



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET
POPULAIRE



وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

UNIVERSITÉ KASDI MERBAH – OUARGLA
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département : Sciences Biologiques

Mémoire de Fin d'Études
Master Académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

Présenté par :

MlleBOUAZZA Rania

MlleFAKLOU Lamia

Thème :

**Essai de production d'un bioinsecticide microbien (lutte
biologique contre les pucerons)**

Soutenu publiquement le : [18/06/2026]

Les jury :

Président	AZIB Salim	MCA	UKM Ouargla
Examineur	BELDI Nadia	MCA	UKM Ouargla
Encadrant	BOUDARHEM Amel	MCB	UKM Ouargla
Co- Encadrant	KORICHI Raouf	MCA	UKM Ouargla

Année Universitaire :2025/2026

DEDICACES

Nous dédions ce modeste travail à nos chers parents, qui ont toujours été notre source d'amour, de soutien, d'encouragement et de réconfort tout au long de notre parcours académique, ainsi qu'à notre chère famille qui nous a toujours soutenus et fait confiance.

Nous le dédions également à tous nos enseignants qui nous ont accompagnés à travers les différentes étapes de notre formation, du primaire jusqu'à l'université, en reconnaissance de leurs nobles efforts et de leur mission de transmission du savoir et de la connaissance.

Nous dédions enfin ce travail à toutes les personnes qui ont contribué à notre réussite et nous ont soutenus de près ou de loin, ainsi qu'à nos amis et camarades qui ont partagé avec nous cette belle aventure.

À vous tous, nous dédions le fruit de ce modeste travail avec toute notre gratitude et notre affection.



Remerciements

Avant tout, nous remercions Dieu Tout-Puissant de nous avoir accordé la santé, la patience, la force et la persévérance nécessaires pour mener à bien ce travail.

On tien ensuite à exprimer notre profonde gratitude à nos chers parents, qui ont toujours été notre premier soutien et notre pilier tout au long de notre parcours académique. Leur amour, leurs sacrifices, leurs encouragements et leurs prières ont été essentiels pour atteindre cette étape. Qu'ils trouvent ici toute notre reconnaissance et ma gratitude.

Nous adressons nos sincères remerciements à notre promotrice, Mme. BOUDERHEM A., pour avoir accepté d'encadrer ce travail, ainsi que pour ses précieux conseils, sa disponibilité, ses orientations scientifiques et son soutien tout au long de cette étude.

Nous adressons nos sincères remerciements à Mme. BENAÏSSA A. pour son accompagnement au début du parcours d'élaboration de ce mémoire de fin d'études, ainsi que pour les orientations et conseils précieux qu'elle nous a prodigués durant cette période

Nous remercions également, KORICHI R pour son aide, son soutien et ses conseils qui ont contribué à la réalisation de ce travail.

Notre gratitude s'adresse bien entendu aux membres de jury, Mr. AZIB S., pour nous honorer en présidant notre jury et pour sa disponibilité et encouragements, ainsi que Mlle. BELDI N .pour avoir pris la responsabilité d'examiner ce travail et pour sa disponibilité.

Nous remercions également le laboratoire d'analyses médicales Mustafa Ben Boulaïd pour son soutien et sa contribution à la réalisation de ce travail.

Mes remerciements s'adressent aussi à tous mes enseignants qui ont contribué à notre formation universitaire et à l'enrichissement de nos connaissances.

Enfin, je remercie mes frères et sœurs, ainsi que mes amis, qui m'ont soutenue et encouragée durant tout mon parcours, ainsi que toutes les personnes qui ont contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail.



Liste des abréviations

DDT : Dichloro-diphényl-trichloroéthane

GABA : Acide gamma-aminobutyrique, principal

EPA : Américaine de protection de l'environnement

BT : *Bacillus thuringiensis*

PIPs : Plant-Incorporated Protectants

SMPV : Sugarcane Mosaic Virus

PVY : Potato Virus Y

PRSV : Papaya Ringspot Virus

Gn : Gélose nutritive

SB : Sabouraud agar

MPPT : Matière Première Prétraitée

MM : milieu minimal

La barrette API 20 : Analytical Profile Index 20

BN : bouillon nutritif

DO : densité optique

chiA (chiA1/chiA2): Chitinase A (Chitinase A1/A2)

chiB : Chitinase B

chiC : Chitinase C

nagA : N-acetylglucosamine-6-phosphate deacetylase

nagB : Glucosamine-6-phosphate deaminase

nagZ : β -N-acetylglucosaminidase

Liste des figures

Figure 1 Echantillonnage de différents échantillons de sols	25
Figure 2 Processus de déminéralisation des carapaces de crevettes par HCl 1N	27
Figure 3 Processus de déprotéinisation des carapaces de crevettes par NaOH	28
Figure 4 Aspect de la chitine colloïdale obtenue après traitement	29
Figure 5 Consortium bactérien immobilisé sur biochar	34
Figure 6 Préparation et application de traitement	35
Figure 7 Certaines bactéries purifiées (A.B.C.D.E.F.G.H)	38
Figure 8 Certains champignons purifiés	39
Figure 9 Activité chitinase des isolats bactériens et champignons sur milieu gélose à chitine (J: bactéries ; K : champignons).....	40
Figure 10 Observation macroscopique.....	43
Figure 11 Observation microscopique des souches.....	44
Figure 12 laurier-rose (Nerium oleander).....	60
Figure 13 puceron jaune (Aphis nerii)	60
Figure 14 fumagine	61
Figure 15 la précipitation de la chitine avec d'eau distillée glacée	61
Figure 16 loup binoculaire	62
Figure 17 Activité antagoniste.....	62
Figure 18 test API 20.....	63
Figure 19 biochar	63

Liste de tableaux

Tableau 1: Résultat de l'interaction entre les souches bactériennes sélectionnées	42
Tableau 2: Résultat de test biochimique des souches sélectionnées	44
Tableau 3: Effet du traitement microbienne sur la mortalité de puceron après 24 h	46

Table des matières

DEDICACES	II
Remerciements	III
Liste des abréviations.....	IV
Liste des figures.....	V
Liste de tableaux.....	VI
Table des matières.....	VII
Introduction	1
Partie bibliographique	4
CHAPITRE I : Généralités sur les pesticides.....	5
I.1. Définition	6
I.2. Types	7
I.2.1. Fongicides	7
I.2.2. Herbicides.....	7
I.2.3. Insecticides	8
I.3. Classification	8
I.3.1.Pesticides chimiques	8
I.3.2. Pesticides biologiques (Biopesticides)	9
I.3.2.1. Pesticides microbiens.....	9
I.3.2.1.1. Pesticides bactériens	10
I.3.2.1.2. Pesticides fongiques	11
I.3.2.1.3. Pesticides viraux	11
I.3.2.2. Pesticides biochimiques.....	12
I.3.2.3. PIPs (Plant-Incorporated Protectants).....	13
I.3.2.4. Pesticides botaniques.....	13
I.3.2.5. Pesticides d'origine animale (pesticides zooïdes).....	14
I.4. Avantages et inconvénients des biopesticides.....	14
I.4.1. Avantages	14
I.4.2. Inconvénients	15
CHAPITRE II : Généralités sur Les pucerons.....	16
II.1. Définition.....	17
II.2. Caractéristiques générales	17

II.3. Systématique d' <i>Aphis nerii</i>	17
II.4. Cycle biologique du puceron du laurier-rose (<i>Aphis nerii</i>)	18
II.5. Plantes hôtes et dégâts causés par <i>Aphis nerii</i>	18
II.6. Dommages spécifiques du puceron du laurier-rose	18
II.6.1. Miellat et fumagine	19
II.6.2. Transmission des virus phytopathogènes	19
II.7. Contrôle du puceron du laurier-rose	20
II.7.1. Pratiques culturales	20
II.7.2. Méthodes alternatives (lutte biologique)	20
II.7.2.1. Utilisation des organismes naturels antagonistes	20
II.7.2.1.1. Prédateurs	20
II.7.2.1.2. Parasitoïdes	21
II.7.2.1.3. Pathogènes	21
II.7.2.2. Utilisation de pesticides d'origine botanique	21
II.7.3. Lutte chimique	21
Partie expérimentale	23
Chapitre III : Méthodologie	24
III.1. Echantillonnage	25
III.2. Isolement des microorganismes (bactéries et champignons)	26
III.3. Purification	26
III.4. Sélection	26
III.4.1. Extraction de chitine	27
III.4.1.1. Déminéralisation	27
III.4.1.2. Déprotéinisation	28
III.4.1.3. Préparation de la chitine colloïdale	28
III.4.1.4. Préparation du milieu gélose à chitine	29
III.4.2. Re- isolement des micro-organismes chitinolytiques	29
III. 4.3. Interaction entre les souches bactériennes	29
III.5. Pré -Identification des souches sélectionnées	30
III. 5. 1. Etude de caractères morphologiques	30
III. 5. 1. 1. Aspect macroscopique	30
III. 5. 1. 2. Aspect microscopique	31
III.5.2. Analyses biochimiques	31

III.5.2.1. Études des enzymes respiratoires.....	31
III.5.2.1.1. Recherche de catalase.....	31
III.5.2.1.2. Recherche de l'oxydase	31
III.5.2.2. Caractérisation biochimique.....	32
III.6. Conservation	32
III.7. Evaluation de potentiel bio insecticide de consortium bactérien	32
III.7.1. Préparation de l'inoculum bactérien	32
III.7.1.1. Enrichissement.....	32
III.7.1.2. Récupération des cellules	33
III.7.1.3. Immobilisation des cellules bactériennes sur biochar	33
III.8.2. Essai biologique sur le puceron du laurier	34
III.8.2.1. Mise en place des témoins	34
III.8.2.2. Préparation des suspensions microbiennes et application sur les pucerons.....	35
III. 9. Évaluation de l'efficacité des traitements microbiens.....	35
III.9.1. Calcul des taux de mortalité	36
Chapitre IV : Résultats et discussion	37
IV.1. Isolement et purification des souches à partir du sol	38
IV.2. Sélection des souches chitinolytiques	40
IV.3. Interaction entre les souches bactériennes sélectionnées	41
IV.4. Pré-identification des souches sélectionnées.....	43
IV.4.1. Aspect macroscopique	43
IV.4.2. Aspect microscopique.....	43
IV.5. Traitement par des souches sélectionnées	46
Conclusion.....	48
Conclusion.....	49
Références bibliographiques	52
Annexes	59
Résumé	65
Abstract.....	65
:الملخص.....	66

Introduction

L'utilisation des pesticides chimiques de synthèse s'est largement développée dans les pays en développement, notamment dans le cadre des programmes de lutte contre les ravageurs agricoles et les vecteurs de maladies, dans le but d'améliorer la productivité agricole et de protéger les cultures contre les pertes causées par les organismes nuisibles (Le Bars *et al.*, 2022).

Cependant, leur usage excessif a entraîné plusieurs effets néfastes, notamment la résistance des ravageurs, la contamination des eaux, des effets sur la santé humaine, la destruction des ennemis naturels ainsi qu'un impact négatif sur la biodiversité (Pathak *et al.*, 2022).

Face à ces limites, les biopesticides apparaissent aujourd'hui comme une alternative durable et respectueuse de l'environnement (Leng *et al.*, 2011). Des stratégies de lutte biologique et naturelle se sont alors développées, reposant principalement sur l'utilisation d'extraits végétaux, de micro-organismes bénéfiques et de biopesticides d'origine naturelle, considérés comme des méthodes de lutte respectueuses de l'environnement (Meraghni, 2019).

Parmi eux, les biopesticides microbiens occupent une place importante. Ils sont généralement constitués de micro-organismes tels que des bactéries, des champignons et des virus, ainsi que de leurs métabolites, utilisés comme substances actives dans la lutte biologique contre les ravageurs (Deiss, 2025). Ces biopesticides se caractérisent par leur spécificité d'action, leur biodégradabilité, leur faible toxicité vis-à-vis des organismes non ciblés et leur impact environnemental réduit par rapport aux pesticides chimiques conventionnels (Leng *et al.*, 2011).

Les biopesticides microbiens peuvent être classés en deux catégories principales : les microorganismes antagonistes, utilisés contre les agents pathogènes, et les microorganismes entomopathogènes, employés dans la lutte contre les insectes nuisibles (Deiss, 2025).

Plusieurs études ont montré que les microorganismes chitinolytiques producteurs de chitinases possèdent une activité insecticide. Ces enzymes dégradent les structures chitineuses de la membrane péritrophique de l'intestin des larves ainsi que de

l'exosquelette des insectes, entraînant une diminution de l'alimentation et de la croissance, puis la mort de l'insecte (Vélez *et al.*, 2017).

Cette étude vise à isoler et sélectionner des bactéries et des champignons issus de différents échantillons de sol, capables de dégrader la chitine. Les souches les plus performantes ont ensuite été identifiées et évaluées pour leur potentiel de lutte biologique contre les pucerons.

Cette étude comprend quatre parties :

Le premier une synthèse bibliographique composée de deux chapitre :

- Le premier chapitre : une généralité sur les pesticides
- Le deuxième chapitre : une généralité sur les pucerons.

Le deuxième partie expérimentale composée de deux chapitre :

- Le troisième chapitre présente la méthodologie utilisée dans cette étude.
- le quatrième chapitre est consacré aux résultats obtenus ainsi qu'à leur discussion.

Enfin, la conclusion générale de ce travail.

Partie bibliographique

CHAPITRE I :

Généralités sur les pesticides

I.1. Définition

Le terme « pesticide » constitue une appellation générique dérivée des mots latins *caedere* (tuer) qui est à l'origine du suffixe "-cide" et *pestis* signifiant "fléau" (Baldi *et al.*, 2010). Il désigne de manière générale toute substance ou tout mélange de substances destiné à détruire, repousser ou limiter le développement des organismes nuisibles, ou encore à prévenir et réduire les dommages qu'ils peuvent provoquer (Ammar, A. *et al.*, 2024). Ces organismes incluent notamment les insectes, les champignons, les mauvaises herbes ainsi que d'autres animaux ou micro-organismes considérés comme indésirables en raison de leurs impacts négatifs sur l'agriculture et l'hygiène publique (Chaabane, 2020 ; Dahmane, 2022).

Les pesticides englobent également toute substance utilisée pour modifier la croissance d'une plante (contrôleur), provoquer la chute prématurée des feuilles d'un végétal (défoliant) ou agir comme desséchant (déshydratant).

Bien que les pesticides soient généralement des produits chimiques, ils peuvent aussi être fabriqués à partir de matières naturelles, telles que des animaux, des plantes ou des bactéries (Dahmane, 2022).

Les pesticides regroupent ainsi différentes catégories de produits phytopharmaceutiques, tels que les insecticides, herbicides et fongicides utilisés principalement en milieu agricole (Gatignol et Étienne, 2010). Au-delà de leur action de lutte contre les nuisibles, ils peuvent également intervenir dans la régulation de la croissance des plantes, présenter des propriétés défoliantes ou desséchantes, et contribuer à l'amélioration des conditions de stockage et de transport des productions agricoles (Baldi *et al.*, 2010).

Les insecticides sont définis comme des substances d'origine chimique ou biologique utilisées pour contrôler les insectes nuisibles. Cette action de contrôle peut se traduire soit par l'élimination directe de l'insecte, soit par l'inhibition de ses activités jugées destructrices, telles que l'alimentation ou la reproduction (Ware et Whitacre, 2004).

Les pesticides peuvent être formulés sous différentes formes selon leur mode d'application :

- Formes liquides : Solutions, suspensions concentrées, concentrés émulsifiables, microcapsules, aérosols.
- Formes solides : Poudres, granulés, pastilles, appâts, comprimés, poudres mouillables ou solubles.
- Formes gazeuses : Principalement des fumigants, pouvant être utilisés sous forme liquide ou gazeuse (Ammar, A. *et al.*, 2024).

I.2. Types

Il existe principalement trois grandes catégories de pesticides selon la nature des cibles visés : les herbicides, les fongicides, les insecticides :

I.2.1. Fongicides

Les fongicides permettent de combattre la prolifération des maladies des plantes provoquées par des champignons pathogènes (Berkoud, 2019). Les fongicides sont des substances utilisées pour protéger les plantes contre les maladies fongiques, soit en éliminant les champignons, soit en inhibant leur développement. Depuis les années 1970, les fongicides ont connu une évolution importante, avec une attention accrue portée à la protection de l'environnement et à la santé humaine. Ces produits se caractérisent par leur sélectivité, leur biodégradabilité et leur faible toxicité. Parmi cette catégorie figurent les fongicides inhibiteurs de la succinate déshydrogénase (SDHI), qui agissent en bloquant une enzyme clé impliquée dans la respiration cellulaire des champignons (Abdollahdokht *et al.*, 2022).

I.2.2. Herbicides

Les herbicides sont les plus utilisés dans le monde en tonnage et en surface, ils sont

Destinés à éliminer les mauvaises herbes des cultures (Berkoud, 2019).

Les herbicides sont des substances utilisées pour éliminer les mauvaises herbes, c'est-à-dire les plantes indésirables qui entravent la croissance des cultures. Le mode d'action des herbicides correspond aux modifications fonctionnelles ou anatomiques observées chez la plante après exposition à la substance, tandis que le mécanisme d'action explique ces effets au niveau moléculaire (Abdollahdokht *et al.*, 2022).

I.2.3. Insecticides

Les insecticides sont les premiers pesticides utilisés dans le monde, et les plus utilisés en Algérie (Berkoud, 2019).

Les insecticides sont des substances utilisées pour éliminer les insectes indésirables et sont largement employés en agriculture, en médecine et dans l'industrie. Les insecticides agissent principalement sur le système nerveux des insectes en ciblant :

L'acétylcholinestérase (organophosphorés et carbamates), les canaux sodiques voltage-dépendants (pyréthréinoïdes et DDT) (Abdollahdokht *et al.*, 2022).

Certains insecticides sont plus sélectifs et agissent sur la croissance et la reproduction des insectes, tels que :

- Analogues de l'hormone juvénile
- Agonistes de l'ecdysone
- Inhibiteurs de la synthèse de la chitine
- Insecticides modernes, les néonicotinoïdes (ex. imidaclopride)
- Avermectines (agissant sur les canaux chlorure liés au GABA)
- Diamides (ciblant les récepteurs de la ryanodine)
- Spinosynes, d'origine microbienne (Abdollahdokht *et al.*, 2022).

Outre, ces trois grandes familles de pesticides citées ci-dessus, il existe d'autres catégories, telles que : taupicides, acaricides, rodenticides, nématicides, molluscicides, corvicides (Berkoud, 2019).

I.3. Classification

Selon l'origine du pesticide, il est classé en chimique et biologique.

I.3.1. Pesticides chimiques

La classification des insecticides chimiques repose principalement sur leur composition et la nature de leurs substances actives. Selon leur structure chimique, les pesticides sont généralement répartis en quatre grandes catégories : organochlorés, organophosphorés, carbamates et pyréthréinoïdes (Hassaan et El Nemr, 2020).

Les insecticides chimiques tels que les organochlorés, les organophosphorés et les carbamates ont été largement employés pour le contrôle des nuisibles. Cependant, leur utilisation présente plusieurs inconvénients, notamment leur toxicité, leur persistance dans l'environnement, ainsi que leurs effets néfastes sur la santé humaine.

En réponse à ces limites, les biopesticides apparaissent comme une alternative prometteuse, grâce à leur efficacité ciblée, leur spécificité et leur impact environnemental réduit (Hassaan et El Nemr, 2020).

I.3.2. Pesticides biologiques (Biopesticides)

Les biopesticides issus de micro-organismes, de plantes ou d'animaux, sont des agents de lutte contre les ravageurs (Abdollahdokht *et al.*, 2022). Les biopesticides se distinguent particulièrement grâce à leur innocuité relative et leur respect de l'environnement.

De nombreux biopesticides présentent des mécanismes variés tels que l'inhibition de l'alimentation, la perturbation de la reproduction, la déshydratation ou encore l'asphyxie des ravageurs. Selon l'Agence américaine de protection de l'environnement (EPA), les biopesticides sont classés en trois catégories principales : les biopesticides microbiens, les biopesticides biochimiques et les protecteurs incorporés aux plantes soit PIPs (Abdollahdokht *et al.*, 2022).

I.3.2.1. Pesticides microbiens

Cette catégorie regroupe les bactéries, champignons, virus, oomycètes et protozoaires. Leur efficacité repose principalement sur des substances actives produites par les micro-organismes eux-mêmes, plutôt que sur l'organisme entier. Ces molécules exercent une action directe ou indirecte contre les bio-agresseurs (Deravel *et al.*, 2014).

Les pesticides microbiens sont élaborés à partir de micro-organismes tels que les virus, les bactéries, les champignons, les protozoaires et les levures. Leur mode d'action repose généralement sur l'invasion du ravageur par le micro-organisme, soit à travers la cuticule, soit par ingestion au niveau du tube digestif. Une fois à l'intérieur de l'hôte, le pathogène se multiplie, ce qui

conduit à la mort de l'insecte. Les toxines insecticides produites par ces micro-organismes jouent un rôle essentiel dans leur pouvoir pathogène et sont écologiquement sans danger. Les agents microbiens présentent une grande spécificité vis-à-vis des organismes cibles.

La toxine de *Bacillus thuringiensis* peut être particulièrement efficace contre *Aedes aegypti*, alors que la souche *Bacillus sphaericus* agit contre plusieurs insectes (Abdollahdokht *et al.*, 2022).

I.3.2.1.1. Pesticides bactériens

Les pesticides microbiens bactériens utilisent des souches bactériennes ou leurs métabolites. Ils contribuent ainsi à améliorer le rendement et la qualité des cultures grâce à plusieurs mécanismes, notamment l'exclusion compétitive, l'induction des défenses immunitaires et les effets de colonisation. Un exemple typique est celui des toxines cristallines produites par *Bacillus thuringiensis* (Bt).

Les principaux agents bactériens utilisés comme pesticides microbiens comprennent des espèces appartenant aux genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* et *Serratia* (Luan *et al.*, 2025).

Les biopesticides à base de *Bacillus thuringiensis* (Bt) sont les plus largement commercialisés. Il s'agit d'une bactérie à Gram positif qui produit, au cours de sa phase de sporulation, des protéines cristallines appelées delta-endotoxines (toxines Cry). Après ingestion par les insectes, ces protéines sont activées dans l'intestin et provoquent la mort des ravageurs, notamment les lépidoptères, diptères et certaines larves de coléoptères.

D'autres espèces du genre *Bacillus* (comme *B. subtilis*, *B. licheniformis* et *B. amyloliquefaciens*) sont également utilisées en biocontrôle. Elles colonisent les racines des plantes et produisent des composés lipopeptidiques tels que les surfactines, iturines et fengycines.

Certaines bactéries non appartenant au genre *Bacillus*, comme *Pseudomonas chlororaphis*, sont également utilisées. Elles protègent les cultures contre différents champignons phytopathogènes grâce à plusieurs mécanismes : antibiose, compétition pour les nutriments et induction des défenses des plantes (Deravel *et al.*, 2014).

I.3.2.1.2. Pesticides fongiques

Les pesticides microbiens fongiques sont des agents biologiques qui utilisent des champignons (y compris les spores et le mycélium) ou leurs métabolites. Ils sont principalement classés comme insecticides, notamment les champignons entomopathogènes. Certains sont également utilisés pour lutter contre les maladies des plantes, favoriser la croissance végétale, améliorer la qualité du sol et contribuer à la mise en œuvre de la lutte intégrée. Leur mode d'action repose principalement sur l'invasion de l'hôte cible par infection, parasitisme ou production de métabolites toxiques.

Les principaux genres utilisés comme pesticides microbiens fongiques incluent *Metarhizium*, *Beauveria* et *Trichoderma*. En pratique agricole, ces pesticides peuvent être utilisés seuls ou en combinaison avec d'autres types de pesticides, y compris chimiques, dans le cadre de stratégies de lutte intégrée. (Luan *et al.*, 2025).

Certains champignons sont également utilisés comme biopesticides. Par exemple, *Coniothyrium minitans* parasite les sclérotas de *Sclerotinia sclerotiorum*, agent responsable de maladies sur plusieurs cultures. Il agit en dégradant les parois cellulaires du pathogène grâce à des enzymes telles que les chitinases et les glucanases, ainsi que par la production de métabolites antifongiques.

D'autres champignons du genre *Trichoderma* sont largement utilisés en protection des plantes. Ils agissent par compétition, antibiose et production d'enzymes capables de dégrader les parois cellulaires des champignons pathogènes.

Enfin, *Paecilomyces lilacinus* est utilisé contre les nématodes phytoparasites. Il attaque les œufs et les adultes grâce à la production d'enzymes telles que les chitinases et protéases, et peut coloniser les tissus des nématodes pour les détruire progressivement. (Deravel *et al.*, 2014).

I.3.2.1.3. Pesticides viraux

Les pesticides microbiens viraux sont des biopesticides qui agissent en utilisant des virus entomopathogènes pour infecter et éliminer les ravageurs cibles. Actuellement, les baculovirus représentent les agents les plus largement utilisés dans les stratégies de lutte biologique. Ces virus sont des virus à ADN

circulaire double brin (taille du génome : 80 à 180 kb), entourés d'une capsid, qui infectent naturellement les arthropodes, lesquels constituent leurs hôtes exclusifs. Les baculovirus sont subdivisés en deux genres enveloppés, le Nuclear Polyhedrosis Virus (NPV) et le Granulosis Virus (GV), ainsi qu'un groupe de baculovirus non occlus (NOV).

Les pesticides microbiens viraux parasitent les insectes en libérant des particules virales à l'intérieur de leur organisme, perturbant ainsi leurs fonctions physiologiques normales et entraînant leur mort. Ils se caractérisent par une forte spécificité vis-à-vis des organismes cibles, un faible impact environnemental et une bonne persistance, sans induire de résistance chez les ravageurs (Luan *et al.*, 2025).

Les baculovirus (*Baculoviridae*) sont des virus à ADN circulaire double brin, infectant principalement les insectes et leurs larves. Ils sont considérés comme sûrs pour les vertébrés et les plantes, ce qui les rend intéressants pour la lutte biologique.

Ils sont classés selon leur structure en granulovirus et nucléopolyédrovirus (NPV). Ces virus pénètrent dans l'organisme des insectes par ingestion de corps d'inclusion. Une fois dans l'intestin, ces structures se dissolvent sous l'effet du pH alcalin, libérant les particules virales. L'infection se propage ensuite dans les tissus, entraînant la mort de l'insecte et la libération de nouveaux virus dans l'environnement, ce qui permet la contamination d'autres hôtes (Deravel *et al.*, 2014).

I.3.2.2. Pesticides biochimiques

Les pesticides biochimiques sont des substances naturellement présentes dans l'environnement, utilisées pour lutter contre les ravageurs selon des mécanismes non toxiques. Ils interviennent de manière indirecte. Par exemple, ils peuvent perturber les fonctions reproductrices des ravageurs, Parmi ces substances, on retrouve des composés d'origine végétale tels que les terpénoïdes, les alcaloïdes, les composés phénoliques ainsi que d'autres métabolites secondaires. Certaines huiles végétales, comme l'huile de colza, possèdent également des propriétés insecticides. (Abdollahdokht *et al.*, 2022).

I.3.2.3. PIPs (Plant-Incorporated Protectants)

Les PIPs sont des substances de lutte contre les ravageurs, produites directement par les plantes, ainsi que le matériel génétique nécessaire à leur synthèse. Les biopesticides occupent une place de plus en plus importante, à l'échelle mondiale, le marché des biopesticides est estimé à environ 34 milliards de dollars. Les PIPs constituent une catégorie de biopesticides exprimés directement dans les tissus des plantes génétiquement modifiées (OGM), afin de les protéger contre divers ravageurs. Les insectes ravageurs ingèrent ces substances en se nourrissant des tissus végétaux transgéniques. Les protéines Cry ainsi que les acides ribonucléiques double brin (dsRNA) présents dans l'intestin des insectes perturbent leur développement ou provoquent leur mort selon différents mécanismes.

Les protéines Cry interagissent avec des récepteurs spécifiques situés sur les cellules épithéliales de l'intestin moyen des insectes. Elles forment des pores transmembranaires, entraînant la lyse cellulaire et la mort de l'insecte. Les protéines Cry1 sont actives contre les Lépidoptères (comme la pyrale du maïs), tandis que les protéines Cry3 ciblent les Coléoptères. Une nouvelle génération basée sur les molécules d'ARN double brin (dsRNA) qui activent le mécanisme d'interférence par ARN (RNAi) de l'insecte, conduisant à la dégradation de l'ARN messager (ARNm) complémentaire. La dégradation de cet ARNm empêche la synthèse de protéines essentielles chez l'insecte, ce qui entraîne des effets sublétaux, comme un ralentissement de la croissance (Abdollahdokht *et al.*, 2022).

I.3.2.4. Pesticides botaniques

Les pesticides botaniques sont dérivés de différentes parties des plantes ou de leurs principes actifs, et présentent des activités variées telles que l'action insecticide, la stérilisation des ravageurs, le contrôle des mauvaises herbes ainsi que la régulation de la croissance des plantes. Le développement de ces pesticides repose principalement sur l'exploitation des métabolites secondaires des plantes, notamment les flavonoïdes et les alcaloïdes.

Plusieurs espèces végétales à activité ont été étudiées permettant le développement de plusieurs produits botaniques. Exemple : l'azadirachtine,

extraite des feuilles de *Azadirachta indica*. Cette substance agit en inhibant la synthèse et la libération des hormones de mue chez les insectes, perturbe leur développement, leur reproduction et leur alimentation, d'insectes (Leng *et al.*, 2011).

I.3.2.5. Pesticides d'origine animale (pesticides zooïdes)

Les pesticides d'origine animale regroupent différentes substances et organismes issus du règne animal, notamment les toxines animales les hormones d'insectes et les phéromones et les ennemis naturels. Ces agents agissent sur la survie des ravageurs tout en présentant un impact limité, voire nul, sur les organismes non ciblés. Certaines toxines présentent une forte toxicité pour les insectes, L'utilisation des phéromones sexuelles a également été proposée pour la gestion des populations invasives, les ennemis naturels ont été intégrés dans les stratégies de la lutte biologique, certains agents pathogènes et nématodes une efficacité durable contre certains ravageurs (Leng *et al.*, 2011).

I.4. Avantages et inconvénients des biopesticides

I.4.1. Avantages

Les biopesticides présentent de nombreux avantages qui en font une alternative prometteuse aux pesticides chimiques.

- Leur principal atout réside dans leur faible toxicité, leur spécificité élevée vis-à-vis des organismes cibles et leur biodégradabilité rapide, ce qui réduit leur impact sur l'environnement et la santé humaine.
- Certains biopesticides microbiens offrent également des bénéfices supplémentaires, notamment la stimulation de la croissance des plantes et l'amélioration de l'absorption des nutriments.
- Les biopesticides agissent souvent selon plusieurs mécanismes d'action, ce qui limite l'apparition de résistances.
- Certains biopesticides d'origine végétale, comme les pyrèthres, se caractérisent par une action rapide et une faible toxicité pour les mammifères.

Ils présentent une faible persistance dans le sol, ce qui contribue à leur caractère écologique et durable (Deravel *et al.*, 2014).

I.4.2. Inconvénients

- Leur efficacité dépend également des conditions environnementales (température, humidité, etc.),
- L'utilisation des biopesticides doit être envisagée dans une stratégie de lutte intégrée et évaluée sur le long terme (Deravel *et al.*, 2014).

CHAPITRE II :

Généralités sur Les

pucerons

CHAPITRE II- Généralités sur les pucerons

II.1. Définition

Le terme « puceron » désigne tous les Hémiptères appartenant à la superfamille des *Aphidoidea*. On recense plus de 4 000 espèces, principalement dans les régions tempérées, dont environ 250 sont considérées comme des ravageurs (Fraval, 2006).

II.2. Caractéristiques générales

Les pucerons sont de petits insectes à téguments mous, mesurant généralement entre 2 et 4 mm, avec un corps ovale légèrement aplati. Leur corps est divisé en trois parties distinctes : la tête, le thorax et l'abdomen (Bakroune, 2012). Ce groupe se caractérise par des antennes composées de 3 à 6 articles, des ailes avec une nervation réduite, ainsi que des griffes doubles situées à l'extrémité de tarsi bi-articulés.

Une forte variabilité morphologique existe entre les espèces, mais également au sein d'une même espèce. Le corps peut être translucide ou coloré en vert, noir, brun, rose ou jaune. Certaines formes, dites lanigères, possèdent un revêtement cireux blanc ressemblant à du coton (Kies et Kadid, 2020). Les pucerons se nourrissent au détriment de conifères, de plantes composées et de rosacées. La majorité d'entre eux sont spécifiques à une seule espèce végétale, bien que certains présentent une large gamme d'hôtes (polyphagie) (Fraval, 2006).

II.3. Systématique d'*Aphis nerii*

Embranchement : Arthropoda

Classe : Insecta

Ordre : Hemiptera

Sous ordre : Sternorrhyncha

Super-famille : Aphidoidea

Famille : Aphididae

Nom scientifique : *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe, 1841 (Martin, 2017).

II.4. Cycle biologique du puceron du laurier-rose (*Aphis nerii*)

Le puceron du laurier-rose est une espèce principalement parthénogénétique et vivipare, où les femelles donnent naissance à des nymphes identiques sans fécondation. Le développement comprend plusieurs stades nymphaux successifs avant l'apparition de l'adulte. Une femelle peut produire jusqu'à huit nymphes par jour, et le développement complet d'une nymphe dure environ 7 à 10 jours, permettant une multiplication rapide des populations (Döring, 2021).

II.5. Plantes hôtes et dégâts causés par *Aphis nerii*

Le puceron du laurier-rose se développe principalement sur le laurier-rose (*Nerium oleander*) (fig.11 annexes), ainsi que sur la pervenche, toutes deux appartenant à la même famille botanique. Il peut également coloniser l'asclépiade (*Asclepias* spp.) et la plante de cire (*Hoya carnosa*) (McAuslane, 2016).

Cet insecte se nourrit de la sève élaborée du phloème à l'aide de pièces buccales de type piqueur-suceur. Au cours de son alimentation, il rejette un excès de suc sous forme de miellat, une substance sucrée et collante. Ce miellat favorise le développement de champignons noirs appelés fumagine, qui recouvrent les surfaces végétales et altèrent l'aspect de la plante.

En cas de forte infestation, la plante peut présenter un affaiblissement général, accompagné d'un ralentissement de la croissance et de déformations des organes végétatifs (Baker, 2019).

II.6. Dommages spécifiques du puceron du laurier-rose

Le puceron du laurier-rose se nourrit principalement des jeunes pousses et des zones apicales, ainsi que des nervures foliaires riches en sève. Cette activité provoque divers symptômes tels que le jaunissement, la chlorose, l'avortement des fleurs, la déformation des fruits et un ralentissement de la croissance des plantes. Il excrète également du miellat, un liquide sucré favorisant le développement de la fumagine, une moisissure noirâtre qui recouvre les feuilles et réduit la photosynthèse. En outre, *Aphis nerii* peut transmettre certains virus

phytopathogènes, notamment le virus de la mosaïque de la canne à sucre (SMPV) et le virus des taches en anneaux du papayer (PRSV) (Blackman et Eastop, 2000).

II.6.1. Miellat et fumagine

Les excès de sève non assimilés, riches en sucres, sont rejetés sous forme de miellat à la surface des plantes. Cette substance perturbe l'activité photosynthétique soit en obstruant les stomates, soit en favorisant le développement de champignons saprophytes responsables de la fumagine (**fig.14 annexes**). Cette dernière limite la respiration et l'assimilation chlorophyllienne, et peut également altérer la qualité des parties consommables, les rendant impropres à la commercialisation (Bakroune, 2012).

II.6.2. Transmission des virus phytopathogènes

Les pucerons jouent un rôle essentiel dans la dissémination des virus des plantes. En se déplaçant entre différents hôtes, ils assurent des contacts indirects entre végétaux immobiles, facilitant ainsi la propagation des agents viraux incapables de se déplacer par eux-mêmes.

De nombreuses espèces de virus utilisent les pucerons comme vecteurs. Il existe ainsi des milliers d'associations entre virus, plantes hôtes et espèces de pucerons. Certaines espèces virales peuvent être transmises par un grand nombre de vecteurs, comme le virus Y de la pomme de terre (PVY), transmissible par plus de 70 espèces de pucerons. Inversement, une même espèce de puceron peut transmettre plusieurs virus, tel que le puceron vert du pêcher, capable de transmettre plus de 20 virus différents. Le développement des maladies virales dépend de plusieurs facteurs, notamment la gamme d'hôtes du virus, la diversité de ses vecteurs et les interactions entre plantes et insectes (Gadhane et al., 2020).

L'acquisition du virus par le puceron lors de son alimentation sur une plante infectée peut durer de quelques minutes à quelques heures, selon la répartition du virus dans les tissus végétaux. Après cette phase, une période de latence est observée durant laquelle l'insecte n'est pas encore infectant. Cette phase correspond au temps nécessaire à l'accumulation du virus dans les glandes salivaires, d'où il pourra ensuite être transmis à une nouvelle plante. La durée de cette phase dépend directement du cycle de multiplication du virus dans l'insecte (Kies et Kadid, 2020).

II.7. Contrôle du puceron du laurier-rose

La gestion de ce ravageur repose sur une approche de lutte intégrée combinant plusieurs méthodes.

II.7.1. Pratiques culturales

- rotation des cultures avec des plantes non hôtes ;
- désherbage des Asclépiadacées sauvages ;
- installation de haies pour limiter la migration des formes ailées ;
- irrigation par aspersion ;
- élimination des plants fortement infestés avant arrachage ;
- destruction des résidus de culture après récolte (FAO, 2011).

II.7.2. Méthodes alternatives (lutte biologique)

La nature dispose de nombreux ennemis naturels des pucerons, notamment les coccinelles, les syrphes et les parasitoïdes. Ces organismes contribuent à réduire naturellement les populations.

Les parasitoïdes pondent leurs œufs dans le corps des pucerons, où la larve se développe jusqu'à la formation d'un puceron momifié d'où émergera l'adulte (Heimpel et Mills, 2017).

II.7.2.1. Utilisation des organismes naturels antagonistes

La régulation naturelle des populations de pucerons repose principalement sur les insectes entomophages, bien que les arachnides puissent également jouer un rôle important. On distingue plusieurs groupes de prédateurs et d'auxiliaires.

II.7.2.1.1. Prédateurs

Les prédateurs sont des organismes qui capturent et consomment plusieurs proies au cours de leur vie. Ils appartiennent à divers groupes et présentent souvent une faible spécificité (Bakroune, 2012).

Plusieurs prédateurs du puceron du laurier-rose ont été recensés, notamment cinq espèces de coccinelles. Parmi elles, *Coelophora inaequalis* (coccinelle variable) et *Apolinus lividigaster* (coccinelle à épaules jaunes) sont spécialisées dans la consommation des pucerons. En outre, certaines espèces de chrysopes ont également été observées se nourrissant de ces pucerons. D'autres ennemis naturels potentiels

incluent les larves de syrphes (Diptera : Syrphidae), divers insectes prédateurs ainsi que des araignées (Martin, 2017).

II.7.2.1.2. Parasitoïdes

Les parasitoïdes des pucerons sont principalement représentés par la sous-famille des *Aphidiinae* (Hymenoptera : *Braconidae*) ainsi que par le genre *Aphelinus* (Hymenoptera : *Aphelinidae*). Ces insectes déposent leurs œufs à l'intérieur du corps des pucerons, qu'il s'agisse de larves ou d'adultes, et le développement de leurs larves entraîne la destruction de l'hôte. Suite au parasitisme, le puceron se gonfle progressivement et se transforme en une « momie » de couleur brunâtre. Après une période d'environ dix jours, l'adulte parasitoïde émerge en perforant la cuticule du puceron momifié (Abismail, 2018).

II.7.2.1.3. Pathogènes

Les insectes, y compris les pucerons, sont sensibles à divers microorganismes tels que les champignons, bactéries et virus). Les champignons entomopathogènes, notamment les entomophthorales, jouent un rôle majeur dans la régulation des populations de pucerons. Ils appartiennent aux Zygomycètes et agissent en libérant des toxines qui entraînent la mort de l'insecte. Le mycélium envahit ensuite le corps du puceron, provoquant sa transformation en « momie ». Ces champignons constituent la principale cause de mortalité naturelle des colonies de pucerons et affectent plusieurs paramètres biologiques tels que la survie, le développement, la fécondité et l'alimentation de l'insecte (Kies *et al.*, 2020).

II.7.2.2. Utilisation de pesticides d'origine botanique

Plus de 59 familles et 188 genres de plantes sont utilisés sous différentes formes (poudres, huiles essentielles, extraits, etc.) pour lutter contre les ravageurs. Ces plantes possèdent des composés actifs aux propriétés insecticides, répulsives ou antimicrobiennes, et peuvent également induire des mécanismes de défense chez la plante hôte (Kies *et al.*, 2020).

II.7.3. Lutte chimique

En cas de fortes infestations, l'utilisation de pesticides homologués peut être envisagée. Les matières actives couramment utilisées incluent l'acétamipride, le

chlorpyrifos-éthyl, la lambda-cyhalothrine et le thiaméthoxam. Leur utilisation doit toutefois rester raisonnée afin de limiter les impacts environnementaux. D'autres méthodes incluent l'utilisation de produits à base de neem et l'application d'eau savonneuse (Nicholls, Altieri et Vázquez, 2017).

Partie expérimentale

Chapitre III :

Méthodologie

Cette étude vise à isoler et sélectionner des bactéries et des champignons issus de différents échantillons de sols, capables de dégrader la chitine. Les souches les plus performantes ont ensuite été identifiées et évaluées pour leur potentiel biologique contre les pucerons.

Les travaux expérimentaux ont été réalisés au laboratoire de (microbiologie) , au sein de l'Université de faculté SNV à l'université Kasdi Merbah Ouargla. L'étude a été menée durant la période allant de (03/2026) à (05/2026). dans le cadre de la recherche d'alternatives écologiques aux pesticides chimiques.

III : Méthodologie

III.1. Echantillonnage

Les échantillons de sol destinés à l'isolement des bactéries et des champignons telluriques ont été collectés dans différentes zones de la wilaya de Ouargla (Hassi Ben Abdellah ; N'Goussa ; Aïn El Beïda ; Exploitation de l'ITAS) afin d'obtenir une diversité microbienne représentative. Les prélèvements ont été effectués de manière aléatoire à l'aide d'outils stériles. Les échantillons ont été prélevés à une profondeur comprise entre 15 et 20 cm, (fig.1), après élimination de la couche superficielle du sol, afin de limiter les contaminations externes. Chaque échantillon a ensuite été placé dans un flacon stérile, soigneusement étiqueté puis transporté au laboratoire pour la réalisation des analyses microbiologiques.



Figure 1 Echantillonnage de différents échantillons de sols

III.2. Isolement des microorganismes (bactéries et champignons)

Les différents échantillons de sols ont été homogénéisés d'obtenir un échantillon composite représentatif. Dix grammes (10 g) de ce mélange ont ensuite été prélevés aseptiquement et introduits dans un flacon stérile contenant 90 ml d'eau physiologique stérile.

Le mélange a été homogénéisé par agitation manuelle douce pendant 5 minutes afin d'obtenir une suspension mère correspondant à la dilution 10^{-1} . À partir de cette suspension, des dilutions décimales successives ont été réalisées en transférant 1 ml de la dilution précédente dans un tube contenant 9 ml d'eau physiologique stérile, permettant ainsi d'obtenir les dilutions 10^{-2} , 10^{-3} jusqu'à 10^{-5} .

Pour l'isolement des microorganismes, 0,1 ml de chaque dilution a été étalé en surface sur des boîtes de Pétri contenant de la gélose nutritive (GN) préalablement solidifiée pour les bactéries, et sur des boîtes contenant le milieu Sabouraud (SB) pour les champignons. L'ensemencement a été réalisé près du bec Bunsen en conditions aseptiques. Les boîtes ensemencées sur gélose nutritive ont été incubées à 30 °C pendant 48 heures, tandis que celles contenant le milieu Sabouraud ont été incubées à 30 °C pendant 3 à 5 jours.

III.3. Purification

Les colonies bactériennes et fongiques sélectionnées ont été isolées par des repiquages successifs sur les mêmes milieux d'isolement et les mêmes conditions d'incubation. Cette étape de purification a été répétée jusqu'à l'obtention de cultures homogènes et exemptes de toute contamination, destinées aux analyses ultérieures.

III.4. Sélection

Dans le cadre de l'étape de sélection, deux critères ont été évalués. Le premier consistait à rechercher des bactéries présentant une activité chitinolytique significative. Le second visait à vérifier la compatibilité entre les souches sélectionnées en évaluant l'existence d'interactions positives entre elles, afin de favoriser leur utilisation conjointe dans un consortium microbien.

III.4.1. Extraction de chitine

L'extraction de la chitine à partir des carapaces de crevettes a été réalisée selon deux étapes principales : la déminéralisation et la déprotéinisation (Fritel, 2023).

Avant l'extraction, la matière première est d'abord lavée afin d'éliminer les impuretés, puis séchée et broyée pour obtenir une poudre fine (Santos *et al.*, 2020).

III.4.1.1. Déminéralisation

Une solution d'acide chlorhydrique (HCl 1N) a été ajoutée la matière première prétraitée (MPPT) selon un rapport solide/solvant de 1/10 (p/v), (Fritel, 2023). Le mélange a ensuite été maintenu sous agitation à température ambiante pendant une durée variant entre 30 et 60 minutes (fig.02).

Après traitement, le mélange a été filtré à l'aide d'un papier filtre Whatman n°1, puis lavé plusieurs fois à l'eau distillée. Par la suite, la valeur du pH =7 a été mesurée. Enfin, le produit obtenu a été séché à l'étuve à 80 °C pendant 2 heures.

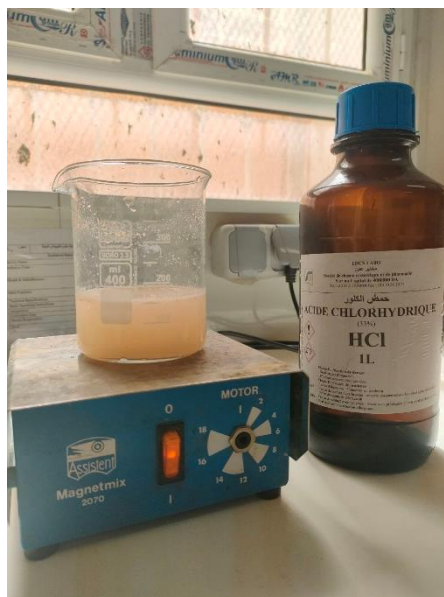


Figure 2 Processus de déminéralisation des carapaces de crevettes par HCl 1N

III.4.1.2. Déprotéinisation

La chitine brute obtenue à l'étape précédente a été traitée par une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) en masse dans un rapport 1/10(p/v) (Fritel, 2023). Le mélange a été maintenu sous agitation pendant une heure à une température de 60 °C afin d'éliminer les protéines présentes dans les carapaces (fig. 3).

Après traitement, le milieu a été filtré puis le résidu a été lavé plusieurs fois à l'eau distillée jusqu'à obtention d'un pH neutre. Après séchage à température ambiante, une chitine déprotéinée a été obtenue (Lassal, 2014).



Figure 3 Processus de déprotéinisation des carapaces de crevettes par NaOH

III.4.1.3. Préparation de la chitine colloïdale

Dix grammes (10 g) de poudre de chitine ont été dissous progressivement dans 100 mL d'acide chlorhydrique (37%) concentré sous agitation continue pendant 60 min à température ambiante. La solution obtenue a ensuite été versée lentement dans 1 L d'eau distillée glacée sous forte agitation afin de provoquer la précipitation de la chitine. La suspension a été incubée à 4 °C pendant une nuit pour favoriser la formation de la chitine colloïdale. Après décantation, le surnageant a été éliminé et le précipité a été lavé plusieurs fois à l'eau distillée par centrifugation ou filtration

jusqu'à l'obtention d'un pH d'environ 7. La pâte de chitine colloïdale obtenue a été conservée dans un récipient hermétique à 4 °C jusqu'à son utilisation (fig. 4).



Figure 4 Aspect de la chitine colloïdale obtenue après traitement

III.4.1.4. Préparation du milieu gélose à chitine

Le milieu minimal (MM), (**Annexes 1**) a été préparé sous agitation magnétique. Après dissolution complète des constituants, l'agar-agar a été ajouté, puis le milieu a été chauffé jusqu'à dissolution totale. La poudre de chitine a ensuite été incorporée progressivement sous agitation continue afin d'obtenir un milieu homogène. Ce milieu a été conçu pour utiliser la chitine comme unique source de carbone, permettant ainsi la sélection et le criblage des microorganismes capables de produire des enzymes chitinolytiques (Nampally *et al.*, 2015).

III.4.2. Re- isolement des micro-organismes chitinolytiques

Les colonies purifiées ont été ensemencées sur un milieu gélosé contenant de la chitine afin de sélectionner les souches présentant une activité chitinolytique. Les boîtes de Pétri ont ensuite été incubées à 30 °C pendant 48 heures (bactéries) et 3 à 5 jours (champignons), puis examinées pour détecter la présence de zones de clarification autour des colonies, témoignant de la dégradation de la chitine.

III. 4.3. Interaction entre les souches bactériennes

La compatibilité entre les souches bactériennes sélectionnées a été évaluée par culture conjointe sur la même boîte. Une souche bactérienne a été étalée à la surface

de la gélose nutritive (GN), tandis que les autres souches a été inoculée séparément sur le même milieu afin d'observer les interactions entre les deux micro-organismes. Les boîtes ont été incubées à deux températures, 30 °C, pendant une durée variant de 2 jours.

La compatibilité a été déterminée en fonction de l'absence ou de la présence d'une zone d'inhibition entre les colonies bactériennes et fongiques. L'absence d'antagonisme traduisait une bonne compatibilité entre les souches testées.

- Les souches ne présentant aucune zone d'inhibition ont été considérées compatibles
- Les souches bactériennes ne présentant aucune zone d'inhibition et montrant une croissance simultanée sur le même milieu ont été considérées comme compatibles. Cette compatibilité traduit l'absence d'effet antagoniste entre les micro-organismes testés et indique leur aptitude à se développer conjointement.

III.5.Pré -Identification des souches sélectionnées

L'identification des souches isolées est réalisée en se basant sur les études morphologique et biochimique.

III. 5. 1. Etude de caractères morphologiques

III. 5. 1. 1. Aspect macroscopique

L'observation de l'aspect macroscopique des colonies permet d'effectuer une première

Caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification.

D'après Joffin et Leyral (2006), les éléments d'identifications macroscopiques

Sont :

- **La forme des colonies** : rondes, irrégulières,etc.
- **La taille des colonies par la mesure du diamètre** : ponctiformes ou non ponctiformes.
- **La chronogénèse** : couleur de la colonie.
- **L'élévation** : convexe, concave, plate.
- **L'opacité** : opaque, translucide ou transparente.

- **La surface** : lisse, rugueuse, sèche, dentelée, etc.

III. 5. 1. 2. Aspect microscopique

✓ Coloration de Gram

C'est une double coloration qui nous permet de connaître la forme, l'arrangement, la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées. Cette coloration est réalisée systématiquement sur les différentes colonies purifiées pour préciser le caractère Gram+ ou Gram-. Avec cette coloration double, les bactéries Gram positive apparaissent en violet foncé tandis que les bactéries Gram négatives sont colorées en rose ou en rouge (Vijayakumar *et al.*, 2023).

III.5.2. Analyses biochimiques

Les épreuves biochimiques permettent en général de distinguer les espèces, même étroitement apparentées entre elles. Cette approche nous oriente sur le métabolisme suivi par les bactéries et les enzymes qu'elles possèdent. Certains tests ont été réalisés en utilisant la galerie API 20^E.

III.5.2.1. Études des enzymes respiratoires

III.5.2.1.1. Recherche de catalase

Ce test a pour but de détecter la présence de l'enzyme catalase. Cette enzyme catalyse la décomposition du peroxyde d'hydrogène pour libérer du gaz oxygène libre et former de l'eau. Des isolats bactériens sont déposés sur une lame de verre, puis quelques gouttes de peroxyde d'hydrogène à 3 % (préparé fraîchement) sont ajoutées et bien étalées. La formation de bulles gazeuses indique la présence de cette enzyme (Ifeoma *et al.*, 2024).

III.5.2.1.2. Recherche de l'oxydase

Le test de l'oxydase est une méthode qualitative utilisée pour détecter la présence ou l'absence de l'activité cytochrome c oxydase chez les bactéries. Cette activité repose sur un système intracellulaire de cytochrome oxydase, qui catalyse l'oxydation du cytochrome c par l'oxygène moléculaire, lequel agit alors comme

accepteur final d'électrons dans la chaîne de transport d'électrons de l'organisme. Les bactéries possédant du cytochrome c dans leur chaîne respiratoire donnent un résultat positif au test, entraînant la coloration violette du réactif. À l'inverse, les bactéries dépourvues de cytochrome c ne parviennent pas à oxyder le réactif, qui reste incolore durant le temps imparti pour le test, indiquant ainsi un résultat négatif (Bectonet *al.*, 2001).

III.5.2.2. Caractérisation biochimique

Les analyses biochimiques est une étape essentielle dans l'identification et la différenciation des microorganismes, en s'appuyant sur l'analyse de leurs activités métaboliques spécifiques.

La barrette API 20 E est composée de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Ces tests sont ensemencés avec une suspension bactérienne qui reconstitue le milieu.

Pendant l'incubation, le métabolisme produit des changements de couleur spontanés ou révélés par l'ajout de réactifs. Les réactions sont lues selon le tableau de lecture et l'identification est obtenue en consultant l'index du profil analytique ou à l'aide du logiciel d'identification Selon Aryal (2022), la galerie API 20E est un système standardisé permettant l'identification des bactéries à partir de réactions biochimiques (**fig.18 annexes**).

III.6.Conservation

Les souches bactériennes sont cultivées dans des tubes contenant un milieu BN additionné de glycérol (20%). Après croissance à 30°C, elles sont conservées au congélateur.

III.7. Evaluation de potentiel bio insecticide de consortium bactérien

III.7.1. Préparation de l'inoculum bactérien

III.7.1.1. Enrichissement

Les souches bactériennes sélectionnées ont été inoculées séparément dans des tubes à essai contenant 15 ml de bouillon nutritif (BN) stérile. Parallèlement, un consortium bactérien composé des trois souches a été préparé et cultivé dans les mêmes conditions. L'inoculum a été préparé à partir de colonies fraîches prélevées sur cultures jeunes.

Les cultures ont ensuite été incubées à 30 °C dans un incubateur à agitation continue (100tr/: min), pendant une durée de 3 jours. Cette condition d'agitation a permis une aération homogène du milieu et une meilleure dispersion des cellules bactériennes, favorisant ainsi leur développement et leur multiplication.

III.7.1.2. Récupération des cellules

Après incubation, les cultures bactériennes individuelles ainsi que la culture du consortium ont été centrifugées à 4000 rpm pendant 15 min à 4 °C afin de récupérer les cellules bactériennes.

Le surnageant a été éliminé, puis le culot obtenu a été lavé avec une solution de sérum physiologique stérile afin d'éliminer les résidus du milieu de culture. L'étape de lavage a été réalisée dans des conditions aseptiques, et les cellules ont été recentrifugées dans les mêmes conditions pour obtenir une suspension bactérienne propre, prête pour les étapes expérimentales ultérieures.

Après l'étape de lavage des cellules bactériennes, la densité optique (DO) de la suspension obtenue a été mesurée afin d'estimer la concentration cellulaire. Cette mesure a été réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre, en utilisant une longueur d'onde appropriée (généralement 600 nm pour les suspensions bactériennes).

III.7.1.3. Immobilisation des cellules bactériennes sur biochar

Les cellules bactériennes récupérées à partir des cultures préalablement développées ont été mises en suspension dans de l'eau physiologique stérile afin d'obtenir une suspension bactérienne homogène. Par la suite, 1 g de biochar stérilisé a été ajouté à cette suspension (annexes .18). Le mélange a été placé sous agitation continue à température ambiante pendant 24 heures afin de favoriser le contact entre les cellules bactériennes et les particules de biochar. Cette étape a pour objectif de permettre l'adhésion et l'immobilisation des bactéries à la surface du biochar grâce aux interactions physicochimiques entre les cellules microbiennes et le matériau support (fig. 5).



Figure 5 Consortium bactérien immobilisé sur biochar

III.8.2. Essai biologique sur le puceron du laurier

III.8.2.1. Mise en place des témoins

Afin de garantir la fiabilité du test biologique, deux types de témoins ont été mis en place avant l'application des traitements microbiens sur les pucerons. Chaque lot contenait 30 individus afin de limiter l'influence de la densité des insectes sur leur comportement et leur survie.

Le premier lot représentait le témoin absolu, constitué de feuilles de laurier-rose portant des pucerons sans aucune intervention ni traitement. Ce témoin avait pour objectif de vérifier l'état sanitaire initial des insectes et la qualité de l'échantillon.

Le second lot correspondait au témoin placebo, dans lequel les feuilles ont été pulvérisées uniquement avec de l'eau distillée. Ce témoin permettait d'évaluer l'effet éventuel de la manipulation et de la pulvérisation sur la mortalité des pucerons.

Les différents lots témoins ont été réalisés avec le même nombre de répétitions et placés dans les mêmes conditions expérimentales. Le suivi des pucerons a été effectué pendant 24 heures après l'application des traitements, en enregistrant

chaque jour le nombre d'individus vivants et morts afin d'évaluer la mortalité naturelle avant l'application des traitements microbiens.

III.8.2.2. Préparation des suspensions microbiennes et application sur les pucerons

Après la sélection de trois souches bactériennes capables de dégrader la chitine et compatibles entre elles, les suspensions bactériennes correspondantes ont été utilisées pour évaluer leur activité biopesticide contre le puceron *Aphis nerii*. Pour chaque traitement, 33 individus d'*Aphis nerii* ont été placés sur des feuilles de laurier-rose. Ces suspensions ont été utilisées pour évaluer l'activité biopesticide contre le puceron *Aphis nerii*, en testant chaque souche individuellement par pulvérisation.

Par la suite, un consortium bactérien composé des souches a été préparé et appliqué sur les pucerons afin d'étudier l'effet de leur association. Un consortium bactérien immobilisé sur biochar (Consortium + Biochar) a également été testé afin d'évaluer l'influence du biochar sur l'efficacité du traitement biologique.

Après application des différents traitements, les pucerons ont été observés pendant 24 heures. Le nombre d'individus vivants et morts a été enregistré afin d'évaluer l'efficacité des différentes modalités testées (fig. 6).

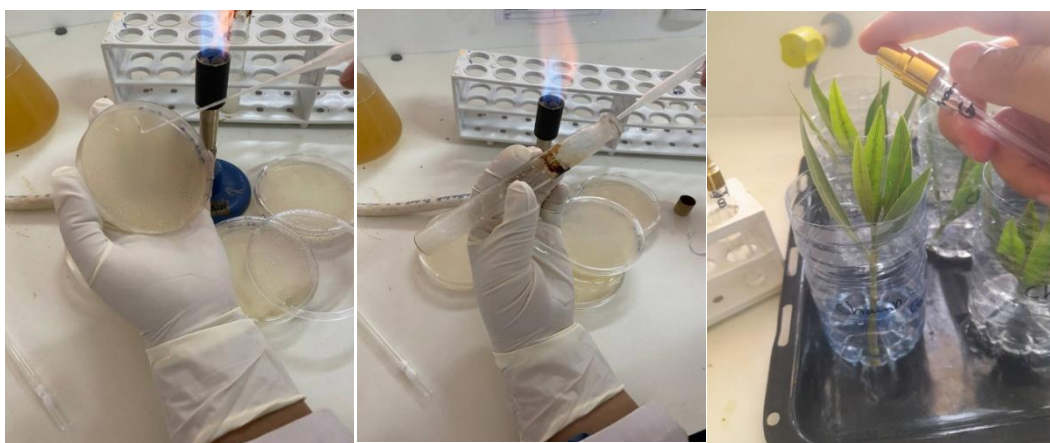


Figure 6 Préparation et application de traitement

III. 9. Évaluation de l'efficacité des traitements microbiens

L'efficacité des isolats bactériens testés contre le puceron *Aphis nerii* a été évaluée sur la base des taux de mortalité enregistrés après traitement. L'expérience a

été réalisée sur des lots traités ainsi que sur un lot témoin (Témoin), afin d'étudier l'effet des isolats bactériens. Le nombre d'individus morts a été relevé 24 heures après l'application des traitements. Les données obtenues ont permis de comparer l'effet des différents isolats bactériens et des traitements testés sur le taux de mortalité des pucerons.

III.9.1. Calcul des taux de mortalité

- **Mortalité observée (%)**

Le pourcentage de mortalité observée est calculé selon la formule suivante : (Baba-Aissa *et al.*, 2021)

$$MO(\%) = \frac{\text{Nombre d'individus morts}}{\text{Nombre total d'individus}} \times 100$$

Chapitre IV : Résultats et discussion

IV. Résultats et discussion

IV.1. Isolement et purification des souches à partir du sol

Les résultats ont révélé une diversité microbienne importante dans les échantillons de sol, avec la présence de plus de 15 types (9 bactéries et 6 champignons), ce qui témoigne de la richesse microbiologique et de la diversité des microorganismes présents dans ce milieu (fig. 7, 8).

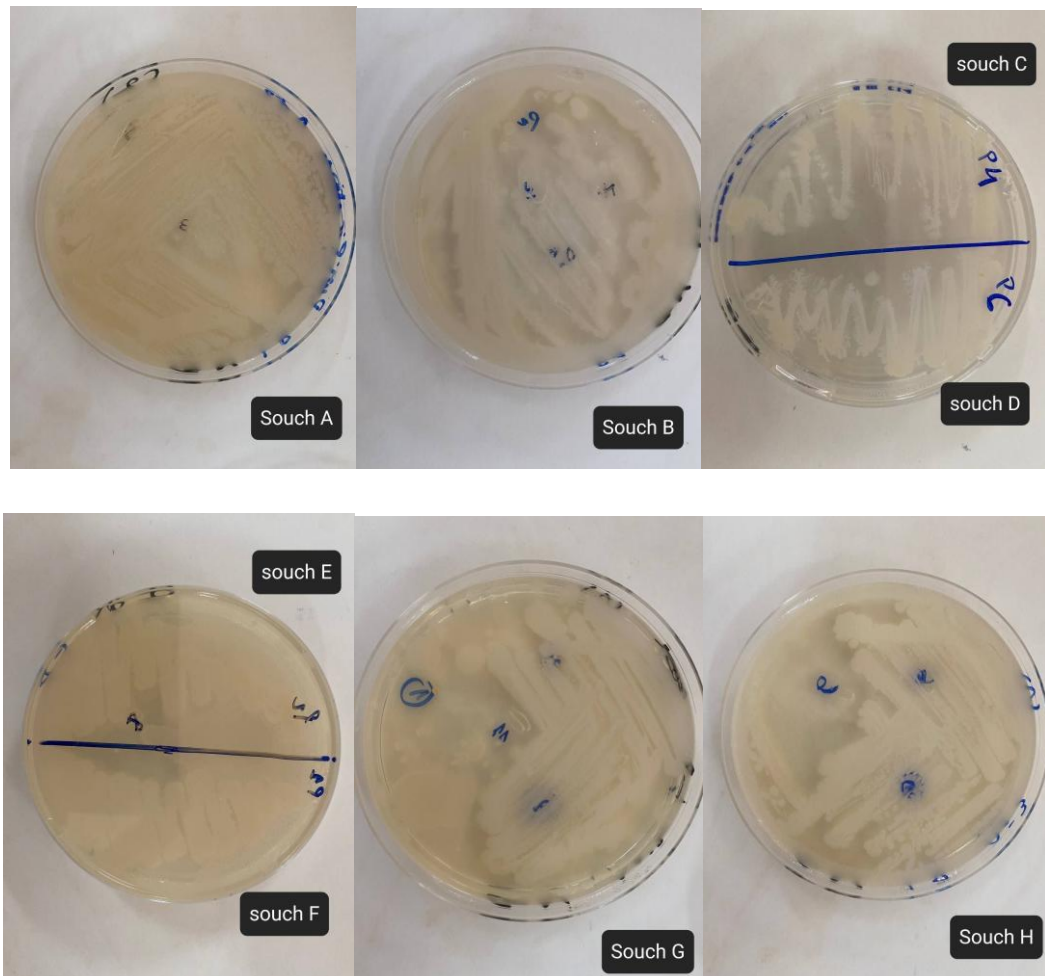


Figure 7 Certaines bactérie purifies (A.B.C.D.E.F.G.H)

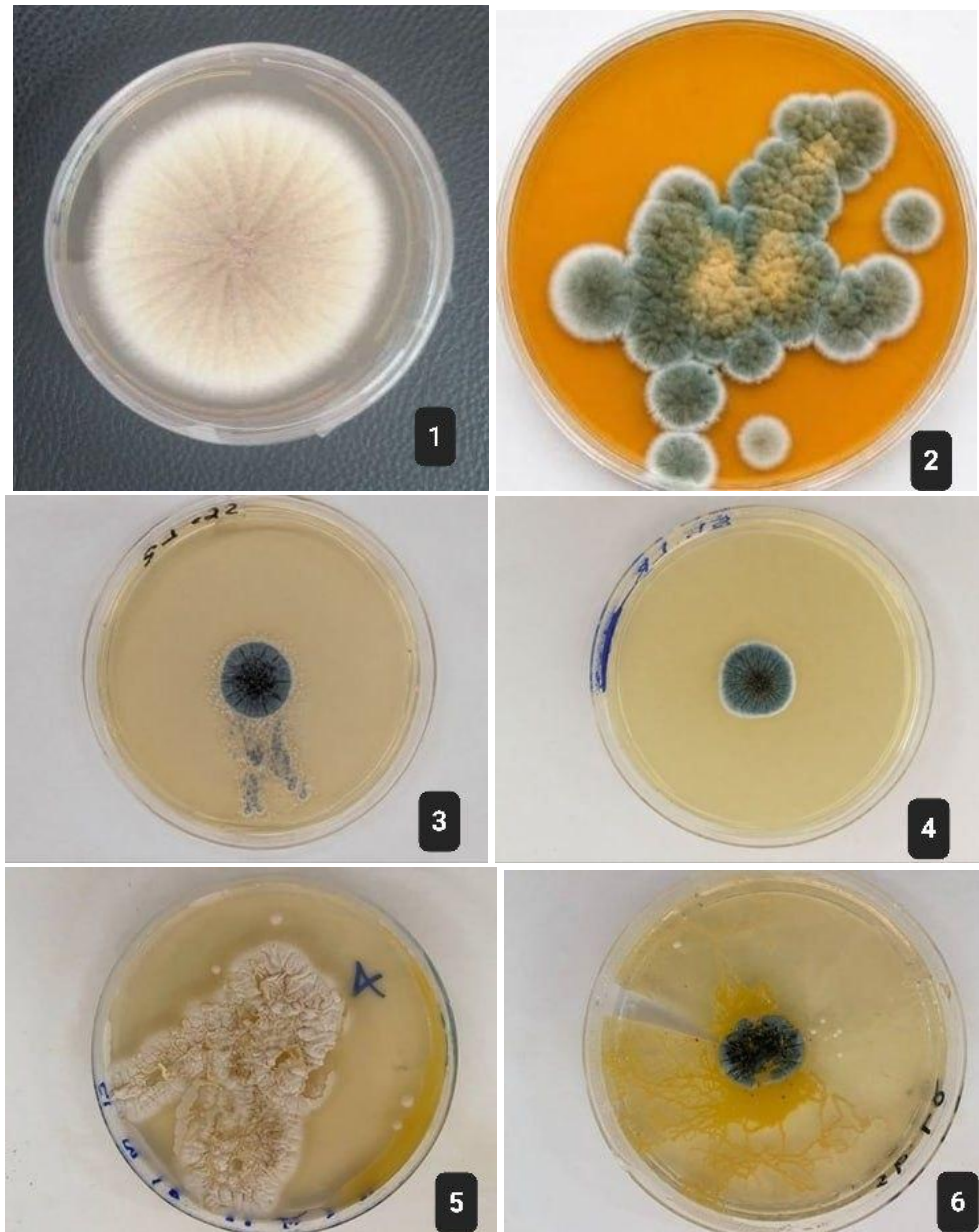


Figure 8 Certains champignons purifiés

La région de Ouargla se caractérise, comme l'ensemble du bas Sahara, par un climat saharien marqué par de fortes amplitudes thermiques entre les températures minimales et maximales, une très faible pluviométrie, ainsi qu'une forte insolation et luminosité. Ces conditions climatiques sévères influencent directement les caractéristiques biologiques des sols. En effet, malgré ces contraintes environnementales, les sols de la région présentent une activité microbienne significative. Cette prolifération importante traduit une forte densité microbienne dans les échantillons de sol étudiés, témoignant d'une activité biologique élevée et d'une bonne

adaptation des microorganismes aux conditions environnementales locales. Par ailleurs, Bedjadj (2011) affirme que les sols de la région d'Ouargla sont riches en microorganismes et présentent une diversité microbienne importante, ce qui confirme la capacité des microorganismes à s'adapter et à survivre dans des environnements arides.

Malgré les conditions environnementales sévères, les analyses microbiologiques ont révélé la présence d'une microflore diversifiée, caractérisée par une forte capacité d'adaptation aux conditions extrêmes du milieu saharien. Par ailleurs, les résultats ont montré que la biomasse microbienne varie d'un site à un autre (Bazzine *et al* ; 2015).

IV.2. Sélection des souches chitinolytiques

Une zone claire autour des colonies bactériennes sur le milieu contenant de la chitine, est observée. Cette zone translucide constitue un indicateur direct de la dégradation de la chitine par les isolats testés (fig. 10), traduisant ainsi leur capacité à produire des enzymes chitinolytiques (chitinases). Ce phénomène confirme leur aptitude à hydrolyser la chitine et à l'utiliser comme source de carbone et d'énergie.

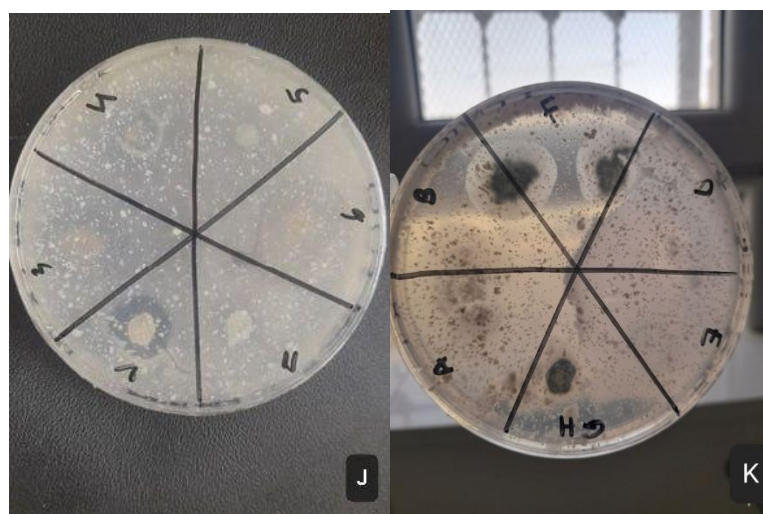


Figure 9 Activité chitinase des isolats bactériens et champignons sur milieu gélose à chitine (J: bactéries ; K : champignons)

Les résultats montrent la croissance de six (6) isolats bactériens sur le milieu contenant la chitine, avec la formation de zones claires autour des colonies. En revanche, le milieu contenant les champignons a montré la croissance de seulement quatre (4) isolats fongiques.

Les études indiquent que les bactéries et les champignons capables de dégrader la chitine peuvent être identifiées par l'apparition d'une zone claire autour de la colonie. Ce changement

est dû à la capacité de ces bactéries à produire des enzymes chitinases, qui décomposent la chitine en ses unités de base (monomères) (Hardoko *et al.*, 2020).

Ces résultats sont en accord avec les données de la littérature scientifique, qui montrent que les microorganismes chitinolytiques sont largement répandus dans les sols. La présence de ces microorganismes est généralement associée à l'accumulation de résidus biologiques riches en chitine, tels que les exosquelettes d'insectes et d'autres arthropodes. La décomposition continue de ces matières organiques favorise ainsi l'adaptation et le développement d'une microflore spécialisée dans la dégradation de la chitine (Bhagat *et al.*, 2023).

Chez de nombreux champignons, la chitine peut également être utilisée comme source de carbone et d'énergie après sa dégradation enzymatique par les chitinases. Les produits issus de cette hydrolyse sont ensuite assimilés et intégrés dans les voies métaboliques nécessaires à leur croissance et à leur développement (Unuofin *et al.*, 2024).

Les études récentes montrent que de nombreux micro-organismes, notamment les bactéries et les champignons, possèdent la capacité de produire des enzymes chitinolytiques telles que la chitinase, qui hydrolyse la chitine, composant principal des parois cellulaires fongiques ainsi que de l'exosquelette des insectes. Cette activité enzymatique revêt une grande importance dans le domaine de la lutte biologique, car elle contribue à l'inhibition ou à l'élimination des agents phytopathogènes. Ainsi, ces micro-organismes constituent une source naturelle prometteuse d'enzymes présentant des applications biologiques importantes en biocontrôle (Mishra *et al.*, 2020).

IV.3. Interaction entre les souches bactériennes sélectionnées

Les résultats de l'interaction bactérienne sont présentés dans le tableau1.

Tableau 1: Résultat de l'interaction entre les souches bactériennes sélectionnées

	A	E	F	D	B	C
A	/	-	-	-	+	+
E	-	/	-	-	+	+
F	-	+	/	-	-	-
D	-	-	-	/	+	-
B	+	-	-	-	/	+
C	+	+	-	+	+	/

L'analyse des résultats de l'interaction entre les souches bactériennes sélectionnées met en évidence l'existence de deux types de relations : des interactions de synergie (+) et des interactions d'antagonisme (-).

De manière générale, plusieurs interactions positives sont observées entre certaines souches, ce qui indique une compatibilité et une capacité de cohabitation sans inhibition mutuelle.

La souche F montre principalement des interactions antagonistes avec la majorité des souches, à l'exception d'une interaction positive avec la souche E. De même, la souche D présente une prédominance d'interactions négatives, avec une seule interaction positive observée avec la souche C.

Ainsi, les résultats montrent que les souches A, B et C présentent une synergie positive entre elles, et peuvent être associées dans un même consortium bactérien, en raison de l'absence d'interactions antagonistes entre ces trois souches.

Les interactions bactériennes dans les milieux nutritifs tels que l'agar nutritif présentent une dynamique complexe associant synergie et antagonisme selon les conditions environnementales. Ces résultats mettent en évidence que les interactions bactériennes résultent d'un équilibre entre coopération et compétition, favorisant l'adaptation et la survie en milieu nutritif (Kim *et al.*, 2022).

IV.4. Pré-identification des souches sélectionnées

Les souches sélectionnées ont été pré-identifiées à partir de leurs caractères morphologiques microbiologiques et biochimiques.

IV.4.1.Aspect macroscopique

Les 3 souches sélectionnées par leur capacité à dégrader la chitine ont présenté, lors de l'observation macroscopique, des colonies bien développées aux caractéristiques morphologiques variées. Les colonies étaient généralement opaques, de couleur blanc crème à beige, avec une surface lisse ou légèrement rugueuse, une forme circulaire à irrégulière et un relief plat à légèrement bombé (fig.10).

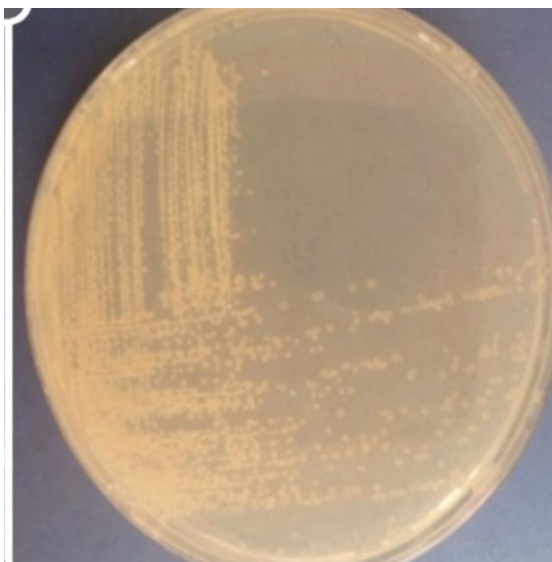


Figure 10 Observation macroscopique

IV.4.2.Aspect microscopique

L'observation microscopique des cellules bactériennes issues des souches isolées révèle qu'il s'agit de bac à bacilles Gram positif (fig.11).

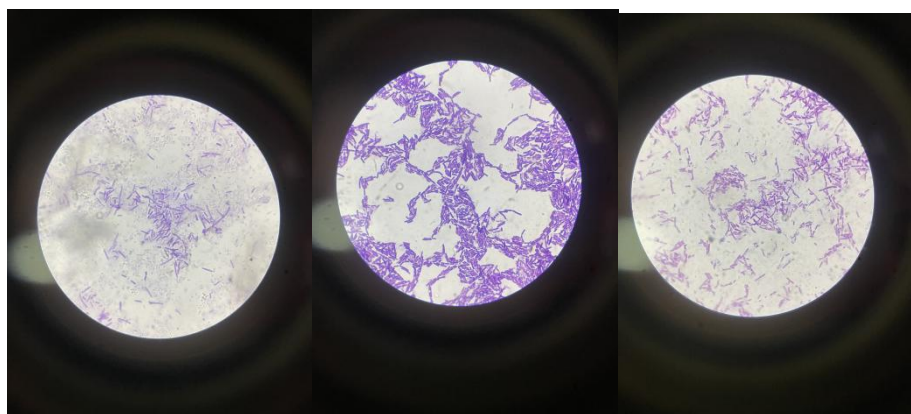


Figure 11 Observation microscopique des souches

Tableau 2: Résultat de test biochimique des souches sélectionnées

Test / Souche	Souche A	Souche B	Souche C
Oxydase	+	+	+
Catalase	+	+	+
ONPG	-	-	-
ADH	-	-	-
LDC	+	-	-
ODC	-	-	-
CIT	+	+	+
H₂S		-	-
URE	-	-	-
TDA	-	-	-
IND	-	-	+
VP	-	-	-
GEL	+	+	+
GLU	-	-	+
MAN	-	-	-
INO	-	-	-
SOR	-	-	-

RHA	-	-	-
SAC	-	-	-
MEL	-	-	-
AMY	-	-	-
ARA	-	-	-

L'analyse des caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques des isolats a révélé que les trois souches étudiées appartiennent au genre *Bacillus*.

Le genre *Bacillus* est considéré comme l'un des groupes bactériens les plus importants en raison de sa capacité à produire une large gamme d'enzymes extracellulaires, notamment la chitinase. Ces enzymes jouent un rôle essentiel dans la dégradation de la chitine, un polymère structural présent principalement dans la paroi cellulaire des champignons et dans l'exosquelette des insectes (Bhattacharya *et al.*, 2007).

La production de chitinases constitue un facteur important dans l'activité biologique de certaines espèces de *Bacillus*, notamment *Bacillus thuringiensis*. Ces enzymes participent à la dégradation des structures contenant de la chitine, favorisant ainsi l'action insecticide et renforçant le potentiel de ces bactéries comme agents de lutte biologique contre les insectes nuisibles et les microorganismes phytopathogènes (Martínez-zavala *et al.*, 2020).

Chez les espèces du genre *Bacillus*, la dégradation de la chitine repose sur un système chitinolytique complexe impliquant plusieurs gènes codant des enzymes et des protéines spécialisées. Les principaux gènes identifiés incluent *chiA* (*chiA1/chiA2*), *chiB* et *chiC*, qui codent pour des chitinases responsables de l'hydrolyse progressive de la chitine en oligosaccharides. D'autres gènes tels que *nagA*, *nagB* et *nagZ* interviennent dans la conversion des produits de dégradation en N-acétylglucosamine, assimilable par la cellule (Liu, F, *et al.*, 2024).

IV.5. Traitement par des souches sélectionnées

L'effet des trois souches de *Bacillus* a été évalué sur les pucerons (*Aphis nerii*) afin de déterminer leur virulence contre ce ravageur. Les résultats obtenus ont été comparés au témoin. Les données sont présentées dans le tableau 3.

Tableau 3: Effet du traitement microbienne sur la mortalité de puceron après 24 h

Traitement	Mortalité après 24 h (%)
Souche A	69,69
Souche B	78,78
Souche C	78,78
Consortium	36,36
Consortium immobilisé sur biochar	33,33
Témoin	9,09

On observe que le taux de mortalité induit par les souches *Bacillus sp* B et *Bacillus sp* C était plus élevé que celui de la souche *Bacillus sp* A durant les 24 heures suivant le traitement (tab.3). Ce résultat indique que l'effet combiné des souches n'a pas présenté d'effet synergique et s'est révélé inférieur à celui observé lorsque les souches étaient utilisées séparément dans la lutte biologique.

L'ajout du biochar (Biochar) comme support des souches bactériennes a été réalisé en mélange avec les isolats au cours du même traitement. Les résultats obtenus montrent que l'ajout du biochar a entraîné une diminution du taux de mortalité (33 %), suggérant que ce support pourrait réduire l'efficacité des isolats bactériens dans certaines conditions expérimentales (tab. 3).

L'effet du biochar sur les systèmes biologiques et les organismes du sol reste variable et dépend fortement de ses caractéristiques physico-chimiques ainsi que des conditions

d'application. Ainsi, ses effets peuvent être positifs dans certains cas, mais également limités ou différents dans d'autres situations, ce qui explique la variabilité observée dans ses interactions avec les micro-organismes et les agents biologiques (Lehmann *et al.*, 2015).

L'étude menée par Guetibe (2014) a montré que la souche de *Bacillus thuringiensis* (Bt) a provoqué un taux de mortalité élevé chez les pucerons après 72 heures de traitement, accompagné de phénomènes de dégradation chez les individus traités.

Bacillus thuringiensis est la première bactérie homologuée au niveau mondial comme biopesticide, notamment grâce à la production de chitinases, des enzymes capables d'hydrolyser la chitine constituant l'exosquelette des insectes, contribuant ainsi à renforcer l'efficacité des biopesticides.

Ces résultats mettent en évidence que ce genre de *Bacillus* se caractérise par la forte activité de ses enzymes, notamment les chitinases, impliquées dans la dégradation de la chitine. Cette capacité enzymatique élevée pourrait expliquer son efficacité et justifie son utilisation potentielle dans la lutte contre les pucerons (Sellami *et al.*, 2015).

Conclusion

Conclusion

Nous avons pu isoler et caractériser un ensemble de micro-organismes provenant de sols de différentes régions de la wilaya d'Ouargla, en mettant l'accent sur les souches bactériennes et fongiques capables d'utiliser la chitine comme source nutritive et de produire l'enzyme chitinase responsable de sa dégradation. La chitine a été utilisée au cours des différentes étapes expérimentales comme substrat principal afin de détecter l'activité chitinolytique des souches isolées et d'évaluer leur capacité de dégradation.

Les résultats ont montré que les souches bactériennes appartenant au genre *Bacillus* figuraient parmi les plus efficaces en termes de production de chitinase et d'activité lytique marquée à l'égard de la chitine.

Certaines de ces souches, notamment *Bacillus*, ont montré une capacité notable à agir sur les pucerons en réduisant leur activité et en affaiblissant leur vitalité, ce qui reflète leur potentiel prometteur dans le domaine de la lutte biologique contre les ravageurs agricoles. Cet effet est partiellement attribué à leur capacité à produire des enzymes chitinolytiques ciblant les composants structuraux des insectes, contribuant ainsi à limiter leur survie et leur reproduction.

Les tests sur le puceron du laurier rose démontrent que les souches *Bacillus sp* B et *Bacillus sp*C ont présenté des taux de mortalité similaires soit 78,78 % (après 24 heures), contre environ 70% chez *Bacillus sp*A. Le consortium (formé par *Bacillus sp*A, B et C) n'a pas montré d'effet synergique par rapport aux souches utilisées séparément. Le traitement avec biochar enregistre le taux de mortalité le plus faible soit 33%, comparativement aux autres traitements. Ces résultats confirment l'importance des ressources microbiennes locales dans les environnements désertiques, en particulier les sols de la wilaya d'Ouargla, considérés comme une source riche de souches aux propriétés biotechnologiques et écologiques intéressantes, notamment les souches de *Bacillus*, qui constituent l'un des genres bactériens les plus utilisés en lutte biologique. Ils soulignent également la possibilité d'exploiter ces micro-organismes comme alternatives biologiques sûres aux pesticides chimiques conventionnels, contribuant ainsi à la protection de l'environnement, au maintien de l'équilibre écologique et à la réduction des risques sanitaires et environnementaux liés à l'utilisation intensive des produits chimiques en agriculture.

Ainsi, cette étude représente une étape préliminaire importante vers le développement de bioproduits efficaces basés sur les micro-organismes locaux et leurs enzymes, en particulier la chitinase, dans des programmes de lutte biologique durable. Elle ouvre également des perspectives de recherches futures visant à identifier précisément les souches les plus performantes, à étudier leurs mécanismes d'action, à optimiser les conditions de production des enzymes et à les exploiter à plus grande échelle dans le domaine agricole.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Abdollahdokht, D., Gao, Y., Faramarz, S., Poustforoosh, A., Abbasi, M., Asadikaram, G., & Nematollahi, M. H. (2022). Conventional agrochemicals towards nano-biopesticides: an overview on recent advances. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 19p.
2. Abismail, L. (2018). *Effet insecticide des huiles des graines de Citrullus colocynthis Schard et Pergularia tomentosa L. sur les pucerons*. Mémoire de Master en sciences de l'environnement, Université de Ghardaïa.34p.
3. Ait Amar, S., Benoufella-Kitous, K., Medjdoub-Bensaad, F., et Tahar-Chaouche, S. (2022). Diversité des pucerons et de leurs ennemis naturels en cultures sous serre à Tizi-Ouzou, Algérie. *Entomologie Faunistique – Faunistic Entomology*, 75(1).
4. Baba-Aissa, K., Remini, L., Moussaoui, K., Hammad, M. W., Verdeguer, M., & Djazouli, Z.-E. (2021). Activité larvicide de l'huile essentielle formulée de *Thymus vulgaris* sur *Culex pipiens* (Diptera : Culicidae). *Revue Agrobiologia*, 11(2), 2725–2733.
5. Baker, J. (2019). Oleander aphid (PDIC factsheet). NC State Extension Publications, North Carolina State University. (Original work published 2013, revised 2019).
6. Bakroune, N.-E. (2012). *Diversité spécifique de l'aphidofaune (Homoptera, Aphididae) et de ses ennemis naturels dans deux stations (El-Outaya et Ain Naga, Biskra) sur piment et poivron (Solanacées) sous abris plastique*. Mémoire de Master en agronomie.
7. Baldi, I., Cordier, S., Coumoul, X., Elbaz, A., Gamet-Payraastre, L., Lebailly, P., Multigner, L., Rahmani, R., Spinosi, J., & van Maele-Fabry, G. (2010). Pesticides : Effets sur la santé.999 p.
8. BAZZINE, M., & HAMDI-AISSA, B. (2014). *Étude des croûtes biologiques de quelques sols gypseux et salins du milieu saharien (cas de la cuvette de Ouargla)*. Laboratoire d'exploitation et de valorisation des ressources naturelles en zones arides, Université Kasdi Merbah Ouargla, s.p.
9. BEDJADJ, S. (2011). *Contribution à l'étude des caractéristiques microbiologiques des sols dans la région de Ouargla (Cas de l'exploitation de l'université de Ouargla)*. Mémoire d'Ingénieur d'État en Sciences Agronomiques, Option Mise en valeur des sols sahariens, Département des Sciences Agronomiques, Université Kasdi Merbah Ouargla, Algérie, 58 p.
10. Berkoud, M. (2019). Isolement et identification de souches bactériennes capables de dégrader un pesticide périmé (le malathion). Mémoire de Master en biotechnologie microbienne, Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.47p.
11. Bhagat S, Jain A. Characterization of chitinolytic microorganisms isolated from different chitin rich environments. *IJBPAS*. 2023;12(5):1976–1993. doi:10.31032/IJBPAS/2023/12.5.7102
12. Centre canadien d'hygiène et de sécurité au travail (CCHST). (2025). Pesticides Généralités. s.p.
13. Chaabane, M. (2020). Cours pesticides – Chapitre 1 : Généralités (L3 Entomologie). Université Mentouri Constantine (UMC)
14. CSAN Niger. (2017). Le puceron du laurier-rose (*Aphis nerii*) : un ravageur émergeant au Niger. Vegnote, s.p.

15. Dahmane, S. (2022). La composition des bios pesticides naturels contre les ravageurs de culture végétative. Mémoire de Master en protection des végétaux, Université Mohamed Kheider de Biskra. 82 p .
16. déchets marins (crustacés décapodes)Mémoire de Master en hydrobiologie marine et continentale, Université AboubakrBelkaid Tlemcen. 52p.
17. Dedryver, C.-A., Le Ralec, A., et Fabre, F. (2010).The conflicting relationships between aphids and men: A review of aphid damage and control strategies.Comptes Rendus Biologies, 333(6–7), 474–485.
18. Deiss, F. (2025). Guide du débutant en biopesticides microbiens : types et modes d'utilisation. s.p.
19. Deravel, J., Krier, F., & Jacques, P. (2014). Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*, 18(2), 220–232.
20. Fraval, A. (2006). *Les pucerons* – 1ère partie. Insectes, n°141, pp. 3–8. Office pour les insectes et leur environnement (OPIE), France.
21. Fritel, M. (2023). Extraction de chitine et du chitosane à partir des
22. Gatignol, C., & Étienne, J.-C. (2010). Pesticides et santé. Rapport de l’OPECST. 6 p.
23. Guetibe, F. (2014). *Toxicité comparaisse de Bacillus thuringiensis, et une huile essentielle de Citrus vis-à-vis des pucerons en culture sous serres*. Mémoire de Master académique en sciences agronomiques, spécialité Protection des végétaux, Université de Ghardaïa, 34p.
24. HARDOCO, H., JOSEPHINE, C., HANDAYANI, R., & HALIM, Y. (2020).Isolation, identification and chitinolytic index of bacteria from rotten tiger shrimp (*Penaeus monodon*) shells. *AACL Bioflux*, 13(1), 360–371.
25. Hassaan, M. A., & El Nemr, A. (2020). Pesticides pollution: Classifications, human health impact, extraction and treatment techniques. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 46, 207–220.
26. Karmakar, S., Jana, S., Das, S. A., et Das, B. (2021). Biopesticide: An ecofriendly approach to the aquaculture practice.
27. Kies, M., & Kadid, S. A. (2020). *Les Homoptères (Aphidoidea et Coccoidea) ravageurs du laurier-rose (Nerium oleander, Apocynaceae) dans la wilaya de Mostaganem*. Mémoire de Master en protection des végétaux, École Supérieure d’Agronomie, Mostaganem.
28. Kim, U., Kim, J.-H., Lee, S.-Y., & Oh, S.-W. (2022). Detection of Bacillus cereus and Pseudomonas fluorescens in dual-species biofilm via real-time PCR and eradication using grapefruit seed extract. *Food Science and Technology*, 165, 113679.
29. Kurniawan, E. (2019). Optimization of chitinase production by Bacillus sp. B26 and its antifungal activity. Master’s thesis, Prince of Songkla University. 105p.
30. Lassal, S. (2014). Préparation de chitine et chitosane à partir de Sepia officinalis. Projet de fin d’étude pour l’obtention du diplôme de docteur vétérinaire, École Nationale Supérieure Vétérinaire. 53p.
31. Lehmann, J., et Joseph, S. (Eds.). (2015). Biochar for environmental management: Science, technology and implementation (2nd ed.). Routledge. 5pp
32. Leng, P., Zhang, Z., Pan, G., & Zhao, M. (2011). Applications and development trends in biopesticides. *African Journal of Biotechnology*, 10(86), 19864–19873.

33. Luan, H., Zhang, Y., Qiu, W., Zhang, X., Liu, M., Feng, W., Xu, W., Wang, F., Xuan, H., & Song, P. (2025). Research progress on microbial pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 213, 106512.
34. Martin, N. A. (2017). Oleander aphid (*Aphis nerii*). Plant and Food Research
35. McAuslane, H. J. (2001). *Oleander aphid, Aphis nerii Boyer de Fonscolombe (Insecta: Hemiptera: Aphididae)* (EENY-247). University of Florida IFAS Extension.
36. McAuslane, H. J. (2014). Oleander aphid, *Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe (Insecta: Hemiptera: Aphididae) (EENY-247). University of Florida IFAS Extension (EDIS).
37. Mishra, P., Mishra, J., Dwivedi, S. K., & Arora, N. K. (2020). Microbial enzymes in biocontrol of phytopathogens. In N. K. Arora (Eds.), *Microbial Enzymes: Roles and Applications in Industries, Microorganisms for Sustainability* 11. Springer Nature Singapore.295-285p.
38. Ryckebusch, F. (2020). *Caractérisation de la transmission des capulavirus, des géminivirus d'un nouveau genre dont l'originalité est la transmission par puceron* (Thèse de doctorat, Montpellier SupAgro, France). 302p.
39. Santos, V. P., Marques, N. S. S., Maia, P. C. S. V., Lima, M. A. B., et al. (2020). Seafoodwaste as attractive source of chitin and chitosan production and their applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(12), 4290.
40. Sellami, S., Tounsi, S., et Jamoussi, K. (2015). *Bacillus thuringiensis* : un biopesticide environnemental (synthèse bibliographique). *Revue Marocaine de Protection des Plantes*, 7, 25–42.
41. Serradj, N. (2010). Étude comparative de deux molécules : le méthoxyfénozide (RH-2485) et *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Vectobac W.D.G 3000 UTI/mg) à l'égard des larves de *Culiseta morsitans* : aspects toxicologiques et potentiel reproducteur. Mémoire de Magistère en biologie et physiologie animale (option écotoxicologie), Université Badji Mokhtar Annaba. 54p.
42. Shahid, M. (2026). Molecular engineering and in-silico biotechnological innovations for microbial degradation of persistent pesticides. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 217, 106833.
43. Tebani, S. E. Kadri, S. (2019). *Contribution à l'étude des hyménoptères parasitoïdes des pucerons dans quelques vergers d'orangers à la région de Guelma*. Mémoire de Master en sciences agronomiques, Université 8 Mai 1945 Guelma.67p.
44. Unuofin, J. O., Okoh, A. I., Nwodo, U. U., & Mabinya, L. V. (2024). Chitinases: Expanding the boundaries of knowledge beyond routinized chitin degradation. *Environmental Science and Pollution Research*. Springer. DOI: 10.14302/issn.2690-4829.jen-18-2043
45. Vila, I., Sales, E., Ollero, J., Muñoz-Bertomeu, J., Segura, J., et Arrillaga, I. (2010). Micropropagation of Oleander (*Nerium oleander* L.). *HortScience*, 45(1), 98–102.
46. Wang, Z., Thavarajah, N., et Fernando, X. N. (2024). Exploring silica nanoparticles: A sustainable solution for pest control in Sri Lankan rice farming. *Technologies*, 12(11), 210.
47. Ware, G. W., et Whitacre, D. M. (2004). *An Introduction to Insecticides* (4th ed.). Extracted from *The Pesticide Book* (6th ed.). MeisterPro Information Resources, Ohio, USA. pp. 61–69

48. Martínez-Zavala, S. A., Barboza-Pérez, U. E., Hernández-Guzmán, G., Bideshi, D. K., & Barboza-Corona, J. E. (2020). Chitinases of *Bacillus thuringiensis*: Phylogeny, modular structure, and applied potentials. *Frontiers in Microbiology*, 10, 3032.
49. Liu, F., Chen, S., Chen, X., Yong, B., & He, B. (2024). Identification of chitinase from *Bacillus velezensis* strain S161 and its antifungal activity against *Penicillium digitatum*. *Protein Expression and Purification*, 223, 106562
50. Bhattacharya, D., Nagpure, A., & Gupta, R. K. (2007). Bacterial Chitinases: Properties and Potential. *Critical Reviews in Biotechnology*, 27(1), 21–29
51. Vijayakumar, T., Divya, B., Vasanthi, V., Narayan, M., Kumar, A. R., & Krishnan, R. (2023). Diagnostic utility of Gram stain for oral smears – A review. *Journal of Microscopy and Ultrastructure*, 11(3), 130–134.
52. Essiedu, J. A., et al. (2024). Recent Advances in Biopesticide Research and Development with a Focus on Microbials. *Agronomy*, 14(11), 2557.
53. Blackman, R. L., & Eastop, V. F. (2000). *Aphids on the World's Crops: An Identification and Information Guide*. Wiley.
54. Döring, T. F. (2021). Aphid biology and ecology: reproduction, life cycles and adaptation strategies. *Journal of Applied Entomology*, 145(5–6), 347–360.
55. McAuslane, H. J. (2016). *Oleander Aphid, Aphis nerii* Boyer de Fonscolombe (Insecta: Hemiptera: Aphididae). University of Florida, IFAS Extension.
56. FAO (2011). *Integrated Pest Management for Sustainable Crop Production*. Food and Agriculture Organization of the United Nations
57. Heimpel, G. E., & Mills, N. J. (2017). *Biological Control: Ecology and Applications*. Cambridge University Press.
58. Nicholls, C. I., Altieri, M. A., & Ponti, L. (2017). *Agroecology: Principles for the Conversion and Redesign of Farming Systems*. CRC Press.
59. Le Bars, M., Sissako, A., de Montgolfier, A., Sidibe, Y., Diarra, A., Sagara, A., & Koita, O. (2022). Usage des pesticides et impacts sur la santé des applicateurs en zone cotonnière du Mali. *Cahiers Agricultures*, 31,
60. Pimentel, D. (2005). Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. *Environment, Development and Sustainability*, 7(2), 229–252.
61. Vélez, E. A., Martínez-Hidalgo, P., & Hirsch, A. M. (2017). Chitinase-producing bacteria and their role in biocontrol. *AIMS Microbiology*, 3(3), 689–70
62. Meraghni, M. (2019). *Étude de l'effet biopesticide de quelques extraits naturels d'une plante appartenant à la famille des Lamiacées*. Thèse de doctorat en Biologie Végétale et Environnement, Université d'Annaba, Algérie.
63. Ammar, A., Ben Salem, M., Khelifi, N., et al. (2024). Pesticides vs. Biopesticides: From Pest Management to Toxicity and Impacts on Environment and Human Health. *Molecules*, 29(1), Article 125.
64. Pathak, V. M., Verma, V. K., Rawat, B. S., Kaur, B., Babu, N., Sharma, A., Dewali, S., Yadav, M., Kumari, R., Singh, S., Mohapatra, A., Pandey, V., Rana, N., & Cunill, J. M. (2022). Current status of pesticide effects on environment, human health and its eco-friendly management as bioremediation: A comprehensive review. *Frontiers in Microbiology*, 13, 962619.

65. Fritel, M. (2023). Extraction de la chitine et du chitosane à partir des déchets marins. Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaïd – Tlemcen, Algérie, 52pp .
66. Nampally, M., Govinda Rajulu, M. B., Gillet, D., Suryanarayanan, T. S., et Moerschbacher, B. B. (2015). A high diversity in chitinolytic and chitosanolytic species and enzymes and their oligomeric products exist in soil with a history of chitin and chitosan exposure. BioMed Research International, 2015, Article ID 857639.

Annexes

Annexes

Annexes 1

COMPOSTION DE MILIU DE CULTURES

Milieu minimal

- 0,3 g de KH_2PO_4
- 0,3 g de K_2HPO_4
- 30 g de NaCl
- 0,05 g de CaCl_2

Gèlose nutritif

- Peptone : 5 g
- Extrait de viande (ou extrait de bœuf) 3 g
- Chlorure de sodium (NaCl) 5 g
- Agar-agar 15 g
- Eau distillée 1000 mL
- pH final $7,0 \pm 0,2$

Bouillon nutritif

- Peptone : 5 g
- Extrait de viande (ou extrait de bœuf) 3 g
- Chlorure de sodium (NaCl) 5 g
- Eau distillée 1000 mL
- pH final $7,0 \pm 0,2$

SABOURAUD

- Peptone 10 g
- Dextrose (glucose) 40 g
- Agar-agar 15 g
- Eau distillée 1000 mL
- pH final $5,6 \pm 0,2$

Annexes 2



Figure 12 laurier-rose (*Nerium oleander*)



Figure 13 puceron jaune (*Aphis nerii*)



Figure 14 fumagine



Figure 15 la précipitation de la chitine avec d'eau distillée glacée



Figure 16 loup binoculaire



Figure 17 Activité antagoniste



Figure 18 test API 20



Figure 19 biochar

Essai de production d'un bio-insecticide microbien (lutte biologique contre les pucerons)

Résumé

La présente étude vise à produire un bioinsecticide microbien contre les pucerons, basé sur des micro-organismes isolés à partir de sols provenant de différentes régions de la wilaya de Ouargla, en particulier des souches capables de produire l'enzyme chitinase. Des échantillons de sol ont été prélevés dans plusieurs sites, puis soumis à des procédures d'isolement et de purification sur milieux sélectifs afin d'obtenir des souches bactériennes et fongiques. Les résultats des tests d'identification préliminaires ont montré que certaines souches bactériennes appartiennent au genre *Bacillus*, connu pour sa capacité à produire des enzymes chitinolytiques. Ces souches ont ensuite été testées en combinaison dans des essais de lutte biologique contre les pucerons. Les souches *Bacillus sp B* et *Bacillus sp C* ont présenté des taux de mortalité de 78,78 % après 24 heures, contre 69,69 % pour la souche A. Le consortium formé par les souches *Bacillus sp A*, B et C n'a pas montré d'effet synergique par rapport aux souches utilisées individuellement. Le traitement au biochar a enregistré le taux de mortalité le plus faible (33 %), comparativement aux autres traitements, qui ont présenté des taux plus élevés. Cette étude souligne ainsi l'importance des ressources microbiennes locales dans le développement de stratégies de lutte biologique efficaces et durables.

Mots-clés : bioinsecticides, pucerons, *Bacillus*, chitinase, bactéries, champignons telluriques, Ouargla.

Trial for the production of a microbial bioinsecticide (biological control of aphids)

Abstract

This study aims to produce a microbial bioinsecticide against aphids, based on microorganisms isolated from soils across various regions of the Wilaya of Ouargla, specifically targeting strains capable of producing the enzyme chitinase. Soil samples were collected from several sites and subjected to isolation and purification procedures on selective media to obtain bacterial and fungal strains. Preliminary identification results indicated that some bacterial strains belong to the *Bacillus* genus, which is known for its ability to produce chitinolytic enzymes. These strains were subsequently tested in combination in biological control trials against aphids. *Bacillus sp B* and *Bacillus sp C* strains exhibited mortality rates of 78.78% after 24 hours, compared to 69.69% for strain A. The consortium formed by *Bacillus sp A*, B, and C strains did not demonstrate a synergistic effect compared to the strains used individually. The biochar treatment recorded the lowest mortality rate (33%) compared to the other treatments, which showed higher rates. This study highlights the importance of local microbial resources in the development of effective and sustainable biological control strategies.

Keywords: bioinsecticides, aphids, *Bacillus*, chitinase, bacteria, soil-borne fungi, Ouargla

تجربة إنتاج مبيد حشري حيوي ميكروبي (المكافحة البيولوجية لحشرات المن)

الملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى إنتاج مبيد حيوي ميكروبي لمكافحة حشرة المن، استناداً إلى كائنات دقيقة تم عزلها من تربة مناطق مختلفة بولاية ورقلة، مع التركيز بشكل خاص على السلالات القادرة على إنتاج إنزيم الكيتيناز (chitinase). تم جمع عينات التربة من مواقع متعددة، ثم خضعت لإجراءات العزل والتنقية على أوساط زراعية انتقائية للحصول على سلالات بكتيرية وفطرية. وأظهرت نتائج الاختبارات الأولية للتعريف أن بعض السلالات البكتيرية تنتمي إلى جنس *Bacillus*، المعروف بقدرته على إنتاج إنزيمات محللة للكيتين. بعد ذلك، تم اختبار هذه السلالات مجتمعة في تجارب المكافحة البيولوجية ضد حشرة المن. أظهرت السلالتان *Bacillus sp. C* و *Bacillus sp. B* معدلات فتك بلغت 78.78% بعد 24 ساعة، مقارنة بنسبة 69.69% للسلالة A. لم يظهر الائتلاف الميكروبي (consortium) المكون من السلالات A و B و C أي تأثير تآزري (synergistic effect) مقارنة بالسلالات المستخدمة بشكل فردي. في حين سجلت معاملة الفحم الحيوي (biochar) أقل معدل فتك (33%) مقارنة بالمعاملات الأخرى التي أظهرت معدلات أعلى. وتؤكد هذه الدراسة على أهمية الموارد الميكروبية المحلية في تطوير استراتيجيات فعالة ومستدامة للمكافحة البيولوجية.

الكلمات المفتاحية: مبيدات حيوية، حشرة المن، عصيات (*Bacillus*)، كيتيناز، بكتيريا، فطريات التربة، ورقلة.