

CARACTERISATION PHENOTYPIQUE ET MOLECULAIRE D'UNE BACTERIE RHIZOSPHERIQUE *Bacillus* sp. H1 (LT547812) Et Etude De Son Efficacité Entomopathogène CONTRE LA PYRALE DE LA DATTE *Ectomyelois ceratoniae*

OULEBSIR-MOHAND KACI H.¹, KHENDOUDI Z.², TIHAR-BENZINA F.³ et ALLAL-BENFEKIH L.⁴

1,3-Laboratoire de valorisation et conservation des ressources biologiques, Faculté des Sciences, Université M'hamed Bougara – Boumerdes- BP35000, Algérie

2,4 - Laboratoire des plantes aromatiques et médicinales, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université de Blida I, BP 270, Algérie

Résumé : Les bactéries entomopathogènes occupent une place particulière dans la régulation naturelle de nombreux insectes. Ce sont surtout les espèces du genre *Bacillus* qui sont les plus utilisées contre les ravageurs et qui offrent des perspectives encourageantes.

L'effet subléthal d'une souche bactérienne autochtone issue d'une région côtière de l'Algérie (Boumerdes) a été testé sur quelques paramètres de vie de la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae*, ravageur potentiel des palmeraies en Algérie. La caractérisation a été réalisée sur la base de sa morphologie et de certains critères physiologiques et biochimiques.

La bactérie a montré des réactions différentes aux tests d'identifications réalisés avec une capacité de dégrader plusieurs substrats tels que les lipides, les protéines et les sucres complexes ainsi que la chitine, la gélatine et la cellulose. L'isolat bactérien a été identifié sur la base d'une étude moléculaire par séquençage de l'ARN 16s. L'étude phylogénique a confirmé l'appartenance de la bactérie au genre *Bacillus* avec un pourcentage de similarité élevé pour l'espèce *Bacillus thuringiensis*. L'activité biologique de la bactérie a été testée sur la prise alimentaire, les taux de nymphose et d'émergence chez les chenilles âgées (L5) des deux sexes de la pyrale de la datte, durant une période de 22 jours. Les résultats obtenus montrent une diminution significative des trois paramètres étudiés, d'autant plus importante chez les larves femelles que chez les larves mâles, sous l'effet des différentes doses utilisées (D1, D2 / 1, D3, D4 et D5) en comparaison avec les témoins traités par l'eau physiologique stérile. La quantité d'aliments ingérée augmente graduellement du 1^{er} au 5^e jour puis elle tend à diminuer et les chenilles s'arrêtent de s'alimenter beaucoup plus tôt que les témoins. Les taux de nymphose et d'émergence des chenilles traitées restent faibles ne dépassant pas les 40%.

Mots-clé : Entomopathogène, *Bacillus*, effet subléthal, *Ectomyelois ceratoniae*, ARN 16s.

PHENOTYPIC AND MOLECULAR CHARACTERIZATION OF A RHIZOSPHERIC BACTERIUM *BACILLUS* SP. H1 (LT547812) AND STUDY OF ITS ENTOMOPATHOGENIC EFFICACY AGAINST THE MOTH OF THE DATE PALM *Ectomyelois ceratoniae*

Abstract: Entomopathogenic bacteria occupy a special place in the natural regulation of many insects. It is mainly the species of the genus *Bacillus* that is mostly used in biological pest control and offers encouraging prospects. We have studied in the laboratory the sublethal effect of an indigenous bacterial strain from a coastal region in central Algeria, on some life parameters of the date palm moth *Ectomyelois ceratoniae*, a potential pest of palm groves in Algeria. The bacterium was identified on the basis of a molecular study by sequencing the 16s RNA. The characterisation was carried out on the basis of its morphology and certain physiological and biochemical criteria. The bacterial isolate showed different reactions to the identification tests carried out with the ability to degrade several substrates such as lipids, proteins and complex sugars as well as chitin, gelatin and cellulose. The phylogenetic study confirmed that the bacterium belongs to the genus *Bacillus* with a high percentage of similarity for *Bacillus thuringiensis*.

Biological activity of the bacterium was tested for food intake, pupation and emergence rates in mature caterpillars (L4 and L5) of both male and female sexes of the moth of the date over a 22-day period. The results obtained show a significant decrease in the three studied parameters, which is all the more important in female larvae than in male larvae, under the effect of the different tested doses (D1, D2 / 1, D3, D4 et D5) compared with controls. The amount of food ingested gradually increases from the 1st to the 5th day then it tends to decrease and the caterpillars stop feeding much earlier than the controls. The pupation and emergence rates of treated caterpillars remain low, not exceeding 40%.

Keywords. Entomopathogen, *Bacillus*, sublethal effect, *Ectomyelois ceratoniae*, RNA 16s.

Introduction

Le palmier dattier (*Phoenix Dactylifera* L.) est une plante d'intérêt écologique, économique et social majeur pour de nombreux pays des zones arides et semi arides [1]. C'est une composante essentielle de l'écosystème oasien d'Afrique du nord, grâce à sa remarquable adaptation aux conditions climatiques jouant ainsi un rôle important dans la protection des oasis contre les influences désertiques, par sa morphologie favorisant d'autres cultures sous-jacentes [2].

Les dattes sont considérées par beaucoup de consommateurs comme un fruit de dessert, et constituent la base de l'alimentation des habitants des régions arides notamment par leur richesse en calories, de 3000 cal/kg de dattes, leur haute valeur nutritive et leurs bienfaits pour la santé [3, 4].

Cependant, la palmeraie algérienne reste toujours confrontée à plusieurs problèmes d'ordre abiotique, cultural et biotiques causés par de nombreuses maladies et ravageurs dont la pourriture des inflorescences, la cochenille blanche *Parlatoria blanchardi*, le papillon du grenadier *Deudorix livia* et la pyrale des dattes *Ectomyelois ceratoniae* qui causent des dégâts économiquement préjudiciable dans beaucoup de régions autour du monde [5, 6] et dont les dégâts peuvent aller de 20 à 80% de perte de la production des dattes dans le bassin méditerranéen [7]. La production de dattes a diminué au cours de ces dernières années également suite aux infestations par les attaques du Bayoud et de l'acararien *Oligonychus afrasiaticus* ou bou faroua, espèce d'acaridien très répandu en Afrique du Nord et au Moyen-Orient.

Cet acaridien est l'un des principaux ravageurs du palmier dattier [8]. L'infestation des dattes au champ et dans les aires de stockage par ces ravageurs déprécie énormément leur qualité commerciale et risque de compromettre les exportations [9]. La polyphagie de la pyrale des dattes, sa large répartition dans l'espace et sur des hôtes variés rendent difficiles la mise au point d'une stratégie de lutte chimique efficace capable de limiter l'ampleur de ses dégâts [10]. Dans ces conditions, seule la lutte intégrée par l'introduction des agents biologiques peut être capable de limiter les dégâts de ce ravageur.

Les espèces du genre *Bacillus* sont les plus utilisées parmi les bactéries entomopathogènes et offrent des perspectives encourageantes notamment à l'égard des lépidoptères ravageurs [11, 12]. C'est dans cette optique que s'inscrit le présent travail, visant dans un premier temps la caractérisation d'une souche bactérienne isolée à partir du sol puis la mise en évidence de son effet antagoniste contre la pyrale des dattes.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

1. Conduite de l'élevage de la pyrale

L'élevage de la pyrale de la datte a été réalisé dans des conditions contrôlées (T : 27±1°C, HR : 65±5% et photopériode : 16h/ 8h). Les papillons mâles et femelles émergés des dattes infestées ramenées des palmeraies de la région de Biskra (sud est algérien) (figure 1), ont été introduits dans des bocaux pour l'accouplement à raison de dix mâles et vingt femelles par bocal. Les individus ont été alimentés de fragments de dattes. Après trois jours, les œufs pondus par les femelles ont été

déposés dans un milieu nutritif synthétique. La préparation de ce milieu a consisté à utiliser 440 g de son de blé stérilisé auquel sont additionnés 40g de Levure de bière, 10g de Mélange de

Vitamine, 30g de Gluten, 10g de Mélange de sel, 50g de Sucre, 1g d'Acide citrique, 5g d'Acide Ascorbique, 5g de Methyl Paraben et 400ml d'Eau distillée. [9, 13].



Figure 1. - Dégâts de la pyrale.

2. Echantillonnage du sol et purification de l'isolat

Les échantillons de sol ont été prélevés de la région de Boumerdes, zone côtière du centre algérien (Latitude: 36.7675962, Longitude: 3.7029002, 36° 46' 0" N, 3° 28' 0" E). Le prélèvement a été effectué à une profondeur de 50 cm, sur un rayon d'un mètre autour des racines au niveau d'une culture de blé (figure 2).

Au laboratoire, le sol a été chauffée à 80°C pendant 4 heures afin d'éliminer toutes les bactéries non sporulantes [14]. et puis 10 g de l'échantillon de sol a été ajouté à 90 ml d'eau physiologique stérile, des repiquages successifs sur gélose nutritif ont permis l'obtention d'une culture pure vérifiée par un examen microscopique.



Figure 2. - Situation géographique du site de prélèvement du sol (Google Maps, 2016)

3. Etude des traits phénotypiques de l'isolat

Des examens macroscopiques et microscopiques ont été effectués (Observation microscopique à l'état frais, coloration simple au bleu de méthylène, coloration de Gram, Coloration de la spore). Des tests biochimiques d'identification ont été réalisés (mise en évidence de l'oxydase et catalase, étude du type respiratoire, recherche du nitrate réductase (NR), réaction au rouge de méthyle (RM), réaction de Voges-Proskauer (VP), test du citrate, mise en évidence de la mobilité, étude la croissance sur milieu TSI, hydrolyses de l'amidon, de la caséine de lait et de la lécithine, résistance à différentes températures [15, 16].

4. Identification moléculaire

Après extraction d'ADN, nous avons procédé à son amplification en chaîne par polymérase PCR suivit du séquençage de l'ARN 16S. L'extraction de l'ADN a été réalisée selon la méthode décrite par Ausubel *et al.* [17]. Les séquences des gènes des ARNr 16S obtenues ont été soumises à une recherche de similarité des séquences déposées dans la banque de données en utilisant le programme BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). L'alignement multiple de séquences est réalisé grâce au logiciel CLUSTAL W 1.8 [18]. L'homologie des séquences a aussi été évaluée et l'arbre phylogénique a été tracé par la méthode de Neighbor-Joining disponible dans le package Geneious Pro 4.8.5, dans lequel une matrice initiale est construite en groupant deux à deux les espèces les plus proches avec la banque de

gènes EMBL [19] et le logiciel MEGA 5 [20].

5. Applications des bioessais

Les chenilles âgées, de stade L5 mâles et femelles, isolées de l'élevage, sont mises à jeûner pendant une durée de 4heures (car au delà il y a mortalité des larves). Elles sont ensuite disposées individuellement dans des boîtes de Pétri sur le substrat alimentaire préparé avec ou sans traitement. Les lots traités reçoivent une alimentation contenant les différentes concentrations bactériennes (D1=2,843 × 10⁸ UFC/ml, D2=2,029 × 10⁸ UFC/ml, D3=1,147 × 10⁸ UFC/ml, D4=0,415 × 10⁷ UFC/ml) et D 5=0,127 × 10⁶ UFC/ml), alors que les lots témoins sont alimentés avec de l'aliment sain mélangé avec le même volume d'eau physiologique stérile. Trois répétitions ont été effectuées et les boites de Pétri de chaque lot respectif sont placés en conditions contrôlées (T°= 25-27C°, H% = 65-75%) et une photopériode : (16 heures de lumière / 8 heures d'obscurité). Les observations sont réalisées chaque 24 h, durant une période de 22 jours (durée moyenne du cycle, au delà de laquelle toutes les larves passent au stade chrysalide). Les effets sublétaux observés sont le taux du passage du stade L5 au stade chrysalide (nymphe), le taux d'émergence des papillons et la prise alimentaire.

6. Analyse des données

Les moyennes de valeurs obtenues des différents paramètres étudiés ont fait l'objet d'une analyse de variance en utilisant le Modèle linéaire global (GLM) (SYSTAT vers. 7.0, SPSS 1997) (Soft Web). Les valeurs de p ≤ 0,05 sont considérées statistiquement significatives.

RÉSULTATS

1. Caractérisation macroscopique et microscopique de l'isolat bactérien

La culture de la bactérie nommée H1 sur milieu solide (gélose nutritive) et sur milieu liquide (bouillon nutritif) nous a permis d'obtenir des colonies bien isolées avec des caractères spécifiques (tableau 1)

Tableau 1. Caractéristiques culturales de l'isolat sur milieu solide (GN)

Caractéristiques culturales sur milieu solide								Caractéristiques culturales sur milieu liquides				
Forme	Diamètre	Couleur	Opacité	Elévation	Surface	Consistance	Odeur	Anneau	Voile	Trouble homogène	Trouble hétérogène	Culot
Circulaire à bord irrégulier	2,6 mm	Blanchâtre	Translucide	Plate	Lisse	Visqueuse	Absence	+	+	+	-	-

(+) : Présence. (-) : Absence.

L'observation au microscope des cellules à l'état frais, après coloration simple au bleu de méthylène, coloration de Gram et la coloration de la spore; montre des cellules mobiles en bâtonnets longs à extrémités arrondies arrangés en cellules isolées ou regroupés en chainettes, à Gram + et sporulante. La spore présente une position sub-terminale, d'aspect circulaire et apparait tel un espace clair réfringent.

2. Caractérisation biochimique et physiologique de l'isolat bactérien

Les résultats des 35 tests biochimiques et physiologiques réalisés sur l'isolat bactérien étudié (tableau 2) indiquent des réactions variables aux différents tests.

Tableau 2. Caractérisation physiologique et biochimique de l'isolat étudié

Caractères biochimiques et physiologiques							
Oxydase	+	Amidon	+	ARA	-	VP	+
Catalase	+	Caséine	+	AMY	-	IND	-
Type respiratoire	A-a-f	Lécithine	-	MEL	-	TDA	-
Nitrate réductase (NR)	+	Culture à 45°C	+	SAC	-	URE	+
Rouge de méthyle (RM)	+	Culture à 55°C	-	RHA	-	H ₂ S	+
Voges-Proskauer (VP)		Culture à 65°C	-	SOR	-	CIT	+
Citrate	+	GEL	+	INO	-	ODC	+
Mannitol	-	ONPG	+	MAN	-	LDC	+
Mobilité	+			GLU	-	ADH	+

A-a-f : aérobie-anaérobie facultatif

Indique le + et le - correspond à quoi et les abréviations

3. Identification moléculaire par Séquençage d'ARN 16s et étude phylogénique

Le séquençage d'ARN 16s, a permis de confirmer l'appartenance de la

souche isolée H1 au genre *Bacillus*, elle se trouve dans le même cluster que *Bacillus thuringiensis* (figure 3). La souche *Bacillus* sp. H1 a été enregistrée dans la banque des données EMBL avec le numéro d'accèsion LT547812.

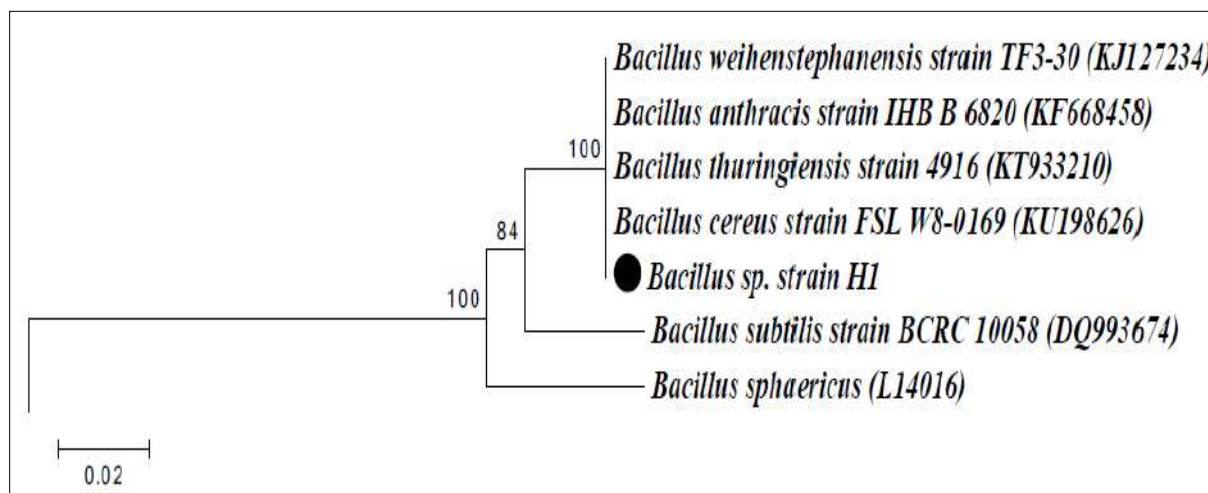


Figure 3. - Arbre phylogénique tracé par la méthode de Neighbor-Joining montrant la position phylogénétique de la souche Strain-H1 et les représentants de certains autres taxons liés sur la base de séquences d'ADNr 16S. La barre représente 1 substitution par 100 nucléotides. Les valeurs au niveau des nœuds indiquent les probabilités calculées par la méthode bootstrap.

La souche *Bacillus* sp. strain H1 (LT547812) présente un pourcentage de similarité élevé (99%) pour les souches; *Bacillus thuringiensis* strain.

WAB2159, *Bacillus pumilus* strain CGAPGPBS-051 et *Bacillus subtilis* strain CHAPGPBS-076B (tableau 3).

Tableau 3. - Pourcentage d'identité des séquences ADNr 16S de la souche *Bacillus* sp. strain H1 (LT547812) avec quelques espèces apparentées

Description	Max score	Total score	Query cover	E value	Ident	Accession
Bacillus thuringiensis strain WAB2159	1485	1485	100%	0.0	99%	MH169325.1
Bacillus cereus strain FORC60	1485	20729	100%	0.0	99%	CP020383.1
Bacillus pumilus strain CGAPGPBS-051	1485	1485	100%	0.0	99%	KY495223.1
Bacillus subtilis strain CHAPGPBS-076B	1485	1485	100%	0.0	99%	KY495216.1
Microbacterium oxydans strain f	1485	1485	100%	0.0	100%	MG640368.1
Bacillus thuringiensis strain Eca12	1485	1485	100%	0.0	99%	KY952737.1
Bacillus thuringiensis strain Eca10	1485	1485	100%	0.0	99%	KY952735.1

4. Evaluation des effets sublétaux de *Bacillus* sp. H1 (LT547812) sur le développement des chenilles de la pyrale

Les effets sublétaux observés sont le taux du passage du stade L5 au stade chrysalide (nymphose), le taux d'émergence des papillons et la prise alimentaire.

Chez les individus morts suite au traitement, nous avons remarqué un

noircissement du corps et les larves apparaissent momifiées (figure 4). Une déformation est remarquée chez les survivants au niveau de l'abdomen après l'émergence et la sortie des papillons. La culture des cadavres sur une gélose nutritive nous a permis d'obtenir des colonies bactériennes autour des cadavres identiques aux colonies des isolats bactériens utilisés lors du traitement (Forme, diamètre, couleur, opacité, élévation, surface, consistance et odeur).

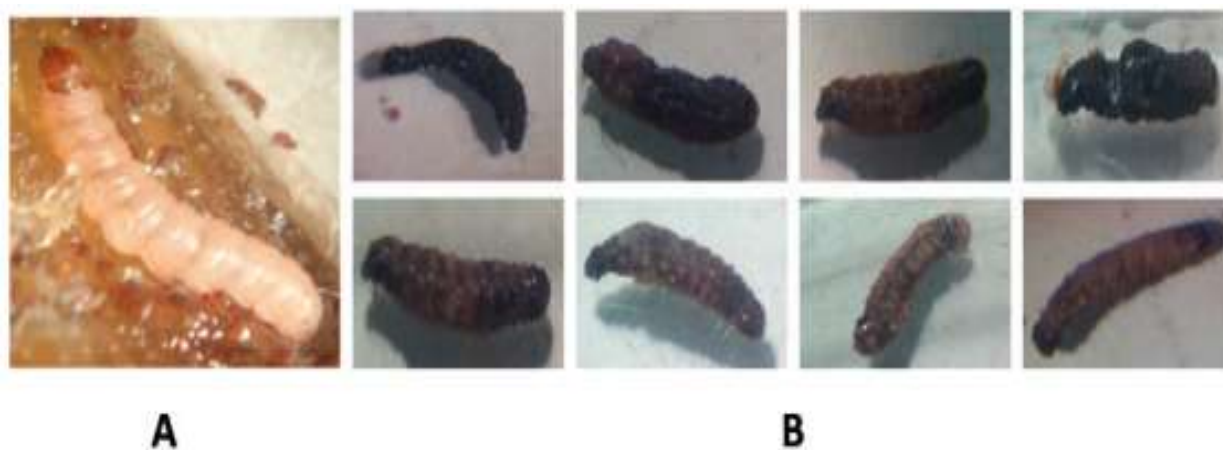


Figure 4. - Symptômes observés chez les laves mortes d'*Ectomyelois ceratoniae* (A : larve saine, B. Larve traitée)

4.1. Effet de *Bacillus* sp. H1 (LT547812) sur l'alimentation

Chez les chenilles de la pyrale, on remarque une nette différence dans la quantité de la nourriture consommée par les témoins et les traitées par les cinq doses appliquées notamment les deux plus fortes (D1= $2,843 \times 10^8$ UFC / ml et D2= $2,029 \times 10^8$ UFC/ ml)) de la bactérie. La quantité ingérée augmente graduellement du 1^{er} au 5^e jour puis elle tend à diminuer et les chenilles s'arrêtent de s'alimenter

beaucoup plus tôt que les témoins (figure 5).

Les 5 dilutions appliquées (D1= $2,843 \times 10^8$ UFC / ml, D2= $2,029 \times 10^8$ UFC/ ml, D3= $1,147 \times 10^8$ UFC/ml, D4= $0,415 \times 10^7$ UFC/ml) et D5= $0,127 \times 10^6$ UFC/ml) induisent la diminution de la quantité d'aliment ingéré comparativement aux témoins (figure 6).

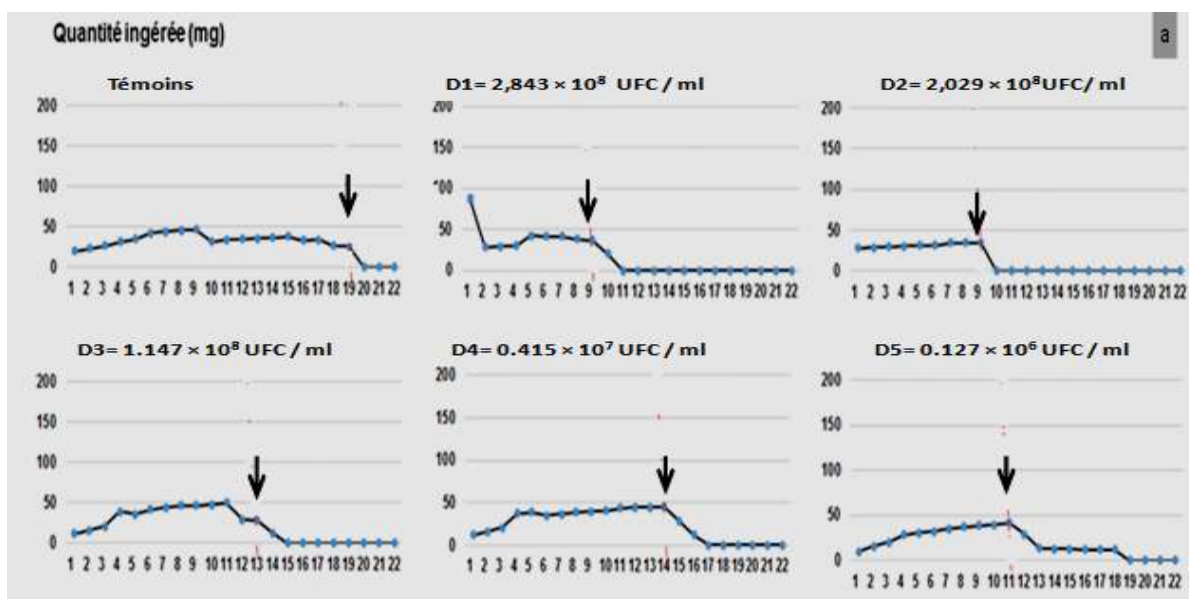


Figure 5. - Variation temporelle de la quantité d'aliment ingéré par les chenilles âgées de la pyrale sous l'effet de l'isolat bactérien étudié (différence non significative pour le facteur sexe (p-value = 0,187) et effet significatif des doses testées par rapport au témoin (p-value = 0,008).

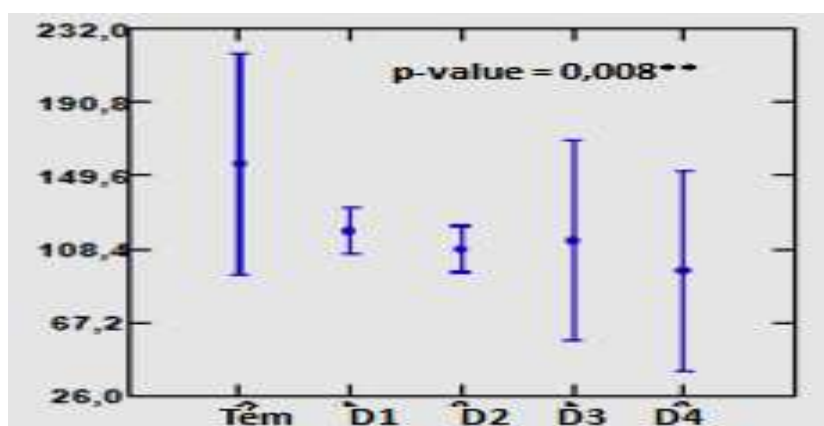


Figure 6. - Boite à moustache indiquant la variation des quantités de nourriture ingérée (en mg) par les chenilles sous l'effet de *Bacillus sp.* H1 (LT547812) (ANOVA, GLM).

4.2 Effet de *Bacillus sp.* H1 (LT547812) sur la nymphose

Nous avons calculé le taux de passage du stade L5 au stade chrysalide par le nombre de chenilles nymphosées sur le nombre total de chenilles de l'essai rapporté à 100 : D'après nos observations,

chez les individus traités, la nymphose commence un peu plutôt que les témoins et cette précocité est en étroite rapport avec la concentration bactérienne appliquée ce qui nous permet d'émettre l'hypothèse d'un état de stress chez les individus traités qui a anticipé leur l'entrée en nymphose (figure 7).

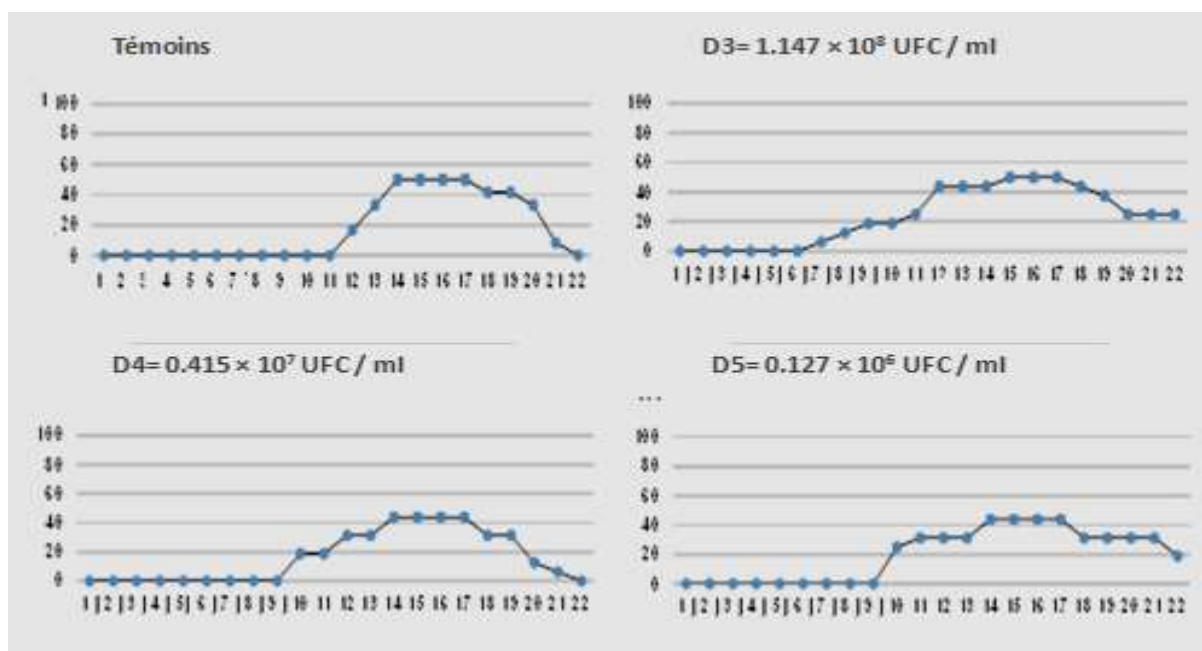


Figure 7. Variations temporelles de l'apparition des chrysalides chez les chenilles de la pyrale. (L'analyse de la variance révèle des différences hautement significatives pour les facteurs temps et les doses testées ($p < 0,01\%$)) et une différence non significative pour le facteur sexe ($p = 0,248$).

4.3 - Effet sur l'émergence des papillons

L'émergence des larves mâles et femelles traités par l'isolat bactérien a été

suivi depuis le début du stade de pupaison étudié se déroule entre le 17^{ème} et le 22^{ème} jour avec un taux d'émergence plus important enregistré (figure 8).

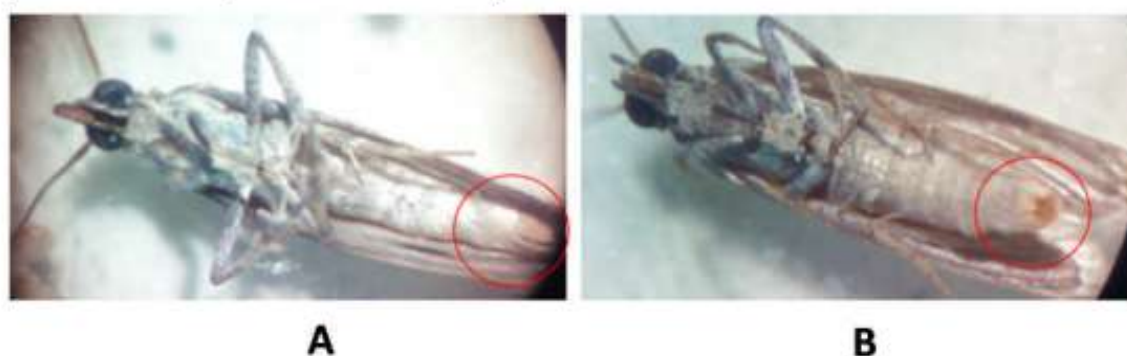


Figure 8. - Mâle (A) et femelle (B) traités par *Bacillus sp.* H1 (LT547812) après l'émergence des larves de la pyrale

En effet, l'émergence des papillons commence chez les témoins entre le 17^e et 19^e jour et il augmente jusqu'au 22^e jour. Sous l'effet des différentes doses de l'isolat bactérien, les adultes provenant

de chenilles traitées commencent à émerger au même temps que les témoins mais le taux d'émergence chez les témoins est plus important que celui des traités notamment chez les mâles (figure 9).

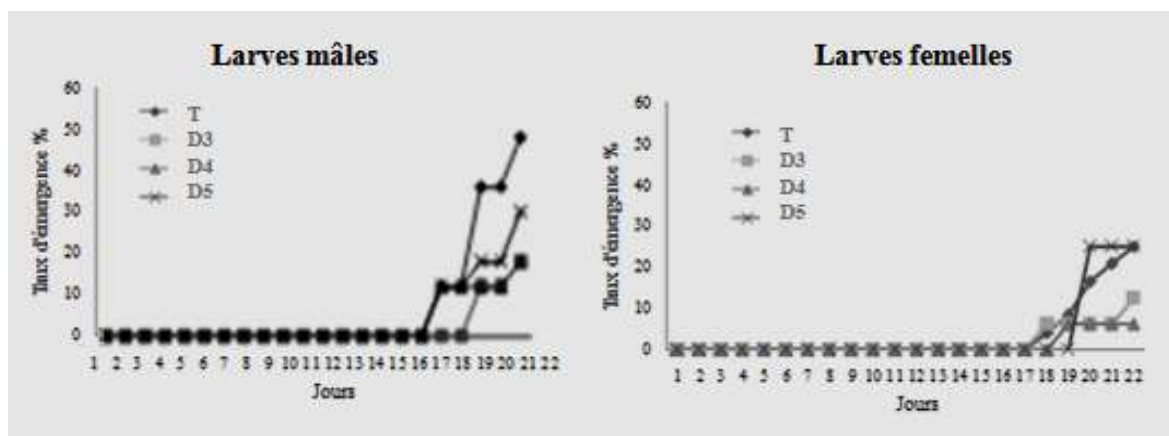


Figure 9. Variation temporelle du taux d'émergence des chenilles mâles et femelles de la pyrale traitée aux doses D3, D4 et D5. Les deux fortes doses (D1 et D2) ont causé la mort de tous les individus avant le stade imaginal. L'analyse de la variance révèle un effet temporel hautement significatif ($p < 1\%$), et une différence marginalement significative ($p = 0,065$) entre les doses.

DISCUSSION

Au cours des dernières années, environ 60 espèces bactériennes entomopathogènes et leurs produits ont été développés comme biopesticides dans le monde. Ces divers agents pathogènes sont utilisés avec succès dans la lutte biologique contre les insectes [21].

En effet, après purification, l'isolat bactérien étudié a été identifié suivant ses caractères phénotypiques et moléculaires par séquençage d'ARN16s, cela, nous a permis de l'affilier au genre *Bacillus* avec un taux de similarité élevé pour l'espèce *Bacillus thuringiensis*. Suite à son enregistrement dans la banque des données EMBL, la souche a été nommée *Bacillus sp. H1* (LT547812).

Outre Bacilli, il existe d'autres bactéries entomopathogènes non-Bacillus tels que *Serratia*, *Photobacterium*, *Xenorhabdus* et *Pseudomonas* [11, 22].

Etant riche en micro-organismes, le sol est un environnement idéal et un réservoir

important pour l'isolement de divers espèces bénéfiques. Parmi ces micro-organismes, les bactéries entomopathogènes et leurs toxines sont les insecticides microbiens les plus performants de point de vue commercial [23].

Le genre *Bacillus* représente un large nombre de micro-organismes communément isolés du sol [24, 25]. Il regroupe un grand nombre d'espèces, la majorité se développant mieux à 30°C jusqu'à 37°C et possédant la propriété d'induire une mortalité chez certaines insectes. Bounoua [26] a pu isoler le genre *Bacillus* à partir des sols rhizosphériques du Nord ouest Algérien à partir d'un milieu agricole. De même Youcef-Ali [27] a mis en évidence la disponibilité de ce *Bacillaceae* au niveau du sol de la palmeraie de Tolga (Biskra, sud est algérien), sol du chott Melghir de la région d'El Mghiere, et de sols à proximité de lac salés à Ain M'lila (hauts plateaux de l'est algérien) ainsi qu'au niveau de sols de rhizosphères de la végétation adjacente

dans les mêmes régions. Les espèces de *Bacillaceae* concernées sont *Bacillus subtilis*, *Bacillus niabensise* et *Bacillus mojavensis*.

Ait Kaki ([28]) a également isolé des souches du genre *Bacillus* de milieux divers de l'est de Algérie, comme l'eau de lac salé d'Ain M'lila, la rhizosphère d'une plante médicinale (*Matricia chamomilla*) située à proximité du lac, l'eau de la source thermale d'Oued El Athmanya et le sol situé à sa proximité ainsi que la rhizosphère d'une plante médicinale *Calendula officinalis*, cultivée en serre dans la région de Sétif. Par ailleurs, Benzina et al., [29] ont isolé des souches bactériennes entomopathogènes du genre *Bacillus* à partir des cadavres de la fausse teigne des ruches *Galleria mellonella*.

La souche *Bacillus sp.* H1 (LT547812) a induit des perturbations d'ordre physiologiques chez la pyrale de la datte. En effet, les chenilles ayant consommé l'aliment traité commencent à entrer en nymphose avant les témoins. Concernant le taux d'émergence une nette différence a été constatée entre les lots de chenilles témoins et les chenilles traitées que se soit chez les mâles ou les femelles. Enfin, l'isolat bactérien identifié, a induit une baisse des ingéras chez les larves traitées comparativement aux témoins. Les femelles semblent être plus affectées que les mâles. Les quantités d'aliments ingérées varient aussi selon les doses appliquées.

Frankanhuyzen et al., [30] et Lacousière & Boisvert [31], ont justifié la nocivité du genre *Bacillus* pour une large gamme des larves de Lépidoptères nuisibles aux arbres fruitiers, aux cultures et aux forêts par l'interaction de leurs toxines avec des récepteurs spécifiques sur les cellules

épithéliales du système digestif, causant la mort de l'insecte suite à la perturbation de la régulation osmotique de ces cellules.

L'utilisation de l'extrait aqueux à une concentration de 15% de *Cleome arabica* plante spontanée du Sahara septentrional, a permis d'obtenir un taux de mortalité de 82.2% au bout de 7 jours sur le premier stade larvaire d'*Ectomyelois ceratoniae* sous conditions contrôlées. Les résultats ont montré que le taux de mortalité augmente en fonction de la concentration de l'extrait et en fonction du temps. Le taux de mortalité le plus important (82,2%) a été obtenu après 7 jours de traitement [32].

En effet, des dattes infestées par la teigne *Ectomyelois ceratoniae*, ont été traitées par la chaleur, ce qui a induit la mort thermique du ravageur sans affecter les paramètres de qualité de la datte [33].

Dans une étude antérieure menée en Iran, l'application de la technique de stérilisation des individus d'*Ectomyelois ceratoniae* par irradiation des mâles et des femelles avec les doses 120 Gy et 160 Gy a permis de contrôler cet espèce [34].

Benzina et al. [29] ont observé des symptômes typiques chez *Galleria mellonella* traités par des bactéries du même genre à savoir des déformations chez les survivants après l'émergence des papillons ainsi que un noircissement et ramollissement du corps juste après la mort dus à la sécrétion de mélanine. En effet, la mélanine est produite par l'enzyme phénoloxydase (PO). L'activité de cette enzyme provoque le dépôt de mélanine autour des bactéries par les hémocytes d'insectes, pour l'envelopper et l'isoler [35].

En ce qui concerne l'effet des bactéries sur les larves de la teigne de la cire *Galleria mellonella*, des résultats très significatifs ont été obtenus avec une mortalité totale au bout de 8 jours après le traitement [12], il est de même pour les laves du criquet

CONCLUSION

Bacillus sp. H1 (LT547812) est une souche bactérienne isolée de la rhizosphère d'un sol céréalier de la région de Boumerdes dans le nord central algérien près du littoral,

L'analyse comparée de l'effet par ingestion de l'isolat bactérien incorporé à l'aliment ingérée par les chenilles a montré une différence significative entre les doses testées et entre les différents temps de suivi avec une différence non significative entre les deux sexes mâles et femelles d'*E. ceratoniae* après traitement. De même, la comparaison des effets de *Bacillus sp.* H1 (LT547812) sur le passage au stade

migrateur *Locusta migratoria* traitées par différentes souches du genre *Bacillus* [11].

Enfin Lambert [36] note que les insectes traités par *B. thuriengiensis*, cessent de s'alimenter en moins de quelques heures et meurent au bout de 2 à 5 jours.

de chrysalide et l'émergence des papillon sa montré un effet très significatif entre les doses testées, le temps de suivi et entre les deux sexes des chenilles.

L'isolat bactérien identifié montre d'après cette étude un effet entomopathogène qui représente une avancée intéressante et reste une réelle perspective dans la lutte contre les insectes en général et la pyrale des dattes en particulier car ce *Bacillaceae* a affecté sensiblement le développement du ravageur. Il est important donc d'approfondir la recherche sur ces bactéries concernant leurs impacts écologique et toxicologique dans les conditions naturelles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

[1] Mesnoua M., Lahmadi S., Tahirine M., Roumani M., Miab W., Zegooerrou R. : Les biotechnologies au service du palmier dattier. Conference: la seconde édition de la rencontre internationale Agrosem 2018, du 09-10 Décembre 2018.

[2] Belguedj M. : Caractéristiques des cultivars de dattier du Sud-est du Sahara Algérien. Vol 2. Ed. INRA ; 2002; Alger.

[3] Mansouri A., Embarek G., Kokkalou., Kefalas P.: Phenolic profile and antioxidant activity of the Algerian ripe date palm fruit (*Phoenix dactylifera*). *Activity of the Food chemistry*; 2004; 89: 411-420.

[4] Makanjuola O.M., Alokun O.A. : Microbial and physicochemical properties of date jam with inclusion of apple and orange fruits Microbial and physicochemical properties of date jam with inclusion of apple and orange fruits. *International Journal of Food Science and Nutrition* ; 2019 ; 4 (3) : pp. 102-106.

[5] Tracanna M.I. et al.: Biological control of *Ectomyeloid ceratoniae* Pest by subextract of *Tibouchinapara tropica* (GRISEB) COGN, Melastomataceae; 2011; 2p.

[6] Abbes K., Zouba A., Harbi A., Ghriissi N., Ksantini M., Chermiti B. : The pomegranate butterfly *Deudorix livia*

(Lepidoptera: Lycaenidae): an emerging pest on dates in Tunisia. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin ; 2019; 0 (0).

[7] Abdelmoutaleb M. : La campagne intensive de vulgarisation (CIV) pour la lutte contre le ver myelois ou la pyrale des dattes dans les wilayas de Biskra et d'El Oued. Revue, Agriculture & développement, communication, vulgarisation ; 2008. Ed INVA, 7-10.

[8] Mohamed W., De Mores G.J., Perring T.M : Mite pests of date palms .In book: Sustainable Pest Management in Date Palm: Current Status and Emerging Challenges. Chapter:, Publisher: Springer, Editors: Waqas Wakil, Jose Romeno Faleiro, Thomas A. Miller. December 2015, DOI: 10.1007/978-3-319-24397-9 12

[9] Bensalah K. et Oukad M.L. : Test for biological control of the moth dates *Apomyelois ceratoniae* zeller, 1839 (Lepidoptera: Pyralidae) by the use of *Phanerotoma flavitestacea* fisher (Hymenoptera: Braconidae) and *Bracon hebetor* say (hymenoptera: braconidae) in controlled conditions *Courrier du Savoir* – N°20, Octobre 2015

[10] Fatni A.: Traitement par la chaleur des dattes. Direction Régionale Phyto-info Meknès-Tafilalet ; 2011; 07 : 2p.

[11] Oulebsir-Mohand Kaci H., Khemili-Talbi S., Benzina F., et Halouane F. : Isolation and Identification of Entomopathogenic Bacteria from Algerian Desert Soil and their Effects against the Migratory

Locust, *Locustamigratoria* (Linnaeus, 1758) (Orthoptera: Acrididae). *Egyptian Journal of Biological Pest Control*; 2015. 25 (3), 739-746.

[12] Oulebsir-Mohandkaci H., Tihar-Benzina F. & Mohammedi A.: Study of Some Biocontrol Bacterial Isolates and Evaluation of Their Antifungal and

Insecticidal Effects. *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*; 2019; 3(2), 332-342. doi: 10.29329/ijjaar.194.18.

[13] J. Mediouni J. and Dhouibi M.H. : Mass-Rearing and Field Performance of Irradiated Carob Moth *Ectomyelois ceratoniae* in Tunisia. M.J.B. Vreysen, A.S. Robinson and J. Hendrichs (eds.), *Area-Wide Control of Insect Pests* ; 2007 ; 265–273.

[14] Karungu S., Huang D., Atoni E., Waruhiu C., Agwanda B., Hu X., & Yuan Z. : Isolation, identification and evaluation of mosquito entomopathogenic *Bacillus* species and related genera from randomly selected sites in Kenya. *AJMR African Journal of Microbiology Research* ; 2018; Vol. 12(12), pp. 290-299, 28 March, 2018 DOI: 10.5897/AJMR2018.8824.

[15] Guiraud J.P. *Microbiologie alimentaire; Application à l'étude des principaux groupes microbiens* ; 2003 ; Ed. Dunod.

[16] De Vos P. et al. : Volume Three. The Firmicutes. In G.M. Garrity (ed), *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*, Second Edition. Springer-Verlag, New York ; 2009; [I] – XXVI, 1-1422.

[17] Ausubel F.M. et al. : *Current Protocols in Molecular Biology*; 1988; Wiley, New York.

[18] Thompson J.D., Higgins D.G., Gibson T.J.: Clustal W : improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Res.*; 1994; 22, 4673-4680.

[19] Saitou N. & Nei M.: The neighbour-joining method: a new method for reconstructing phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* ; 1987; 4(4):406-25.

- [20] Tamura K. et al.: MEGA 5: molecular evolutionary genetics analysis using maximum likelihood, evolutionary distance, and maximum parsimony methods. *Mol Biol.Evol.*; 2011; 28: 2731-2739.
- [21] Betz F. S., Hammond B. G., & Fuchs R. L. : Safety and advantages of *Bacillus thuringiensis* protected plants to control insect pests. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*; 1988; 32(2) : 156–173.
- [22] Boemare N., Tailliez P. : Molecular approaches and techniques for the study of EB. In S. P. Stock et al. (Eds.), *Insect pathogens: Molecular approaches and techniques*, Cambridge, MA: CAB Internatinal; 2009 ; 32–45.
- [23] Bagcioglu M., Zimmermann M.E., J ohler S., Ehling-Schulz M. : Detection and Identification of *Bacillus cereus*, *Bacillus cytotoxicus*, *Bacillus thuringiensis*, *Bacillus mycoides* and *Bacillus weihenstephanensis* via Machine Learning Based FTIR Spectroscopy. *Frontiers in Microbiology* ; 2019 ; 10
DOI: 10.3389/fmicb.2019.00902
- [24] Brossard & Terry. : Bactériologie systématique; 1984; Ed. C.R.D.P; Lyon.
- [25] Liu X., Ren B., Gao H., Liu M., Dai H., Song F., Yu Z., Wang S., Hu J., Kokare C.R., Zhang L. Optimisation for the production of surfactin with a newsynergistic antifungal activity. *PLOS one* ; 2012 ; 7(5).doi: 10.1371/ journal. Pone. 0034430.
- [26] Bounoua M. : Essais d'utilisation des *Pseudomonas* spp. Et *Bacillus* spp. dans le biocontrôle de *Fusarium oxysporum* f.sp. lycopersici sur tomate et *Verticillium dahliae* sur l'olivier. Thèse de magister ; 2007 ; Université d'Oran, Oran (Algérie).
- [27] Youcef- Ali M. : *Etude de l'activité anti-Candida albicans des microorganismes isolés à partir du sol des zones arides*. Thèse de doctorat ; 2014 ; Université de Constantine 1, Constantine (Algérie).
- [28] Ait Kaki A. : Recherche de nouvelles potentialités de bactéries du genre *Bacillus* pour l'agriculture et l'agroalimentaire. Thèse de doctorat ; 2014 ; Université de Constantine 1, Constantine (Algérie).
- [29] Benzina F., Oulebsir-Mohandkaci H., Belaid M., Irnatene H., Mammeri S. : Isolation of entomopathogenic bacteria from larvae of a Lepidopteran specie; *Galleria mellonella* and study of their insecticidal effect. *Agriculture & Forestry- Podgorica*; 2017; 63(4): 59-68.
- [30] Frankanhuyzen R., Milne R., Broussae O., et Masson L., 1992-Comparative toxicity of the HD1 and NRD 12 strains of defoliating forest Lepidoptera *J.invertebr. Pathol.*; 1992; 59, pp: 149-159.
- [31] Lacousière J.O. & Boisvert J. : Le *Bacillus thuriengiensis israelensis* et le contrôle des insectes piqueurs au Québec. Ministère de l'Environnement. Envirodoq no ENV/2004/0278 ; 2004 ; 101p.
- [32] Korichi-Almi A., Bissati-Bouafia S., Bensalah K. et Korichi R. : Effets De L'extrait Aqueux De *Cleome Arabica* Sur Les Larves De Premier Stade d'*Ectomyelois ceratoniae* Zeller (Lepidoptera, Pyralidae). *Revue des BioRessources* ; 2016 ; 6 (262) : 62- 69.
- [33] Zouba A., Jmoui M., Chermiti B., Msetra A., and Bouabidi H. : Hot air treatment for postharvest control of the date moth *Ectomyelois ceratoniae*. *Tunisian Journal of Plant Protection* ; 2013 ; 8: 23-32.
- [34] Zolfagharieh H., Babaii A., Mostafavi H., Tabatabaii H., Fatholahi H. : Evaluation

potential of sterile insect technique in controlling (*Ectomyelois ceratoniae* Zeller) in the garden. *Acta horticulturae* ; 2015 ; 890(1089):183-185.

DOI: 10.17660/ActaHortic.2015.1089.22

[35] Insua JL., Llobet E., Moranta D., Pérez-Gutiérrez C., Tomás A., Garmendia J., Bengoechea JA. : Modeling *Klebsiella pneumoniae* Pathogenesis by Infection of the Wax Moth *Galleria*

mellonella. *Infection and Immunity* ; 2013 ; 10 (81) : 3552–3565.

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