al, 1983 ; Krieg, 1987).** Dans le cas de *B. popillae*, les spores ingérées germent dans le tube digestif, traversent la membrane épithéliale et provoquent une septicémie entraînant la mort de l'insecte **(Burgers, 1982).** *Pseudomonas aeruginosa* et *Serratiamarcescens***(Saik et al, 1990)** sont également des agents potentiels de lutte. Cependant, l'utilisation répétée de ces bactéries peut, tout comme l'utilisation de pesticides chimiques, entraîner le développement d'une résistance chez certaines espèces **(Dunphy et Tibelius, 1992).**

3.2. Xenorhabdus et Photorhabdus

Les bactéries *Xenorhabdus* et *Photorhabdus* sont définies comme Gram-négatives, anaérobies facultatives, tiges non sporulées. Ils sont considérés comme distincts des autres membres de la famille des entérobactéries en les mêmes traits, y compris leur incapacité à réduire le nitrate en le nitrite, qui est le principal atout de cette famille **(Boemare 2002 ; Imhoff 2005).** Une autre caractéristique unique des bactéries *Xenorhabdus* et *Photorhabdus* est leur variation phénotypique, c'est-à-dire l'existence de la forme primaire et secondaire **(Boemare et Akhurst 1988)**. Cependant ces deux genres*Xenorhabdus* et *Photorhabdus* (famille des*Enterobacteriaceae*) sont engagées dans des associations mutualistes avec les nématodes entomopathogènes des genres *Steinerma*et*Heterorhabditis*respectivement (Figure 5)**(Klassen JL, 2014 et Challinor VL, Bode HB, 2015)**. Les bactéries sont transportées par le stade juvénile du nématode infectant ainsi les insectes au travers d'ouvertures naturelles telles que la bouche, l'anus ou les spiracles (orifices respiratoires au niveau de la peau). Les bactéries sont ensuite libérées par le nématode dans l'hémocèle de l'insecte et conduisent à sa mort en 48 heures **(Piel J., 2007)**. Le nématode poursuit sa croissance et se reproduit en se nourrissant des tissus morts et des bactéries **(Goodrich-Blair H, Clarke DJ, 2007**). Durant leur cycle de vie complexe, les bactéries doivent tuer l'insecte mais également faire face aux nombreux autres microorganismes. Ces derniers sont des compétiteurs directs et résident sur la cuticule du nématode et dans l'intestin de l'hôte. *Photorhabdus luminescens*fut la première souche du genre à être complètement séquencée **(Duchaud E, Rusniok C, et al ,2003)**. Ainsi plusieurs gènes codant pour des enzymes impliquées dans la biosynthèse de métabolites secondaires ont été mis en évidence rapprochant *Photorhabdus* des bactéries du genre *Streptomyces*, bien connus comme producteurs de métabolites secondaires bioactifs.



Extrémité antérieure d'un nématode dans un stade juvénile *Heterorhabditismegidis* infecté par le bâtonnetsdu *Photorhabdustemperata* visibles (flèche) à l'intérieur de toute la lumière de l'intestin.

Extrémité antérieure d'un nématode dans un stade juvénile*Steinernema intermedium* infecté par le bâtonnetsdu *Xenorhabdusovienii* visible (flèche) à l'intérieur de l'intestin.

Figure 5 :Associations mutualistes de deux genres *Xenorhabdus* et *Photorhabdus* mutualistes avec les nématodes entomopathogènes des genres *Steinerma* et *Heterorhabditis* **(Goodrich-Blair 2008; Koppenhöfer and Gaugler 2009)**

3.3. Pseudomonas

Pseudomonas entomophila, qui est une bactérie du sol a également été décrite comme entomopathogène **(Vodovar N, Vallenet D, et a, 2006)**. Le premier isolat fut identifié en 2005, sur un individu Drosophila melanogaster à Calvaire (Guadeloupe), lors d'une étude visant à identifier les pathogènes de drosophile. Il fut alors nommé L48T.75 Après ingestion par l'insecte, cette bactérie fut capable d'activer le système immunitaire des stades adultes et larvaires entrainant à haute dose une destruction importante au niveau intestinal **(Vodovar N, Vinals M, et al, 2005)**. La souche appartenant au genre Pseudomonas fut donc nommée Pseudomonas entomophila du fait de son activité entomopathogène. L'étude du génome bactérien a montré de nombreux gènes permettant à P. entomophila de s'adapter à plusieurs sources de carbone. Cela suggère que cette bactérie possède un métabolisme versatile, et qu'elle peut donc survivre dans divers milieux (sols, rhizosphère, eau, etc.) **(Dieppois G, Opota O, et al. 2015).**

4. Utilisation des bactéries entomopathogènes :

L'utilisation des bactéries entomopathogènes dans la lutte biologique contre les insectes remonte à une époque très ancienne (Oulebsir-Mohand kaci, 2012). La plupart des bactéries utilisées en lutte biologique sont des bactéries qui forment des spores, ce qui facilite leur conservation et leur utilisation. De plus, il est possible de les produire. Les bactéries entrent dans l'organisme hôte par une ouverture ou une blessure, entraînant la mort de l'hôte soit par sécrétion de toxines, soit par septicémie **(Lydie, 2010).**

Le genre Bacillus est largement utilisé pour combattre les insectes **(Lereclus et Chaufaux, 1986)**. Ce genre regroupe un grand nombre d'espèces présentes dans la nature, et la plupart se développent mieux à des températures comprises entre30°et 37°C **(Brossard et Terry, 1984)**. Selon **Larpent** et **Gourgaud (1997),** le genre Bacillus produit une gamme variée de molécules qui peuvent être classées en trois catégories : les antibiotiques, les enzymes et les toxines.

4.1. La germination :

La germination est un processus complexe, où les spores peuvent se développer en présence de certains nutriments ou de certaines conditions environnementales. Les germinants varient d'une espèce à l'autre, et incluent des acides aminés tels que la L-alanine, la L-cystéine, la L-glutamine et la L-thréonine, ainsi que des molécules telles que l'inosine, le glucose ou la dodecylamine **(Christie et Setlow, 2020).** Par exemple, chez Bc et Bt, une meilleure réponse est observée avec l'inosine et la L-alanine **(Barlass et al, 2002 ; Broussolle et al, 2008).** La germination peut également être induite par des traitements à haute pression, la digestion par le lysozyme ou des fragments de peptidoglycane d'autres cellules **(Moir et Cooper, 2015).**

Les protéines impliquées dans la germination ont été initialement étudiées chez *Bacillus subtilis* (Bs). La plupart des mécanismes régissant la germination présentent des similitudes entre *Bsubtilis* et *Bacillus cereus (Bc) / Bacillus thuringiensis (Bt).* Par exemple, des orthologues de l'opéron gerA spore germination de *B. subtilis* sont également présents chez et *Bc/Bt*.Plusieurs gènes de Bt, tels que gerQ, sont également impliqués dans la germination, qui est un processus en plusieurs étapes. Au cours de la première étape, les germinants se lient aux récepteurs de germination tels que GerA ou GerQ, ce qui entraîne la libération d'ions monovalents par les spores. Ensuite, le Ca^{2+}-acide dipicolinique contenu dans le noyau de la spore est libéré à son tour et remplacé par de l'eau sous le contrôle de l'opéron spoVA(Protéine dans l'absorption d'acide dipicolinique dans les spores en développement de Bacillus subtilis)

À ce stade, la spore perd sa thermorésistance et sa réfringence **(Vepachedu et Setlow, 2007)**. Dans la deuxième étape, le cortex de la spore est hydrolysé par des enzymes lytiques telles que CwlJ et SleB, ce qui entraîne une hydratation complète de la spore et la dégradation

de sa tunique. Lors de la dernière étape, les cellules redeviennent végétatives et se multiplient **(Moir et Cooper, 2015).**

4.2. Processus d'infection

Afin de devenir pathogène, une bactérie doit être capable de s'introduire dans l'organisme hôte et d'éviter son système immunitaire. Pour s'établir de manière persistante et coloniser l'insecte, elle doit modifier sa physiologie, principalement grâce à la production de toxines **(Lemaitre et al, 2008 ; Vallet-Gely, 2008).**

Différentes barrières physiques et chimiques sont en place pour empêcher les agents pathogènes de pénétrer ou de causer des dommages au corps de l'insecte. La cuticule externe, le péristaltisme intestinal et la membrane péritrophique (une couche à l'intérieur de l'intestin moyen de l'insecte) sont des exemples de barrières physiques. En plus de cela, il existe des défenses chimiques clés telles que le pH du système gastro-intestinal, les protéases, les peptides antimicrobiens, les récepteurs cellulaires du système immunitaire et le microbiote intestinal **(Lemaitre et al, 2008 ; Vallet-Gely, 2008).**

Le pathogène se reproduit à l'intérieur de l'organisme hôte, causant des dommages en détruisant les tissus, provoquant parfois une septicémie ou une toxémie qui entraîne la mort de l'hôte plus ou moins rapidement. Tous ces micro-organismes possèdent des mécanismes de résistance qui leur permettent de survivre dans l'environnement et de perpétuer leur cycle de vie **(Jourdheuil et al, 1992).**

Cependant, les micro-organismes ont des plages d'action assez restreintes en raison de certains facteurs abiotiques qui peuvent limiter leur développement optimal. Par exemple, les rayons UV, les variations de température et d'humidité en dehors des conditions optimales sont préjudiciables pour la plupart des micro-organismes **(Kouassi, 2001).**

En général, de nombreuses espèces de bactéries entomopathogènes présentent une pathogenèse similaire caractérisée par la production de multiples facteurs de virulence, parmi lesquels les protéines insecticides distinctes (IPs) jouent un rôle essentiel dans la mortalité. Étant donné que les bactéries entomopathogènes commercialisées infectent les insectes par voie orale, ces IPs se lient aux récepteurs présents sur les cellules de l'intestin moyen, puis elles sont internalisées ou forment des pores qui entraînent la mort de la cellule. La perturbation de la barrière épithéliale de l'intestin permet aux bactéries d'accéder à l'hémolymphe, qui est riche en nutriments, où elles se multiplient et provoquent la mort de l'hôte par septicémie **(Placidi et Jurat-Fuentesa, 2019).**

5. Résistance de la bactérie à l'immunité de l'insecte

Le système immunitaire de l'insecte comprend une composante cellulaire et une composante humorale.qui doivent être surmontées par *Xenorhabdus* pour se reproduire **(Gillespie et al, 1997)**.

5.1. Résistance à l'immunité cellulaire de l'insecte

L'immunité cellulaire de l'insecte repose sur l'action des hémocytes, qui ont la capacité de phagocyter ou d'encapsuler les agents pathogènes **(Gillespie et al, 1997)**. *Xenorhabdusnematophila* produit des toxines qui peuvent induire l'apoptose et/ou la nécrose des hémocytes **(Nielsen-LeRoux et al, 2012)**. Ainsi, X. nematophila possède deux homologues du locus mcf (makes caterpillars floppy) sont des touxines puissantes qui s'activent des l'injection dans l'insecte, causant la destruction des tissus en favorisant l'apoptose des hémocytes de l'insecte, causant la destruction des tissus en favorisant l'apoptose des hymocytes de l'insecte et phénotype « foppy » ou flasque, ce qui va empecher a phagocyose de Photorhabdus **(Waterfield, Daborn et al .2013)**. Dans *Photorhabdus luminescens,* la toxine Mcf provoque l'apoptose des hémocytes, et une souche commensale d'*Escherichiacoli* qui surproduit Mcf devient capable de tuer les insectes par injection intra-hémocoelique **(Daborn et al, 2002).** *X. nematophila* contient également les gènes xptABC),qui sont homologues au complexe codant les toxines insecticides TcC chez *Photorhabdus luminescens***(Sheets et al, 2011),** TcC sous-unité de complexe tripartie au niveau membrane bactérienne inhibe la poymérisation d'actine et la sou-unité TcA permet la lyse des celules épithéliales de l'intestin de l'insecte **(Gastsogiannis, Lang et al.2010).**Les toxines de la famille TcC de *Photorhabdus luminescens*ont une activité ADP-ribosyltransférase et sont capables de modifier le cytosquelette d'actine des hémocytes pour altérer la phagocytose **(Lang et al, 2010).** Deux hémolysines, XhlA et XaxAB, qui ont une activité anti-hémocytaire, ont également été caractérisées chez *Xenorhabdusnematophila***(Brillard et al, 2001 ; Cowles&Goodrich-Blair, 2005).** XhlA est associée à la surface bactérienne et provoque la lyse des hémocytes **(Cowles&Goodrich-Blair, 2005).** Quant à XaxAB, elle se compose de deux sous-unités sécrétées indépendamment qui s'assemblent pour former une toxine qui crée des pores dans les membranes **(Ribeiro et al, 2003).** À faible dose, XaxAB induit l'apoptose des hémocytes de l'insecte ; à forte dose, elle provoque leur nécrose **(Vigneux et al, 2007).**

5.2. Résistance à l'immunité humorale de l'insecte

L'immunité humorale de l'insecte comprend des facteurs solubles, tels que les peptides antimicrobiens produits par les hémocytes (les cellules immunitaires présentes dans l'hémolymphe), le corps gras de l'insecte et le système phénoloxydase.

5.3. Résistance aux peptides antimicrobiens

Les peptides antimicrobiens, tels que la cécropine, ont généralement pour effet de former des pores dans la membrane bactérienne, conduisant ainsi à la destruction des bactéries **(Lemaitre & Hoffmann, 2007)**. En culture in vitro, *Xenorhabdusnematophila*est sensible aux peptides antimicrobiens **(Duvic et al, 2012)**. Cependant, in vivo, *Xenorhabdusnematophila*est capable d'entraver la transcription des gènes codant la cécropine par un mécanisme encore inconnu**(Ji & Kim, 2004 ; Duvic et al, 2012 ; Park et al, 2003)**.

De plus, la cécropine peut être dégradée par une protéase sécrétée par la bactérie **(Caldas et al, 2002).**

5.4. Résistance au système phénoloxydase

Le système de phénoloxydase vise à encapsuler et mélaniser les pathogènes. Lorsque ce système reconnaît un pathogène, la phénoloxydase est activée par une protéolyse et catalyse la transformation de composés phénoliques en mélanine **(Cerenius&Söderhäll, 2004)**. *Xenorhabdusnematophila*inhibe la réaction d'encapsulation des pathogènes **(Park et al, 2003 ; Sicard et al., 2004a)**. De plus, elle est capable d'entraver l'action de la phénoloxydase en produisant probablement des molécules qui rivalisent avec les substrats de cette enzyme, comme la benzylidèneacétone (BZA) ou la rhabduscine **(Song et al, 2011 ; Crawford et al, 2012).**

Chapitre II : Généralités sur les Tenebrionidae :

Les Tenebrionidae sont l'une des familles les plus vastes parmi les Coléoptères, avec plus de 15000 espèces décrites. Les adultes, généralement de couleur sombre, présentent une grande diversité d'aspects. En revanche, les larves ont une forme cylindrique et leur revêtement cutané est généralement sclérotinisé. Certains Tenebrionidae ont été signalés comme étant nuisibles pour les plantes cultivées, tandis que d'autres s'attaquent aux denrées alimentaires stockées ou entreposées. Parmi ces dernières, le genre *Tribolium* comprend deux espèces principales, à la fois cosmopolites et nuisibles : *T. castaneum Herbst* et *T. confusum Duv***. (LemeailbiNabila, 201).**

1 .Systématique

En se référant à plusieurs auteurs dont Perrier (1961 ,1964) et Weidner et Rack (1984), la Classification du Tribolium rouge de la farine se résume comme suit:

- **Règne:** Animalia
- **Embranchement:** Arthropoda
- **Sous Embranchement:** Antennates
- **Classe:**Insecta
- **Sous Classe:** Ptérygotes
- **Ordre:** Coléoptère
- **Sous ordre:** Polyphaga
- **Famille:** Tenebrionidae
- **Genre:** *Tribolium*
- **Espèce:** *Tribolium castaneum* (Herbst)

1. Description morphologique des différentes étapes de développement de *Tribolium castaneum* :

Le cycle de reproduction des Coléoptères comporte quatre stades distincts, œuf, larve, Pupe (nymphe) et adulte **(Delobel et Tran, 1993).**

A-Œufs

Les oeufs sont blanchâtres ou sans couleur et leur taille est d'environ 5 mm, avec des Particules de nourriture adhérentes à la surface **(Godon et Wilim 1998).**

B- Larve :
Couleur jaunâtre et sa longueur est d'environ 6 mm sont munies de pattes et couvertes de Quelques courtes soies jaunes (fig.06). Le dernier segment abdominal est terminé par une paire d'urogomphes recourbés vers le haut, dans un plan perpendiculaire à celui du corps **(Delobel et Tran, 1993).**

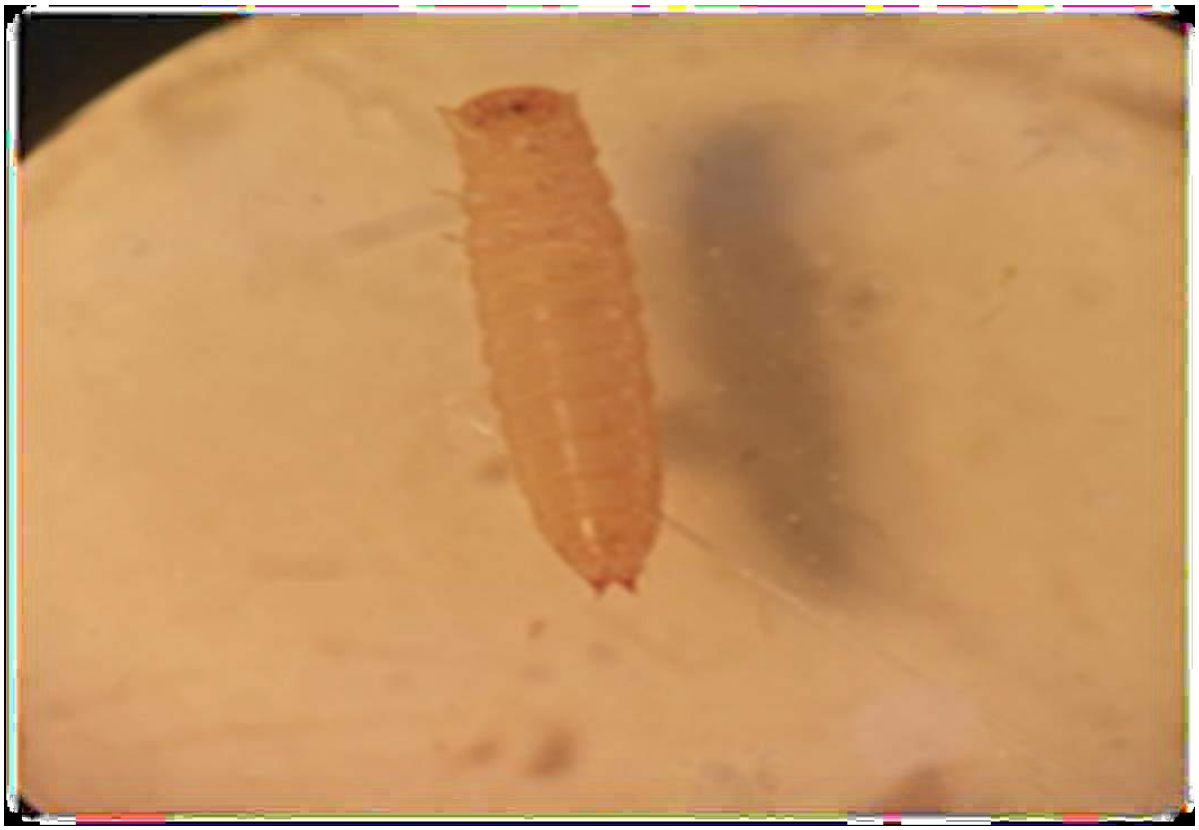


Figure 06 : Larve de *Tribolium castaneum*

C- Nymphe :

Selon Christine (2001), la forme nymphe est cylindrique et de couleur blanchâtre virant vers le jaune (fig.07).



Figure07 : Nymph de *Tribolium castaneum*

D- Adulte

La longueur est de : 2,3 à 4,4 mm de couleur brun rougeâtre, il est reconnaissable par la distinction très nette des trois parties du corps (tête, thorax et abdomen), le thorax plus large que long et les élytres fortement striés dans le sens de la longueur. On distingue de l'espèce voisine par les caractères suivants : les antennes sont formées de onze articles, les trois derniers terminés en massue, les yeux sont ovales et absence de crête au-dessus de l'oeil. Ils sont séparés vent râlement par une distance à peu près égale à leur propre largeur en vue ventrale, cuticule de la fêle el du pronolum micro réticulée paraissant terne entre les points (fig.08). Dimorphisme sexuel la base du fémur inférieur possède chez le mâle un tubercule pilifère arrondi qui est absent chez la femelle **(Delobel et Tran, 1993).**



Figure 8 : Adulte de *Tribolium castaneum.*

1.1. Le cycle biologique

La période de l'oeuf dure jusqu'à une semaine (fig.09): 4-7 jours, 2-3 jours à 34 et 30C respectivement la durée du stade larvaire de 12-13 jours arrive à 70-80 jours, la durée de la nymphose différence les sexes, chez le mâle étant de 6-7 jours, tandis que la période femelle dure 7-9 jours (Devi et Devi, 2015). Howe (1956) a rapporté Peut atteindre période nymphale moyenne de 4,5 jours, et prendre leur cycle de vie de la ponte des oeufs jusqu'à la sortie de l'insecte en fonction de la température, l'humidité relative, la qualité et la quantité de nourriture **(Abdullahi *et al,* 2019).**

La durée de cycle est de 37 jours à 25°, de 26 jours à 28°, de 23 jours à 35°, de 21 jours à 38° (pour une de 70%). Selon le régime alimentaire, la durée du cycle peut éteindre 2 à 3 mois à 35°sur grains de blé, plus d'une année sur farine **(Delobel et Tran, 1993).**

Stade larvaire : on observe de 5 à 8 stades larvaires dans les conditions optimales de développement, mais jusqu'à 13 lorsque les conditions sont défavorables **(Delobel et Tran, 1993).**

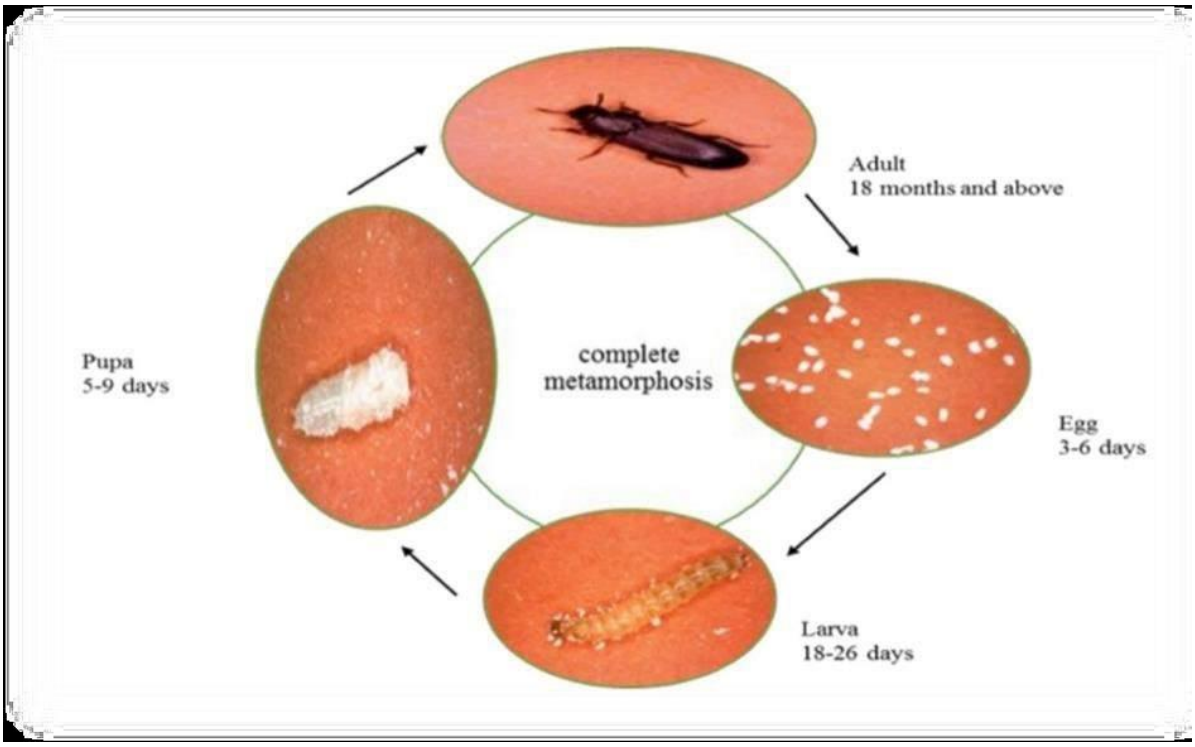


Figure 9 **:** Cycle biologique de *Tribolium castaneum* (Gambo *et al*, 2019).

Tableau 01 : Bio écologie de l'insecte

Plage de températures : **Température optimale :** **Plage d'humidité relative :**	17 à 34° C 28° C 45 à 100
Humidité relative optimale	70
Ponte : **Durée Du Cycle :**	Jusqu'à 150 œufs, pondus séparément dans les grains Jusqu'a 110 jours optimums de 35 jours.

2. Facteurs de développement

Selon **ROBINSON** (2005), les processus biologiques chez *T. castaneum* sont principalement régis par la température et l'humidité, bien que d'autres facteurs tels que les champignons et la prédation soient également pris en compte. Les limites de croissance en fonction de la température sont les suivantes : une température minimale d'environ 22 à 22,5 °C et une température maximale d'environ 37,5 à 40 °C.

2.1. Température

Son rôle dans la préservation des produits agricoles est crucial car elle influe sur la vitesse de dégradation des grains. En effet, elle accélère les réactions chimiques, enzymatiques et la respiration des grains **(Bhalla, 1986).**

Il convient de noter que la température seule peut influencer le taux de croissance des ravageurs présents dans les denrées stockées. Chaque espèce possède un optimum de développement et une tolérance thermique spécifique. En effet, les températures optimales, maximales et minimales varient en fonction des groupes de ravageurs spécifiques **(De Luka, 1975 in Kouassi, 1991).**

2.2. Humidité relative

L'humidité constitue le facteur de dégradation le plus significatif, favorisant la respiration des grains et amplifiant les processus de dégradation internes. Elle entraîne la pourriture des graines en favorisant la croissance de moisissures et de champignons. Au fil du temps, les céréales fermentent et dégagent une odeur prononcée **(Gwinner et al, 1996)**.

Afin de prévenir la détérioration causée par les micro-organismes, en particulier les moisissures, les grains sont stockés à une humidité inférieure ou égale à 70% de l'activité de l'eau **(Sharma et al, 2014).**

2.3. Teneur en oxygène et en gaz carbonique

En présence d'oxygène, lorsque la température et l'humidité sont élevées, l'amidon présent dans les grains subit une transformation en sucres libres lors du processus respiratoire. Cela génère de la vapeur d'eau, du dioxyde de carbone et de la chaleur. Lorsque l'air entre les grains est renouvelé avec un apport d'oxygène, que ce soit par une ventilation légère ou par un tirage naturel, la production de chaleur peut devenir très importante, entraînant un échauffement pouvant atteindre 55-60 °C **(Berhaut et al, 2003).**

2.4. Altérations physique

Elles sont dues à des chocs lors des opérations de manutention répétées et brutales entrainant la cassure des grains. Lorsque la structure granulaire est détruite, les constituants entrent plus facilement en contact avec les microorganismes et les enzymes **(Boudreauet al, 1992).**

3. Dégâts causés par le *Tribolium castaneum*

Ils attaquent les grains endommagés, comme ils peuvent se nourrir de champignons qui envahir le stock, est l'un des ravageurs les plus mondiaux des produits stockés, car il entraîne une perte de quantité et de qualité (fig.10). Il donne également au produit une couleur grise avec une odeur piquante et inacceptable et causé l'allergie sur la population humaine **(Abdullahi *et al,* 2019).**

Sur les graines d'arachide, les *Tribolium* provoque un accroissement notable de la teneur en acides gras libres dans l'huile qui en est extraite **(Cruz *et al,* 1988).**

3.1. Régime alimentaire

Psichophage, mycophage, nécrophage et prédateur, *Tribolium castaneum* présente une croissance rapide lorsqu'il se nourrit de farines de céréales, avec une préférence pour le blé dur, le blé tendre, le sorgho, l'orge, le mil, le riz et le maïs, dans cet ordre. Il n'attaque pas les grains intacts, mais de petites lésions suffisent à permettre aux larves de pénétrer le grain, se nourrissant principalement du germe. Les gousses d'arachide ne sont infestées que si le pédoncule est endommagé. En cas de prolifération, les larves et les adultes se cannibalisent, se nourrissant de leurs propres œufs et nymphes, ainsi que d'autres proies immobiles telles que les œufs et les nymphes de divers coléoptères, ainsi que les larves du *Stegobiumponiceum* et du *Rhyzoperthadominica*. Et*T. castaneum* est capable de se développer sur plusieurs types de moisissures **(Delobel et Trane, 1993)**.

Les larves et les adultes de *Tribolium castaneum* ont tendance à attaquer préférentiellement les grains déjà endommagés par d'autres insectes, souvent accompagnant les charançons pour compléter les dommages. Cependant, d'autres auteurs ont observé que les larves et les adultes peuvent également s'attaquer aux grains de céréales sains (ce que nous avons également constaté). **Desmarchelier**(1988) et **Sinha**et al, (1988) ont observé et collecté des larves et des adultes se trouvant sur des grains de céréales et de la farine stockée. En conséquence, la farine peut devenir brune et dégager une odeur désagréable, qui peut persister même dans les produits transformés. De plus, ils souillent les grains et la farine avec les dépouilles des mues larvaires **(Christine, 2001)** .



Figure10 : Dégâts de Tribolium castaneum (**(Bencheikh A, 2021)**

4. Méthodes de lutte contre *Triboliumconfusum* :

4.1. La lutte traditionnelle

Au fil des années, les paysans ont développé des techniques souvent très élaborées et maîtrisées pour lutter contre *Tribolium confusum*. En plus de servir de lieux de stockage, les greniers et autres structures traditionnelles (pots, canaries) ont été spécifiquement conçus pour minimiser les pertes causées par les principaux insectes nuisibles aux récoltes. On observe également l'utilisation de cendres, de pigments, de plantes insectifuges ou d'insecticides tels que *Cupressus*, *Hyptis* et spic géra **(Nanfack et al, 2015).**

4.2. La lutte biologique :

La lutte biologique vise à contrôler les ravageurs en utilisant leurs ennemis naturels, est un phénomène naturellement présent dans la plupart des écosystèmes. Dans le domaine de l'agriculture, elle peut être utilisée de manière volontaire pour remplacer les pesticides conventionnels (Noémie, 2010). Les ennemis naturels utilisés dans cette approche comprennent les parasitoïdes, les bactéries, les virus, les champignons, les protozoaires et les nématodes **(Nanfack et al, 2015)**.

4.3. La lutte physique :

Implique l'élimination des ravageurs ou la modification physique de leur environnement afin de le rendre inhospitalier ou inaccessible.

Cela peut inclure l'exposition des populations d'insectes ou des cultures à des radiations, des températures extrêmes ou des modifications de la teneur en oxygène ou en dioxyde de carbone de leur habitat. L'une des techniques les plus couramment utilisées est l'irradiation à forte dose, qui permet de tuer tous les stades de développement des insectes **(Nanfack et al, 2015)**. Cependant, ces méthodes sont peu répandues en Afrique en raison du coût de l'énergie et de la complexité des installations nécessaires.

Les populations rurales utilisent différentes méthodes pour stocker leurs cultures et éliminer les insectes qui les attaquent, telles que le stockage hermétique, l'insolation, l'enfumage, l'utilisation de poudres minérales et de terres de diatomées **(Gueye et al, 2011)**. En plus du piégeage de masse et la technique de l'insecte stérile (TIS)

4.4. La lutte chimique :

Est la méthode la plus couramment utilisée pour la conservation des céréales récoltées. Elle consiste à utiliser des produits chimiques appelés pesticides, tels que les insecticides, pour lutter contre les insectes. Les insecticides utilisés dans la protection des denrées stockées sont des formulations contenant des substances actives **(Nanfack et al, 2015)**. Selon **Groot** (2004), les principaux produits chimiques utilisés dans cette approche comprennent les organophosphorés, les pyréthrinoïdes et les carbamates.

4.5. La lutte génétique

Étant donné que le *Tribolium* a développé une résistance à toutes les classes d'insecticides, il est nécessaire d'adopter de nouvelles stratégies de lutte pour contrôler ce ravageur. Le séquençage du génome **(Richards et al, 2008)** a joué un rôle crucial en identifiant des protéines qui pourraient être ciblées par de nouveaux insecticides, tels que des canaux ioniques et des récepteurs nucléaires **(Bonneton, 2010)**.

Chapitre III : Matériel et méthodes

Ce travail a été réalisé en deux parties la première partie en collaboration avec le laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine et la deuxième partie a été réalisé dans le laboratoire de microbiologie, faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Yahia Fares, Médéa.

1. Présentation des souches de *Bacillus (V16 et V17)*

Dans cette première partie, Les souches bactériennes ont été obtenues du vers blanc collectés dans la région de Mila, elle est située dans le Nord-Est Algérien à 464 m d'altitude, et à 33 Km de la mer Méditerranée. Elle s'étend sur une superficie de (3407.60 Km2), avec une latitude au Nord de 36° 26' 59'' et une longitude à l'Est de 06° 15' 51'', plus précisément la ferme de Mechri Salah. Elle consiste à creuser à l'aide d'une pioche ou d'une bêche, un trou à une profondeur de 10 à 15 cm au-dessous de la surface du sol qui est loin d'une culture de céréales d'environ un mètre à un demi de distance, puis conservés dans le même sol ou ils ont été isolés dans une chambre noire.

2. Isolement, purification et identification des bactéries entomopathogènes

2.1.Isolement des bactéries entomopathogènes (ZimmermannG.1986)

Cette parie a été réalisé dans le laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université des Frères Mentouri Constantine. Les vers blancs ont d'abord été désinfectés en trois étapes. Premièrement, ils ont été mis dans l'eau de javel (0,05%) pendant 10 minutes, puis ils ont été mis dans l'éthanol (70%) pendant 03 minutes, et enfin ils ont été séché par papier filtre stérile.

Les vers blancs stériles sont ensemencés sur la Gélose Nutritive (GN) **(voir Annexe)**, les boites de Pétri ont recouvert par papier aluminium pendant 02 jours et incubé à 37°C pendant 07 jours.

2.2.La purification

La purification des souches est effectuée en effectuant plusieurs repiquages successifs. Le processus de repiquage se poursuit jusqu'à ce qu'une culture homogène soit obtenue, où toutes les colonies sont identiques les unes aux autres et identiques au type de bactéries initialement ciblées. Les boîtes sont ensuite incubées à une température de 37°C pendant une période allant de 24 à 48 heures.

2.3.Identification

2.3.1. Caractérisation phénotypique des isolats

La caractérisation phénotypique repose sur l'évaluation de critères macroscopiques sur un milieu solide, ainsi que sur des caractéristiques microscopiques telles que la mobilité, la coloration de Gram et la coloration des spores. La caractérisation biochimique et physiologique se base sur la détection d'enzymes respiratoires telles que la catalase, la réductase des nitrates, et d'autres encore **(Meddas et al., 2020)**.

2.3.1.1.Examen macroscopique

Grâce à l'observation macroscopique des colonies cultivées sur le milieu GN, nous avons pu noter divers aspects morphologiques tels que la forme, la taille, la couleur, le contour, la surface, l'opacité et le relief **(Johnson et al., 1980)**.

2.3.1.2.Examen microscopique

A- **La coloration de Gram**

La coloration de Gram est une technique de coloration essentielle en microbiologie, dont le nom est attribué au bactériologiste danois Hans Christian Gram qui l'a introduite pour la première fois en 1882 dans le but principal d'identifier les organismes responsables de la pneumonie **(Bartholomew ; Mittwer, 1952)**. C'est souvent le premier test réalisé, et il implique l'utilisation de violet de gentiane ou de bleu de méthylène comme colorant primaire **(O'Toole, 2016)**. Cette technique permet de colorer les bactéries et de les distinguer en fonction de leur capacité à retenir le violet de gentiane (Gram+) ou la fuchsine (Gram-). Ainsi, les bactéries peuvent être regroupées en deux catégories selon la méthode de coloration de Gram..

B- **Préparation du frottis**

Avant d'effectuer toute coloration, il est nécessaire de réaliser un frottis, qui consiste à étaler et fixer les bactéries sur une lame. La technique classique de réalisation d'un frottis est assez simple, en réalisant une fixation par chaleur :

- ✓ À l'aide d'une anse de platine, prélever une petite quantité de l'échantillon à partir des colonies pures sur une lame.
- ✓ Procéder au frottis en partant du centre de la lame et en réalisant des mouvements circulaires avec l'anse, afin d'obtenir un étalement mince et uniforme couvrant au moins les 2/3 de la lame.
- ✓ Sécher et fixer délicatement le frottis au-dessus de la flamme du bec Bunsen sans le surchauffer.
- ✓ Une fois sec, placer la lame sur un porte-objet reposant sur un support de coloration.
- ✓ Une fois que le frottis est fixé, la lame ne présente plus de risque de contamination. Vous pouvez alors procéder à la coloration souhaitée **(Canler, 2005).**

C- **Les étapes de la coloration de Gram**

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

1. Coloration par le violet :
.Appliquer uniformément le violet de Gentiane sur la lame et laisser agir pendant 5 minutes.
.Ensuite, rincé avec de l'eau distillée.
2. Mordançage :
.Utiliser une pince pour tenir la lame légèrement inclinée.
.Éliminer le violet de Gentiane en laissant couler la solution de Lugol sur la lame.
3. Reposer la lame :
.Recouvrir la lame avec la solution de Lugol et laisser agir environ 3 minutes.Puis, rincé avec de l'eau distillée.
4. Décoloration rapide à l'alcool (Acétone) :
.Verser l'alcool goutte à goutte sur la lame inclinée.
.Surveiller la décoloration, qui doit se produire rapidement.

.À la fin de la décoloration, le filet doit être clair.
.Attention à ne pas utiliser trop d'alcool, car cela rendra toutes les bactéries Gram négatif.
5. Recoloration à la Fuchsine :
.Déposer quelques gouttes de Fuchsine à chaque extrémité du frottis.
Ne jamais verser la Fuchsine directement sur le frottis pour éviter les dépôts ou une coloration trop intense.
.Laisser agir pendant 3 minutes.
6. Rinçage et séchage :
.Rincer avec de l'eau distillée.
Sécher entre deux feuilles de papier filtre.
7. Observation au microscope optique :
.Utiliser une goutte d'huile à immersion avec un objectif de grossissement 100x.
.Observer le frottis sous le microscope optique.

2.3.1.3.Les galeries API 20E, API 20NE

La Galerie API (Analytical Profile Index) est une galerie miniaturisée et normalisée de tests biochimiques qui peut être utilisée en conjonction avec des bases de données complètes d'identification, la plus célèbre étant l'API 20E, qui comprend 20 tests biochimiques spécifiques aux Enterobacteriaceae.

A- La galerie API 20 E

Le système d'identification API 20E est employé pour identifier les entérobactéries et d'autres bacilles Gram négatif qui se développent facilement. Il est composé d'une galerie de 20 micro-tubes contenant des substrats déshydratés. Ces micro-tubes sont inoculés avec une suspension bactérienne **(Diallo, 2010).**

❖ **Préparation de l'inoculum**

- Ouvrir une ampoule de .Suspension Medium (ou un tube d'eau distillée stérile)
- Prélever une seule colonie bien isolée provenant d'une culture en gélose ;
- Préparer une suspension bactérienne diluée à faible opacité (0,5 sur l'échelle de Mc Farland).

❖ **Ensemencement de la galerie**

- Remplir les tubules et les cupules des tests de type CIT.
- Remplir les tubules des tests de type ADH et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine pour créer un environnement anaérobie.
- Remplir uniquement les tubules des tests restants.
- Incuber la galerie à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures (Figure 11) **(Debabza, 2015)**. Il est crucial de faire attention à éviter la formation de bulles lors de l'inoculation, car cela pourrait fausser les résultats. De plus, l'apparition de bulles après l'incubation peut fournir des informations supplémentaires pour l'identification (GAZ+).



gure 11: quelques exemples de la galerie API 20NE et API 20E

❖ **Lecture de la galerie**

Après l'incubation, il est nécessaire de lire la galerie en se référant directement au tableau de lecture **(voir Annexe).** Pour les tests qui ne permettent pas une lecture directe, des réactifs supplémentaires doivent être ajoutés :

- Pour le test TDA : ajouter une goutte de réactif TDA.
- Pour le test IND : ajouter une goutte de réactif Kovacs.
- Pour le test VP : ajouter une goutte de réactif VP1 et VP2.

❖ **Interprétation**

L'identification microbienne a été effectuée à l'aide d'un logiciel d'identification spécifique (utilisant une feuille Excel)

B- **La galerie API 20NE**

La galerie API 20NE est un système normalisé utilisé pour identifier les bacilles à Gram négatif qui ne sont pas des entérobactéries et qui ne sont pas fastidieux (par exemple : Pseudomonas, Acinetobacter, Flavobacterium...). Ce système combine 8 tests conventionnels, 12 tests d'assimilation et une base de données **(BioMérieux SA)**. La préparation de la galerie et de l'inoculum a été réalisée selon les mêmes procédures décrites précédemment pour l'API 20E.

2.3.1.4.Etude biochimique

En complément de l'identification morphologique, nous avons procédé à la détermination de

l'activité biochimique des souches bactériennes.

A- **Etude des enzymes respiratoires**

- **Recherche de la catalase**

La catalase est une enzyme de poids moléculaire élevé présente chez toutes les bactéries aérobies, ce qui leur permet de survivre en présence d'oxygène. En plus de la chaîne respiratoire des cytochromes, les bactéries aérobies possèdent une chaîne accessoire courte qui catalyse la réaction de fixation de l'hydrogène sur l'oxygène, produisant ainsi de l'eau oxygénée (peroxyde d'hydrogène) selon la réaction suivante : $2\ H2O2 \rightarrow 2\ H2O + O2$.

La recherche de cette enzyme est réalisée simplement en mettant en contact une colonie pure avec quelques gouttes de H2O2. Un important dégagement gazeux indique la présence de catalase **(Richard et al., 1982).**

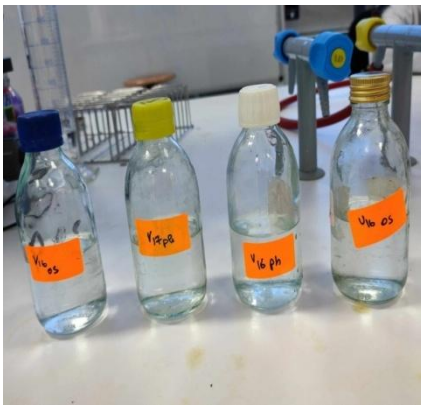
- **Recherche de l'oxydase**

Ce test constitue la base de l'identification des bactéries Gram négatives. L'oxydase, une enzyme intervenant à la fin de la chaîne d'oxydoréduction, catalyse la fixation d'hydrogène et d'électrons sur une molécule d'oxygène **(Leveau et Bouix, 1991)**. Une colonie bactérienne est mise en contact avec un disque de réactif sur une lame stérile à l'aide d'une pipette Pasteur stérile (un instrument qui n'oxyde pas le réactif), puis les résultats sont observés en quelques secondes. Si une couleur violette apparaît sur le disque, le résultat est positif (la bactérie possède une oxydase). Si le disque reste incolore, le résultat est négatif (la bactérie ne possède pas d'oxydase) **(Delarras, 2007).**

3. **Test d'entomopathogénicité**

Cette partie a été réalisée dans le laboratoire de microbiologie, faculté des sciences de la nature et de la vie. Université Yahia Fares, Médéa.

Nous avons utilisé des insectes *Tribolium Castaneum* prélevés sur la farine infestée pour le test de pathogénicité (voir Figure). Pour ce faire, les Tribolium ont été immergés dans une suspension bactérienne physiologique et une autre osmotique en phase exponentielle des deux souches de *Bacillus (V16 et V17).* Chaque boîte contenait 18 insectes, avec 5 répétitions pour chaque suspension bactérienne physiologique et une osmotique des deux souches de *Bacillus (V16 et V17) (*total de 20 boîtes).





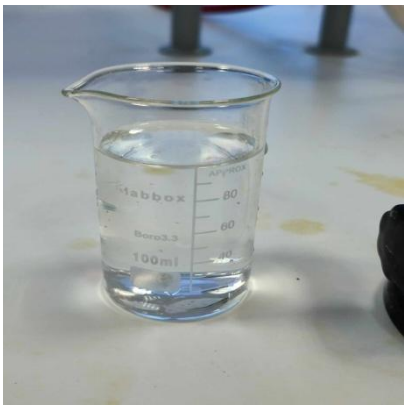




Figure 12 : Technique de préparation de solution bactérienne

Les propriétés biocides des onze isolats ont été estimées par le pourcentage de mortalités obtenues.

$$\text{La mortalité \%} = \frac{(\text{insectes vivants des témoins} - \text{insectes vivants traités})X100\text{insectesvivants des témoins}}{\text{insectesvivants des témoins}}$$

3.1.Préparation de l'inoculum

Des petites colonies de bactéries ont été prélevées à l'aide d'une spatule stérile en grattant la surface de la boîte. Ces colonies ont été introduites dans un tube à essai contenant 9 ml d'eau distillée. La solution obtenue (solution mère) a été agitée pendant 10 minutes. La concentration de la solution bactérienne, évaluée à l'aide d'une cellule hématimétrique "Cellule de Thoma", était de 107 UFC/ml.

3.2.Injection

En utilisant une seringue stérile, une quantité de cultures pures des bactéries entomopathogènes est prélevée à partir de l'inoculum contenant 107 UFC, qui a été préparé auparavant. Ensuite, 0,1 ml de suspension est injecté dans la mine des larves au stade 2 et 3, juste au-dessus de leur tête.

Les larves sont placées dans des béchers stériles contenant du sol provenant du même site d'échantillonnage, traitées dans l'obscurité. Trois larves par traitement sont sélectionnées, y compris pour le groupe témoin. La mortalité des individus traités est surveillée quotidiennement à partir du jour du traitement jusqu'à ce que tous les individus soient morts. À chaque contrôle, les insectes morts sont éliminés pour éviter la transmission horizontale de l'infection dans un même contenant **(voir Annexe).**

4. Analyse statistique

L'efficacité biocide des isolats a été évaluée en calculant le pourcentage de mortalité. Les graphiques et

tableaux comparatifs ont été créés à l'aide du logiciel Excel. Les analyses statistiques ont été effectuées à l'aide du logiciel PAST **(Hammer, 2023).**

Chapitre IV

Résultats et Discussions

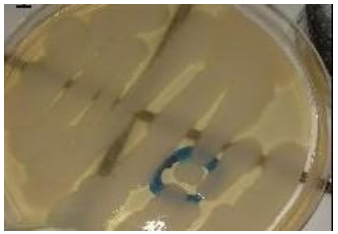
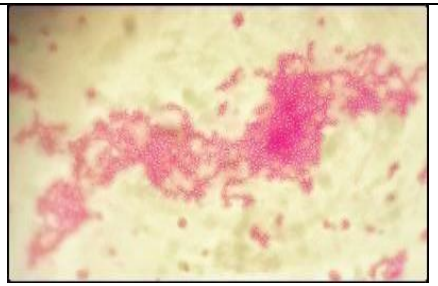
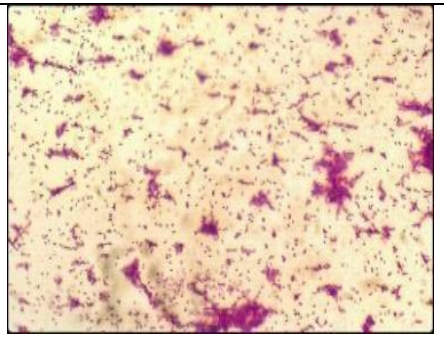
Chapitre IV : Résultats et discussion

Dans notre étude nous avons cherché l'efficacité biocide des deux souches de genre *bacillus* (V16 et V17) contre le ravageur de denrée stockée *Truboluiomcastaneum par* des suspensions bactériennes physiologique et osmotique. Les résultats obtenus sont présent dans cette partie

1. Isolement, purification et identification

Dans notre étudies, nous avons porte notre expérience sur les genres*Bacillus*deuxsouches V16 et V17 isolées à partir du ver blanc sur milieu GNont été représenté dans le tableau 2

Tableau 2 : identification des souches bactériennes isolées à partir du vers blancs sur milieu GN

Les isolats	**Examen macroscopique des souches bactériennes**		**Examen microscope optique des souches bactériennes avec coloration de Gram(X 100)**		Les genres et les espèces
	Description	**Aspect macroscopique**	**Description**	**Aspect** microscope	
V 16	Colonies larges, lisses, plates, fréquemment circulaires, avec des bords irréguliers, de couleur crème ou blanc ou rarement jaunâtre. V17 ont dû consistance crémeuses		Forme des coccobacilles en amas de couleur rose (-)		*Bacillus sp (V16)*
V 17			Des coccis isolées, couleur rose (-)		*Bacillus sp (V17)*

2. Test d'entomopathogénicité

Les résultats obtenus de suivi *Triboliumconfusum* traités par la solution entomopathogène de différentes souches et de différentes solution physiologiques et osmotiques dans le **tableau 3** et la **figure12** montrentune variabilité mortalité moyenne journalière les taux de mortalité journaliers *Triboliumconfusum*.

Tableau03 : Suivi journaliers de la mortalité des individus adultes *Triboliumconfusum* avec la différente suspension entomopathogène.

	J1	**J2**	**J3**	**J4**	**J5**	**J6**	**J7**	**J8**	**J9**	**J10**	**J11**
V16OS	0,00	10,00	10,00	11,11	15,56	15,56	16,67	17,78	17,78	17,78	17,78
V16PH	0,00	5,56	7,78	13,33	13,33	15,56	20,00	22,22	24,44	24,44	24,44
V17OS	0,00	21,11	23,33	24,44	31,11	33,33	34,44	34,44	34,44	34,44	34,44
V17PH	0,00	13,33	18,89	22,22	22,22	22,22	24,44	27,78	27,78	27,78	27,78

Légende :
V16OS : souche bactérienne de solution osmotique
V16PH : souche bactérienne de solution physiologique
V17OS : souche bactérienne de solution osmotique
V17PH : souche bactérienne de solution physiologique

Sur l'ordre chronologiques on remarque que le biocide préparé par le genres *Bacillus* de deux souches V16 et V17 avec deux solutions physiologiques et osmotiques ont montré une mortalité moyenne similaires des adultes des *Triboliumconfusum*dès le deuxième jour pour les différentes suppressions testent. Par ailleurs nous avons observé une stabilité de mortalités pour les différentes solutions des biocides mais avec une précocité avec la souches V17 a partie de cinquième jours et le neuvième jour pour la souche V16 (figure 12).

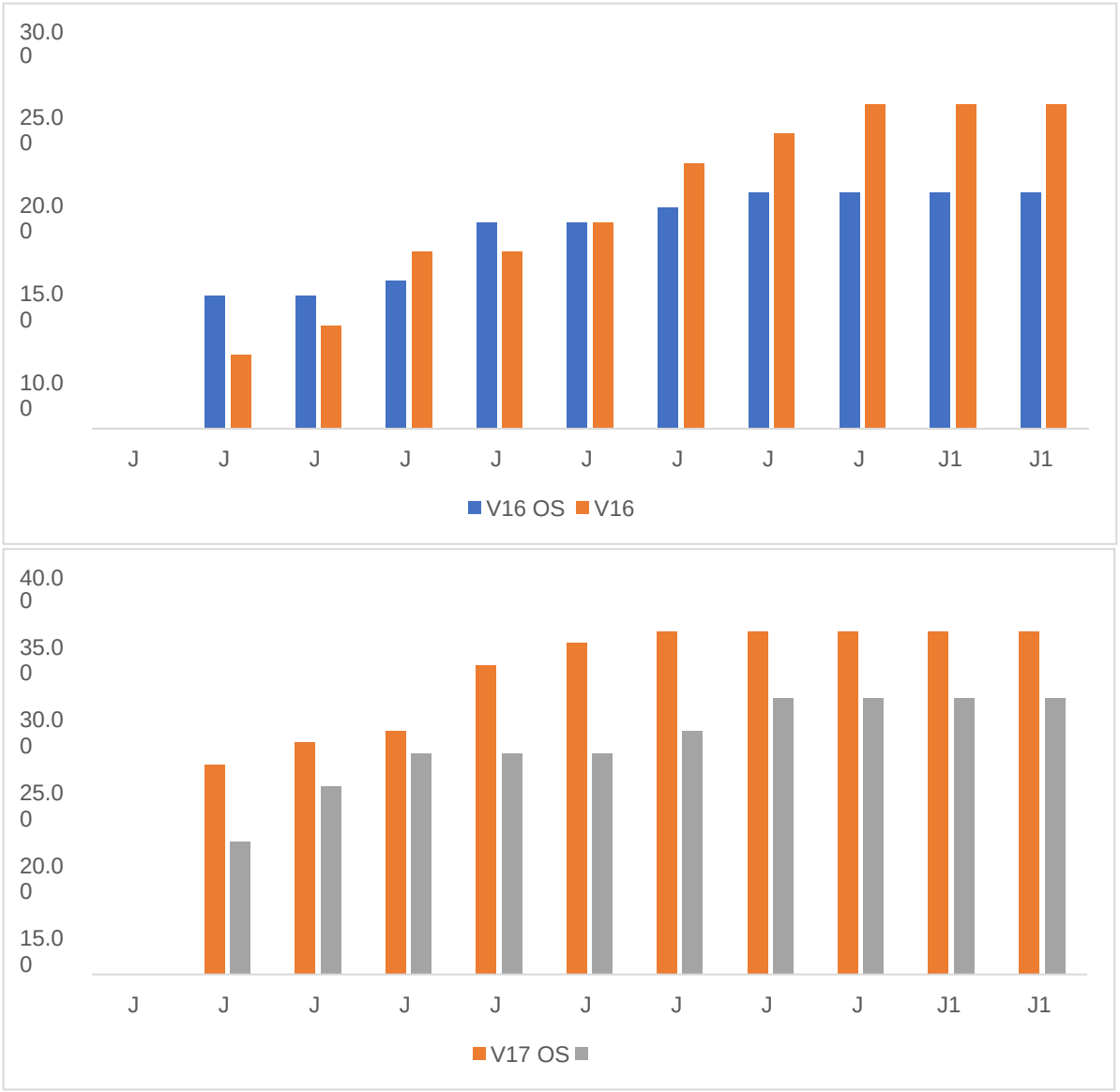


Figure 12: le taux de mortalité de*Truboluiomcastaneum* par les suspensions bactériennes physiologique et osmotique du genre *bacillus* V16 et V17

Légende :

V16OS : souche bactérienne de solution osmotique

V16 PH : souchebactérienne de solution physiologique

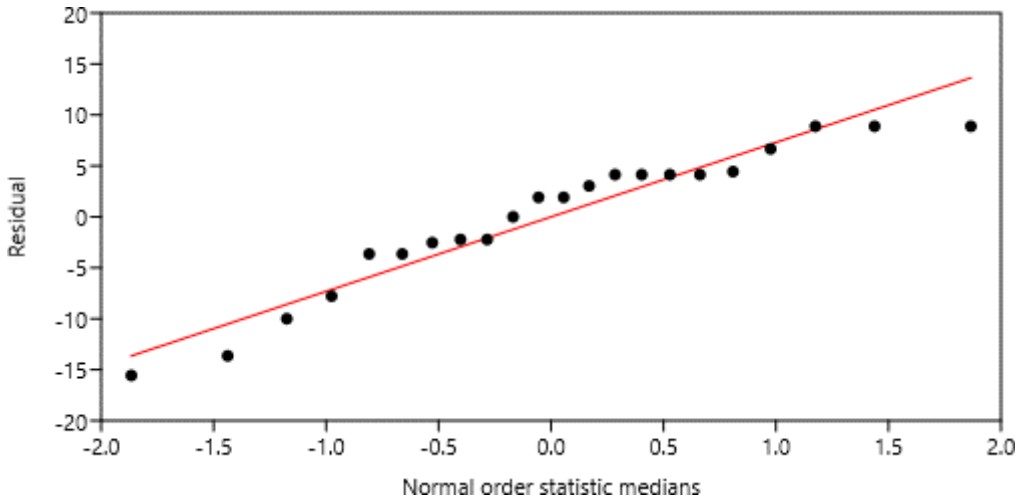
V17 OS : souche bactérienne de solution osmotique

V17PH : souche bactérienne de solution physiologique

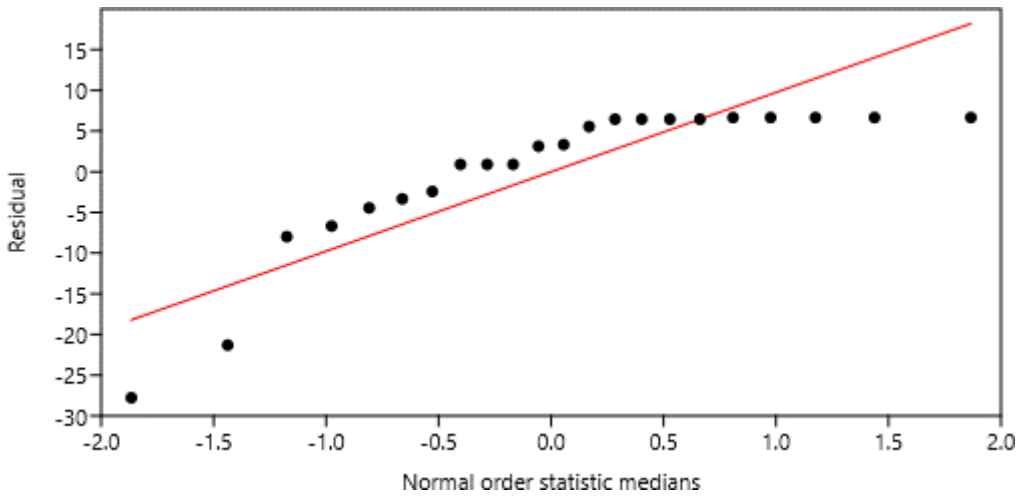
Tableau04 : efficacité des biocides des deux souches V16 et 17testes sur *Truboluiom castaneum*

	V16OS	V16PH	V17OS	V17PH
N	11	11	11	11
Min	0	0	0	0
Max	17,8	24	34,44444	27,77778
Mean	13,6	16	27,77778	21,31313
Median	15,6	16	33,33333	22,22222

P (mortalite journalieree)	0,0047257	0,0049203	0,0045087	0,0046709
Kruskal-Wallis test	0,5089		0,03107	
Correlation	$5,24 \times 10^{-05}$		$1,29 \times 10^{-06}$	



v16



v17

Figure13 :efficacité des biocides des deux souches V16 et 17testes sur *Truboluiom castaneum*

Le tableau 04, représente les différents tests statistiques des souches de le genres *Bacillus* de deux souches V16 et V17 avec deux solutions physiologiques et osmotiques. Ces tests révèlent une différent significative de moralités journalières pour chaque biocide prépare qui nous a permis de refaire la représentation graphique figure 13 par rapport à la médiane. Cette figure montre l'évaluation de l'activité de biocides dans le temps et teste. Mais par contre absences des différentes entre les solutions utilisent dans la préparation (physiologiques et osmotiques) pour V16 par Kruskal-Wallis test, mais la souches V17 montre une différentes significative entre les deux solutions utilse dans la preparatios de biocides.

Discussion

Tribolium castaneumestl'un des principales espèces de Coléoptères qui cause de différents dégâts sur les denrées stockes telle queriz, blé, son et farine de riz et de blé, maïs, orge, sorgho, millet, manioc, tapioca et farine de manioc, fruits séchés, etc. toutes légumineuses, sous forme de farines : conviennent très mal à son développement ; arachide, coprah, graines de coton, ricin, cabosses de cacao, chocolat, noix de muscade, poivre, gingembre etc. Les farines infestées par *T. casraneum* sont fortement dépréciées, en partie en raison de l'odeur qui leur est communiquée **(Delobel et Trane, 1993)**.

L'objectif de cette étude est de voir c'est l'efficacité biocide test des deux souches de genre *bacillus* (V16 et V17) contre le ravageur de denrée stockée *Truboluiom castaneum par* des suspensions bactériennes physiologique et osmotique avec une mortalité journalièresdifférent mais la souches V17 montre une différentes significative entre les deux solutions utilse dans la preparatios de biocides.

Les résultats obtenus montrent l'effet significatif des traitements des solutions bactériennes sur la mortalité des adultes de ***Tribolium castaneum*** ; l'efficacité était moins remarquable dans le temps qui nous n'a pas parmis de finalisée l'etude ainssi que la regidite de la cuticuledes ***Tribolium*** qui n'a pas favorisé le développementdes bactéries.

Les bacteries entomopathogénes et leurs métabolites affectent plusieurs traits de la biologie de l'insecte tels que :la survie, le développement, la fécondité et la prise de nourriture (Amiri et al,1999 ; Eskesi et al,2001). Ces différents résultatspeuvent être explique par la cuticule de deux ordres différents. Le *Tribollium* appartient à l'*ordre* des coléoptères, caractérisés par la présence d'une cuticules dure, ce qui rend l'absorption de biocide difficile. Cette dernière empêche la pénétration de différentes suspensions sporals qui se multiplient dans l'hémolymphe entraînant une septicémie létale pour la larve d'insecte **(Pagès et Ginibre, 2006).**Certains bactéries entomopathogène produisent une toxine appelée pédérine

qui les protège de prédateurs tels que les araignées **(Kellner et Dettner ; 1996)**. En effet la toxine n'est observée chez le coléoptère qu'en présence d'une gammaprotéobactérie endosymbiotique du genre *Pseudomonas*.

Le séquençage du génome bactérien a alors révélé un cluster de gènes cohérent avec la biosynthèse de la pédérine. **(Piel ; 2002)**Ce fut la première preuve convaincante de la capacité d'un endosymbiote à produire une toxine protégeant son hôte. Toutefois il est intéressant de noter que l'insecte hôte présente un système immunitaire simplifié en comparaison d'autres insectes. **(Arp et al ; 2016)** La diaphorine pourrait donc contribuer à la protection de l'insecte en complétant son système de défense.

Conclusion

Pour protéger notre produits agricoles et alimentaires contre les attaques des insectes, au niveau des plantations et surtout au niveau des stocks, on se base essentiellement sur le contrôle soigneux et continu dans des conditions de stockage ; Et en utilisant les méthodes de lutte biochimique et biologique.

L'objectif de notre travail consiste sur l'isolement et l'identification des bactéries entomopathogènes à partir des vers blancs d'une part et d'autre part l'étude de la virulence de ces bactéries contre le ***Truboluim castaneum***. Les examens macroscopiques, microscopiques, identification phénotypique (les galeries API 20E et API 20NE),

Par ailleurs, le test d'entomopathogénicité des deux souches de bactéries contre le ***Truboluim castaneum*** montrent que les taux de mortalités de *Bacillus sp*, ne sont pas très importants.

En résumé les résultats de cette modeste recherche, nous ont permis de confirmer et de préciser l'importance du potentiel toxémique de *Bacillus sp sur* le ***Truboluim castaneum .***

En perspective pour une meilleure poursuite de cette étude, il serait souhaitable d'étudier d'une façon approfondie le mode d'action de ces bactéries au niveau des insectes nuisibles.

- ✓ Etude approfondies les connaissances et le modes d'actions des bactéries isolées ;
- ✓ Etude approfondie de mode d'action Sur *le**truboluim castaneum***;
- ✓ Production des bio-insecticides à partir de ces bactéries et leurs métabolites.

Les résultats parvenus affirmer que la recherche dans le domaine de la lutte biologique mérite une attention très particulière. Et qu'on déployant des moyens plus conséquents et une expérience plus poussée et à grande échelle, afin de trouver une alternative aux insecticides pourrait être envisageable dans un proche avenir.

Référence bibliographique :

- Alejandra Bravo, Sarjeet S. Gill, Mario Soberón,2007, Mode of action of Bacillus thuringiensis Cry and Cyt toxins and their potential for insect control,Toxicon,Volume 49, Issue 4, Pages 423-435, ISSN 0041-0101. https://doi.org/10.1016/j.toxicon.2006.11.022.(https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0041010106004387)
- AQUINA A, KHELIFI N-H Evaluation de l'effet répulsif de Cuminumcyminum Let Foeniculumvulgare Mill sur l'insecte des céréales stockées *Tribolium castaneum* (Herbst). Année universitaire. 2018
- **A.N.D.I. (Agence National des Ressources en eau). (2013)**. Investissement en Algérie, wilaya de Mila
- **Arp AP, Hunter WB,** 2016; Innate immune system capabilities of the Asian citruspsyllid, Diaphorina citri. Front Physiol. 7:417–418
- · ARAB, R., 2012. Effet insecticide des plantes Melia azedarach L. et Peganumharmala L. sur l'insecte des céréales stockées *Tribolium castaneum Herbst* (*Coleoptera, Tenebrionidae*). Thèse de Magister, Sétif : Algérie.
- Argôlo-Filho RC, Loguercio LL. *Bacillus thuringiensis* is an environmental pathogen and host-specificity has developed as an adaptation to human-generated ecological niches. Insects. 2014; 5 :62-91.
- **Argolo-Filho, RC., Loguercio, LL. (2014).***Bacillus thuringiensis* is an environmental pathogen and host-specifity has developed as an adaptation to human-generated ecological niches. *Insects*, 5, 62-91.
- **Abbott, WS. (1925).** A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of Economic Entomology* [en ligne], 18, 265-267. https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a
- **Balédent, F. (1997).** Coloration usuelles en bactériologie. *Revue de Développement et Santé* [en ligne], 127 (consulté le 25/05/2022). www.Ledamed.org.
- **Brune, A. (2014).** Symbiotic digestion of lignocellulose in termite guts. *Nature*, 12, 168-180.
- BALACHOWSKY A ET MENSIL L., 1936 - Les insectes nuisibles aux plantes cultivées, leurs mœurs, leur destruction. Ed. Busson., T.II., Paris, 1921p
- Baranek, J., Pogodziński, B., Szipluk, N. et al. (2020). TOXiTAXi: a web resource for toxicity of *Bacillus thuringiensis* protein compositions towards species of various taxonomic groups. SciRep 10, 19767.https://doi.org/10.1038/s41598-020-75932-7
- Barlass, P. J., Houston, C. W., Clements, M. O., &Moir, A. (2002). Germination of Bacillus Cereus spores in response to L-alanine and to inosine: the roles of gerL and gerQ operons c cTheGenBank accession numbers for the gerL and gerQ operons reported in this paper are AF387344 and AY037930, respectively. Microbiology, 148(7), 2089–2095. https://doi.org/10.1099/00221287-148-7-2089
- BERHAUT P. LE BRAS A. NIQUET N, 2003- Stockage et conservation des grains a la ferme. Ed. ARVALIS Institut du végétale. Paris, France, pp97-98. BOUDREAU A ET MENARD G, 1992-Le Blé : éléments fondamentaux et transformation. Ed. Lespresses de l'université Laval, Canada.

Référence bibliographique :

- BHALLA AS, 1986 Le stockage du grain Ed Bur. Inter, Tray. Geneve: 24-25p
- BOLEV, V. 2014. Bug guide. Species *Tribolium castaneum*. Iowa State University, Department of Entomology. Accessed at http://bugguide.net/node/view/478936. Accessedon24/02/2016
- Boemare NE (2002) Biology, taxonomy and systematics of *Photorhabdus* and Xenorhabdus. In: Gaugler R (ed)Entomopathogenic nematology. CABI Publishing, New York, pp 35–56
- Boemare NE, Akhurst RJ (1988) Biochemical and physiological characterization of colony form variants in *Xenorhabdus* spp.(*Enterobacteriaceae*). J GenMicrobiol 134:751–761
- BONNETON, F. (2010). Quand Triboliumcomplemente la génétique de la drosophile. Médecine
- Bravo A, Gill SS, Soberón M. Comprehensive Molecular Insect Science. Elsevier BV; 2005. *Bacillus thuringiensis* Mechanisms and Use; pp. 175–206. [Google Scholar]
- Bravo A, Gilll SS, et al. Mode of action of *Bacillus thuringiensis* Cry and Cyt toxins and their potential for insect control. Toxicon. 2007; 49:423–435.
- Brillard, J. et al., 2001. Two distinct hemolytic activities in *Xenorhabdusnematophila* are active Against immunocompetentinsectcells. Applied and environmentalmicrobiology, 67(6), p.251¡ 2525
- Brossard et Terry., 1984- Bactériologie systématique. C.R.D.P, Lyon, 220p
- Broussolle, V., Gauillard, F., Nguyen-The, C., & Carlin, F. (2008). Diversity of spore germination in response to inosine and L-alanine and its interaction with NaCl and pH in the Bacillus cereusGroup. Journal of Applied Microbiology, 105(4), 1081–1090. https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2008.03847.x
- Burgess, H. D. 1982. Control of insect by bacteria. Parasitology 84, 79-117. Butt, T.M. 1990. "Fungal infection processes. A mini-review" Vth Int. Colloq. Invertebr. Pathol. Adelaide. Soc. for Invertebr. Pathol. pp 121-124. DOI: 10.1017/S0031182000053610
- Burgess, H. D. 1982. Control of insect by bacteria. Parasitology 84, 79-117. Butt, T.M. 1990. « Fungal infection processes. A mini-review » Vth Int. Colloq. Invertebr. Pathol. Adelaide. Soc. For Invertebr. Pathol. Pp 121-124.
- Butko P. Cytolytic toxin Cyt1A and its mechanism of membrane damage: data and hypotheses. Appl Environ Microbiol. 2003; 69:2415-2422.
- Butko P. Cytolytic toxin Cyt1A and its mechanism of membrane damage: Data and hypotheses. Appl Environ Microbiol. 2003; 69:2415–2422. [PMC free article] [PubMed] [Google Scholar]
- Ahmed, S. I. et S. R. Leather. 1994. Suitability and potential of entomopathogenic microorganisms for forest pest management - some points for consideration. Intern. J. Pest Management 40: 287-292. Afrikjan, E. G., V. A. Tchilingirln et L. A. Tchil-Akopln. 1969. Bakterialnii incekticidnii preparat BIP-805. Biol. j. Armenii, t. 22, 3-7. DOI : 10.1080/09670879409371901
- **ABDULLAHI G., MUHAMAD R., et SULE H., 2019.** Biology host range and management of red flour beetle Tribolium castaneum (herbest) (Coleoptera : Tenebrionidae), vol.7, n°1, p.48-63.

Référence bibliographique :

- Caldas, C. et al., 2002. Purification and Characterization of an ExtracellularProteasefromXenorhabdusnematophilaInvolved in Insect Immunosuppression. Applied and EnvironmentalMicrobiology, 68(3), p.1297‑1304.
- **Canler, JP. (2005).** Dysfonctionnement biologiques des stations d'épuration : origines et solutions. Paris:*Cimagref*. 123 p.
- CAMARA A., 2009-Lutte contre Sitophilusoryzae L. (*coleoptera*:*Curculionidae*) et *Tribolium castaneum herbst* (*Coleoptera*: *Tenebrionidae*) dans les stocks de riz par la technique d'étuvage traditionnelle pratiquée en basse-guinée et l'utilisation des huiles essentielles végétales. Thèse. Doctorat., Univ., Québec, Montréal.
- Carmen Sieiro, ÁngelesPichardo-Gallardo, Lara Areal-Hermida, Raquel Almuiña-González, Tomás G. Villa; 2021: Chapter: Parasporal Crystal Toxins in Bacillus thuringiensis; DevelopmentalBiology in Prokaryotes and LowerEukaryotes, ISBN: 978-3-030-77594-0
- Cerenius, L. &Söderhäll, K., 2004. The prophenoloxidase-activating system in invertebrates. Immunologicalreviews, 198, p.116‑126.
- Challinor VL, Bode HB. Bioactive natural products from novel microbial sources. Ann NY Acad Sci. 2015; 1354:82–97.
- Chiasson H., Beloin N., 2007. Les huiles essentielles, des biopesticides « Nouveau genre », Revue de littérature, Bulletin de la Société d'entomologie du Québec, Antennae 2007, 14 (1), 6p.
- Christie, G., &Setlow, P. (2020). Bacillus spore germination: Knowns, unknowns and what we Need to learn. Cellular Signalling, 74, 109729. https://doi.org/10.1016/j.cellsig.2020.109729
- CHRISTINE, B., 2001. Contrôle de la qualité des céréales et protéagineux guide pratique 2lemeEdition
- CHRISTINE, B., 2001. Contrôle de la qualité des céréales et protéagineux, guide pratique.2ieme Edition
- Chu, F., Kearns, D. B., McLoon, A., Chai, Y., Kolter, R., &Losick, R. (2008). A novel regulatory Protein governing biofilm formation in Bacillus subtilis. Molecular Microbiology, 68(5), 1117–1127. https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.2008.06201.x
- Cissokhou., P.S., Gueye, M.T., Sow, E.H., Diarra, K., 2015. Substances inertes et Plantes à effet insecticides utilisés dans la lutte contre les insectes ravageurs des Céréales et légumineuses ou Sénégal et en Afrique de l'Ouest. Int. J. Biol. ChemSci. 9,1644-1563.
- Contreras MS, Vlisidou I. The Diversity of Insect-bacteria Interactions and its Applications for Disease Control.
- Cowles, K.N. &Goodrich-Blair, H., 2005. Expression and activity of a XenorhabdusnematophilaHaemolysinrequired for full virulence towardsManducasextainsects. Cellular microbiology, 7(2), p.209‑219.
- Crawford, J.M. et al., 2012. Small moleculeperimeterdefense in entomopathogenicbacteria. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. Available at : http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22711807 [Consulté le juin 25, 2012].

Référence bibliographique :

- Daborn, P.J. et al., 2002. A single Photorhabdusgene, makescaterpillarsfloppy (mcf), allows Escherichia coli to persistwithin and killinsects. Proceedings of the National Academy of Sciences of The United States of America, 99(16), p.10742 10747.
- **DELOBEL A, et TRAN., 1993.** *Les Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes,* Paris, ISSN 0152-674-X : 442p.
- **Diallo, KK. (2010).** Fréquence d'isolement des *Klebsiella* au laboratoire de bactériologie CVD du CHU Gabriel Toure de 2002 à 2007. Thèse de Doctorat : En Pharmacie. Mali : Université de Bamako, 96 p.
- **Debabza, M. (2005).** Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multi-résistants aux antibiotiques: étude bactériologique et moléculaire. Thèse de Doctorat : En Microbiologie. Annaba : Université Badji Mokhtar, 217 p.
- **Dhoj G.C, Y. (2006).** White grubs (Coleoptera: Scarabaeidae) associated with Nepalese agriculture and their control with the indigenous entomopathogenic fungus *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorokin. Thèse de Doctorat : En Philosophie et Sciences Naturelles. Allemand : Université de Bale, 282 p.
- DAVE A., COLIN J., DEMIANYK P.G., FIELDS D.S., JAYAS J.T.M., WILLIAM E.M., BLAINE T., NOEL D.G.W., 2001- Protection des céréales, des oléagineux et des légumineuses à grain entreposés à la ferme contre les insectes, les acariens et les moisissures. (éd.rev.)(Manitoba) Canada.59p.
- David Fernández-Chapa, JesicaRamírez-Villalobos et Luis Galán-Wong2019 ; Potentiel toxique de Bacillus thuringiensis : un aperçu ; DOI : 10.5772/intechopen.85756
- DAWSON P.S. 1964. Age at sexualmaturity in femaleflourbeetlesTribolium castaneum and T.Confusum. Ann. Ent. Soc. Am., 57,1-3.
- DELOBEL A ET TRAN M (1993) - Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes, ORSTOMICTA, Paris : p 425
- DELOBEL A ET TRAN M (1993) Les coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes, ORSTOMICTA, Paris : p 425
- DESMARCHELIER J.M., 1988. The relationshipbetweenwet-bulb temperature and theintrinsic rate of increase of eightspecies of storedproductColeoptera : J, storedprod.Res, 24(2), 107/113
- Dieppois G, Opota O, et al. 2015. Pseudomonas entomophila : a versatile bacterium with entomopathogenic properties. In: Ramos JL, Goldberg J, Filloux A. Ed. Pseudomonas. Springer, Dordrecht
- · Duchaud E, Rusniok C, et al. The genome sequence of the entomopathogenic bacterium Photorhabdusluminescens. Nat Biotechnol. 2003; 21:1307-1313.
- Dunphy, G. B. et Tibelius, K. H., 1992. Les progrès biotechnologiques augmentant l'efficacté de *Bacillus thuringiensis* et de Bacillus sphaericus en tant qu'insecticide microbien. In la lutte biologique, sous la direction de C. Vincent et D. Coderre, p. 305-322. Chicoutimi, Québec, Canada. Gaetan Morin éditeur ltée.
- **Delobel A et Tran M. (1993)** .Les Coléoptères des denrées alimentaires entreposées dans les régions chaudes. Ed. Orstom. Paris. 275, 424p.
- Duvic, B. et al., 2012. Cecropins as a marker of Spodopterafrugiperda immunosuppressant duringEntomopathogenicbacterial challenge. Journal of insect physiology, 58(6), p.882 888.

Référence bibliographique :

- Dieppois G, Opota O, et al. 2015. Pseudomonas entomophila : a versatile bacterium with entomopathogenic properties. In : Ramos JL, Goldberg J, Filloux A. Ed. Pseudomonas. Springer, Dordrecht
- **Dutsky, SR. (1959).** Insect Microbiology. *Adv App Microbiol*, 1, 175-200.
- **Engel, P., Moran, NA. (2013).**The gut microbiota of insects-diversity in structure and function. *FEMS Microbiol Rev*, 37, 699-735.
- FLEURAT LESSARD P. SCHMITT AC. VANTARD M. STOECKEL H. ROBLIN G (1993) Characterization and immunocytochemical distribution of microtubules and F-actin filaments in protoplasts of Mimosa pudicamotorcells. Plant PhysiolBiochem 31.757-764
- Glare, T. R., O'Callaghan, M., & Williams, P. (2012). Ecological and safety assessments of entomopathogens. Springer Science & Business Media.
- Gillespie, J.P., Kanost, M.R. &Trenczek, T., 1997. Biologicalmediators of insectimmunity. AnnualReview of entomology, 42, p.61¦643.
- · GoëlleBusch, 2014
- Goodrich-Blair H, Clarke DJ. Mutualism and pathogenesis in Xenorhabdus and Photorhabdus: two roads to the same destination. MolMicrobiol 2007; 64:260-268.
- · Greathead, D. J., Kooyman, C., Launois-Luong, M. H., et Popov, G. B. 1994. Les ennemis naturels des 8□criquets du Sahel. Collection acridologie opérationnelle N CILSS/DFPV, Niamey, Bp 12625. Niger.
- Greathead, D.J., Kooyman, C., Launois-Luong, M.H., Popov, G.B, 1994. Les Ennemis naturels des criquets du Sahel. Ed. Cirad/Prifas, Collection Acridologie Opérationnelle, Montpellier, p.147)
- · Guerchicoff A, Delécluse A, Rubinstein CP. 2001- The Bacillus thuringiensiscyt genes for hemolytic endotoxins constitute a gene family. Appl Environ Microbiol. Mar;67(3):1090-6. doi: 10.1128/AEM.67.3.1090-1096.2001. PMID: 11229896; PMCID: PMC92699.
- GUEYE, A. DIOME, T. THIAW, CH. SEMBENE, M. APPL, J. 1997 -Evolution des paramètresbiodémographiques des populations de Tribolium castaneum H. (*Coleoptera, Tenebrionidae*) inféodé à l'mil (PennisetumglaucumLeek) et le maïs (Zeamays L.) Journal of Applied Biosciences
- **GODON, B., & WILLM, C., 1998.** *Les industries de première transformation des céréales*,Paris, Ed. Tec et doc : 207p.
- GWINNER J. HAMISCH RET MUCK 0, 1996, Manuel sur la manutention et la conservation desGrains après récolte, GTZ, Eschborn, 368 p.
- HAINES, C. P. (1991). Insects and arachnids of tropical stored products: their biology and identification (a training manual).
- HOLDAWAY F.G., 1932. An experimental study of the growth of populations of the flour beetle, *Tribolium confusum (Duv.)* as affected by atmospheric moisture. Ecol. Monogr.,2, 261-304
- HOW R.W., 1956. The effects of temperature and humidity on the rate of development and mortality of *Tribolium castaneum (Herbst.),* Ann. Appl. Biol., 44, 356-368.
- Hutton, P. O. et Burbutis, P. P. 1974. Milky disease and Japanese beetle in Delaware. Journal of Economic Entomology. 67: 247-9. DOI: 10.1093/jee/67.2.247

Référence bibliographique :

- Ji, D. & Kim, Y., 2004. An entomopathogenicbacterium, Xenorhabdusnematophila, inhibits the Expression of an antibacterial peptide, cecropin, of the beetarmyworm, Spodopteraexigua. Journal Of insectphysiology, 50(6), p.48‌ 496.
- **Image** [en ligne] (Consulté le 22/05/2022).
- https://fr.wikipedia.org/wiki/Mila_%28Algérie%29
- **Johnson, JL., Phelips, CF., Cummins, CS., London, J., Gasser, F. (1980).** Taxonomy of Lactobacillus acidophilus group. *International Journal of Systematic Bacteriology*, 30, 53-68
- KASSEMI N., 2014. Activité biologique des poudres et des huiles essentielles de deux plantes aromatiques (PseudocytisusintegrifoliusSalib et Nepeta nepetella L.) sur les ravageurs du blé et des légumes secs. Thèse de doctorat en biologie, option biologie animale, Université de Tlemcen
- Klassen JL. Microbial secondary metabolites and their impacts on insect symbioses. CurrOpin Insect Sci. 2014; 4:15–22.
- **Kouassi, M. (2001). Les possibilités de la lutte microbiologique : Emphase sur le champignon Entomopathogène B. bassiana. Open Edition Journals, 2 (2).**
- **Kellner RL, Dettner K. 1996;**Differential efficacy of toxic pederin in deterring potentialarthropod predators of Paederus (Coleoptera: Staphylinidae) offspring. Oecologia. 107:293–300.
- Lacey, L. A. (2015). Bacillus thuringiensisserovarietyisraelensis and Bacillus sphaericus for mosquito control. Journal of the American Mosquito Control Association, 31(suppl. 2), 141-143.
- Larry M. Bush, MD, FACP, Charles E. Schmidt College of Medicine, Florida Atlantic UniversityRevue/Révisioncomplèteaoût 2022
- Latreille, P. et al., 2007. Optical mapping as a routine tool for bacterialgenomesequencefinishing. BMC genomics, 8, p.321.
- Lecadet MM, Frachon E, et al. Updating the H-antigen classification of Bacillus thuringiensis. J ApplMicrobiol. 1999; 86 :660-672.
- **Légaré, JP ; Serres, JM-De ; Bourdon, K. (2015).** Les vers blancs. *Laboratoire de diagnostic en phytoprotection, MAPAQ*, 1-8. Agrireseau.qc.ca.
- **LEMEAILBI Nabila. (2019).** Evaluation de l'effet répulsif d'*Artemisia herba alba* Asso. et*Teucrium polium* L. vis-à vis des insectes des denrées stockées (*Tribolium confusum et Rhyzopertha dominica)* UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA. 13p
- MADENE NADIA,Activité biologique de trois extraits végétaux et d'un insecticide sur Sitophilusoryzae (*Coleoptera : Curculionidae*) et *Tribolium castaneum Coleoptera* : *Tenebrionidae*).ANNEE UNIVERSITAIRE : 2014*
- **Meddas, SA., Oulebsir-Mohandkaci, H., Hadjouti, R *et al.* (2020).** Caractérisation des Bacillus spp. isolées du sol d'Olivier et étude de leurs potentialités de biocontrôl
- contre la mouche de l'Olive *Dacus oleae* (GMEL) au Nord de l'Algérie. *Revue Agrobiologia,* 10 (1): 1872-1882.
- MADJDOUB, 2013. Etude de l'activité insecticide des huiles essentielles de rutachalepensis (1) sur les adultes de *tribolium castaneum (herbst*.) et sitophiluszeamais

(motsch) 4me journées scientifiques sur la valorisation des bios ressources Masson (Paris).

- Moir, A., & Cooper, G. (2015). Spore Germination. Microbiology Spectrum, 3(6).https://doi.org/10.1128/microbiolspec.TBS-0014-2012
- Morris, 0. N. 1983. Microorganisms isolated from forest insects in British Columbia. J. Entomol. Sci. BC. 80: 29-36.
- MYERS, P., R. ESPINOSA, C. S. PARR, T. JONES, G. S. HAMMOND, AND T.A. DEWEY. 2016. The Animal Diversity Web (online). Accessed at http://animaldiversity.org. Accessed 24/02/2016
- Nielsen-LeRoux, C. et al., 2012. How the insectpathogenbacteria Bacillus thuringiensis and Xenorhabdus/Photorhabdusoccupytheir hosts. Current opinion in microbiology, 15(3), p.220 231.
- **Nirma, C., Eparvier, V., *et al.* (2013).** Antifungal agents from *Pseudallescheria boydii* SNB-CN73 isolated from a *Nasitutermes sp*. termite. *J Nat Prod*, 76, 988-991.
- Oulebsir-Mohand Kaci H., 2012- Evaluation de l'impact biologique de quelques souches locales de Bacillus sp. Et Pseudomonas spp. fluorescens vis-à-vis du criquet migrateur Locustamigratoriacinerascens (*Oedopodinaen* : *Acrididae*). Thèse de Doctorat, Ecole. Nat. Agro. El Harrach, Alger, p.172
- Pacheco I.A., Sarton M.R., Taylor R.W., 1990. Levantamento de resistencia de insetos-pragas de graosArmazenados a fosfina no Estado de sao Paulo. Coletanea do ITAL. 20(2), 144-154.
- Park, Y. et al., 2003. The bacteriumXenorhabdusnematophilusdepresses nodulation reactions to Infection by inhibitingeicosanoidbiosynthesis in tobaccohornworms, Manducasexta. Archives of InsectBiochemistry and Physiology, 52(2), p.71–80.
- Park, Y. et al., 2003. The bacteriumXenorhabdusnematophilusdepresses nodulation reactions to Infection by inhibitingeicosanoidbiosynthesis in tobacco hornworms, Manducasexta. Archives of InsectBiochemistry and Physiology, 52(2), p.71–80.
- Piel J. Metabolites from symbiotic bacteria. Nat Prod Rep. 2009; 26:338–362.
- **Piel J. A2002;** Polyketide synthase-peptide synthetase gene cluster from an unculturedbacterial symbiont of *Paederus beetles*. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 99:14002–14007.
- **Placidi C and Jurat-Fuentesa JL. (2019). Mechanisms of resistance to commercially relevant Entomopathogenicbacteria. Department of Entomology and Plant Pathology, University of Tennessee, Knoxville, TN 37996. 1-23.https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214574518301305.**
- **Pagès, S., Ginibre, N. (2006).** Evaluation de la virulence de bactéries entomopathogènes. *Cah. Tech. I.N.R.A*, 57, 11-19.
- Raja R.R., 2012. Medicinallypotential plants of Labiatae (Lamiaceae) family : an overview. Res. J. Med. Plant. 6(3) : 203–213.
- Roberts, D. W. et A. S. Campbell. 1977. Stability of entomopathogenic fungi. Misc Publ. Entomol Soc. Am. 10: 19-76.
- Rajashekar Y., Gunasekaran N., Shivanandappa T., 2010. Insecticidalactivity of the rootextract of Decalepishamiltoniiagainststoredproductinsectpests and its application in

grain protection. J Food SciTechnol 47 :310–314

- Ribeiro, C., Vignes, M. &Brehélin, M., 2003. Xenorhabdusnematophila (enterobacteriacea) secretes A cation-selective calcium-independentporinwhich causes vacuolation of the rough endoplasmicReticulum and celllysis. The Journal of biologicalchemistry, 278(5), p.3031‒3039.
- **Richard, Cl., Marchal, N., Bourdon, JL. (1982).** Les Milieux de cultures : Pour l'isolement et l'identification biochimiques des bactéries (Biologie Appliquée) 2éme édition. Paris : *DOIN éditeurs*. 482 p.
- RICHARDS, 2008. The genome of the model beetle and pesttribolium castaneum nature. 452- 949-55. [Google scholar]. ROBINSON (2005), UrbanInsectsandArachnids : A Handbook of UrbanEntomology, Cambridge : Cambridge UniversityPress. 472p/Sciences, 26,
- ROBINSON, M. D., & WILKOWSKI, B. M. (IN PRESS), Loving, hating, vacillatingAgreeableness, Implicit self-esteem, and neuroticconflictJournalofPersonality
- SAFI NOURIA Comportement insecticide des huiles essentielles des plantes aromatiques sur *Tribolium castaneum* (Herbst) (*Coleoptera* : *Tenebrionidae*)Année universitaire 2021/
- Saheb D., 2007. Activité acaricide de quatre huiles essentielles sur *TetranychuscinnabarinusBoisduva*l 1876 (*Acri* ; *Tetranychidae*) et contribution à l'étude de leur composition chimique par GC/MS, Mémoire de Magister, Institut national Agronomique d' El-Harrach – Alger, 83p.
- Saik, J. E., L. A. Lacey et C. M. Lacey. 1990. Safety of microbial insecticides to vertebrates - domestic animals and wildlife. In: Safety of microbial insecticides. Laird, M., L. A. Lacey & E. D. Davidson edd. CRC Press Inc., Florida: 116-130.
- Schnepf E, Crickmore N, et al. *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. MicrobiolMolBiol Rev. 1998; 62 :775-806
- Sheets, J.J. et al., 2011. InsecticidaltoxincomplexproteinsfromXenorhabdusnematophilus : Structure and pore formation. The Journal of biologicalchemistry, 286(26), p.22741‒22749.
- Sicard, M. et al., 2004. Stages of infection during the tripartite interaction betweenXenorhabdusNematophila, itsnematodevector, and insect hosts. Applied and environmentalmicrobiology, 70(11), p.6471‒6480.
- **Sutherland, DWS. (1978).** Common names of insects and related organisms. *Bulletin of the Entomological Society of America*, 24, 408.
- SINHA RN, DEMIANYK C.J. ET MC KENZIE RLH 1988 Vulnerability of commonwheat cultivars to major stored-product-beetles. Canadian J of Plant Sci. 68 (2),337-343
- Song, C.J. et al., 2011. Bacterialmetabolites of an entomopathogenicbacterium, XenorhabdusNematophila, inhibit a catalyticactivity of phenoloxidase of the diamondbackmoth, PlutellaXylostella. Journal of Microbiology and Biotechnology, 21(3), p.317‒322.
- Sugar, D.R. et al., 2012. Phenotypic variation and host interactions of Xenorhabdusbovienii SS-2004, The entomopathogenicsymbiont of Steinernemajollietinematodes. Environmentalmicrobiology, 14(4), p.924‒939.
- Torres-Quintero, MC., Gómez, I., Pacheco, S. et al. (2018). Engineering Bacillus

thuringiensis Cyt1Aa toxin specificity from dipteran to lepidopteran toxicity. SciRep 8, 4989.https://doi.org/10.1038/s41598-018-22740-9

- Vallet-Gely I, Lemaitre B, et al. Bacterial strategies to overcome insect defences. Nat Rev. 2008; 6:302–313
- Vepachedu, V. R., &Setlow, P. (2007). Role of SpoVA proteins in release of dipicolinic acid during germination of Bacillus subtilis spores triggered by dodecylamine or lysozyme. Journal of Bacteriology, 189(5), 1565–1572. https://doi.org/10.1128/JB.01613-06
- Vigneux, F. et al., 2007. The xaxABGenesEncoding a New ApoptoticToxinfrom the InsectPathogenXenorhabdusnematophila Are Present in Plant and HumanPathogens. Journal of BiologicalChemistry, 282(13), p.9571 580.
- Vodovar N, Vallenet D, et al. Complete genome sequence of the entomopathogenic and metabolically versatile soil bacterium Pseudomonas entomophila. Nat Biotechnol. 2006; 24:673-679.
- Vodovar N, Vinals M, et al. Drosophila host defense after oral infection by an entomopathogenic Pseudomonas species. Proc Natl AcadSci U S A. 2005; 102:11414–11419.
- Xu C, Wang BC, et al. Structural insights into *Bacillus thuringiensis* Cry, Cyt and parasporin toxins. Toxins (Basel). 2014; 6:2732–2770.
- YOUNG A.M: 1970, Predation and abundance in populations of flourbeetles. Ecology 51, 602-619.
- **Zohry N. M. H. (2007).** Scanning Electron Morphological Studies Of Tribolium Confusum Jacquelin Du Val (Coleopteran: Tenebrionidae).*The Journal of Basic and Applied Zoology* ,78(6) : 13.
- Zimmermann G.1986The ‘Galleria bait method’ for detection of entomopathogenicfungi in soil,journal of applied entomology.

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

Milieux de culture

1. Milieux solides

□□Gélose nutritive (GN)

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

Autoclavage : 20 mn à 120 °C

□□Milieu Muller-Hinton (MH)

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

Stérilisation : 15 mn à 115 °C

□□Milieu Potato-Dextrose-Agar (PDA)

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

Stérilisation : 30 mn à 120 °C

2. Milieux liquides :

□□Bouillon nutritif (BN)

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