



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي



Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة الشاذلي بن جديد الطاريف

Université Chadli Bendjedid. El Tarf

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'étude

Présenté en vue de l'obtention d'un Diplôme de MASTER 2
Dans la filière Ecologie et Environnement
Option
« Agro-Environnement et Bio-Indicateurs »

THEME

Etude de la qualité microbiologique et physicochimique
d'un bio-compost d'origine entomologique

Présenté Par : MESBAHI Marwa

Soutenu le : 24.06.2024

Devant le jury

Président : Pr. Dr. Telailia S.

U. Chadli Bendjedid. El Tarf

Examineur: Dr. Bendjedid H.

U. Chadli Bendjedid. El Tarf

Promoteur : M^{me} Kachour L.

U. Chadli Bendjedid. El Tarf

Année Universitaire: 2023/2024

Dédicace

Je dédie ce mémoire

A mes très chers parents, qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études.

Sans eux, je n'aurais certainement pas fait d'études longues. Ce mémoire représente donc l'aboutissement du soutien et des encouragements qu'ils m'ont prodigués tout au long de ma scolarité.

Qu'ils en soient remerciés par cette modeste dédicace.

J'adresse mes remerciements à mon superviseur Kachour Laila

Et merci à ma seule sœur Sanaa de m'avoir soutenu

Merci à mes chères amies, Nabila et Karima

A tous mes amis sans exception

Marwa

Remerciement

Louange à Allah le miséricordieux le clément, de nous avoir accordées la chance et la bénédiction d'achever ce projet avec force et ambition je tiens à exprimer toute la reconnaissance au Professeur Telailia S. d'avoir accepté de présider le jury de soutenance ainsi que Dr. Bendjedid H. pour avoir examiné mon manuscrit et à mon superviseur Madame Kachour L., le la remercie de m'avoir encadrée, orientée, aidée et conseillée.

Mes sincères remerciement à toutes les personnes qui par leurs paroles, écrit, leurs conseil et leurs critique ont guidé nos réflexions durant la période de stage au niveau du laboratoire pédagogique de microbiologie et surtout celui de chimie ; un grand merci à Mme Nadia et Mme Hayat.

Je serai à jamais, reconnaissante à mes très chers parents qui ont toujours été là pour moi Enfin, je remercie mes soeurs, mes frères et camarades pour leurs encouragements ont été d'une grande aide. A tous ces intervenants, je vous présente mes remerciements, respect et gratitude

Abstract

The mealworm larvae is very recently allowed over a number of countries, to be incorporated into human nutrition due to its high protein nutritional value; the insect breeding in Algeria remains weakly supported, compared to the climate capacity of its breeding. However, in recent years, several breeding national projects have been launched across the territory, with the aim of directing larval biomass to feed fish and/or poultry farms which are continuously multiplying exponentially, which highlights a growing awareness of the high nutritional value of the mealworm and its potential contributions to the food and feed industries in Algeria. In this study project, we contribute to valorizing a by-product of larva breeding for agroecological purposes; we carried out the physicochemical and microbiological analysis of mealworm frass and discussed the possibility of using it as a biocompost for the improvement of agricultural soils fertility, towards cleaner green agriculture.

Keywords:

Tenebrio molitor, *Guano*, soil biofertilizer, agroecology, physicochemical quality, microbiological quality.

Résumé

A l'échelle mondiale, le ver de farine est désormais incorporé dans la nutrition humaine en raison sa valeur nutritive élevée ; son élevage en Algérie reste modeste par rapport à la capacité de son élevage. Néanmoins, ces dernières années, plusieurs projets d'élevage ont été lancés à travers le pays, avec pour objectif d'orienter la biomasse larvaire pour alimenter les exploitations piscicoles et/ou avicoles qui ne font que se multiplier d'une façon exponentielle. Cette tendance souligne une prise de conscience croissante de la haute valeur nutritionnelle du ver de farine et de ses contributions potentielles aux industries de l'alimentation humaine et animale en Algérie. Dans le présent projet d'étude, nous contribuons à valoriser un sous-produit de l'élevage de la larve pour des fins agroécologiques ; nous avons procédé à l'analyse physicochimique et microbiologique du guano et discuté la possibilité de l'utiliser comme biocompost pour l'amendement des sols agricoles vers une agriculture verte plus saine.

Mots clés :
Tenebrio molitor, *Guano*, biofertilisant des sols, agroécologie, qualité physicochimique, qualité microbiologique.

لقد تم منذ السنوات القليلة الماضية ادراج يرقات الدود القبابي كغذاء ذي جودة رفيعة في عدد من بلدان العالم على غرار الدول الأوروبية، و ذلك بدمجها في تغذية الإنسان نظرًا لقيمتها الغذائية العالية من البروتين؛ غير ان تربية الحشرات في الجزائر من أجل الغرض ذاته لا تزال ضعيفة الدعم مقارنة بالقدرة المناخية لتكاثره. ومع ذلك، في السنوات الأخيرة، تم إطلاق العديد من المشاريع الوطنية للتربية في جميع أنحاء الإقليم، بهدف توجيه الكتلة الحيوية لليرقية نحو تغذية مزارع الأسماك و/أو الدواجن التي تتكاثر باستمرار بشكل كبير، مما يسلب الضوء على الوعي المتزايد بالقيمة الغذائية العالية لهذه الثروة الحيوانية ومساهماتها المحتملة في صناعة الأعلاف في الجزائر . و في مشروع الدراسة هذا، نساهم في تثمين منتج ثانوي لتربية اليرقات لأغراض زراعية إيكولوجية؛ أجرينا التحليل الفيزيائي والكيميائي والميكروبيولوجي لمخلفات دودة الدقيق وناقشنا إمكانية استخدامه كسماد حيوي لتحسين خصوبة التربة الزراعية، نحو زراعة بيئة نظيفة.

الكلمات الدالة:

Guano، *Tenebrio molitor*، الأسمدة الحيوية للتربة، البيئة الزراعية، الجودة الفيزيائية والكيميائية، الجودة الميكروبيولوجية.

INTRODUCTION

Introduction

Les denrées alimentaires céréalieres en mauvais stockage, sont souvent infestées par des insectes, en particulier les coléoptères, tels que les tribus des Ténébrionidae (comme le ver des farines), étudiés depuis des décennies en raison de leur capacité d'abimer la qualité organoleptique des aliments. Néanmoins, les coléoptères et d'autres groupes comme les lépidoptères, les hyménoptères, les orthoptères, les hémiptères, les isoptères, les odonates, les diptères, attirent très récemment, une attention croissante en tant que source alimentaire potentiellement durable vu l'apport en protéines qu'ils assurent (Langlade, 2019).

Les insectes sont consommés comme source alimentaire dans de nombreuses parties du monde, notamment en Asie, en Afrique et en Amérique latine. L'entomophagie, ou la consommation d'insectes, est souvent promue pour sa durabilité écologique par rapport à l'élevage traditionnel de bétail. Selon Oliveira Penedo (2022), l'entomophagie nécessite moins de ressources en eau et en alimentation et produit moins de gaz à effet de serre. (FAO, 2013).

Ce n'est qu'en 2022, l'Union Européenne a pris une décision importante en autorisant l'utilisation de la poudre de ver de farine (larve du ténébrion meunier, *Tenebrio molitor*) comme source de biomasse protéique de haute valeur nutritive destinée à l'alimentation humaine. Cette décision permet désormais d'incorporer cette poudre dans divers produits alimentaires, y compris le lait pour nourrissons, les biscuits, les chips et d'autres aliments, notamment ceux destinés aux enfants souffrant de faiblesse de la croissance. La légalisation de la poudre de ver de farine par l'Union Européenne marque une avancée significative dans l'exploitation des insectes comme source alternative de protéines.

En Algérie, comme dans la plupart des pays islamiques, l'entomophagie est souvent perçue avec dégoût et associée à des comportements primitifs. Cette perception négative a conduit à une négligence des insectes dans la recherche agricole et agroalimentaire. Cependant, malgré cette réticence culturelle, la production et l'élevage d'insectes, notamment les vers de farine, connaissent un développement progressif, bien que relativement lent.

Outre sa valeur nutritive, des travaux ont été menés afin de mettre au point la capacité de cette larve (ou ver) à ronger certains polymères synthétiques dont le polystyrène, le plastique de faible densité et le papier, dans le but d'apporter une contribution à leur biodégradation par des moyens biologiques dans la nature, lorsqu'ils deviennent usés (Peng et al. 2020),

incorporé dans leur régime alimentaire, parfois comme seule et unique source de carbone (Machona et al. 2022).

La présente étude est en revanche, focalisée non pas sur la biomasse protéique et la valeur nutritive du produit primaire, mais plutôt sur la qualité biofertilisante du produit secondaire de l'élevage de cet insecte ; il s'agit de déjections obtenues à la fin de chaque phase du cycle de leur vie. Un sous-produit qu'on nomme communément, le *Guano*, un inducteur de la croissance et de la résistance végétale, étant donné sa composition riche en éléments nutritifs utilisés en amendement de sol agricoles par des moyens purement biologiques. L'intérêt de ce projet est de pouvoir valoriser ce biodéchet qui sera destiné à enrichir le sol agricole après traitement et contrôle de sa qualité physicochimique et microbiologique.

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

1. Synthèses bibliographique

1.1. Utilités économiques du ver de farine

Le ténébrion meunier, également connu sous le nom de "ver de farine" ou "ver de farine doré", est en effet une source de préoccupation dans plusieurs secteurs économiques liés à la sécurité alimentaire, en raison de sa capacité à proliférer dans les conditions climatiques favorables, notamment dans les exploitations agricoles et les entrepôts de denrées alimentaires, généralement de nature céréalière. Cet insecte a toujours intrigué les producteurs agricoles en raison de sa nuisance pour les stocks alimentaires et les produits agricoles, ce qui a incité les scientifiques à rechercher et à établir des techniques de contrôle et de prévention dans diverses industries pour limiter ses impacts économiques.

Originaire des régions chaudes et tempérées, cet insecte a une préférence marquée pour vivre dans l'obscurité totale, ce qui explique son nom commun de "ténébrion". Historiquement, il a été observé dans les tombes des pharaons dans l'Égypte antique, où les cadavres étaient traditionnellement accompagnés d'aliments céréaliers, était probablement favorable à sa survie. À l'état sauvage, *Tenebrio molitor* est généralement trouvé dans des environnements sombres et humides comme les forêts. Ces insectes se nourrissent principalement de matières végétales en décomposition.

L'insecte a pu à travers les échanges commerciaux intercontinentaux, se propager dans diverses parties du monde en raison de son incroyable adaptabilité. Il se trouve fréquemment dans les entrepôts de grains, les étables, les minoteries et les endroits où il peut trouver une source de nourriture, principalement la farine et les débris végétaux.

Des études plus approfondies sur les larves de ce coléoptère, ont prouvé son rôle crucial dans l'écosystème en recyclant les nutriments et en contribuant à la décomposition des déchets végétaux. D'autre part, en raison de sa teneur élevée en protéines et en nutriments, il est utilisé comme aliment pour les animaux de compagnie, tels que les reptiles et les oiseaux. Les éleveurs l'apprécient également pour sa facilité de reproduction et sa croissance rapide, ce qui en fait une source économique de nourriture pour leurs animaux.

En raison de leur haute valeur nutritive riche en protéines, graisses, et autres nutriments essentiels, les larves du ver de farine sont de plus en plus intégrées dans l'alimentation des animaux d'élevage tels que les poissons, les oiseaux, les reptiles et même certains

mammifères. Leur capacité à se reproduire rapidement et leur efficacité en tant que source alimentaire durable ont attiré l'attention de l'industrie agricole et des éleveurs comme une alternative viable aux protéines animales traditionnelles.

Récemment, des décisions législatives européennes ont facilité l'intégration des larves de ténébrion dans les aliments destinés à la consommation humaine. Cela représente une étape importante dans l'acceptation et la régulation de nouvelles sources de protéines et de nutriments dans l'alimentation humaine, répondant à la fois aux besoins croissants en protéines et aux préoccupations environnementales liées à la production alimentaire.

L'utilisation croissante des larves de ténébrion dans l'alimentation, tant animale qu'humaine, témoigne de leur potentiel à contribuer à la sécurité alimentaire mondiale de manière durable et écologiquement responsable.

1.1.1. Habitat naturel du *Tenebrio molitor*

Les vers de farine sont utilisés en recherche pour étudier divers aspects de la biologie, de la nutrition et de l'écologie des insectes. Ils servent également de modèle pour étudier la biodégradation et d'autres processus biologiques. Les vers de farine préfèrent les environnements sombres car cela les protège des prédateurs et de la déshydratation. Les zones humides leur fournissent l'humidité nécessaire à leur survie, bien qu'ils puissent également proliférer dans des environnements moins humides s'ils ont accès à une source d'eau.

Dans les forêts, les vers de farine se trouvent souvent sous les troncs d'arbres, les feuilles mortes, et autres débris végétaux. Ils choisissent ces endroits car ils offrent une protection et une source abondante de nourriture (Rousseau, 2022).

1.1.2. Régime alimentaire

Les vers de farine se nourrissent de matières organiques en décomposition, telles que les feuilles mortes, le bois en décomposition, et d'autres végétaux. Cette alimentation aide à recycler les nutriments dans l'écosystème, jouant un rôle crucial dans la décomposition et le recyclage des matières organiques. Bien qu'ils préfèrent les matières en décomposition, les vers de farine peuvent également se nourrir de grains, de farine, et d'autres produits céréaliers lorsqu'ils sont trouvés dans des environnements humanisés comme les greniers et les silos.

En se nourrissant de matières en décomposition, les vers de farine contribuent à la décomposition et au recyclage des nutriments dans les écosystèmes forestiers. Ils sont également une source de nourriture pour de nombreux prédateurs, tels que les oiseaux, les petits mammifères, et d'autres insectes. *Tenebrio molitor* joue un rôle essentiel dans les écosystèmes forestiers, contribuant à la décomposition des matières organiques et servant de lien important dans la chaîne alimentaire.

1.1.3. Biologie

Les vers de farine sont principalement nocturnes, ce qui signifie qu'ils sont plus actifs la nuit, période pendant laquelle ils cherchent de la nourriture et évitent les prédateurs. Le cycle de vie du *Tenebrio molitor* comprend quatre stades : œuf, larve (ver de farine), nymphe, et adulte (coléoptère). Les larves sont le stade le plus long et celui pendant lequel ils se nourrissent activement.

L'insecte en phase larvaire, sert conventionnellement d'aliment de premier choix vis-à-vis de l'apport en protéines ; En pisciculture l'élevage à l'intensif de poissons les larves sont utilisés comme source de protéines dans l'alimentation des poissons d'eau douce et d'eau de mer. Il en est de même pour les poissons d'ornement en aquarium. En aviculture, Ils sont également utilisés dans l'alimentation des volailles et d'autres animaux d'élevage pour leur haute teneur en protéines et en matières grasses.

1.1.4. Rôle en industrie pharmaceutique

Certains composés bioactifs et protéines intéressantes peuvent être extraits des vers de farine à des fins pharmaceutiques ou médicales, bien que cela soit encore à un stade de recherche. Le *Tenebrio molitor*, ou ver de farine, possède une carapace de nature chitineuse qui joue plusieurs rôles essentiels pour sa survie et sa fonction biologique. La chitine est un polysaccharide robuste et flexible qui constitue l'élément principal de l'exosquelette des insectes ; dans le sol, les résidus de chitine dans le sol issus de la dégradation du cadavre de l'insecte, peut jouer le rôle de stimulateur du système défensif chez la plante, au niveau des racines et de la tige montrant un renforcement des enveloppes externes.

La chitine peut être récupérée en élevage intensif, puis réorientée vers de maintes utilisations pharmacologiques.

1.1.5. Production secondaire et valorisation des sous-produits

L'insecte en élevage intensif, produit des excréments ou déchets initiaux exceptionnellement intéressants vis-à-vis de leur aspect sec et extrêmement utilisé comme biocompost pour l'amendement des sols agricoles appauvris par une éventuelle sur-exploitation

1.2. Valorisation des sous-produits de l'élevage du ver de farine

Nous avons évoqué plus haut, que l'élevage des nectes à intérêt alimentaire est en croissance continue depuis quelques années à l'échelle nationale ; il en résulte le dégagement de déchets organiques représentés par les excréments de ces petits insectes, sous forme de Guano

2.1.1. Engrais organique

Les excréments de vers de farine sont riches en nutriments tels que l'azote, le phosphore et le potassium, ce qui en fait un excellent engrais organique. Il peut améliorer la fertilité du sol, améliorer l'absorption des nutriments par les plantes et favoriser une croissance saine.

2.1.2. Conditionneur de sol

Outre leur teneur en éléments nutritifs, les excréments de vers de farine améliorent la structure du sol et la capacité de rétention d'eau, qui sont cruciales pour la croissance des plantes.

2.1.3. Lutte biologique

Certaines études suggèrent que les excréments de vers de farine peuvent avoir des propriétés insecticides et répulsives contre les ravageurs, servant potentiellement d'insecticide naturel ou de dissuasion contre les ravageurs en agriculture.

2.1.4. Durabilité environnementale

Dans certains cas, les excréments de vers de farine peuvent être utilisés comme complément alimentaire pour le bétail, fournissant des nutriments supplémentaires et améliorant potentiellement les taux de conversion alimentaire.

2.1.5. Le recyclage

des excréments de vers de farine provenant des opérations d'élevage de vers de farine contribue à la durabilité environnementale en réduisant les déchets et en utilisant efficacement les sous-produits naturels.

Dans l'ensemble, la valorisation des excréments de vers de farine offre de multiples avantages dans les domaines de l'agriculture, de l'élevage et de la durabilité environnementale, démontrant son potentiel en tant que ressource précieuse dans diverses applications.

1.3. Besoins nutritionnels plantes et amendement du sol

3.1.1. Besoins majeurs de la croissance végétale

Justus Von Liebig (1803-1873), chimiste allemand, montre l'importance de l'azote dans la nourriture des plantes, et développe un engrais azoté dans son laboratoire, le premier du genre. De son côté, l'agronome britannique, John Bennet Lawes (1814-1900), met au point sur sa ferme expérimentale le superphosphate, nouvelle rampe de lancement des engrais chimiques pour que les paysans n'aient plus à épandre le fumier dans leurs champs.

La combinaison des travaux sur les engrais azotés, phosphatés et potassiques a conduit à la création des engrais NPK. Les premiers engrais NPK commercialement disponibles ont été développés au début du XXe siècle, alors que la science de la fertilisation des sols et des plantes progressait et que les industries chimiques étaient capables de produire et de combiner ces nutriments à grande échelle

Wilhelm Knop (1817-1891), chimiste agricole allemand, a déterminé, en 1861, les besoins nutritifs précis des plantes vertes nécessaires à leur croissance, notamment pour une culture hydroponique. Il s'agissait de 4 éléments correspondant aux lettres de son patronyme :

K : potassium, N : azote ; O : oxygène, P : phosphore.

Azote, phosphore et potasse, les 3 composants sont devenus la base des engrais chimiques sous forme de sels solubles directement assimilables, permettant d'obtenir de gros rendements mais avec des risques importants de lessivage vers les nappes phréatiques et les cours d'eau.

3.1.2. Oligoéléments

Les oligoéléments comprennent le bore, le cuivre, le fer, le manganèse, le molybdène et le zinc. Les végétaux utilisent ces éléments en beaucoup plus petites quantités que les macroéléments (azote, phosphore, potassium, calcium et magnésium). Les quantités

nécessaires étant tellement petites, il est en général inutile de faire des apports systématiques d'oligoéléments. Il reste que les carences doivent absolument être corrigées, car les oligoéléments sont indispensables à la croissance des végétaux.

Les concentrations d'oligoéléments dans le sol sont habituellement beaucoup plus faibles que celles des macroéléments. Le pH du sol ainsi que ses teneurs en matière organique, en argile et en minéraux peuvent influencer considérablement la biodisponibilité des oligoéléments. En conséquence, l'analyse de sol donne une idée moins précise de la biodisponibilité des oligoéléments que de celle des macroéléments.

3.1.3. Le rôle des micro-organismes du sol en agriculture

La révolution verte du XX^e siècle a permis une forte hausse de la production alimentaire mondiale. Celle-ci a été principalement marquée par deux évolutions: l'utilisation de produits chimiques (par exemple pesticides, engrais chimiques) et l'amélioration des cultures à l'aide de la sélection ciblée et de la modification génétique. Cependant, les résultats obtenus avec les produits phytosanitaires chimiques sont associés à des coûts environnementaux élevés. Depuis plusieurs années, les appels se font de plus en plus pressants en faveur de la diminution de l'utilisation de produits chimiques dans l'agriculture et du développement de systèmes agro-alimentaires plus durables, tant du point de vue environnemental que de la santé humaine. L'utilisation d'intrants microbiens et la promotion des communautés microbiennes en tant que méthode naturelle à faible impact environnemental constituent une approche prometteuse pour atteindre ces objectifs

PROTOCOLE EXPERIMENTAL

2.1. Objectifs et Principe de travail

Ce projet est axé sur le ver de farine comme modèle agro-écologique par excellence ; connu sous le nom systématique de *Tenebrio molitor*, le ténébrion meunier est très utilisé en recherche scientifique pour étudier divers aspects de la biologie des insectes, notamment la nutrition, la digestion, et comme modèle pour étudier la biodégradation de certains polluants complexes dans la nature. D'un cycle de vie assez court, à côté de la facilité et le coût bas de son élevage, cela fait penser à une multiplication exponentielle des bénéfiques de l'exploitation, Cet insecte est inoffensif pour l'humain et facile à élever.

Dans le but de valoriser les déchets organiques récupérés à la fin de son cycle de vie, nous avons installé une ferme expérimentale miniaturisée pour l'élevage de l'insecte pour pouvoir étudier sa qualité physicochimique et microbiologique.

2.2. Matériel et méthodes

La disponibilité du matériel biologique sur le marché Algérien, nous a permis d'acquérir des milliers de larves, fournies par poids de biomasse sous le nom de « ver de farine », à travers un réseau commercial facilité. Le matériel d'élevage et d'entretien de l'insecte nécessite des moyens abordables ; il se limite à des caissons ou récipients de moyennes dimensions contenant quelques centimètres de son d'avoine ou d'autre variété de céréale. Les conditions environnementales sont ajustées et stabilisées selon les préférences de l'insecte au niveau du laboratoire.

2.2.1. Matériel biologique

Tenebrio molitor est un insecte de couleur brune à noirâtre, mesurant environ 1 à 2 centimètres de longueur à l'état adulte (voir figure 1). Il possède un corps segmenté avec six pattes et des antennes courtes. durant son cycle de vie, il subit une métamorphose complète, passant par les stades d'œuf, de larve, de nymphe et d'adulte (à droite).



Fig.1. morphologie de *Tenebrio molitor*, à l'état larvaire et en phase adulte

Les larves (à gauche) sont blanchâtres avec une tête brune et se nourrissent principalement de matières végétales et de débris organiques.

2.2.2. Conditions d'élevage

Nous avons effectué l'élevage de l'insecte au niveau du laboratoire de zootechnie de notre faculté ; les larves juvéniles de *Tenebrio molitor* ont été installées dans une étuve réglée à une température de 20°C. suivant le protocole d'élevage (Baudin et Butruille, 2020).

Les prises de poids ont été prises à l'aide d'une balance de précision, suite à une séparation par tamisage à dimension de maille : 3 niveaux d'élevage ont été notés chez les larves selon leur taille et leur taille ; au stade précoce appelé L1 2mm (age1) ; les larves en phase L2 varient entre 2,5 mm (Age2) 3mm (âge3) tandis que la phase L3 comparé à la phase chrysalide correspond à une moyenne de 3,5mm de diamètres.



Fig.2. le ver de farine trié en fonction de l'age des individus, depuis la larve (à gauche), jusqu'à l'âge adulte ou scarabée (à droite), passant par la phase Chrysalide.

Un groupe de larves de ténébrion ont été nourries avec du son d'avoine ; es larves de chaque groupe sont pesées régulièrement (voir figure3).



Fig.3. pesée d'aliment constitué de son d'avoine, en fonction du poids de la biomasse

2.2.3. Suivi et entretien

Pour une biomasse larvaire de 40grammes, il a été fourni comme aliment de base, du son d'avoine à raison de 40 grammes par parcelle d'élevage ; Le xénobiotique à 2 grammes suivant le schéma simplifié ci-dessous



Fig.4. Conditions d'élevage montrant la capacité du ver de farine à dégrader certains polymères synthétiques

2.2.4. Analyses physicochimiques et microbiologiques de l'engrais

Afin de déterminer sa composition en éléments majeurs, éléments mineurs, oligoéléments ainsi que certains facteurs de croissance, des analyses physicochimiques de notre produit ont été effectuées dans un laboratoire externe à défaut de matériel suffisant pour y procéder au niveau des laboratoires pédagogiques. A côté des mesures des taux de matières sèche et organique totales, le ph et la salinité du biofertilisant ont été mesurés. Nous avons également procédé à l'analyse des composants nutritifs majeurs tels que l'azote total et le phosphore et le soufre, à côté des éléments minéraux mineurs dont le potassium, le calcium le magnésium et le fer. Les oligoéléments ont été également analysés, tels que le manganèse, le cuivre et de Zinc.

2.2.5. Analyse microbiologique

Une analyse microbiologique visant à mettre en évidence les bactéries constituant la microflore naturelle du biofertilisant étudié ; d'autres microorganismes non bactériens ont été également détectés. L'objectif est de révéler le rôle de cette microflore à promouvoir la croissance végétale pour un meilleur rendement agricole.

→ Préparation des émulsions

Deux échantillons ont été préparés dont le premier représente l'aliment du ver de farine et le second, constitue notre biofertilisant ou Guano. En effet, l'aliment sert de témoin pour justifier la nature des microorganismes mis en évidence. Un volume de 15ml d'eau physiologique stérile a été additionné à 1gramme d'échantillon solide, dans un tube à essai stérile à visse (voir figure 5). Les tubes à essai sont ensuite vortexés puis incubés pendant 6 heures afin de permettre la diffusion des microorganismes dans la colonne d'eau pour obtenir une suspension microbienne.

48 heures après incubation à 20- 24°C. Cet examen est suivi régulièrement jusqu'à la colonisation des appâts.



Fig.5. transformation des échantillons solides en suspensions microbiennes par émulsion dans de l'eau physiologique stérile.

Par la suite un volume de 0,2 ml de chaque suspension est ensemencé sur un nombre de boîtes de pétri contenant chacune un milieu de culture spécifique.

→ **Mise en culture**

Cette Opération est renouvelée une dizaine de fois au moins afin d'obtenir des filaments mycéliens Les cultures ainsi obtenues sont repiquées plusieurs fois de suite sur les milieux PDA, Sabouraud et gélose nutritive. Les boîtes sont incubées dans l'obscurité à température ambiante.

En fonction de la disponibilité des milieux de culture microbiologique au niveau des laboratoires pédagogiques, nous avons également utilisé des milieux sélectifs pour ensemenecer les échantillons bruts afin de pouvoir isoler des bactéries spécifiques

→ **Culture des microorganismes fongiques**

- L'isolement des bactéries a été effectué à partir de l'eau brute directement transportées du lac vers le laboratoire, tout en respectant la chaîne de froid ; à partir de l'eau concentrée que se soit par centrifugation ou par filtration sur membrane.
- Etalement sur milieux gélosés : Un ml de chaque échantillon est étalé sur différents milieux gélosés, PCA (Potato Carrot Agar), CMA (Corn Meal Agar) et PDA (Potato Dextrose Agar).
- Des portions de 1ml sont pipetées de chaque échantillon et déposées dans des boîtes de pétri puis elles sont mélangées avec 15ml de PDA bouilli et refroidi à 45°C.
- 15ml de l'échantillon à étudier sont mis dans une boîte de pétri stérile en présence de l'un des Graines, préalablement stérilisées, destinées au piégeage des zoospores présentes dans les Échantillons. Ces cultures sont examinées au microscope 48 heures après incubation à 20- 24°C.

→ **Isolement d'autres microorganismes**

→ **Conditions d'incubation**

Les boîtes de Pétri repiquées (dans les mêmes conditions sus décrites) sont étanchéifiées grâce à un film de paraffine, puis sont placées dans un incubateur obscure et à 20°C. La croissance mycélienne est contrôlée quotidiennement. Les boîtes destinées à la conservation sont placées dans un réfrigérateur à 4°C, après quelques jours de culture.

→ **Identification microscopique**

La coloration de Gram est la méthode de coloration la plus utilisée en bactériologie médicale; elle permet de colorer les bactéries et de les distinguer à l'examen direct par leur aptitude à fixer le violet de Gentiane (Gram +) ou la Fuschine (Gram -). L'intérêt de cette coloration est de donner une information rapide et médicalement importante.

Le violet phénique : violet de gentiane (Crystal de violet) + alcool absolu + eau phéniquée-
liquide de Lugol : iode + iodure de potassium + eau distillée- alcool 96° (agent de décoloration)-
solution de fuschine ou de safranine (colorant de contraste) : solution de fuschine saturée a l'alcool+eau distillée

Microscope optique, lame, bec de bunsen, pipette pasteur, anse de platine, huile de cèdre, ainsi que le matériel habituel du laboratoire de Microbiologie.

→ **Préparation du Frottis**

En effectuant une fixation simple à l'eau et à la flamme selon les indications suivantes : sur une lame, déposer une goutte d'eau stérile. Ajouter à l'anse de platine stérilisée une goutte de la colonie isolée. Étaler et fixer à la chaleur à environ 40°C pendant 10 à 15 minutes. Poser la lame séchée sur le portoir reposant sur un bac de coloration.

→ **Réalisation de la coloration**

1-Coloration primaire : Coloration par le violet de gentiane ou cristal violet. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Rincer à l'eau déminéralisée.

2- Mordantage au lugol (solution d'iode iodo-iodurée): étaler le lugol et laisser agir 60 secondes ; Rincer à l'eau déminéralisée. On peut réaliser une deuxième fois l'opération identiquement pour plus de sécurité.

3- Décoloration (rapide) à l'alcool verser goutte à goutte l'alcool ou un mélange alcool-acétone sur la lame inclinée obliquement, et surveiller la décoloration (5 à 10 secondes). Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau déminéralisée.

4- Contre-coloration à la safranine ou à la fuchsine. Laisser agir de 30 secondes à 1 minute. Laver doucement à l'eau déminéralisée. Sécher la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 min

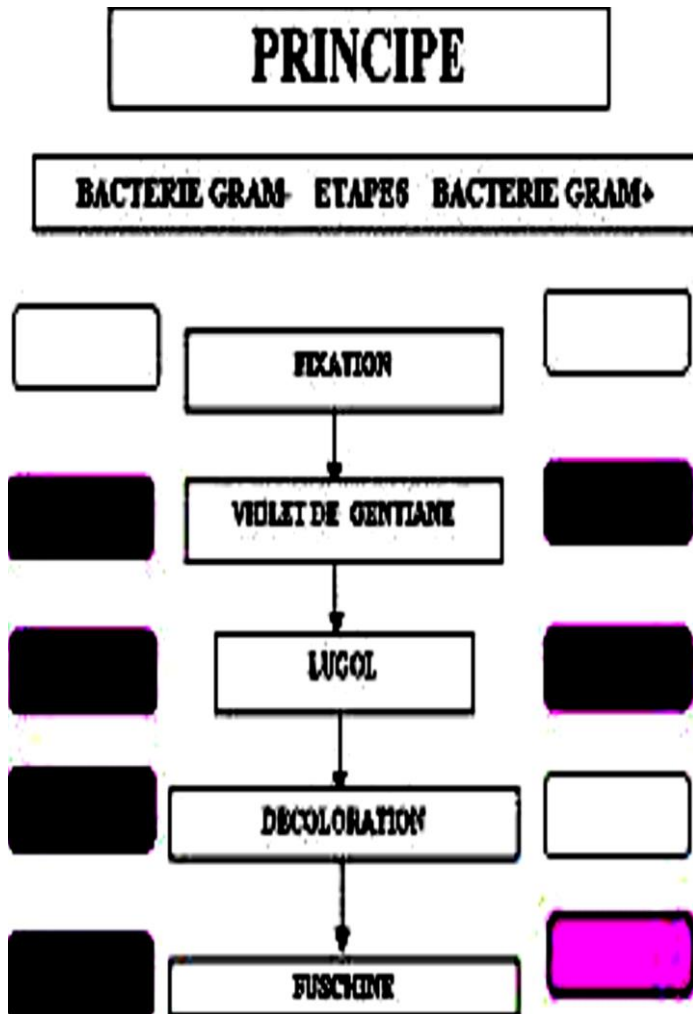


Fig.6. principe de la coloration de Gram.

→ **Obbervation microscopique**

Les lames ainsi préparées ont été observées au microscope optique de marque Olympus BX50 à un grossissement de 1000 fois, à immersion avec de l'huile de ricin.



Fig.2.4. Microscope utilisé en observation des frottis microbiologiques après coloration de Gram.

2.2.6. Identification biochimique

De nouvelles galeries d'identification biochimique des bactéries sont développées après la galerie API classique, remplacent le microtube par un simple tube ou cupule. Elles sont reconnues par le nom de système API, que nous avons utilisées dans notre étude d'une façon très restreinte en fonction de leur disponibilité au laboratoire. Il s'agit seulement des galeries API 20 E destinées à l'identification des entérobactéries.

Pour les non entérobactéries, nous nous sommes contenté des quelques tests manuels pouvant révéler le genre seulement



Fig.7. galerie API20Eensemencée et étuvée dans son support plastique

Les creux du support de la galerie doivent être remplis d'eau pour former une chambre humide, puis la galerie est posée dans le support et le couvercle par-dessus. L'ensemble est incubé à une température adaptée pendant 24 à 48 h.

Après addition éventuelle des réactifs nécessaires à la révélation de différents tests, la galerie est lue conformément aux indications du fabricant. Pour cela, les tests sont groupés par trois successivement de gauche à droite, les derniers triplets pouvant inclure des caractères bactériens comme la morphologie, le Gram, la mobilité, l'oxydase, la catalase, etc. qui ne sont étudiés dans la galerie mais qui sont indispensables à son interprétation.

Utilisation de la galerie biochimique miniaturisée

Ils sont remplis d'une suspension bactérienne calibrée (de densité différente selon la galerie). Pour les substrats dont le sigle est encadré, la cupule doit aussi être remplie de manière à créer un ménisque pour réaliser l'aérobiose. Pour les substrats dont le sigle est souligné, la cupule doit être remplie d'huile de paraffine soit pour créer l'anaérobiose (absence d'oxygène), soit pour maintenir en solution les molécules ou ions volatils produits par la réaction et ainsi assurer le virage de l'indicateur coloré.

RESULTATS ET DISCUSSION

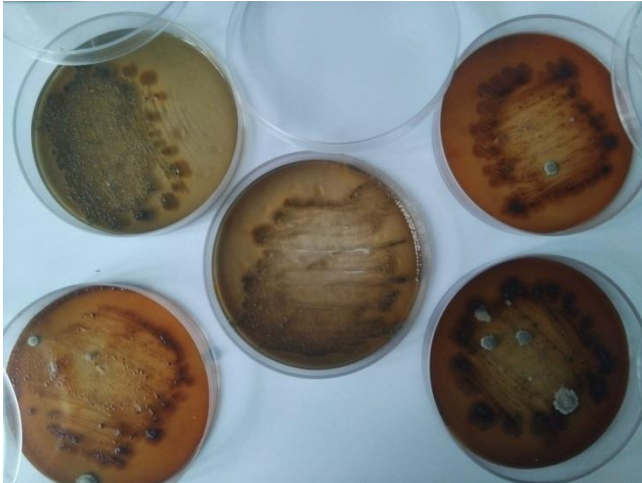
3. Résultats et discussion

Les résultats ci-dessous fournissent de l'information adaptée à la qualité physicochimique et microbiologique du *Tenebrio molitor* (ver de farine), voici un résumé basé sur des données typiques issues de la littérature scientifique et des analyses de laboratoire.

3.1. Analyse Physicochimique Eléments nutritifs

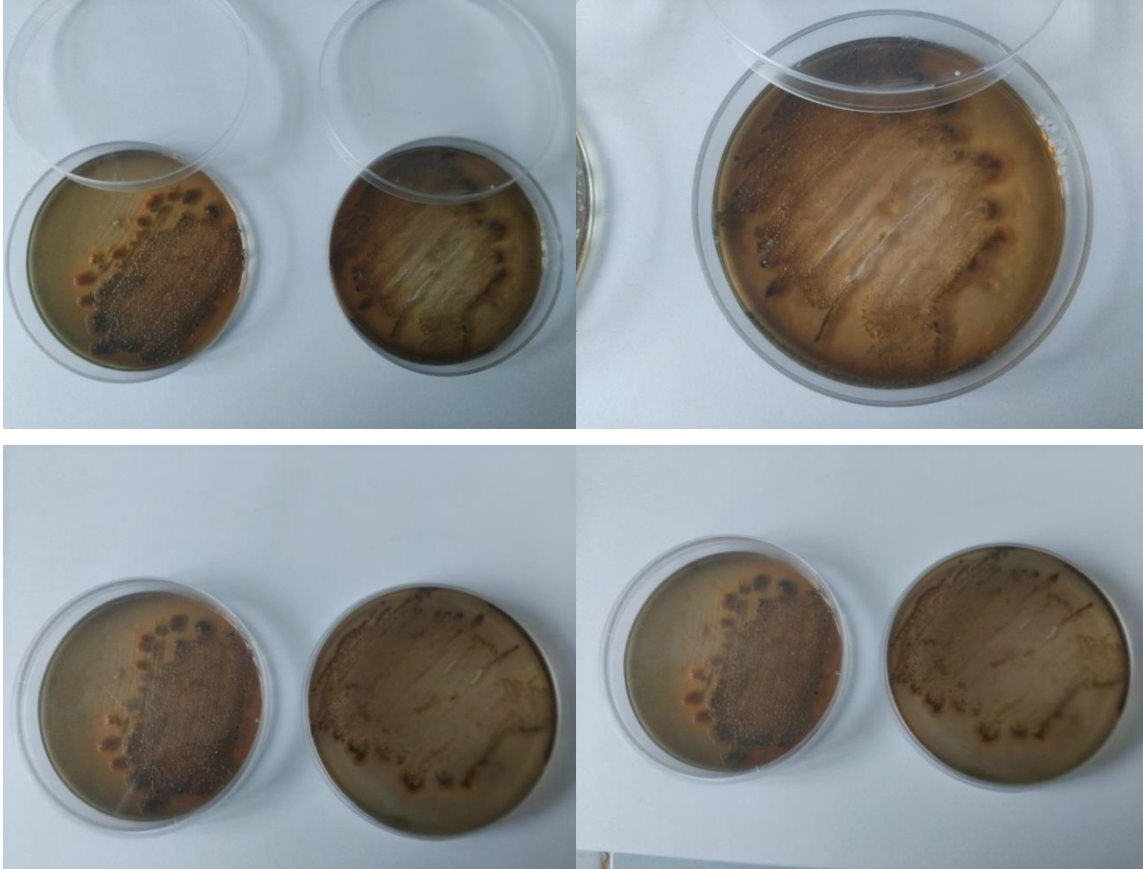
Elément chimique	Mesure
Nitrogène	3.19%
Phosphore	2.45%
Potassium	3.52%
Calcium	2.34%
Magnesium	0.42%
Soufre	0.25%
Fer	780ppm
Manganèse	112ppm
Zinc	72ppm
Cuivre	5ppm
Salinité	0.15%
Bore	37.34ppm
Chloride	0.55%
Nitrogène ammoniacal	1068ppm
Taux d'humidité	2.10%
Carbone organique	15.40%
Matière organique	34.43%

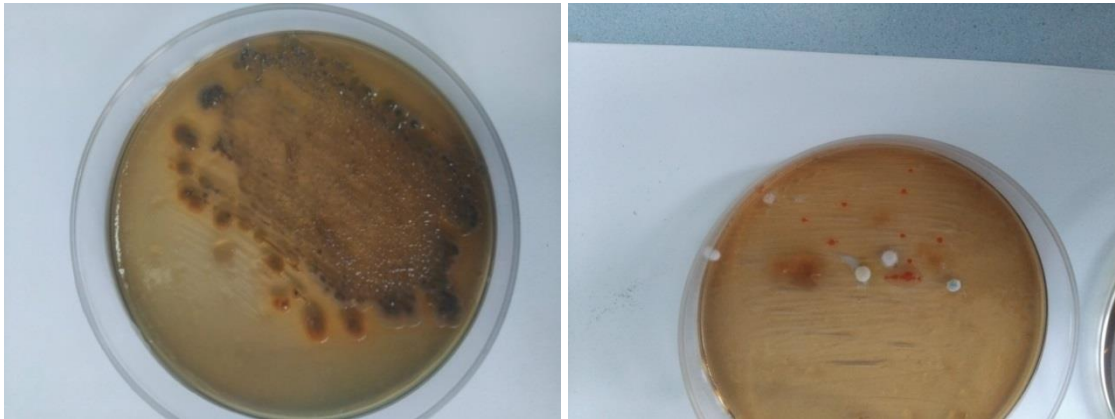
3.2. Résultats de l'analyse microbiologique du biofertilisant



Analyse qualitative

Microbial viable counts highlighted low microbial contamination of the wheatmeal, whereas larvae and frass were characterized by high loads of Enterobacteriaceae, lactic acid bacteria, and several species of mesophilic aerobes. Spore-forming bacteria were detected to a lesser extent in all the samples.





The combined molecular approach used to profile the microbiota confirmed the low microbial contamination of wheatmeal and allowed the detection of *Enterobacter* spp., *Erwinia* spp., *Enterococcus* spp. and *Lactococcus* spp. as dominant genera in both larvae and frass. Moreover, *Klebsiella* spp., *Pantoea* spp., and *Xenorhabdus* spp. were found to be in the minority. Entomoplasmatales (including *Spiroplasma* spp.) constituted a major fraction of the microbiota of one batch of larvae. *C. burnetii* or STEC, whereas *P. aeruginosa* was detected in one sample of frass. Based on the overall results, two sources of microbial contamination were hypothesized, namely feeding with wheatmeal and vertical transmission of microorganisms from mother to offspring. Since mealworms are expected to be eaten as a whole, the overall outcomes collected in this laboratory study discourage the consumption of fresh mealworm larvae.

Tab.2. révélation de la présence ou pas des bactéries mises en évidence dans la composition du biofertilisant, comparé au témoin

Bactéries	Echantillon Témoin (aliment)	Echantillon bifertilisant
<i>Klebsiella</i>	+	+
<i>Erwinia</i>	–	+
<i>Escherichia</i>	+	+
<i>Enterobacter</i>	–	+
<i>Lactococcus</i>	+	+
<i>Citrobacter</i>	–	+
<i>Pseudomonas</i>	–	+

<i>Entérocooccus</i>	–	+
<i>Xenorhabdus</i>	+	–
<i>Pantoea</i>	+	–

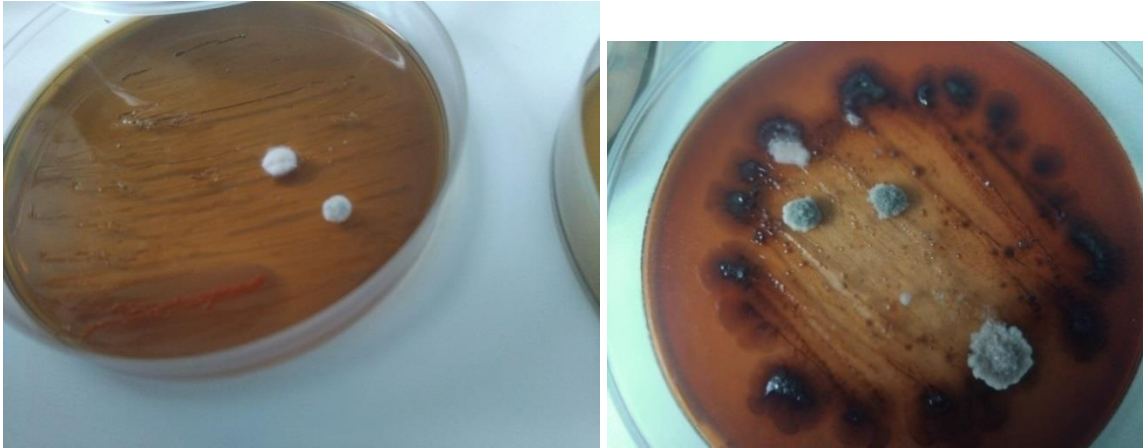


Tab.3. révélation de la présence ou pas des levures et moisissures mises en évidence dans la compositin du biofertilisant, comparé au témoin

Levures	Echantillon Temoin (aliment)	Echantillon bifertilisant
<i>Candia sp.</i>	+	+
<i>Botrytis sp.</i>	–	+
<i>Mucor sp.</i>	+	–
<i>Rhizpus sp.</i>	+	–

Identification d'actinomycètes

Comparés aux bactéries muqueuses, la densité des actinomycètes était relativement réduite et présente aussi bien dans l'aliment que dans les excréments de ver de farine. Les espèces de *Micromonospora* ont été isolées uniquement à partir des sols très humides. La distribution quantitative et qualitative des actinomycètes est sous l'influence de certains facteurs morphologiques et pédologiques des différents horizons, dont en plus de la profondeur, la quantité et la qualité de la matière organique, la richesse en argiles, l'humidité et les cultures. La dégradation des acides humiques (AH) a été déterminée chez plusieurs souches, à savoir, les espèces *St. chartreusis* qui prédominent dans les différents échantillons des sols. La disparition rapide de la matière organique dans ces sols semble être due à l'activité extraordinaire de la biodégradation des AH.



Les actinomycètes constituent une partie importante de la microflore tellurique et présentent une adaptation et une résistance à certaines conditions très hostiles (Dommergues et Mangenot, 1970 ; Cross, 1980 ; Goodfellow et Williams, 1983 et Ishizawa et Araragi, 1976). Les actinomycètes ont un rôle très important dans le secteur pharmaceutique (kuster, 1976). Ils peuvent également être pathogènes et nuisibles (Mishra et *al.*, 1980 et Lacery, 1981).

La détermination et la distribution écologique des espèces dans les horizons de surface et profonds, aussi bien quantitative que qualitative. Nous vérifions aussi le rôle important des actinomycètes dans la fertilité du sol La microflore tellurique mésophile est dénombrée par la méthode classique de suspension-dilution par l'application de quatre répétitions pour assurer la représentation des germes. Les milieux de culture utilisés sont les suivants : Chitine-Agar (Linggappa et Lockwood, 1968) additionné de 50

mg/l d'actidione pour le dénombrement des actinomycètes et gélose nutritive contenant 100 mg/l d'actidione pour la numération des bactéries ou bien 50 mg/l de chloramphénicol pour le comptage des champignons. Revue des Régions Arides -Numéro spécial- Actes du séminaire international : Gestion des ressources et applications biotechnologiques en aridoculture et

Les actinomycètes représentent en effet, une microflore tellurique présente à raison de 1 et 3 millions d'unités en surface du sol . Elle diminue nettement en fonction de la profondeur pour atteindre des valeurs entre 100 mille et 1million à 40-50 cm, et 40-100 mille à 90-100 cm. La détermination de 273 isolats d'actinomycètes a montré une importante diversité (13 genres et 78 espèces). Parmi les espèces identifiées, quatre ont présenté des critères morphologiques, physiologiques et chimiques différents de ceux décrits dans la littérature. Le genre *Streptomyces* est majoritaire, suivi, de loin des *Nocardioïdes* et *Saccharothrix*. Les espèces

dominantes par ordre décroissant d'importance sont : *Streptomyces chartreusis* et *Nocardioides albus*, trouvées dans la plupart des horizons, en surface et en profondeur.



Fig..

Test de rendement sur une culture expérimentale

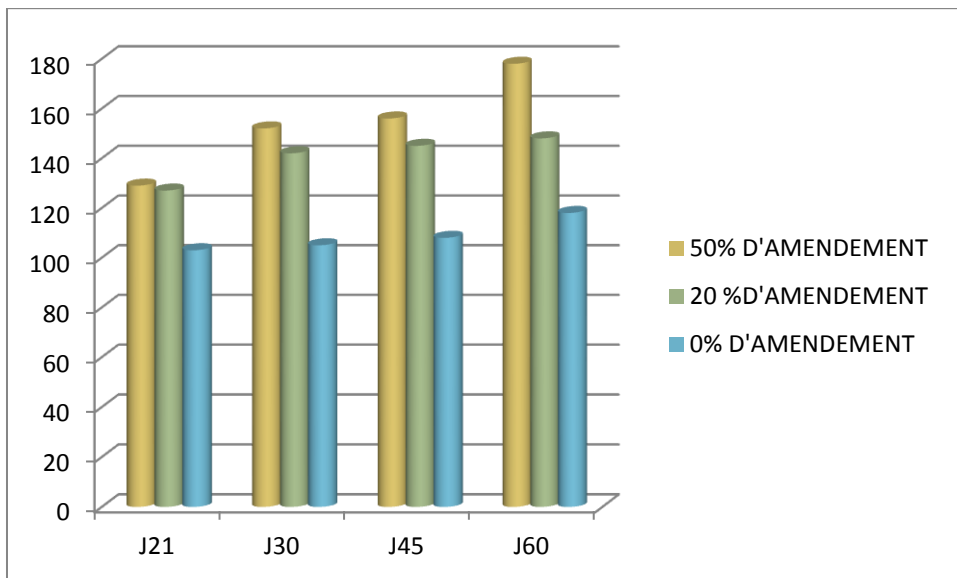


Fig.. mesures biometriques prises à partir d'un essai de rendement sur la plante Impact sur la qualité du sol agricole dans la region de l'Oubeira

1. Estimation du rendement dusol amélioré sur une culture d'arachides dans la region de l'Oubeira

Discussion

Résultats et discussion

La croissance rapide de la population mondiale, qui devrait dépasser les 9 milliards en 2050 selon l'Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO),

L'engrais le plus polyvalent a un dosage identique pour les 3 valeurs (10-10-10) alors qu'un engrais fort sera plutôt 20-10-10, correspondant pour chacun des composants au pourcentage de la masse.

Azote (N)

L'azote (N) est indispensable à la croissance des végétaux, il favorise surtout la pousse des parties vertes de la plante (tiges et feuilles), leur précocité et leur développement. Composant important de la chlorophylle qui donne la couleur verte aux plantes, sans laquelle la photosynthèse ne peut se faire, l'azote insuffisant peut donc entraîner le jaunissement des plantes qui restent chétives, et un développement lent. Pourtant l'air est composé de deux tiers d'azote, mais à part les légumineuses qui parviennent à le capter pour le stocker dans les nodules de leurs racines, les autres végétaux doivent donc trouver cet azote indispensable, non pas dans l'air mais dans le sol.

Outre les légumineuses, de nombreux micro-organismes du sol absorbent l'azote de l'air pour le restituer aux plantes : il s'agit du réseau trophique de la rhizosphère. Ils se nourrissent de matières végétales ou d'autres micro-organismes, et se reproduisent, multipliant ainsi la quantité d'azote, y compris lorsqu'ils meurent puisque l'azote qu'ils contiennent se trouve alors libéré. Lorsque vous ajoutez du compost à votre sol, vous contribuez à renforcer la teneur en azote de votre sol, sur le temps long.

Les jardiniers pressés, tout comme les agriculteurs des années 1950 fascinés par le pouvoir de la chimie, préfèrent opter pour des engrais azotés de synthèse dont l'effet est rapide. Malheureusement, ils anéantissent les vers de terre et autres micro-organismes qui constituent le précieux réseau trophique.

Si vous souhaitez malgré tout apporter des fertilisants azotés, en cas de grosse carence du sol par exemple, choisissez des engrais organiques d'origine végétale ou animale (sang séché, guano, farine de plume...

Phosphore (P)

Le phosphore (P) joue sur la formation des fleurs et des graines et sur le développement racinaire. Il participe également au processus de photosynthèse et renforce la résistance naturelle des plantes aux agressions quelles qu'elles soient. Si les plantes manquent de phosphore, leur croissance ralentit et leurs feuilles les plus anciennes prennent une couleur qui tire sur le violet.

La circulation du phosphore, quasiment inexistante, n'a rien à voir avec celle de l'azote : il faut donc que les plantes le trouvent sur place, au sein même de leur rhizosphère. Le phosphore se trouve dans le sol, mais les plantes ne peuvent pas en disposer facilement car il est lié à l'argile, au fer, à l'aluminium : il faut donc l'altération de la roche-mère, grâce aux micro-organismes des matières organiques ajoutées dans le sol qui vont permettre de décomposer la roche pour rendre le phosphore absorbable par les plantes. Les champignons et les mycorhizes du sol participent aussi à transporter le phosphore jusqu'aux racines des plantes.

Le pH du sol joue aussi un rôle : s'il est trop éloigné de 6-7, il séquestre le phosphore. Quant à l'azote, si une carence est constatée, cela va nuire à l'assimilation du phosphore. Donc si vous ajoutez du phosphore, dans ces cas-là, celui-ci ne profitera pas aux plantes.

Au cas où vous seriez tentés d'ajouter à votre sol des engrais chimiques riches en phosphore, ayez bien conscience qu'ils vont détruire la rhizosphère et ses mycorhizes, à la base de la circulation du phosphore jusqu'au système racinaire des plantes.

Supplémenter votre sol en phosphore, si besoin en cas de sol très dégradé, peut se faire par l'utilisation d'engrais naturels à libération lente tels que le guano de chauve-souris, la farine d'os et d'arêtes de poissons, la poudre de granit, ou encore le fumier de cheval ou de vache, le premier étant plus riche en phosphore et azote, le second étant plus équilibré.

Potasse (K)

La potasse (K) permet la floraison et le développement des fruits et de tous les organes de réserve tels que les racines et les tubercules, permettant une meilleure résistance à la sécheresse. La coloration des fleurs et des fruits est améliorée ainsi que la résistance aux

maladies. Une plante carencée en potassium se flétrit, reste chétive et voit le bord de ses feuilles jaunir avant de chuter.

- Des études extrêmement approfondies ont prouvé la capacité du tenebrion meunier à déchiqueter le polystyrène
- Notre étude vient confirmer que le polystyrène est le mieux assimilé par cette larve, comparé au papier et au plastique de faible densité (sachets noirs)

- Ce guano semble miraculeusement booster la croissance végétale sur un terrain amélioré à 50% de ratio,
- Il renforce la rigidité de la paroi végétale externe, première barrière immunitaire contre diverses formes d'agression biotique et/ou abiotique

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Conclusion

À l'issue de cette étude expérimentale révélant la composition microbienne d'un échantillon de bio-déchets vert sous-produit d'élevage du ver de farine et, à la lumière des résultats obtenus nous constatons que les microorganismes identifiés qu'ils soient bactériens ou fongiques, sont en majorité des ubiquistes ou d'origine intestinale

Les bactéries du genre *Lactococcus* représentent les seules bactéries réputées pour leur effet probiotique, bénéfique dans le domaine agroalimentaire

A l'exception du genre *Pseudomonas* sp. la majorité des bactéries mises en évidence ne sont pas listées dans le groupe des phyto-stimulatrices de la croissance végétale ; leur rôle serait plutôt phytoprotecteur et peuvent jouer un rôle dans la formation de biofilms protecteur de la racine

Le bilan physico-chimique révèle une qualité supérieure en termes d'apport nutritif pour les sols appauvris, tandis que la microflore intestinale de l'insecte ne renferme pas de véritables bactéries fertilisantes. Le rôle de cette microflore dans le sol serait lié au renforcement de son système défensif ou immunitaire.

Perspectives

Reconnus comme étant des polluants non dégradables ; nous avons sélectionné trois divers produits d'emballage retrouvés abondamment dans la nature, à savoir le papier carton, le polystyrène et le plastique de faible densité ; afin de les incorporer dans le régime alimentaire habituel de la larve en particulier ;

Les éléments choisis pour effectuer cette partie de l'étude, représentent de véritables polluants, dont la présence ne fait qu'augmenter dans la nature avec la difficulté de s'en débarrasser par des moyens écologiques. Les vers de farine peuvent être utilisés pour décomposer et recycler les déchets organiques, tels que les résidus de cultures, le fumier et les sous-produits alimentaires. Cela en fait des agents de compostage efficaces.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

1. Rousseau, Z. 2022 ; Des insectes mangeurs de plastiques à l'étude de la biodégradation des polymères par les micro-organismes de leurs tubes digestifs
Faculté : Gembloux Agro-Bio Tech (GxABT) ; Master en bioingénieur : sciences et technologies de l'environnement, à finalité spécialisée Année académique : 2021-2022
URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/15459>.
2. Journal officiel de l'Union européenne ; RÈGLEMENT D'EXÉCUTION (UE) 2022/169 DE LA COMMISSION du 8 février 2022 autorisant la mise sur le marché des formes congelée, séchée et en poudre de vers de farine (larves de *Tenebrio molitor*) en tant que nouvel aliment en application du règlement (UE) 015/2283 du Parlement européen et du Conseil et modifiant le règlement d'exécution (UE) 2017/2470 de la Commission.
3. Bo-Yu Peng, Zhibin Chen, Jiabin Chen, Huarong Yu, Xuefei Zhou, Craig S. Criddle, Wei- Min Wu, Yalei Zhang .2020. Biodegradation of Polyvinyl Chloride (PVC) in *Tenebrio molitor* (Coleoptera: Tenebrionidae) larvae. *Environment International* 145 (2020) 106106.
4. Cal M. 2021. Locomotive Fitness Costs of *Tenebrio Molitor* Larvae Reared on a Polystyrene Diet. A Research Thesis Presented to The Faculty of the Biology Department. Adelphi University.
5. Fanny Langlade. Utilisation des insectes en alimentation humaine : situation actuelle, enjeux et perspectives. *Médecine vétérinaire et santé animale*. 2019. dumas-04538208
6. Oliveira Penedo A., Brück W.M., 2022 ; consommation d'aliments a base d'insectes : quelle perception dans un contexte universitaire suisse ? haute ecole des sciences agronomiques, forestieres et alimentaires, hafl. Lausanne.
- 7.