

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA

FACULTE : SCIENCES
DEPARTEMENT : SNV
N° : BVM/SNV/08/2017



DOMAINE : SNV
FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES
OPTION : BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
ET METAGENOMIQUE (BVM)

**Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique**

Par: CHAGLOUFA Khaoula

Intitulé

**Lutte biologique contre l'agent phytopathogène
(*Aspergillus niger*) via les actinobactéries
chez le maïs (*Zea mays* L.)**

Soutenu le **05/06/2017** devant le jury composé de

Dr. BOUNAR Rabah, MCA	UMB, M'sila	Président
Dr. BENDERRADJI Laid, MCA	UMB, M'sila	Encadreur
Dr. GHADBANE Mouloud, MCA	UMB, M'sila	Examineur

Année universitaire : 2016 /2017

Remerciements

Avant tous je remercie **ALLAH**, le miséricordieux, le tout puissant et le plus clément qui nous aide et nous donne le courage de tout faire.

Ces quelques lignes vont me permettre de remercier les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail soit au niveau scientifique mais aussi personnel, et sans qui, mon travail n'aurait pu aboutir.

J'adresse ma gratitude et je remercie mon Encadreur Docteur BENDERRADJI Laid à ses précieux conseils avisés, ses reconnaissances et encouragement pour être disponible de faire ce travail.

Mes remerciements sont aussi adressés aux membres de jury Mr. GHADBANE M., Mr. BOUNAR R., qui m'ont fait l'honneur en acceptant d'examiner ce travail et qu'ils acceptent ici mes sentiments de gratitude.

J'adresse un remerciement particulier à Mr BENDIF. H et Mr. HENDEL N., pour ses aides, reconnaissances, conseils.

J'exprime mes remerciements à mes amines Djamila, Siham, Fatiha, Warda, Samiha et Iman pour ses aides et reconnaissances

Finalement Je remercie mes collègues de notre promotion de BVM et tous les ingénieurs du laboratoire de biotechnologie végétale.

CHAGLOUFA Khaoula

Dédicace

Tout d'abord, louange à « **ALLAH** » qui ma guidé sur le chemin droit tout au long de ce travail et qui m'a inspiré les bons pas et les justes réflexes, sans sa miséricorde, ce travail n'aura pas aboutit.

A ma très chère mère

Autant de phrases aussi expressives soient-elles ne sauraient montrer le degré d'amour et d'affection que j'éprouve pour toi. Tu m'as comblé avec ta tendresse et affection tout au long de mon parcours. Tu n'as cessé de me soutenir et de m'encourager durant toutes les années de mes études. Qu''ALLAH'' te protèger et te donne la santé, le bonheur et la longue vie.

A mon très cher père

Pour m'avoir soutenu moralement et matériellement jusqu'à ce jour, pour leur amour, leurs encouragements. Que ce travail, soit pour vous, un faible témoignage de ma profonde affection et tendresse. Qu''ALLAH'' le tout puissant te préserve, t'accorde santé, bonheur et te protège de tout mal.

A mes sœurs « Khadidja, Houda, Souhila » Amel, Hiba et Fadia Spécialement a l'étoile et le petit de ma sœur Taym Dia Eddine.

A mes chère amies intimes Sarra, Djamila, Amel, Fatiha

A toute ma famille et mes proches .

..... *Je dédie ce travail*

CHEGLOUFA Khaoula

Sommaire

Remerciements.....	I
Dédicaces.....	II
Liste des tableaux.....	III
Liste des figures.....	V
Liste des abréviations.....	V
Résumé.....	IV
ملخص.....	IV
Introduction générales.....	1

Chapitre I: Revue bibliographique

I.1.Généralités sur le maïs.....	3
I. 2. Cycle de développement.....	3
I. 2. 1. Phase végétative.....	4
I. 2. 2. Phase de reproduction.....	4
I. 2. 3. Phase du développement du grain de maïs.....	5
I.3.Importance de maïs.....	5
I. 4. Maladies du maïs (Pourriture de semences).....	5
I. 4. 1. L'agent pathogène.....	6
I. 4. 2. Croissance et cycle de développement fongique.....	7
I. 5. Développement des maladies.....	7
I. 5. 1. Contamination.....	7
I. 5. 2. Période d'incubation.....	7
I. 6. Mécanismes et moyens de lutte contre les maladies des plantes.....	8
I. 6. 1. Moyens de lutte physiques.....	8
I. 6. 1. 7. Rotation des cultures.....	9
I. 6. 2. Lutte chimique.....	10
I. 6. 2. 1. Mode d'application des fongicides.....	10
A. Traitement du sol.....	11
B. Traitement des semences.....	10
C. Traitement des parties aériennes.....	11

D. Traitement des produits en conservation	11
I. 6. 3. Lutte biologique.....	11
I. 6. 3. 1. Rôle de PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobactéria)	11
I. 6. 3. 2. Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique.....	12
A. Antibiose.....	12
B. Compétition	12
C. Parasitisme.....	12
I. 6. 4. Microorganismes utilisés en lutte biologique	13
I. 7. Actinomycètes : Agents de lutte biologique contre les phytopathogènes des céréales ...	13
I. 7. 1. Propriétés générales des actinomycètes.....	14
I. 7. 2. Morphologie des actinomycètes	14
I. 7. 3. Physiologie et écologie des actinomycètes	15
I. 7. 4. Rôle des actinomycètes en biotechnologie	15
I. 7. 4. 1. Amélioration de la qualité des sols agricoles	15
I. 7. 4. 2. Production d'antibiotiques	16
I. 7. 5. Actinomycètes : Agents de lutte biologique	16

Chapitre II: Matériel et méthodes

II.1.Souches des microorganismes.....	17
II.1.1.Souche de champignon phytopathogène	17
II.1.1.1.Isolement de champignon à partir de l'incubation des grains de blé.....	17
II.1 .1.2.Purification et conservation de souche fongique	17
II.1. 1.3.Identification de l'agent pathogène.....	17
II.2.Souches d'Actinomycètes.....	17
II.2.1.Isolement des souches d'Actinomycètes.....	17
II.2.1.1.Technique d'isolement	17
II.2.1.1. 1 .Prélèvement des échantillons du sol.....	18
II.2.1.1.2. Informations sur la zone d'échantillonnage	18

Sommaire

II.2.1.2. Prétraitement des échantillons du sol.....	19
II. 2.1.3. Milieux d'isolements.....	19
II.2.1.4. Méthode d'isolement (suspension-dilution).....	19
II.2.1.5. Purification des isolats d'Actinomycètes.....	19
II.2.1.6. Identification des souches d'Actinomycètes	20
II.2.1.6.1. Identification macromorphologie.....	20
II.2.1.6.2. Identification microscopiques.....	20
II.2.1.6.2.1. Coloration de Gram et observation microscopique.....	20
II.3. Activité antifongiques d'isolats d'actinomycètes	21
II.3.1. Test d'antagonisme	21
II.3.1.1. Méthode de confrontation direct en boites de pétri(technique de trait).....	21
II. 3. 1. 2. Méthode de confrontation directe (disque d'agar).....	22
II.4. Etude du phénomène d'antagoniste des isolats d'actinomycètes <i>in planta</i>	22
II.4.1. Matériels végétales.....	22
II.4.2. Préparation de l'inoculation du champignon.....	22
II.4.3. Préparation de l'inoculation d'Actinomycètes.....	22
II.4.4. Mise en place de l'expérimentation	23
II.4.4.1. Désinfection et pré-germination des graines de maïs.....	23
II.5. Notions et mesures	23
II.5.1. Taux de germination.....	24
II. 5. 2. Croissance foliaire.....	24
II. 5. 3. Longueur des racines et des épi-cotyles.....	24

Chapitre III: Résultats et discussions

Première partie: Résultats

III. 1. Souches des champignons pathogènes.....	25
---	----

III. 1. 1. Identification macromorphologiques et microscopique de l'agent photogène.....	25
III.1.1.3. clés d'identification des moisissures.....	25
III.1.1.1. Identification macromorphologiques.....	26
III.1.1.2. Identification microscopiques	26
III. 2. Souches des actinomycètes	27
III. 2. 1. Isolement des d'Actinomycètes.....	28
III.2.1.1. Identification des souches d'Actinomycètes.....	28
III.2.1.2. Identification macromorphologie	28
III.2.1. 3. Identification microscopiques.....	29
III. 3. Mise en évidence de l'activité antagoniste <i>in vivo</i>	30
III. 3. 1. Résultats des essais de confrontation direct (Technique de trait).....	30
III. 4. Effet des souches d'Actinomycètes sur les paramètres de croissance du maïs (<i>Zea mays</i> L.).....	32
III. 4. 1. Taux de germination.....	32
III. 4. 2. Nombre et longueur des racines.....	33
III. 4. 3. Longueur des épi-cotyles	34
III. 4. 4. Nombre et longueur des feuilles.....	35
III. 5. Effet des souches d'Actinomycètes et de <i>A. niger</i> sur les paramètres de croissance du maïs (<i>Zea mays</i> L.).....	36
III. 5. 1. Taux de germination.....	37
III. 5. 2. Nombre et longueur des racines.....	37
III. 5. 3. Longueur des épi-cotyles	38
III. 5. 4. Nombre et longueur des feuilles.....	38

Deuxième partie: Discussion

Conclusion	39
Perspectives.....	40
Références bibliographiques	41
Annexe	IV

N°	Liste des Tableaux	Page
01	Exemple des microorganismes utilisés commercialisés en lutte biologique	13
02	Echantillonnage du sol	17
03	Principaux critères morphologiques et fonctionnelles d'identification des actinomycètes.	20
04	Caractères macroscopiques des champignons phytopathogènes	26
05	Caractères microscopiques de souche fongique phytopathogène	26
06	Nombre et code d'isolats d'actinomycètes obtenus de deux sols de la région de M'sila	27
07	Caractéristiques des souches d'actinomycètes par l'observation macroscopique	28
08	Caractéristiques macroscopique des souches d'actinomycètes	28
09	Tableau des carrés moyens des paramètres mesurés et signification ($\alpha = 0.05$, 0.1% & 0.01%)	31

N°	Liste des figures	Page
01	Phases de développement de maïs	5
02	Symptômes de la pourriture des grains causée par <i>Aspergillus niger</i>	6
03	Carte de wilaya de M'Sila	18
04	Colonies des souches d'actinomycètes sur milieu ISP2	28
05	Colonies des souches d'actinomycètes sur milieu ISP2	29
06	Caractéristiques microscopiques des actinomycètes isolées (G:100X)	30
07	Activité antifongique des deux isolats d'actinomycètes par la méthode de trait	30
08	Activité antifongique souches HDa et PU7: méthode de confrontation directe	30
09	Taux de germination de maïs inoculée par 2 isolats d'actinomycètes (HDa et PU7) après 6 jours de culture	32
10	Nombre des racines de maïs inoculé par les isolats d'actinomycètes après 9 jours de culture	33
11	Longueur des racines de maïs inoculé par les isolats d'actinomycètes après 9 jours de culture	33
12	Longueur d'épi- cotyle de maïs inoculé par les isolats d'actinomycètes après 9 jours de culture	34
13	Nombre des Feuilles de maïs inoculé par les isolats d'actinomycètes après 10 jours de culture	34
14	Longueur des feuilles de maïs inoculé par les isolats d'actinomycètes après 10 jours de culture	35
15	Taux de germination des graines de maïs inoculé par la suspension d' <i>A. niger.</i> et 2 isolats d'actinomycètes après 6 jours de culture	35
16	Nombre des racines de maïs inoculé par la suspension d' <i>A. niger.</i> et 2 isolats d'actinomycètes après 9 jours de la culture	36
17	Longueur des racines de maïs inoculé par la suspension d' <i>A. niger.</i> et 2 isolats d'actinomycètes après 9 jours de la culture	36
18	Longueur d'épicotyle de maïs inoculée par la suspension d' <i>A. niger.</i> et les02 isolats d'actinomycètes après 09jours de la culture	36
19	Nombre des feuilles de mais inoculée par la suspension de <i>A. niger.</i> et 2 isolats d'actinomycètes après 10 jours de la culture	37
20	Longueur des feuilles de maïs inoculé par la suspension d' <i>A. niger.</i> et 2 isolats d'actinomycètes après 10 jours de la culture	38

Liste des abréviations

WA: Water Activity (Activité de l'eau)

E₁: Echentillon 1

E₂: Echentillon2

g: gramme

ISP2 : International Streptomyces Projet N°2

PDA: Potato Dextrose Agar

GN: Gélose Nutritive

PU1 : isolat d'actinomycètes de pole universitaire de M'Sila N°1

PU2 : isolat d'actinomycètes de pole universitaire de M'Sila N°2

PU3 : isolat d'actinomycètes de pole universitaire de M'Sila N°3

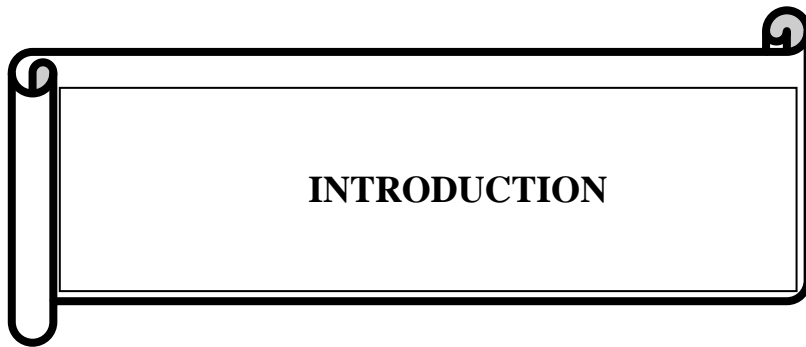
PU5 : isolat d'actinomycètes de pole universitaire de M'Sila N°5

PU7 : isolat d'actinomycètes de pole universitaire de M'Sila N°7

PU8 : isolat d'actinomycètes de pole universitaire de M'Sila N°8

HDa : isolat d'actinomycètes de Hammam Dalaa M'Sila N°2

HDb : isolat d'actinomycètes de Hammam Dalaa M'Sila N°2



INTRODUCTION

Introduction

Tout au long de leur cycle de vie, les plantes et les agents pathogènes interagissent avec une grande variété d'organismes ; ces interactions peuvent affecter la santé des plantes d'une manière positive et/ou négative (Corbaz, 1990; Nakkeeran *et al.*, 2005). On estime que près de 50 % de la production agricole mondiale est perdue avant ou après la récolte

Choudhary *et al.* (2009) considèrent que le contrôle biologique des maladies par l'introduction de micro-organismes bénéfiques dans la rhizosphère peut être une solution de rechange ou complémentaire à l'utilisation des produits chimiques de synthèse. Globalement, l'effet protecteur conféré par ces agents de lutte biologique est basé sur la compétition pour les nutriments essentiels, sur l'activité antagoniste vis-à-vis de la croissance des pathogènes via la production d'antibiotiques ou d'enzymes et /ou sur leur capacité à stimuler des systèmes de défense chez l'hôte végétal

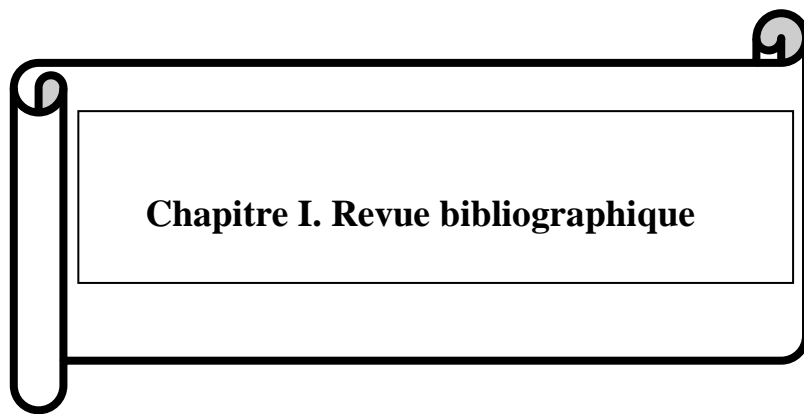
La lutte biologique est l'une des méthodes prometteuse, elle consiste en l'utilisation des microorganismes antagonistes. Parmi ces derniers les actinomycètes qui sont le meilleur candidat à appliquer sous forme de cellule vivant. Ils sont connus pour leur production de métabolites bioactifs, leur capacité à coloniser la rhizosphère et les racines des plantes, leurs aptitudes à contrôler les microorganismes phytopathogènes et à former des spores adaptées à la formation de produits stables. Cependant se sont des caractères important pour la réussite du contrôle biologique (Xiao *et al.*, 2002 ;Bressan,2003.).

Les actinomycètes sont des bactéries Gram-positif, caractérisés par un génome à teneur élevée en GC%. La plupart des membres de ce groupe sont saprophytes et le sol est leur principal réservoir (Khamna *et al.*, 2009) et sont abondants dans la rhizosphère (Sardi, 1992). Cet environnement est considéré comme une source riche pour l'isolement des agents de biocontrôle et des promoteurs de croissance des plantes (Crawford *et al.*, 1993; Jiménez-Esquilin et Roane, 2005; Yilmaz *et al.*, 2008). Parmi ces actinomycètes, on trouve le genre *Streptomyces* qui est le plus répandue et le plus étudié, il comprend des bactéries filamenteuses, qui sont bien connus pour leur capacité à produire des antibiotiques et des enzymes lytiques (Rugthaworn *et al.*, 2007). Ce genre a été largement exploré pour le criblage des agents de lutte biologique contre des maladies de plantes (El-Tarabily et Sivasithamparam, 2006b), 75% de composés biologiquement actifs sont produits par ce genre. Le mode d'action de ces agents de lutte biologique sont divers et comprennent l'antibiose, la compétition nutritionnelle ou spatiale, l'hyper-parasitisme et la lyse des agents pathogènes tel que (*A. niger*). (Doumbou *et al.*, 2001; Rugthaworn *et al.*, 2007).

L'*A. niger* est un champignon phytopathogène responsable de divers maladies des plantes. Dans notre étude nous avons utilisé (*Zea mays*) comme plantes modèle d'où les symptômes dans ce cas sont multiple, entre autre la fonte de la tige et la pourriture de semences...etc. Ces maladies ont été contrôlées principalement par l'utilisation des produits chimiques tels que les fongicides, mais ces derniers ont des impacts nocif tant pour les plantes que pour l'environnement.

Notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des actinomycètes capable de jouer un rôle important dans la lutte biologique contres ces champignons. Dans ce contexte, le travail présenté dans ce mémoire a pour objectif :

- 1- d'isoler et identifier quelques souches des bactéries actinomycètes à partir de deux région de wilaya de M'Sila.
- 2- L'évaluation du pouvoir antagoniste des souches les plus prometteuses à l'égard de champignon phytopathogène *A. niger*.
- 3- L'évaluation *in-vitro* des souches d'actinomycètes sur la germination et la croissance des graines de maïs. Par l'utilisation de l'inoculum.



Chapitre I. Revue bibliographique

I. 1. Généralités sur le maïs (*Zea mays* L.)

Le maïs (*Zea mays* L.), est l'une des céréales les plus cultivées dans le monde à cause de la richesse de ses graines en amidon, il représente la première production céréalière devant le riz et le blé (Paliwal *et al*, 2001, Mejía, 2003). C'est une plante tropicale, herbacée, annuelle, de la famille des graminées (Poacées), originaire d'Amérique Centrale qui a été introduit en Europe au XVIème siècle. Il appartient à la classe des monocotylédones, sous-classe des Commelinidae, ordre de poales, famille des Poacées (Graminées) (Gallais, 1984; Gay, 1984). La tige du maïs est unique, formée de plusieurs entre-nœuds séparés par des nœuds. Au niveau de chaque nœud, et de manière opposée, s'insèrent les feuilles à limbes allongées et à nervures parallèles. Le maïs est une espèce à pollinisation croisée, où les inflorescences femelles (épis) et les inflorescences mâles (panicules) sont disposées à des endroits distincts sur la plante. Les épis, souvent à raison d'un épi par tige, sont formés d'un nombre variable de rangées de grains (de 12 à 16), qui fourniront de 300 à 1000 grains pesant entre 0,19 et 0,3 g chacun. Le grain de maïs est formé d'un embryon, d'un tissu de réserve, l'albumen et d'une enveloppe fine et translucide, le péricarpe. L'albumen est constitué essentiellement de grains d'amidon ; c'est l'amidon corné qui donne sa couleur au grain de maïs, généralement jaune, mais aussi blanc, rouge ou noir (Côme et Corbineau, 1998). Le système racinaire du maïs est composé d'un grand nombre de racines adventives situées sur les nœuds à la base de la tige. Il est caractérisé par des racines traçantes (dites racines de surface), qui prélèvent l'eau et les nutriments nécessaires à la plante dans les couches les plus superficielles du sol. Ce type d'exploitation des ressources du sol fait que la plante est très exigeant en azote et en eau, proportionnellement aux rendements élevés qu'elle permet, ce qui pose de graves problèmes environnementaux dans les régions tempérées (Côme et Corbineau, 1998).

I. 2. Cycle de développement de la plante

Le cycle de développement du maïs est relativement court grâce à une photosynthèse spécifique qui lui permet de très bien valoriser la lumière et la chaleur. Le développement foliaire de la plante est spectaculaire : elle fabrique une grande quantité de matière sèche en peu de temps. Le cycle du maïs se décompose en trois phases de développement bien distinctes, définies par la formation d'un ou de plusieurs organes essentiels de la plante.

I. 2. 1. Phase végétative

La germination de la graine mobilise les réserves contenues dans l'albumen ; le coléoptile perce le sol et libère les premières feuilles. Lors de cette phase, la tige et les feuilles se développent pour que le jeune plant de maïs devienne progressivement autotrophe, en même temps, les racines traçantes du maïs se développent dans les couches superficielles du sol pour prélever l'eau et les nutriments nécessaires pour la croissance de la plante. La durée de la phase végétative dépend évidemment de la précocité de la variété et des conditions climatiques.

I. 2. 2. Phase de reproduction

La phase de reproduction correspond à la formation et au développement des organes reproducteurs. L'épi commence à se développer un mois avant la floraison ; le nombre de rangs de grains portés par l'épi est déjà déterminé à cette date. Dès la fin de la phase végétative, la panicule commence à se développer, tandis que la formation du pollen débute 2 à 3 semaines avant la floraison. Le maïs valorise très bien l'irrigation, en particulier pendant la formation des organes reproducteurs et au moment de la floraison ainsi que lors du développement du grain. Une irrigation bien menée améliore la quantité des grains et leur remplissage.

I. 2. 3. Phase du développement du grain de maïs

Une fois que la fécondation a eu lieu, le nombre définitif de grains sur la plante est déterminé. Dans les semaines qui suivent, les grains se développent et accumulent des réserves d'amidon. A partir de la fin du mois d'août, la texture de l'amidon évolue sous forme laiteuse, puis il devient ensuite pâteux, et en fin vitreux. La répartition de ces trois formes d'amidon dans le grain renseigne sur le pourcentage d'humidité dans le grain et l'état de sa maturité.

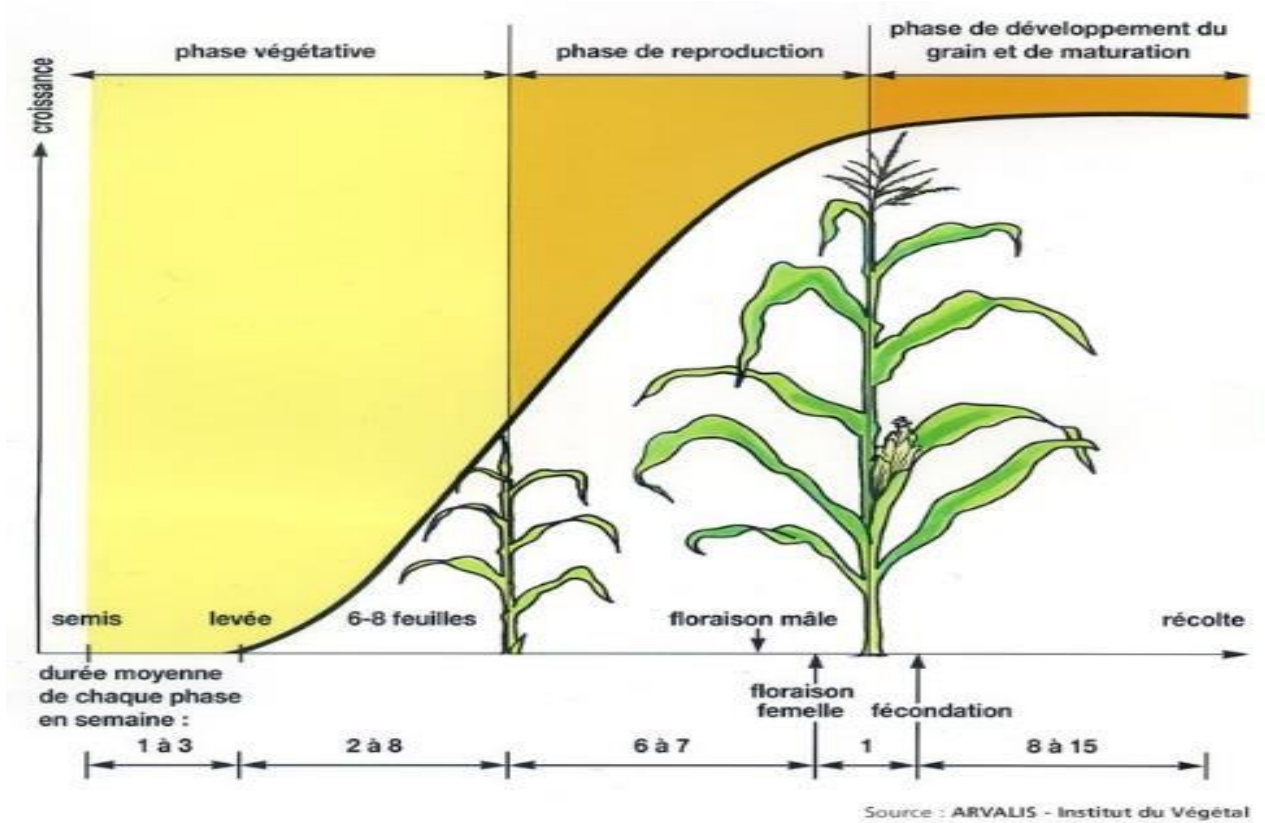


Figure 1. Phases de développement du maïs (*Zea mays* L.), source : <http://www.qnis-pedagogie.org>

I. 3. Importance du maïs

L'utilisation du maïs est très diversifiée. Il peut servir à l'alimentation humaine, l'alimentation animale et comme matière première pour l'industrie. Dans l'alimentation humaine, il est principalement consommé sous forme de grains entier, farines et semoules. Il est aussi utilisé pour l'ensilage dans l'alimentation animale. En ce qui concerne l'industrie, cette céréale est utilisée pour la fabrication d'amidon, d'huile, de protéines, de boissons alcoolisées et de bio-carburants (FAO, 1993). Dans les pays développés, plus de 78% de la production sont destinés à la fabrication d'aliments pour la production animale tandis que dans les pays en développement, le maïs est une culture vivrière, un aliment de base pour la population, et au moins 40% de la production sont destinés à l'alimentation humaine. Les 60% restants sont consacrés à l'alimentation animale, l'industrie et au semis (Vasal, 2001). L'Union Européenne destine environ 8% de sa surface agricole utile ou 13% des terres arables, correspondant à 14 millions d'hectares, à la production de maïs. La culture de maïs grain occupe la plus grande surface avec 9,1 millions d'hectares, suivie du

maïs pour fourrage avec 5,9 millions d'hectares, puis le maïs pour semence avec 158000 hectares et finalement le maïs doux avec 70000 hectares (AGPM, 2012).

I. 4. Maladies du maïs : Pourriture de semences

Les symptômes de la pourriture des semences et de la fonte des semis comprennent le jaunissement des feuilles, leur flétrissement puis leur mort, et l'apparition de lésions imbibées d'eau et décolorées sur les tiges et les racines



Figure 2. Symptômes de la pourriture des grains de maïs causée par (*Aspergillus Niger*) ; Photo : Iowa State University

I. 4. 1. Agent pathogène : *Aspergillus*

Les *Aspergillus* sont fréquents dans la nature. Ils vivent en saprophytes dans le sol Mais aussi à sa surface et sur les végétaux. A la faveur de courants d'air, les spores D'*Aspergillus* sont véhiculées et peuvent se déposer sur des substrats divers. On peut isoler des *Aspergillus* a l'extérieur dans l'atmosphère, mais aussi a l'intérieur des habitations, sur les vêtements (Vaubourdolle, 2007).

Les champignons du genre *Aspergillus* ont été décrits pour la première fois en 1729. Ce sont des champignons saprophytes, c'est-à-dire qui tirent leur nourriture de substances organiques en décomposition. Ce sont des moisissures à filaments hyalins, cloisonnés, et ils Sont haploïdes. Le genre *Aspergillus* comprend aujourd'hui 185 espèces, dont une vingtaine est retrouvée en pathologie humaine (Badillet *et al.*, 1987). Les *Aspergillus* sont ubiquistes, et en région tempérée plus particulièrement a la fin de l'été, en automne et en hiver. Ces champignons ont un métabolisme aérobie. De plus ils participent au recyclage du carbone et de l'azote de l'environnement. Ils sont thermophiles (certaines espèces peuvent survivre à des températures (certaines espèces peuvent de 70°C) et ne requièrent pas de nutriments spécifiques (Quatresous, 2011).

De nombreux *Aspergillus* noirs ont été isolés du monde entier. *A. niger* est un champignon filamenteux qui se développe en aérobiose sur la matière organique. Dans la nature, on le trouve dans le sol et de la litière, dans le compost et le matériel végétal en décomposition. *A. niger* est capable de croître dans une température de 6 - 47°C avec une température relativement élevée avec un optimum de 35 à 37°C. La limite d'activité de l'eau (Water activity : WA) pour la croissance est 0,88, est relativement élevée comparativement aux autres espèces, *A. niger*, peut pousser sur une très large gamme de pH : 1,4 - 9,8. Ces capacités et l'abondante production de conidies, qui sont distribués par l'intermédiaire de l'air, garantissent l'occurrence omniprésente de l'espèce, avec une fréquence plus élevée aux lieux chauds et humides (Schuster *et al.* 2002).

I. 4. 2. Croissance et cycle de développement fongique

Dans l'environnement les *Aspergillus* sont sous la forme de champignons filamenteux ramifiés, cette forme végétative est appelé mycélium. En condition de sevrage ou d'autres stress, des structures spécialisées se développent à partir du mycélium : les conidiospores. Il s'agit d'organes de fructification au bout desquels les têtes Aspergillaires ou vésicules terminales sont retrouvées. Les conidies, spores asexuées unicellulaires et uni nucléées, sont produites au niveau des organes de fructification par les phialides. Les phialides sont des cellules conidiogènes fertiles, en forme de bouteille et qui prennent naissance sur la vésicule terminale. Ce sont les conidies, 2 à 3µm de diamètre et très volatiles, qui sont responsables de la dissémination du champignon dans l'environnement. La germination des spores se déroule en deux étapes. Dans des conditions adéquates, les conidies gonflent. Cette phase de croissance iso-diamétrale dure 3 à 4h à 37°C. Après cette phase de gonflement, la croissance devient polarisée. En effet, on observe l'apparition d'un tube germinatif qui va s'allonger progressivement et produire un filament ramifié qui formera la colonie typique de tous les champignons filamenteux (Quatresous, 2011).

I. 5. Développement des maladies

I. 5. 1. Contamination

Les maladies cryptogamiques sont transportés par le vent, la pluie ou par contact, les spores des champignons qui se disséminent et se déposent sur les plantes (Brouillard, 2013). Pour les maladies virales, elles sont transportées par les insectes, les nématodes et des champignons. En ce qui concerne, les maladies bactériennes elles sont disséminées par les insectes, le vent et l'eau. L'agent causale passe par les orifices naturels (stomates,

lenticelles) ou pénètre par des blessures (notamment celles provoquées par des insectes), ou encore il est capable de traverser la cuticule

I. 5. 2. Période d'incubation

L'agent causale se ramifie et envahit les cellules des tissus ou les espaces intercellulaires. Cette période prend de 24h à 72h selon le niveau de la sensibilité de l'hôte et des conditions climatiques (Ezzahiri, 2011).Après une période d'incubation, ils se développent et les premiers symptômes apparaissent (Brouillard, 2013).Accompagnée de la fructification du champignon, la plante attaquée peut dépérir (nécrose des tissus, détournement de la sève obstruction des vaisseaux).

I. 6. Mécanismes et moyens de lutte contre les maladies des plantes

La lutte contre les maladies des plantes est basée sur différentes méthodes. La plupart de ces méthodes est orientée pour protéger les plantes saines des maladies plutôt que de guérir les plantes malades. Seules quelques infections peuvent être contrôlées d'une façon satisfaisante après que les plantes deviennent malades. Les méthodes de lutte appliquées en agriculture varient considérablement d'une maladie à une autres en fonction du pathogène, de la plante hôte et de leur interaction chacun avec l'autre et avec l'environnement. Le but final de toutes les méthodes utilisées est de combattre les maladies des plantes et alors d'accroître la quantité et améliorer la quantité de la production agricole (Nasraoui, 2006).

Pour empêcher ou limiter les dégâts causés par les pathogènes sur les cultures, différentes approches sont disponibles. Les mesures utilisées peuvent être classées comme des méthodes biologiques, physiques et mécaniques, et méthodes chimiques. Toutes ces techniques sont appliquées pour exclure les pathogènes des plantes, éradiquer ou réduire les inocula des pathogènes, immuniser ou améliorer la résistance des plantes contres ces pathogènes (Nasroaui, 2006).

I. 6. 1. Moyens de lutte physiques

Différents moyens physiques et mécaniques peuvent être utilisés pour éliminer ou limiter le développement de certains ennemis. Ils ne suffisent pas à protéger totalement les cultures. C'est pourquoi ils sont généralement associés à d'autres moyens de lutte (Eliane, 2010). Certains facteurs physiques, tels que la température (basse et élevée), l'air sec, la lumière et la radiation, peuvent être utilisés pour contrôler les maladies des plantes (Nasraui, 2006).

La lutte physique en protection des plantes regroupe toutes les techniques de lutte dont le mode d'action primaire ne fait intervenir aucun processus biologique, biochimique ou toxicologique. Par opposition, les autres techniques ne sont efficaces que si une interaction est établie entre un processus issu du vivant chez l'ennemi visé (physiologie, comportement, écologie) et l'agent de lutte. Parfois, l'action primaire a une action répressive directe comme dans le cas où des insectes sont tués sur le coup par des chocs mécaniques. D'autres fois, les réactions au stress induit par la méthode physique apportent l'effet désiré. Plusieurs techniques de lutte physique ont suffisamment de qualités ou d'avantages pour enrichir l'arsenal de lutte intégrée. (<https://vertigo.revues.org/4093>)

L'utilisation de méthodes de lutte physique doit s'inscrire dans une démarche de lutte intégrée. En effet, comme toute méthode de lutte, les méthodes physiques ont leurs forces et leurs faiblesses et certaines sont susceptibles d'avoir des effets secondaires sur la faune et la flore. Dans un contexte de lutte intégrée, la décision d'avoir recours à une méthode de lutte physique doit donc se faire au mérite en fonction des mêmes critères que ceux utilisés pour décider de la pertinence d'une pulvérisation d'un pesticide: efficacité, rentabilité, impacts non-désirés. De plus, il n'existe pas de technique de lutte physique ayant le potentiel de devenir la seule technique nécessaire (ou suffisante) pour tous les traitements phytosanitaires sur une culture donnée. Ce potentiel est la force principale du système de protection des plantes reposant sur la pulvérisation de pesticides, mais c'est probablement aussi sa faiblesse puisque cela tend à amplifier le taux de développement des résistances et à occulter les techniques alternatives. Seule l'application du concept de lutte intégrée permet de sortir du piège de la solution unique et ouvre la porte à l'implantation en conditions commerciales de techniques de lutte physique. . (<https://vertigo.revues.org/4093>).

Il convient de distinguer deux types fondamentaux de méthodes en lutte physique: les méthodes actives et les méthodes passives. Les méthodes actives utilisent de l'énergie au moment de l'application pour détruire, blesser ou stresser les ennemis des cultures, ou pour les enlever du milieu. Ces méthodes n'agissent qu'au moment de l'application et ne présentent pratiquement pas de rémanence. Les méthodes passives procèdent par une modification du milieu et ont un caractère plus durable. On peut aussi classer les méthodes physiques selon le mode d'utilisation de l'énergie, soit la lutte mécanique, lutte thermique,

I. 6. 1. 7. Rotation des cultures

La culture continue avec une seule espèce de plante hôte favorise d'habitude l'accumulation de pathogènes adaptés à cette culture, en particulier ceux qui sont transmis par le sol. Mais avec une rotation de 3 ou 4 ans en utilisant des plantes non-hôtes, chaque culture suivante réduit énormément l'inoculum des pathogènes.

Plusieurs inocula de pathogènes ont été réduits en utilisant la rotation des cultures telles que les cas des pathogènes *Thielaviopsis basicola* du coton et *Fusarium solani* du haricot. Mais, pour certains autres pathogènes, l'inoculum est graduellement réduit seulement en monoculture car dans cette situation, des populations antagonistes se développent progressivement et leur développement n'est pas interrompu par le changement des cultures (Nasraoui, 2006).

I. 6. 2. Lutte chimique

La lutte chimique consiste à effectuer des traitements à base de produits chimiques pour défendre les végétaux contre leurs ennemis. Différentes appellations sont utilisées pour antiparasitaires à usage agricole, produits agro-pharmaceutiques, produits phytopharmaceutiques. Actuellement, la lutte chimique est le moyen le plus utilisé pour la défense des végétaux. 78600 tonnes de substances actives ont été épandues en France en 2008, en majorité des herbicides et des fongicides (Eliane, 2010).

La lutte chimique contre les champignons phytopathogènes est largement utilisée et s'est révélée depuis toujours une méthode de lutte efficace et indispensable (Leroux, 2003; Pezet *et al.*, 2004). L'utilisation des composés chimiques, qui sont toxiques aux pathogènes, est le moyen le plus commun du contrôle des maladies des plantes. Quand ces produits chimiques ont pour cible les pathogènes, ils sont appelés fongicides. Ils inhibent la germination, la croissance et/ou la multiplication des pathogènes ou ils les tuent complètement.

I. 6. 2. 1. Mode d'application des fongicides

A. Traitement du sol

En agriculture intensive, le sol peut être traité pour contrôler différentes maladies transmises par le sol, telles que fonte des semis, brûlure de plantules, pourritures des racines et du collet, qui sont causées par des champignons comme *Fusarium*, *Verticillium*, *Pythium* et d'autres. Les fongicides peuvent être appliqués au sol comme fumigeant, liquides, poudres, etc. Ils peuvent aussi être incorporés dans l'eau d'irrigation ou dans les fertilisants (Nasraoui, 2006).

B. Traitement des semences

Le terme traitement de semences n'est généralement pas limité au traitement des semences mais implique aussi le traitement des autres organes de multiplication tel que les tubercules, les bulbes, les rhizomes, les greffages,...ect. Le traitement des semences avec les fongicides était utilisé pour le contrôle des pathogènes véhiculés sur/dans les semences et ceux existant dans le sol. Les fongicides de contact et systémique sont utilisés contre les pathogènes transmis par les semences qui adhèrent à la surface des semences (Nasraoui, 2006).

C. Traitement des parties aériennes

Sur les parties aériennes des plantes, les fongicides peuvent être appliqués en pulvérisation ou poudrage. L'application en pulvérisation liquide est généralement plus facile et souvent plus efficace que le poudrage. Avec l'irrigation par aspersion au champ, les fongicides peuvent être incorporés à l'eau et ainsi appliqués à travers le système d'irrigation (fongigation). Dans certains cas, les fongicides peuvent être mélangés avec d'autres pesticides tels que des herbicides et des insecticides dans des traitements chimiques combinés utilisés contre différents agents pathogènes (Nasraoui, 2006).

D. Traitement des produits en conservation

Pour contrôler les maladies des produits végétaux en conservation, plusieurs fongicides spécifiques ont été développés. Les fruits et légumes peuvent être lavés dans des solutions de fongicides immédiatement après la récolte ou trempés avant le stockage. Plusieurs fongicides peuvent être utilisés en dépôts sous forme de gaz ou cristaux et poudre qui se subliment en gaz (Nasraoui, 2006).

I. 6. 3. Lutte biologique

En agriculture biologique, les produits agricoles doivent être obtenus sans utilisation de produits chimiques de synthèse. Ainsi, en ce qui concerne la défense des végétaux, seuls les moyens biologiques, les moyens culturaux et les pesticides à base de substances naturelles sont autorisés (Eliane, 2010). D'après Vanhui (1991), la lutte biologique peut être définie par l'usage d'organismes vivants ou de leurs produits pour empêcher ou réduire les pertes ou les dommages causés par des organismes nuisibles, s'appuie sur une stratégie de défense écologique et durable. Les organismes vivants utilisées, communément appelés auxiliaires, antagonismes ou agents de lutte, peuvent être parasitoïdes (parasites vivantes aux dépens d'une hôte qui meurt après leur

développement), des prédateurs (insectes, acariens, nématodes) ou bien des pathogènes (virus, bactéries, champignons).

I. 6. 3. 1. Rôle de PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobactéria)

Parmi les microorganismes à effets bénéfiques indirects, il existe notamment des bactéries dont l'effet global favorise la croissance de la plante (Lemanceau, 1992). Le terme PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobactéria) désigne les bactéries qui ont été introduit par Kloepper et Schroth (1978). Différents mécanismes sont à l'origine des effets PGPR des bactéries rhizosphériques.

I. 6. 3. 2. Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique

La protection conférée par un microorganisme de lutte biologique s'appuie sur un ou plusieurs mécanismes d'action tels que la compétition (pour éléments nutritifs, oxygène, espace), l'antibiose, le parasitisme, la diminution de l'agressivité du pathogènes et l'induction de la résistance chez la plante. L'étude de ces mécanismes d'action est une étape importante dans le développement de la lutte biologique (Jijkl, 2003).

A. Antibiose

La sécrétion de substances antibiotiques par les microorganismes est un phénomène fréquent. Certains métabolites sont d'interférer avec la germination, la croissance mycélienne et/ou la sporulation des agents phytopathogènes. D'autres entraînent le relargage de composés cellulaires suite à la perturbation de la perméabilité cellulaires. L'antibiose est le mode d'action le plus étudié chez les agents de lutte biologique (Jijkl, 2003). Elle consiste en la production par l'agent antagoniste d'antibiotiques efficaces contre l'agent pathogène (Corbaz, 1990).

B. Compétition

La compétition pour les éléments nutritifs entre en jeu lorsqu'il y a simultanément consommation du même composé par plusieurs microorganismes. Pour être un compétiteur efficace, un agent antagoniste doit être capable d'utiliser rapidement et efficacement les éléments nutritifs présents en faible concentration sur les organes de la plante (Jijkl, 2003).

C. Parasitisme

Ce mécanisme de lutte consiste en une interaction directe entre deux microorganismes où les tissus vivants de l'un constituent une base nutritive pour l'autre (Helluy et holmes, 2005).

I. 6. 4. Microorganismes utilisés en lutte biologique

Plusieurs microorganismes ont été utilisés dans le contrôle des maladies phytopathogènes (Errakhi, 2008) sont : les bactéries, les champignons, virus endomopathogènes. (Tableau 1).

Tableau 1. Microorganismes commercialisés en lutte biologique (Silvy et Riba., 1999).

Groupe	Action	Espèce	Cible
Bactéries	Insecticides à base d'endotoxines	<i>B. thuringiensis</i> (var. <i>kurstaki</i> , var. <i>israelensis</i> , var. <i>lnebrionis</i> , var. <i>aizawai</i> , var. <i>galleriae</i> , var. <i>japonensis</i> , var. <i>xentari</i>)	Lépidoptères, Coléoptères, Larves de Diptères, Coléoptères, Lépidoptères Lépidoptères, Coléoptères du sol Lépidoptères, Diptères (<i>Culex sp.</i>) Coléoptères (<i>Costelytra</i> , <i>Zealandica</i> ,
	insecticides Herbicides	- <i>Basillus sphaericus</i> - <i>Serratia entomophila</i> - <i>Pseudomonase syrinicus pv. agetis</i> - <i>Xanthomonase campestris pv. poae</i>	<i>Cirsium arvense</i> , <i>Poa annua</i> , <i>Tetranychus cinnabarinus</i> . <i>T. urticae</i> , <i>Panonyclus ulmi</i> , Mauvaises herbes Acariens (sur citrus, thé, aubergine)
	Actinomycètes contre divers organismes	- <i>Streptomyces aureus</i> - <i>Streptomyces hygroscopicus</i> <i>Streptomyces hygroscopus</i> Subsp. <i>aureolacrimosus</i>	
Champignons	Insecticides	<i>Beauveria bassiana</i> , <i>Beauveria brongniartii</i> , <i>Melrhizium anisopliae</i> , <i>Melrhizium flavoviride</i>	Lépidoptères (pyrale de maïs). Criquets, Alcuroides, Puceron, thrips, Divers ravageurs de colonier, Cleoéptères (<i>Hoplochelus marginalis</i> , <i>Melolomtha</i> Criquets
	Herbicides	<i>Paccilomyces fumosoroseus</i> <i>Verticillium lecanii</i> <i>Alternaria cassia</i> <i>Colletotrichum gleosporioides</i> <i>F. sp. aeschynomene</i> <i>Colletotrichum gleosporioides</i> <i>Phytophthora palmivora</i>	Blattes, Termites, Aloeuroides, Thrips, Pucerons, <i>Senna obtusifolia</i> , <i>Aeschynomene virginica</i> , <i>Malva pulsilla</i> , <i>Morrenia odorata</i>
Virus	Insecticides (polyédnose Nucleaire)	<i>Mamestra brassicaea</i> , <i>Spodoptera littoralis</i> , <i>Anagrapha falcifera</i> <i>Anticarsia gemmata</i>	Lavers de lépidoptères, Lépidoptères Larves de lépidoptères

I. 7. Actinomycètes : Agents de lutte biologique contre les phytopathogènes des céréales

I. 7. 1. Propriétés générales des actinomycètes

Les actinobactéries sont des bactéries dont la croissance donne lieu à des colonies circulaire (Eunice et Prosser, 1983) constituées d'hyphes, c'est-à-dire de filaments qui irradient par croissance centrifuge tout autour du germe qui leur a donné naissance (Gottlieb, 1973; Lechevalier et Lechevalier, 1981; Eunice et Prosser, 1983).

Les actinobactéries constituant un groupe tout à fait unique de microorganismes procaryotes. Généralement, ils sont Gram positif à structure végétative de type mycélien (Lacey, 1973). c'est un groupe microbien morphologiquement très variés depuis des formes bacillaires diphteroides jusqu'à des formes filamenteuses ramifiées à mode de sporulation complexe (Larpen et sanglier, 1989).

I. 7. 2. Morphologie des actinomycètes

Les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes. Le premier se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forme seulement une masse de filaments ramifié. Le second comprend les organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (Lechevalier et Lechevalier, 1985). Les colonies formées par les actinomycètes sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- ❖ Des colonies poudreuses couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu ;
- ❖ Des colonies pâteuses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides;
- ❖ Des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens Oattachés au milieu par des crampons.

Les différents genres d'actinomycètes peuvent sporuler soit en morcelant certaines hyphes pour former des conidies, un peu plus résistantes aux conditions hostiles que les hyphes, soit en produisant des endospores (*Thermoactinomyces*). D'autres genres d'actinomycètes sporulent en produisant des sporanges tel que le genre *Streptosporangium* (Kalakoutsii et Agre, 1976). Les spores peuvent, selon les genres, être produites isolément (*Micromonospora*), deux à deux longitudinalement (*Microbispora*), en courtes chaînes (*Actinomadura*), en longues chaînettes (*Streptomyces*). Les chaînettes de spores peuvent être ramifiées ou non, droites, flexibles ou en spirales .De plus, elles peuvent être rayonnantes autour d'hyphes sporophores. La majorité des actinomycètes cultivés sur milieu solide forment un mycélium de substrat et un mycélium aérien. Néanmoins, il existe

des groupes qui ne forment qu'un mycélium de substrat poussant à la surface et dans le milieu de culture ou un mycélium aérien dont les hyphes sont attachés au milieu par des crampons (Holdfasts).

En culture liquide et sans agitation, les hyphes formés après la germination des spores montent en surface pour croître en contact de l'air (Keulen *et al.*, 2003). Cependant, en milieu liquide avec agitation, il n'y a pas de formation du mycélium aérien ni de spores. Les *Streptomyces* forment d'abord des filaments libres, qui se ramifient et s'agrègent pour former des pellets

I. 7. 3. Physiologie et écologie des actinomycètes

Il existe deux groupes d'actinomycètes. En premier lieu, les formes fermentatives, anaérobies strictes ou facultatives, illustrées par le genre *Actinomyces*. Ces organismes sont des saprophytes obligés des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs et ils ne sont jamais retrouvés dans le sol (Mariat et Sebald, 1990). En second lieu, les formes oxydatives, aérobies, tels que les *Streptomyces* où le sol est leur réservoir principal et à partir duquel elles sont disséminées, en particulier dans l'air (Reponen *et al.*, 1998).

Les *Streptomyces* disséminés dans les eaux douces et salées, s'adaptent en formant des spores résistantes caractérisées soit par une psychophilie, soit par une halophilie ou par une barotolérance (Mincer *et al.*, 2002; Zaitlin *et al.*, 2003). Certains genres d'actinomycètes ont été isolés à partir des composts (lacey, 1997; Song *et al.*, 2001). Quelques espèces d'actinomycètes sont des symbiotes de plantes (Larpen et Larpen-Gourgaud, 1985). Le genre *Frankia* s'intègre aux racines, fixe l'azote et joue un rôle dans la protection des plantes contre les pathogènes (Sardi *et al.*, 1992; Thirupl *et al.*, 2001).

I. 7. 4. Rôle des actinomycètes en biotechnologies

I. 7. 4. 1. Amélioration de la qualité des sols agricoles

Les actinomycètes ont un rôle important dans l'amélioration de la qualité du sol agricole. En effet, ils contribuent à la fertilisation du sol. Ils contribuent aux processus de recyclage et de la biodégradation de la matière organique et des éléments minéraux (Goodfellow *et al.*, 1984). Les Actinomycètes ont un grand pouvoir de transformation des substances organiques complexes difficilement dégradables ou non, par les autres microorganismes, comme les polymères complexes: les polysaccharides, les lignocelluloses, la chitine (Goodfellow et Williams, 1983). Quelques espèces d'actinomycètes sont des symbiotes de plantes (Larpen et Larpen-Gourgaud, 1985). Le genre *Frankia* s'intègre aux racines avec plus de 200 espèces des angiospermes, fixe

l'azote et joue un rôle dans la protection des plantes contre les pathogènes (Sardi *et al.*, 1992; Thirupl *et al.*, 2001; Pawlowski et Sirrenberg, 2003).

Ces bactéries contribuent également au maintien d'une bonne structure du sol. En effet, leur structure filamenteuse ainsi que la production des polysaccharides permettent le maintien entre les particules du sol (Kennedy, 1999). Ils améliorent aussi l'infiltration de l'eau dans le sol et permettent ainsi une bonne aération du sol (Mckenna *et al.*, 2002). Outre la structure et la fertilité du sol, les actinomycètes augmentent le pouvoir suppressif du sol. Mazzola (2002) a montré qu'un sol riche en actinomycètes est suppressif aux maladies phytopathogènes qu'un sol pauvre de ces bactéries (Errakhi, 2008).

I. 7. 4. 2. Production d'antibiotiques

En effet les actinomycètes constituent une source importante d'antibiotiques et d'autres métabolites secondaires à utilité industrielle (Takahashi et Omura, 2003; Hayakawa *et al.*, 2004). Plus de 70% des antibiotiques d'origine microbienne sont produits par ce vaste groupe bactérien (Gundliffe, 2006). Les actinomycètes produisent un grand nombre d'antibiotiques de structures chimiques très variées (Amino-glycosides, Anthra-cyclines, Glycopeptides, macrolides, etc...) qui ont de nombreuses applications thérapeutiques (Okami et Hotta, 1988).

I. 7. 5. Actinomycètes : Agents de lutte biologique

Les actinomycètes présentent un important potentiel d'agents contre des maladies phytopathogènes. En effet, ces dernières décennies, plusieurs études se sont intéressées aux rôles que pourrait jouer les actinomycètes dans la suppression des phytopathogènes. Le premier produit de lutte biologique commercialisé à base d'actinomycètes a été fabriqué à partir de *Streptomyces griseoviridis* pour contrôler les agents phytopathogènes comme le *Botrytis* et le *Fusarium* (Copping et Mens, 2000; Errakhi, 2008).

Les actinomycètes sont des bactéries saprophytes capables de dégrader la matière organique dans le sol et d'utiliser des molécules plus complexes pour leur croissance (Lechevalier et Lechevalier, 1970). Ceci leur permet de s'adapter et de coloniser différents milieux rhizosphériques. Cette caractéristique est essentielle dans la lutte biologique. Ainsi, les actinomycètes peuvent agir par différents mécanismes d'action comme l'antibiose, la compétition nutritionnelle ou spatiale ou encore le parasitisme (Errakhi, 2008). La plupart des études ont utilisé des streptomycètes comme agents potentiels de lutte biologique contre les champignons pathogènes (Tahvonen et Avikainen, 1987; Yuan et Crawford, 1995; Berg *et al.*, 2000; Xiao *et al.*, 2002).



Chapitre II. Matériel et méthodes

II. 1. Souches des microorganismes

II. 1. 1. Souche de champignons phytopathogènes

II.1.1.1. Isolement de champignon à partir de l'incubation des grains de blé

Parmi les grains parfaitement séchés, au minimum 15 grains sont prélevés de façon aléatoire sur le papier filtre et placés directement sur le milieu de culture PDA à raison de 3 à 5 grains par boîte de Pétri. Les boîtes ne sont pas par filmées. Les boîtes de Pétri PDA sont incubées 6 à 9 jours dans des boites de pétri.

II. 1. 1. 2. Purification et conservation des souches fongiques

Après l'obtention de culture pure de champignon par le repiquage successive sur le milieu PDA en boites de Pétri, la conservation de souche sont effectuée sur milieu PDA à 23°C dans le réfrigérateur. (Botton *et al.*, 1990).

II.1.1.3. Identification de l'agent pathogène

L'identification de l'agent pathogène basé sur une étude macroscopique des caractères morphologie de la culture et dans une seconde étape sur une étude microscopique des caractères morphologiques des différents organes reproduction asexuée et du mycélium. L'examen microscopique d'un petit fragment de culture de champignon entre lame et lamelle dans une goutte de bleu de toluidine permet d'observer l'aspect du mycélium (Botton *et al.*, 1990).

II. 2. Souches d'Actinomycètes

II. 2. 1. Isolement des souches d'Actinomycètes

Les souches d'actinomycètes utilisées dans cette étude ont été isolé dans deux sites de la wilaya de M'sila (Latitude : 35.33333 ; Longitude : 4.33333 ; Population : 990591) (Tableau 2, Figure 3)

Tableau 2 : Echantillonnage du sol

Echantillon	Région	Profondeur (cm)	Caractéristiques du sol
E1	Wilaya de M'sila (Hammam Dalaa)	5-20	Sol marron à noir
E2	Wilaya de M'sila (pole Universitaire)	5-20	Sol marron claire



Figure 3 .Carte de la wilaya de M’Sila, Source : [www.carte – algérie.com/plan12549-](http://www.carte-algerie.com/plan12549-)

Le travail port sur la production des substances antimicrobiennes secrétées par des actinomycètes isolées à partir du sol. Les prélèvements du sol ont été effectués à la 27-02-2016 dans deux régions de M'sila. Le prélèvement du sol a été prélevé selon la technique de [Pochon et Tardieux en \(1962\)](#). A l'aide d'une grande spatule stérile, les cinq premiers centimètres de la couche superficielle du sol sont écartés, nous avons prélevé alors avec une petite spatule stérile dans la couche sous-jacente (entre 5 à 20cm de profondeur) 20 à 50g de terre qui sont placés dans un sachet stérile soigneusement fermé et transporté au l'laboratoire ([Kitouni, 2007](#); [Abdelaziz, 2006](#)).Chaque échantillon est muni d'une étiquette indiquent la date, le lieu et la profondeur. Le tableau suivant présente les deux régions et la profondeur de prélèvement et aussi leurs caractères du sol.

II. 2. 1. 2. Prétraitement des échantillons du sol

Le prétraitement des échantillons du sol est une étape préliminaire permettant de sélectionner les Actinomycètes dans les échantillons de sol, cette étape consiste à sécher les échantillons dans une étuve à 50°C pendant 24h.

II. 2. 1. 3. Milieux d'isolements

Pour isoler des échantillons d'actinomycètes à partir du sol choisis nous avons utilisées des milieux de cultures solides à savoir ISP₂ Binette et le GN préparé dans des conditions bien contrôlées (les verreries et les milieux sont stérilisés dans l'autoclave à 120° C pendant 20mn). Il faut noter aussi que toutes les manipulations microbiologiques sont effectuées dans une zone stérile dans le laboratoire.

II. 2. 1. 4. Méthode d'isolement (suspension-dilution)

Après séchage des échantillons du sol, 10g ont été tamisés pour éliminer les débris végétaux indésirables. Les échantillons ont été ensuite broyés dans un mortier stérile. Après homogénéisation, 1g de chaque échantillon sont pesés puis introduits dans un tube à essai contenant 9ml d'eau physiologique stérile. Après agitation par vortex, une série de dilution allant de 10⁻¹ à 10⁻⁵ a été préparée, en prélevant à chaque opération 0,1ml. Ainsi, ont servi pour l'isolement des Actinomycètes sur milieu de ISP₂. Pour réaliser cette opération, nous avons utilisé la méthode d'ensemencement en masse (Madigan *et al.*, 2007). Cette méthode consiste à déposer tout d'abord 0,1ml de la dilution dans une boîte de pétri, puis coulé environ 15ml de milieu ISP₂ en surfusion. Les boîtes sont agitées par un mouvement circulaire lent, afin d'homogénéiser le contenu des boîtes. Les boîtes sont ensuite incubées pendant 7-21 jours à 30°C (Madigan *et al.*, 2007).

II. 2. 1. 5. Purification des isolats d'Actinomycètes

Après une semaine d'incubation, les colonies d'Actinomycètes apparues et observées à l'aide d'un microscope photonique sont repérées d'après leur aspect macroscopique et microscopique caractéristique (colonies dures, de petite taille, d'une forme souvent ronde entourées par des micros filaments). Ces colonies sont en générale des colonies rondes parfois bombées présentant souvent des traits circulaires concentriques, difficile à les prélever, présentant différentes couleurs. Enfin, en général, toute colonie présentant des filaments courts autour d'elle est retenue, puis purifiée sur milieu ISP₂. Les colonies suspectées d'être actinobactéries sont reprises séparément sur boîte de pétri contenant le même milieu de culture, elles sont ensuite purifiées par repiquages en strie sur le même milieu de culture. (Cavala *et Everlin*, 1994).

II. 2. 1. 6. Identification des souches d'Actinomycètes

II. 2. 1. 6. 1. Identification macromorphologie

L'étude morphologique et les caractéristiques culturales des isolats choisis ont été évaluées selon la clé décrite dans le projet International de Streptomyces (ISP) (Shirling et Gottlieb, 1966; Ben Ameer *et al.*, 2006). Les caractéristiques culturelles étaient observées sur le milieu ISP2 et Bennett à 30°C après 7 à 21 jours d'incubation (Nonomura, 1974).

II. 2. 1. 6. 2. Identification microscopique

La souche poussant sur les différents milieux (ISP2, Bennett) est observée au microscope optique en utilisant les différents grossissements. Ces observations sont réalisées directement à partir de la boites de pétri de manière) bien repérer les structures en place (sporulation du mycélium aérien, fragmentation ou non du mycélium du substrat. L'étude macromorphologique est essentielle pour la reconnaissance des genres (Sabaou *et al.*, 1998).

Tableaux 2. Principaux critères morphologiques et fonctionnelles d'identification des actinomycètes (Schofield et Schaal, (1981); Demain et Solomon (1985).

Critères taxonomiques		Références
Critères morphologiques et fonctionnels	Hyphes : présence, abondance et disposition des hyphes du mycélium végétatif ou du mycélium aérien Spores : nombre, mobilité, forme, position sur les hyphes Présence de sporanges Présence de sclérotés ou de synnématas Résistance des spores à la chaleur Résistance aux traitements acides	Schofield et Schaal, (1981); Demain et Solomon (1985)

II. 2. 1. 6. 2. 1. Coloration de Gram et observation microscopique

La coloration de Gram est la base de l'identification d'une souche bactérienne. Elle doit être parfaitement maîtrisée car c'est le point de départ du choix des examens complémentaires à effectuer, des milieux à ensemercer... etc. Au terme du processus de coloration, les bactéries dites Gram négatives apparaissent roses tandis que les bactéries dit Gram positives sont colorés en bleu foncé ou violet (Baldent, 1997).

A. Technique de coloration (Bldent, 1997)

- ❖ Coloration par le violet: Recouvrir totalement la lame avec le violet de Gentiane;
- ❖ Laisser agir 20 secondes à 1minute selon la force du violet utilisée;

- ❖ Mordançages: Prendre la lame avec une pince et l'incliner légèrement. Eliminer le violet de Gentiane en faisant sur la lame, la solution de lugol;
- ❖ Reposer la lame et la recouvrir de solution de lugol. Laisser agir 15 à 20 secondes;
- ❖ Rejeter et remplacer par la même solution (2fois en laissant agir chaque fois 20secondes);
- ❖ Décoloration par l'alcool, en laissant couler rapidement l'alcool sur le frottis, tenu verticalement ou en position très inclinée jusqu'à ce que l'alcool s'écoule non teinté 5à10 secondes;
- ❖ Recoloration par la fuchsine: Recouvrir la lame d'eau et verser quelques goutte de fuchsine à chaque extrémité du frottis, laisser la fuchsine 10 à 20secondes;
- ❖ Rinçage et séchage: Rincer à l'eau et sécher entre deux feuilles de papier filtre ou à la chaleur de bec benzène.

II. 3. Activité antifongique des isolats d'actinomycètes

L'utilisation des isolats d'actinomycètes isolée, comme moyen de lutte contre les agents pathogènes du sol constitue une première étape, elle permet d'apprécier l'aptitude de ces isolats à inhiber ou réduire la croissance des champignons pathogènes tels qu'*Aspergillus niger*).

II. 3. 1. Test d'antagonisme

L'activité antimicrobienne des souches d'actinomycètes est évaluée par deux méthodes: méthode de confrontation directe et méthode de disque d'agar.

II. 3. 1. 1. Méthode de confrontation direct en boîtes de pétri (Méthode de trait)

Le principe de la technique de confrontation direct consiste en:

Le champignon *A. niger*, provient de pré-culture en boîtes de pétri. Un disque de champignon de 6mm de diamètre est prélevé puis déposé à l'aide d'un emporte-pièce stérile sur une boîte de pétri contenant le milieu PDA. 3cm de la pastille du champignon, un isolat d'actinomycète est ensemencé en trait. Chaque souche bactérienne est confrontée au champignon à raison de 3 répétitions. Le témoin consiste en une boîte contenant une pastille du champignon de 6mm de diamètre et l'inoculum bactérien est remplacé par l'eau distillé stérile (Dennis et Webster, 1971; Inam El-Haq *et al.*, 2003). L'incubation des boîtes est faite à 28°C pendant 10 jours.

Une lecture quotidienne s'effectue par rapport aux cultures témoins et le pourcentage d'inhibition de croissance mycélienne est calculé selon la formule suivante (Wang *et al.*, 2002)

$$(\%) \text{ inhibition} = (\mathbf{R \text{ témoin} - R \text{ test}}) / \mathbf{R \text{ témoin}} * 100.$$

R témoin: distance radiale maximale de croissance du champignon.

R test: distance radiale sur une ligne en direction de l'antagoniste.

II. 3. 1. 2. Méthode de confrontation directe (disque d'agar)

Cette méthode consiste à prélever des cylindres d'agar de 6mm de diamètre d'une culture d'actinomycètes de 14jours et les déposer par la suite dans une boites de pétri contenant le milieu PDA. Une rondelle de 6mm de diamètre de champignon âgée de 10jours est ensuite déposée au centre de la boite et à une distance de 3cm des cylindres d'agar. Les boites sont ensuite incubées à 25°C pendant 5jours. Le témoin contient seulement une rondelle de champignon. Une lecture quotidienne s'effectue par rapport aux cultures témoins et le pourcentage d'inhibition de croissance mycélienne est calculé selon la même formule utilisée auparavant (Wang *et al.*, 2002):

II. 4. Etude du phénomène d'antagoniste des isolats d'actinomycètes *in planta*

Cette méthodes est utilisée pour étudier l'action de deux isolat d'actinomycètes (HDa) et (PU₇) sur la croissance de l'agent pathogène (*A. niger*) d'une part, et d'évaluer l'efficacité de l'inoculation actinomycétales sur la croissance de maïs.

II. 4. 1. Matériel végétal

Le maïs présente une large diversité agro-morphologique. Son cycle du semis à la maturité varie de deux à onze mois, le nombre de ses feuilles de 8 à 48, la hauteur de sa tige de 0,6 à 6 mètres. Certaines variétés produisent plus de quatorze talles par plante. L'épi, long de 2,5 à 30 centimètres, peut comporter huit à plus de vingt rangées de grains.

II. 4. 2. préparation de l'inoculum de champignons (*A. niger*)

Les spores du champignon phytopathogène (*A. niger*) sont obtenues en inondant une culture de 14 jours sur milieu PDA avec 10ml d'eau physiologie stérile, les conidies sont délogées en grattent la surface de milieu avec le bout d'une pipette pasteur stérile. Le liquide résultant est filtré à travers de compresse stérile pour éliminer les débris du mycélium et du milieu. (Omer *et al.*, 2006).

II. 4. 3. Préparation de l'inoculum d'Actinomycètes

Des boites de pétris contenant le milieu nutritif ISP2 sont ensemencées en séries et incubées pendant 7jours à 30°C. Les boites sont ensuite inondées avec 10ml d'eau distillée stérile puis grattées avec une pipette pasteur stérile, la suspension est homogénéisée par agitation à l'aide d'un vortex. (Omer *et al.*, 2006).

II. 4. 4. Mise en place de l'expérimentation

L'objectif de cette expérience est la détermination des effets des souches d'actinomycètes de genre *Streptomyces* qui isolée à partir de deux sols dans la région de M'sila (Pole Universitaire Route de B. B. Arreridj et la région de Hammam Dalaa_Route d'Alger) comme un agent de lutte biologique sur la croissance de plantule de Maïs et leur effet sur les agents pathogènes (*A. niger*) qui cause la maladie de pourriture des grains de Maïs. Lors de cette expérimentation, nous avons utilisé les graines de Maïs.

II. 4. 4. 1. Désinfection et pré-germination des graines de maïs

La désinfection des graines de maïs a été réalisée dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5%. Elles y sont immergées pendant 3min afin d'éliminer toute trace de contamination superficielle préexistante. Les graines désinfectées sont rincées 3fois par l'eau distillée puis transférées dans une boîte de pétri contenant le papier filtre humecté à l'eau distillée pour la pré-germination des graines à raison de 20 graines par boîtes sont incubées 2jours à 25°C.

Après gonflement, les graines de maïs ont été ensemencées dans des boîtes de pétries qui contiennent le papier filtre stérile imbibé par l'eau distillée stérile puis on ajoute la suspension de l'inoculation des actinomycètes et des agents pathogènes par le traitement suivants:

- ❖ **Témoin (-):** 8 des graines de maïs désinfectées par l'eau distillée sont semées dans une solution hydroponique (Eau distillée stérile).
- ❖ **Test positif (-):** 8 graines de maïs sont semées dans une solution hydroponique et en présence de 03 ml de suspension de l'actinomycète.
- ❖ **Témoin (+):** 8 graines de maïs infectées par 02 ml de la suspension d'*Aspergillus niger*.
- ❖ **Test positif (+):** 8 graines de maïs sont semées dans une solution hydroponique en présence de 03 ml de suspension de l'actinomycète et de 02 ml de l'agent pathogène *A. niger*. L'essai est mis en place dans un dispositif factoriel en blocs, avec trois répétitions, à raison d'une boîte de pétri par répétition (26 boîtes de Pétri ont été utilisées au total pour chaque génotype). Après la désinfection des graines à raison de 08 graines par boîtes sont incubées 6 jours à 25°C.

II. 5. Notations et mesures

II. 5. 1. Taux de germination

La germination est notée par comptage effectué tous les 24h jusqu'au 10^{ième} jour. Le pourcentage des graines germées est déterminé par le rapport entre le nombre des plantules normales développées sur le nombre total de graines incubées (ISTA, 2003), selon la formule suivante : $G(\%) = (NGG/NTG)*100$, d'où

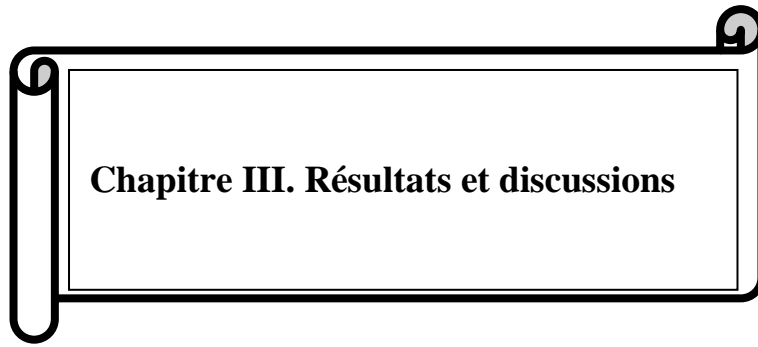
G(%) est le pourcentage de germination, **NGG** est le nombre des graines germées et **NTG** est le nombre totale des graines incubées, toute plantule dont la longueur de la racicule est également ou supérieure à 2mm est considérée comme normale (ISTA, 2003).

II. 5. 2. Croissance foliaire

L'élongation foliaire, qui exprime la croissance, est suivie quotidiennement par la mesure de l'allongement des feuilles. Cette mesure est réalisée quotidiennement à l'aide d'une règle gradué de la base du limbe à la pointe.

II. 5. 3. Longueur des racines et des épi-cotyles

La longueur maximale des racines séminales a été déterminée comme étant la longueur de la racine la plus longue, en moyenne de l'enchantele de 10plantules, la longueur des épi cotyles et mesurée, à partir de la couronne ou premier nœud jusqu'à la sortie de la première vraie feuille (Simmons *et al.*, 1995).



Chapitre III. Résultats et discussions

III. Résultats et discussion

Partie 1. Résultats

III. 1. Souches des champignons pathogènes

III. 1. 1. Identification macromorphologiques et microscopique de l'agent photogène

L'identification de cette souche étant basée essentiellement sur les clés de détermination des RF genres à savoir les caractères cultureux et la morphologie microscopique, établies par [Botton et al., \(1990\)](#), [Messiaen et al., \(1991\)](#) et [Rémi et al., \(1997\)](#).

III. 1. 2. Clés d'identification des moisissures

III. 1. 2. 1. Etude macroscopique

Nous ne considérerons le plus souvent que l'observation des moisissures *in vitro*. Mais des observations similaires peuvent être faites *in vivo* si le champignon présente un développement suffisant. En culture *in vitro*, des paramètres peuvent être prises en compte tels que le milieu de culture, la température d'incubation, la vitesse de croissance, l'aspect général du thalle (mycélium aérien ou non), couleur du revers et formation de gouttelettes d'exsudats. La détection à l'œil nu d'éventuels organes de résistance ou de reproduction. L'odeur du champignon peut être un élément d'identification très important mais, compte tenu du risque potentiel d'inhalation des spores et autres, il est strictement interdit de procéder à un examen olfactif des cultures. Une observation sous la loupe binoculaire est fréquemment utile ; elle présente l'avantage de conserver en place les différents organes du champignon. Tous ces éléments donnent des indications pour l'identification du champignon.

<http://www.univbrest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Methodes+d%27%C3%A9tudes/Observation+et+Identification>

<http://www.univbrest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Methodes+d%27%C3%A9tudes/Observation+et+Identification>

III. 1. 2. 2. Etude microscopique

La détermination des moisissures fait appel aux caractères morphologiques des hyphes et des structures de reproduction. Parmi les caractéristiques des hyphes, on cite : la couleur, la présence ou non de cloisons, le diamètre approximatif, les structures particulières (corémies, etc., ainsi les organes de reproduction où on distingue un ou plusieurs types, en plus de la localisation du mycélium (partie aérienne, ...), ajoutant à ça la couleur, la taille et la forme des organes de reproduction. Les études microscopiques sont faites à partir d'un échantillon monté entre lame et lamelle dans une goutte d'eau ou de

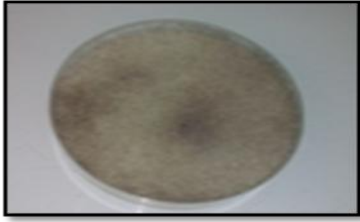
colorant.

<http://www.univbrest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Methodes+d%27%C3%A9tudes/Observation+et+Identification>).

III. 1. 2. 3. Identification macromorphologiques de l'agent pathogène

L'identification macroscopique de l'agent pathogène est basée sur la morphologie de ce dernier c'est à dire la forme et la couleur de mycélium.

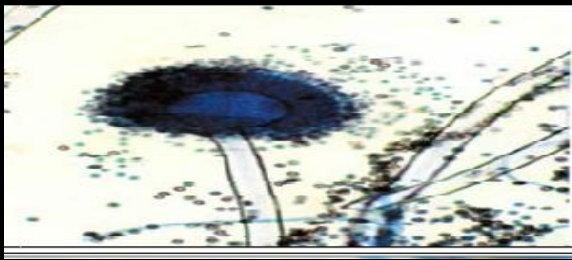

Tableau 4. Caractères macroscopiques de champignons phytopathogènes

Souche de champignon	Aspect macroscopique	Caractères macroscopiques
<i>Aspergillus niger</i>		Colonie cotonneuse a une couleur noir, la croissance est très rapide, avec un couleur de mycélium de substrat est blanchâtre et un mycélium aérien est noir à gris

III. 1. 2. 4. Identification microscopique

L'étude microscopiques porté sur l'observation des structures caractéristiques des souches fongiques isolées (mycélium, conidiophore, conidies) deux genres de moisissures sont mise en évidence, le tableau suivant résumé l'aspect microscopiques des souches de champignons phytopathogènes .

Tableau 5. Caractères microscopiques des souches fongiques phytopathogènes

Souche fongique	<i>Aspergillus niger</i>	
Aspect microscopique du genre	* Têtes conidiennes bisériées, radiées * conidiophores lisses, hyalins * vésicules globuleuses * vêtules brunâtres, variables * conidies globuleuses, échinulées	
Photo microscopique de référence. Malloch, (1997) ; Chabasse <i>et al.</i> , (2002).		G : (40x)
Photo microscopique (Cheloufa <i>et al.</i> , 2017)		G : (40x)

III. 2. Souches des actinomycètes

III. 2. 1. Isolement des d'Actinomycètes

Dans la présente étude, des échantillons de sol prélevés de deux régions ont été explorés dans le cadre de la recherche de souches actinomycètes antagonistes. Ainsi les différentes bactéries ont été isolées sur deux milieux de culture (ISP2 et Bennett). 07 isolats d'actinomycètes ont été isolée à partir deux échantillons des sols aride et semi-aride prélevés dans deux régions de M'sila. A partir du sol semi-aride du pole de M'sila 05isolats d'actinomycètes ont été isolées, c'est le grande nombre d'actinomycètes obtenu dans cette étude (Tableau). A partir du sol aride de la région de Hammam Dalaa (M'sila) 2 souches d'actinomycètes ont été également récoltées. Cette étude a permis de remarquer que le nombre d'actinomycètes varie d'une région à une autre, et cela, probablement sous l'influence des différents facteurs environnementales tel que (le PH du sol, la température, les éléments nutritives, la végétation ainsi que la texture de sol) (Zitouni *et al.*, 2005; Kitouni *et al.*, 2007).

Tous les colonies d'actinomycètes isolées ont été purifiées par repiquage dans le milieu Bennett ou ISP2 et incubées) 28°C pendant 7jours. Les résultats montrent que le milieu ISP2 est le plus favorable pour l'isolement des actinomycètes à partir les tous les régions études et le plus grand nombre d'actinomycètes a été isolées à partir des dilutions 10^{-4} et 10^{-5} est en accord avec celui obtenu par (Kitouni, 2007).

Tableau 6. Nombre et code d'isolats d'actinomycètes obtenus des deux sols

Région	Nombre/ code isolats d'actinomycètes	Nombre total
Hammam Dalaa (M'sila)	HD _a , HD _b	2
Pole Universitaire (M'sila)	PU ₁ , PU ₂ , PU ₃ , PU ₅ , PU ₇ , PU ₈	6

III. 2. 1. 1. Identification des souches d'Actinomycètes

III. 2. 1. 2. Identification macromorphologie

L'étude macromorphologique est fondée sur l'identification des isolats d'actinomycètes. De ce fait, deux milieux de culture ont été utilisés, à savoir, ISP2 et Bennett. Les résultats de ces tests sont mentionnés ci-dessous (**Tableau, Figure**).

Tableau 7. A: Caractéristiques des souches d'actinomycètes par l'observation macroscopique

Milieu de culture	Isolats d'actinomycètes	PU ₁	PU ₂	PU ₃	HD _b
ISP ₂	Croissance	Moyenne	Moyenne	Moyenne	Moyenne
	Couleur de mycélium aérien	Gris	Blanche	Blanche	Moyenne
	Couleur de mycélium de substrat	Brune marron à	Jaune	Jaune	Jaune
Bennett	Croissance	Moyenne	Moyenne	Moyenne	Moyenne
	Couleur de mycélium aérien	Jaune claire	Blanche	Blanche	Jaune claire
	Couleur de mycélium aérien	Blanche	Jaune claire	Jaune	Jaune

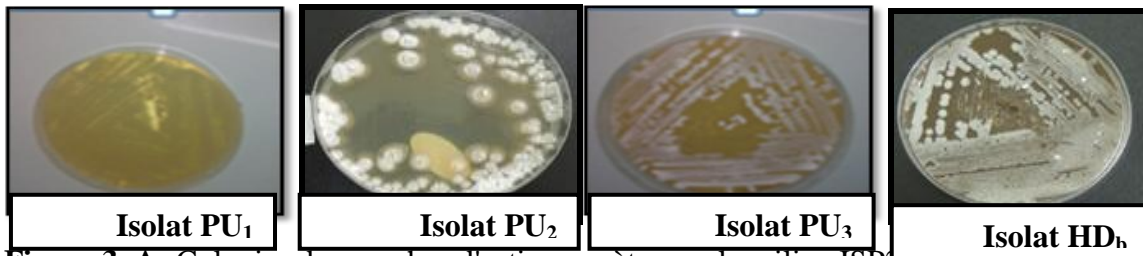


Figure 3. A: Colonies des souches d'actinomycètes sur le milieu ISP₂

Tableau 8. B: Caractéristiques des souches d'actinomycètes par l'observation macroscopique

Milieu de culture	Isolats d'actinomycètes	PU ₅	PU ₇	PU ₈	HD _a
ISP ₂	Croissance	Importante	Importante	Importante	Moyenne
	Couleur de mycélium aérien	Beige claire	Gris claire	Blanche	Gris
	Couleur de mycélium de substrat	Brune foncé	Brune foncé	Jaune	Jaune claire
Bennett	Croissance	Importante	Importante	Importante	Moyenne
	Couleur de mycélium aérien	Gris claire	Blanche	Blanche	Gris claire
	Couleur de mycélium substrat	Jaune	Jaune	Jaune	Jaune claire

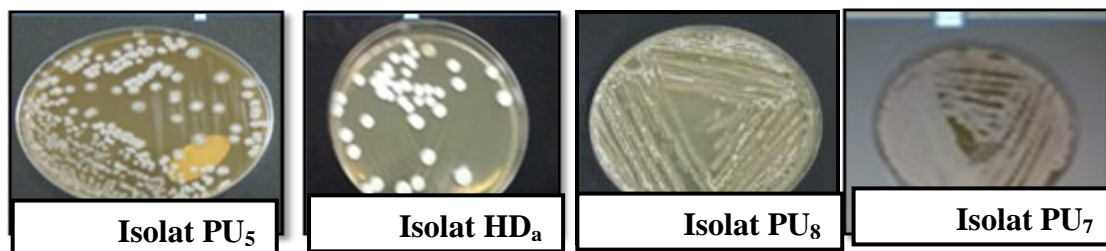


Figure 4. B: Colonies des souches d'actinomycètes sur le milieu ISP₂

III. 2. 1. 3. Identification microscopique

D'après la coloration de Gram, les souches présentent l'aspect typique des actinomycètes a filaments ramifiés de couleur violet (Gam^+) (Figure5).

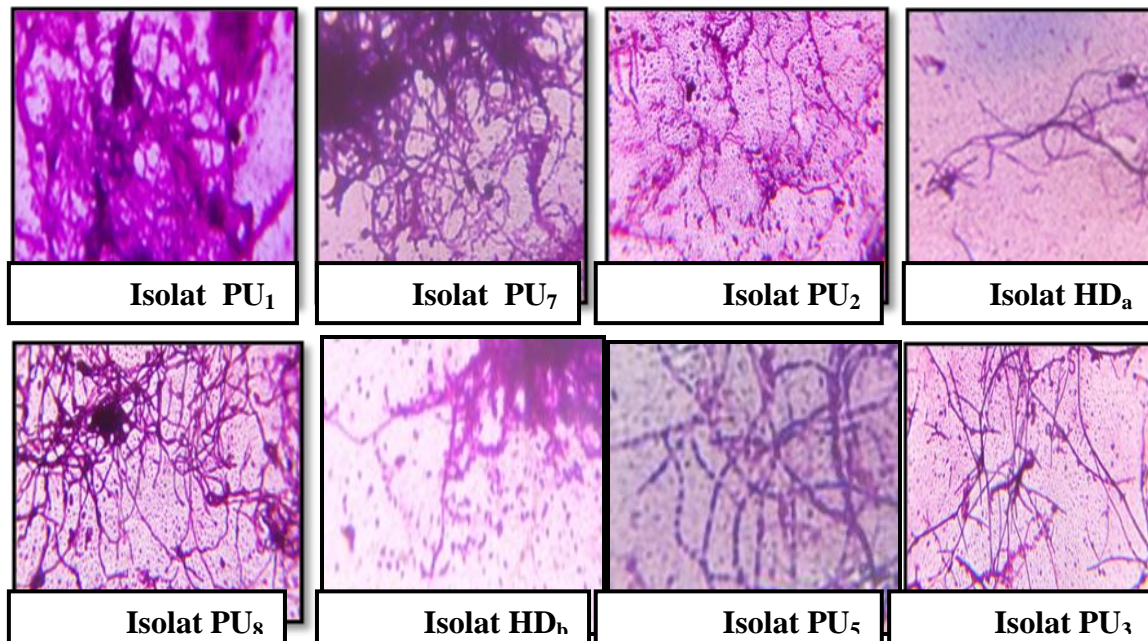


Figure 5. Caractéristiques microscopiques des actinomycètes isolées (G:100X)

Les caractéristiques morphologiques des souches d'actinomycètes sont largement utilisées pour caractériser les genres des actinomycètes. La présence ou l'absence de mycélium de substrat ou la formation de sporanges, permettent de différencier plusieurs genres. Ainsi, la morphologie, la coloration des colonies, la présence ou l'absence d'hyphes aériens fournissent une indication sur le genre (Saubolle et Sussland, 2003).

Les résultats de l'étude macroscopiques et microscopiques ont permis d'identifier 7 isolats sélectionnés et de les rapprocher au genre correspondant. En effet, les 7 isolats précédemment citées dégagent une odeur caractéristique à une odeur de terre, ainsi ont un mycélium aérien blanche, gris et poudreuse par contre le mycélium de substrat est jeune, marron et brune et des filaments fin et ramifiées violet par la coloration de Gram pour les 7 isolats (PU1, PU2, PU3, PU5, PU7, PU8 HDa et HDb) permet de rattacher ces actinomycètes au genre *Streptomyces* (Holt *et al.*, 1994).

III. 3. Mise en évidence de l'activité antagoniste *in vivo*

Dans notre étude, on a pu déterminer l'action antagonisme de 07 isolats d'actinomycètes contre une souche de champignons pathogènes qui est l'*Aspergillus niger*

III. 3. 1. Résultats des essais de confrontation direct (Technique de trait)

Parmi tous les 8 isolats d'actinomycètes, on a retenu seulement deux souches qui représentent une activité contre l'agent pathogène *Aspergillus Niger* (HD_a, PU₇). Selon la méthode appliquée technique de trait. L'action antagoniste se traduit par une faible croissance mycélienne des agents pathogènes durant les 5 premiers jours d'incubation, suivi l'arrêt totale de la croissance du coté de la confrontation (antagonistes- pathogènes). (Figure 6 ; 7). Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne des agents pathogènes varie d'u isolat à une autre et cela, quelle que soit la technique utilisé (technique de trait).

Pour l'agent d'*Aspergillus niger*, les deux souches d'actinomycètes représentent respectivement les pourcentages les plus élevées (90, 95%) sur le milieu testé (PDA).

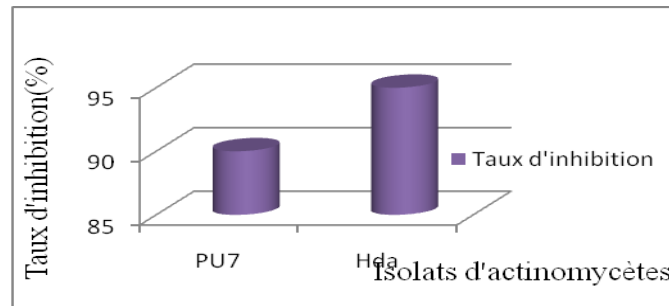
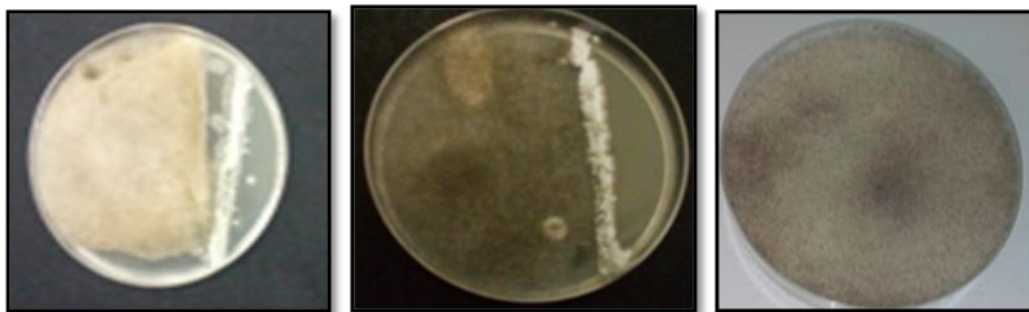


Figure 6.Activité antifongique des deux isolats d'actinomycètes par la méthode de trait.



Isolat HDa + A. niger

Isolat PU₇+A. niger

Temoin(n -)

Figure 7. Activité antifongique des souches Hda et PU₇ par la méthode de confrontation directe (méthode de trait).

III. 4. Effet des souches d'Actinomycètes sur les paramètres de croissance du maïs (*Zea mays* L.)

III. 4. 1. Taux de germination

Ce histogramme représente le nombre des graines de maïs germinées après l'inoculation par les deux isolats d'actinomycètes (HDA ,PU7) après 06 jours de culture , où en observe

que l'effet de l'isolat PU7 sur le taux de germination est plus grande que l'isolat HDa ,58.33 pour la première et 37, 5 pour la deuxième isolat(Figure8)(Tableaux 9).

Tableau 8. Tableau des carrés moyens des paramètres mesurés et signification ($\alpha = 0.05, 0.1\% \text{ \& } 0.01\%$)

Paramètres Traitements	G%	NR	LR	NF	LF	LE
Act ⁺ (PU)	50.00 a/ns	5.75a ^{***}	12.11a ^{***}	1.5a ^{***}	6.67a ^{***}	3.63a ^{***}
	39.58 a/ns	4.83a ^{***}	3.90b ^{***}	1.25b ^{***}	3.87b ^{***}	3.00b ^{***}
	29.17 a/ns	2.40b ^{***}	2.90c ^{***}	1c ^{***}	2.30c ^{***}	1.92c ^{***}
Act ⁺ (HDa)	50.00 a/ns	4.83a ^{***}	12.11a ^{***}	2.33a ^{***}	5.93a ^{***}	3.63a ^{***}
	39.58 a/ns	4.50b ^{***}	6.16b ^{***}	1.83b ^{***}	5.00b ^{***}	2.90b ^{***}
	29.17 a/ns	3.00c ^{***}	4.51c ^{***}	1.33c ^{***}	3.83c ^{***}	2.62c ^{***}
Act ⁺ (HDa) / Asp ⁺ (<i>A. niger</i>)	25.00a/ns	4.00a ^{***}	10.50a ^{***}	2.00a ^{***}	3.33a ^{***}	3.80a ^{***}
	25.00a/ns	4.00a ^{***}	10.16b ^{***}	1.50b ^{***}	2.87b ^{***}	2.47b ^{***}
	25.00a/ns	3.25b ^{***}	5.50c ^{***}	1.25c ^{***}	2.75c ^{***}	2.32c ^{***}
Act ⁺ (PU) / Asp ⁺ (<i>A. niger</i>)	25.00a/ns	4.50a ^{***}	4.26a ^{***}	1.66a ^{***}	4.46a ^{***}	4.00a ^{***}
	25.00a/ns	2.66b ^{***}	4b ^{***}	1.50b ^{***}	4.33b ^{***}	2.80b ^{***}
	25.00a/ns	2.00c ^{***}	1.7c ^{***}	1.00c ^{***}	1.00c ^{***}	1.90c ^{***}

G% = Taux de pourcentage, NR= Nombre des racines, LR = Longueur des racines, NF = Nombre des feuilles, LF = longueur des feuilles, LR = Longueur des épi-cotyles ; Act⁺_PU = en présence de la souche bactérienne isolée du pole universitaire, Act⁺_HDa= en présence de la souche bactérienne isolée de Hammam Dallah, Asp+ (*A. niger*) = en présence du phytopathogène (*Asperdillus niger*) ; ($\alpha = 0.05 = * =$ effet significatif au seuil de 5% ; ** effet significatif au seuil de 0.1% ; *** effet significatif au seuil de 0.01% ; ns = non significatif.

L'analyse de la variance des traitements effectués sur les différents paramètres, a dégagé trois groupes homogènes pour l'ensemble des facteurs étudiés à l'exception du facteur du taux de la germination ou on a enregistré un seule groupe (groupe a), et cela que se soit en présence ou en absence de la souche bactérienne et/ou le phytopathogène, ce qui montre clairement que la germination ne dépend à aucun de ces facteurs parce que ce phénomène est purement physiologique s'articule principalement sur la déshydratation des réserves. La comparaison des moyennes à l'aide du test LSD au seul de ($\alpha = 0.05$) a révélé

un effet très hautement significatif ($\alpha = 0.01\%$) pour tout les paramètres mesurés sauf pour le paramètre de la germination où on a enregistré un effet non significatif (Figure 8 ;Tableaux 9).

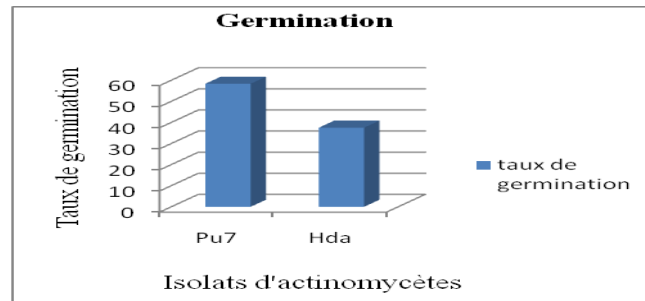


Figure 8. Taux de germination de *Zea mays* inoculée par les 02 isolats d'actinomycètes (HDA et PU7) après 06jours de culture.

III. 4. 2. Nombre et longueur des racines

D’après ces résultats, le nombre des racines de *Zea mays* inoculés par l’isolat PU7 est plus grande (4) que les graines inoculés par l’isolat HDA (3) (Figure 9).

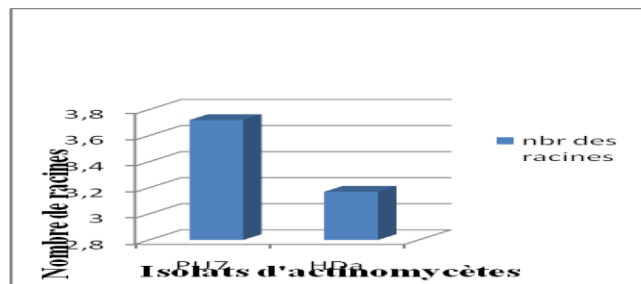


Figure 9. Nombre des racines de maïs inoculé par les 02 isolats d'actinomycètes après 9 jours de culture.

La longueur des racines des graines est très différente selon l’isolat d’inoculation où nous avons trouvée que l’effet de l’isolat PU7 est moine que l’effet d’isolat HDA (3.65 ,3.92) respectivement (Figure10, Tableaux 9).

L’analyse de la variance des traitements effectués sur ce paramètres, a dégagé trois groupes homogènes (a ,b et c), et cela que se soit en présence ou en absence de la souche bactérienne et/ou le phytopathogène, ce qui montre clairement que la nbr et longueur des racines et dépend au ces facteurs. La comparaison des moyennes à l’aide du test LSD au seul de ($\alpha = 0.05$) a révélé un effet très hautement significatif ($\alpha = 0.01\%$) pour (Tableaux 8) de valeur de 0.1 %.

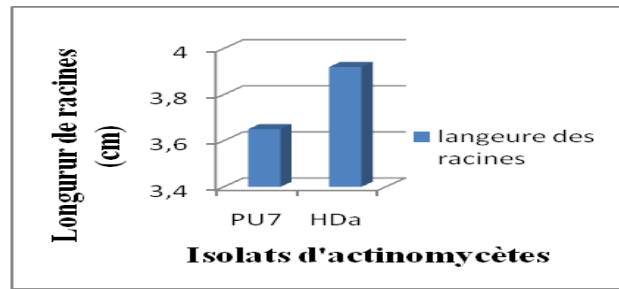


Figure 10. Longueur des racines de maïs inoculée par les isolats d'actinomycètes après 09 jours de culture.

III. 4. 3. Longueur des épi-cotyles

Les résultats de cet histogramme représentent la longueur d'épi-cotyle où nous avons remarqué que l'isolat PU7 à une action plus efficace sur ce paramètre que l'isolat HDa (3 cm et 2 cm) respectivement (Figure 11. Tableaux 9).

L'analyse de la variance des traitements effectués sur ce paramètres, a dégagé trois groupes homogènes (a ,b et c), et cela que se soit en présence ou en absence de la souche bactérienne et/ou le phytopathogène, ce qui montre clairement que la longueur d'épicotyle est dépend au ces facteurs. La comparaison des moyennes à l'aide du test LSD au seul de ($\alpha = 0.05$) a révélé un effet très hautement significatif ($\alpha = 0.01\%$) de valeur de 0.1 %.

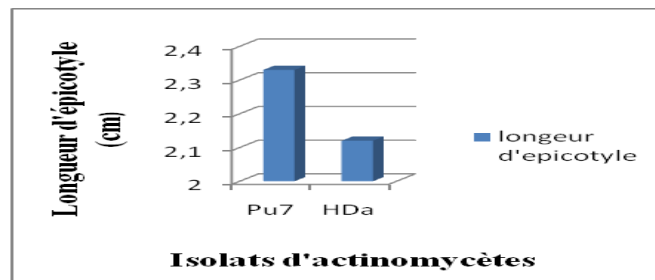


Figure 11. Longueur d'épi-cotyle de maïs inoculée par les isolats d'actinomycètes après 09 jours de culture.

III. 4. 4. Nombre et longueur des feuilles

D'après ces résultats on remarque que le nombre des feuilles de maïs inoculé par l'isolat PU7 est plus grand que les feuilles inoculé par l'isolat HDa c'est-à-dire la stimulation par l'isolat PU7 est plus que l'isolat HDa (Figure 12. Tableaux 9).

L'analyse de la variance des traitements effectués sur ce paramètres, a dégagé trois groupes homogènes (a ,b et c), et cela que se soit en présence ou en absence de la souche bactérienne et/ou le phytopathogène, ce qui montre clairement que le nbr et la longueur des feuilles est dépend au ces facteurs. La comparaison des moyennes à l'aide du test

LSD au seuil de ($\alpha = 0.05$) a révélé un effet très hautement significatif ($\alpha = 0.01\%$) de valeur de 0.1 %.

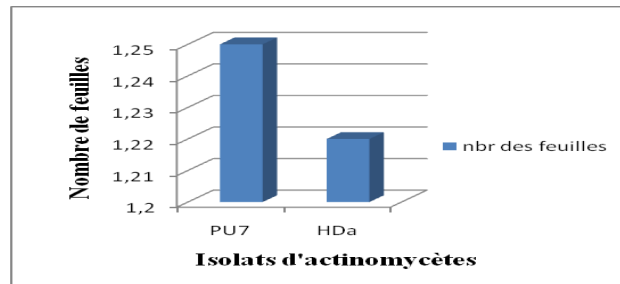


Figure 12. Nombre des Feuilles de maïs inoculé par les 02 isolats d'actinomycètes après 10 jours de culture.

Les mesures effectuées démontrent que les deux isolats d'actinomycètes ont un effet remarquable et de différentes façons sur la longueur des feuilles de maïs où nous observons que pour l'isolat PU7 la longueur est jusqu'à 4 cm par rapport à l'isolat HDa qui présente 3 cm. (Figure 13, tableaux 9).

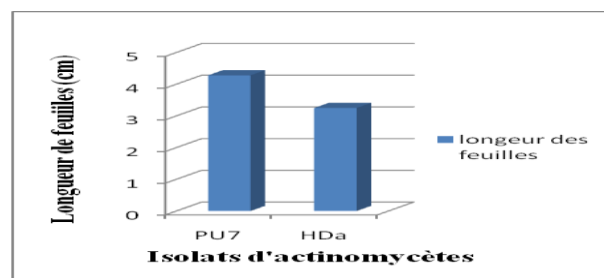


Figure 13. Longueur des feuilles de maïs inoculé par les isolats d'actinomycètes après 10 jours de culture

III. 5. Effet des souches d'Actinomycètes et de *A. niger* sur les paramètres de croissance du maïs

III. 5. 1. Taux de germination

D'après ces résultats on n'observe que le taux de germination des graines de maïs traité par l'inoculum de l'*A. niger* en présence de l'isolat HDa est plus élevée ; représente (62.5%) que le taux des graines inoculé par l'*A. niger* en présence de l'isolat PU7 qui représente (41.67%) et avec une comparaison de ces pourcentages avec le témoin (20%) nous avons vu que ces isolats ont une action inhibitrice contre l'*A. niger* c'est-à-dire (biocontrôle) (Figure 14).

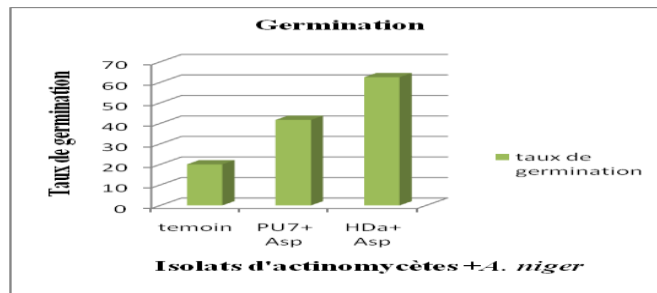


Figure 14. Taux de germination des graines de maïs inoculé par la suspension d' *A. niger*. et 2 isolats d'actinomycètes après 6 jours de culture.

III. 5. 2. Nombre et longueur des racines

D'après ces résultats dans l'histogramme le nombre des racines des graines traité par l'inoculum des isolats HDa et PU7 et en présence de l' *Asp* en observe que le nombre est plus élevée par rapport au témoin, où nous avons trouvée 2 racines en présence d'HDa et 3 racines en présence de PU7 tendis que le nombre pour le témoin est nul, ces résultats indiquent que ces deux souche ont un action antagoniste contre l' *A. niger* (Figure15).

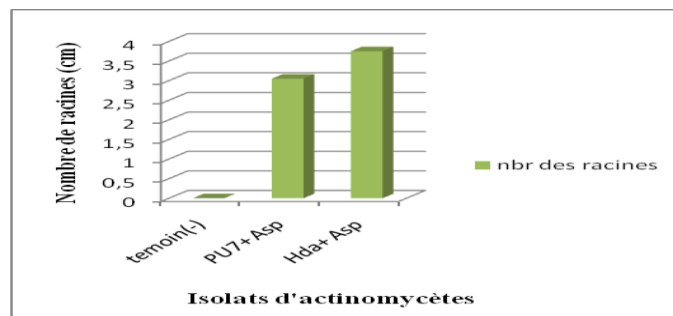


Figure 15 .Nombre des racines de maïs inoculé par la suspension d'*A. niger*. et 2 isolats d'actinomycètes après 9 jours de la culture.

La mesure effectuée montre que la longueur des racines des graines de maïs inoculé par l' *A. niger* en présence de l'isolat PU7 (8.72cm) comme un agent de biocontrôle est plus élevé qu'en présence de l'isolat HDa qui représente (3.32cm), ces résultats indiquent que les deux isolats font une lutte contre le champignon et la comparaison avec le témoin confirme ses résultats (Figure16).

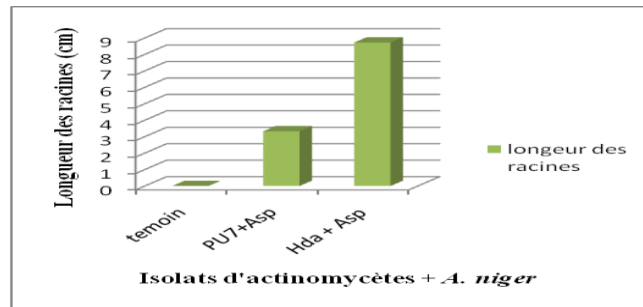


Figure16. Longueur des racines de maïs inoculée par les 02 isolats d'actinomycètes et en présence de l'*A. niger* après 09 jours de culture.

III. 5. 3. Longueur des épi-cotyles

D'après les résultats de ce graphe, l'effet de deux isolats d'actinomycètes sur la longueur d'épicotyle des graines de maïs traité par l'inoculum des actinomycètes et l'*A. niger* est presque le même et représente une valeur important en présence de *A. niger* (2.9cm pour HDA et 2.86 cm pour PU7) (Figure18).

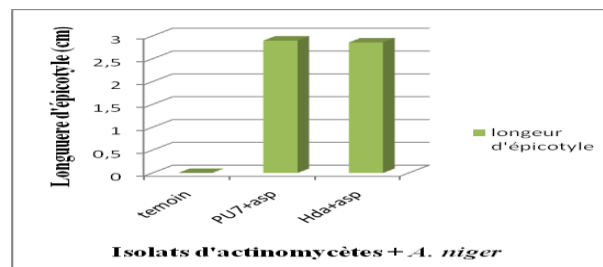


Figure17. Longueur d'épi-cotyle de maïs inoculée par la suspension d'*A. niger*. et les 2 isolats d'actinomycètes après 09 jours de la culture.

III. 5. 4. Nombre et longueur des feuilles

Le nombre des feuilles de la plantule de maïs inoculée par la suspension de l'*A. niger* et en présence de l'isolat PU7 et HDA est très proche où représente 1.39 et 1.58 respectivement pour les deux isolats, c'est-à-dire il ya une inhibition contre la développement de *A. niger* (Figure 18).

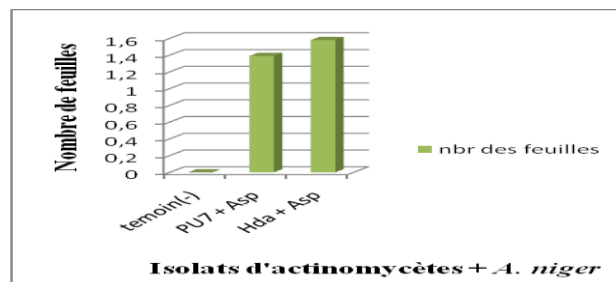


Figure 18. Nombre des feuilles de maïs inoculé par la suspension d'*A. niger* et 2 isolats d'actinomycètes après 10 jours de la culture

La longueur des feuilles des graines de maïs inoculés par la suspension de l'Asp et d'isolat d'actinomycète est très proche représente 3.26cm et 3.31cm pour les deux isolats utilisés et qui forment une action inhibitrice contre l'agent pathogène (Figure19).

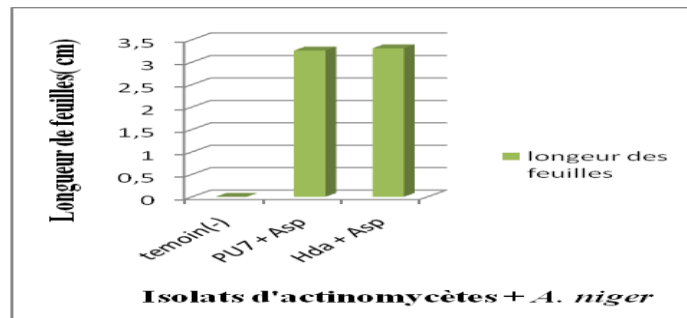
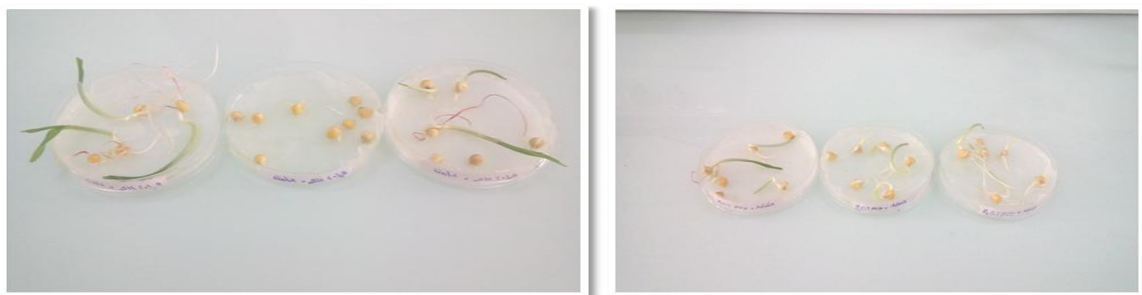


Figure 19. Longueur des feuilles de maïs inoculé par la suspension d'*A. niger*. et 2 isolats d'actinomycètes après 10 jours de la culture

Partie 2. Discussion

L'effet de des isolats d'actinomycètes sur les paramètres de croissance de maïs est présenté dans les figures précédant. L'analyse de ces résultats montrent que le traitement par les deux isolats d'actinomycètes sur les graines de maïs ont un effet remarquable et important sur les différents paramètres de croissance tel que le taux de germination, le nombre et longueur des racines, la longueur d'épi-cotyl et des feuilles. Cet effet est différent d'un isolat à l'autre selon leur stimulation, comme exemple on a surtout l'isolat PU7 plus que HDa, qui montrent la stimulation la plus répondeur chez les graines de maïs.



Prise photo 1. Les graines de maïs inoculé par les deux isolats d'actinomycètes (PU7 et HDa) après 8 jours.

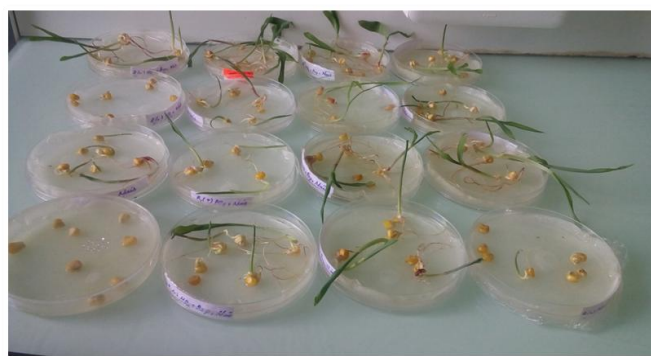
Ces résultats participent certainement dans le processus de la lutte biologique (Kleopfer *et al.*, 1980). Ces souches peuvent être affiliées aux PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Il est connu que certaines de ces rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPR) peuvent aussi protéger les plantes contre les infections des phytopathogènes (Gamalero *et al.*, 2005).

Cependant, en bio-contrôle, Les résultats de l'effet de les' isolats d'actinomycètes (HDa et PU7) sur l'expression de la pourriture de graines de maïs sont présent dans les figures précédant. Ces résultats montrent que les actinomycètes ont un effet inhibitrice contre le champignon pathogènes(*Asp*), cette inhibition se traduit par l'amélioration des paramètres de croissance comme le nombre et la longueur de racines, épi-cotyles, feuilles et le taux de germination. Donc en peut dire que le meilleure solution pour éviter les maladies de maïs est l'utilisation des actinomycètes comme une agent de lutte biologique contre ces maladies.

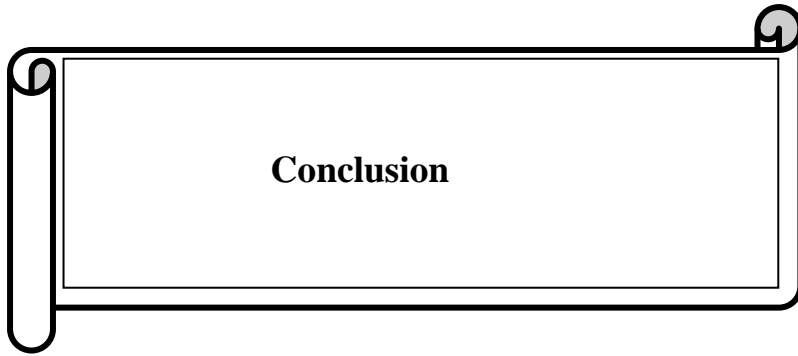


Prise photo 2. Plantules obtenus à partir des graines de maïs inoculé par les deux isolats d'actinomycètes (PU7 et HDa) et en présence de l'*Asp niger* après 8 jours.

En comparaison, nos résultats obtenus concordent avec les résultats de travaux de nombreux chercheurs qui ont confirmé le rôle des microorganismes dans la lutte biologique contre les maladies des plantes. En prend comme exemple les travaux de [Eljaafari et al. , \(1995\)](#). Qui utilisent les microorganismes pour déterminer leur effet sur les ennemies de la culture des plantes et comme un agent de lutte biologique. Ainsi pour le chercheure [Yekkour et al., \(2012\)](#) . Qui sont appliqués les actinomycètes sahariens pour la lutte biologique contre le maladie de fonte de semis. Pour les chercheures [Meredith et Pohland , \(1970\)](#) qui sont montrés que les actinomycètes sont des producteurs des produits antibiotiques qui pourraient empêché la croissance des agent phytopathogène d'une part et d'autre part pour l'amélioration de rendement .



Prise de photo 3. Ensemble de plantules de maïs (*Zea mays* L.) obtenues.



Conclusion

Conclusion et perspectives

A. Conclusion

Dans cette étude nous avons isolés des isolats d'actinomycètes à partir de deux échantillons rhizosphériques de sol de la wilaya de M'Sila , à savoir, la zone de Hamma Dalaa et la zone du pole universitaires dans le but de connaître et d'évaluer leurs effets antagonistes contre l'agent phytopathogène de maïs (*A. niger*) qui cause la maladie de la pourriture des graines de cette plante. Notre travail s'est axé sur le suivie de la croissance des graines de maïs et l'observation des paramètres mesurées en présence de deux isolats d'actinomycètes (HDa et PU7) d'une part et d'autre part en présence de ces deux isolats avec l'agent phytopathogène. Les résultats ont été remarquable au niveaux des paramètres mesurées (taux de germination, longueur et nombre de racines, longueur d'épi cotyle ...etc.) ce qui confirme le rôle des actinomycètes comme agent de lutte biologique et inhibitrice contre les maladies des plantes en générale et maladies de maïs en particulier, ainsi que ses bactéries peuvent améliorer le rendement. Selon les résultats obtenus on peut dire que les actinomycètes représentent une grande proportion de la biomasse microbienne du sol et ont la capacité de produire une large variété d'antibiotiques et d'enzymes extracellulaires. Plusieurs souches d'actinomycètes s'avèrent capables de protéger les plantes contre des maladies des plantes et provoquent ainsi leurs croissance et leurs développement ([Cyri et al,2001.](#))

B. Perspectives

En perspectives et Au terme de ce travail, nous envisageons de continuer les recherches sur certains axes pertinents relatifs aux actinomycètes et qui méritent d'être étudiés. Il est intéressant d'approfondir les études pour : premièrement une connaissance précise des principaux déterminants de la suppression des champignons et/ou de bactéries phytopathogènes par les bactéries actinomycètes et deuxièmes déterminer les principaux métabolites synthétisés par ces microorganismes, qui auraient un impact bénéfique sur les plantes. L'établissement d'un système de lutte biologique dépend nécessairement de la stabilité et de la survie des micro-organismes antagonistes et/ou stimulateurs au niveau de la rhizosphère. Par conséquent, la poursuite des travaux nécessite l'étude du pouvoir colonisateur de bactéries sélectionnées au niveau de la rhizosphère et l'évaluation de leur effet d'une part sur la croissance de la plante cible, et d'autre part sur le développement des autres microorganismes pour ne pas créer un déséquilibre dans l'environnement. Il est intéressant d'effectuer un échantillonnage plus large dans les principales zones céréalières du pays et dans les différents étages bioclimatiques, afin d'obtenir des souches qui peuvent êtres plus

efficaces. L'identification morphologique des bactéries isolées doit être confirmée par les outils moléculaires. Il serait également intéressant de trouver des formulations en vue de produire des biopesticides à base d'agents antagonistes qui se montrent efficaces.

Ce travail met en évidence l'existence d'une faune bénéfiques dans la rhizosphère et qui nécessite des études plus poussées afin de trouver des moyens pouvant atténuer la nocivité des agents pathogènes sur le maïs et en même temps l'amélioration de la production des végétaux en générale et des maïs en particulier.

Références bibliographiques

A

- Amarwicez, R., Karamac, M., Weidner, S., Abe, S., Shahidi, F. (2002).** Antioxydant activity of wheat caryopses and embryos extracts. *J. Food Lipids*, 9:201-210
- Amokrane, A., Bouzerzour, H., Benmahammed, A., Djekoun. A. (2002).** Caractérisation des variétés locales, syriennes et européennes de blé dur évaluées en zone semi-aride d'altitude. *Revue Sciences et Technologie* (Univ. Mentouri, Constantine). Numéro spécial D, 33-38.
- Alais, C., Linden, G., MICHO. (2003).** Biochimie Alimentaire. 5^{ème} eds. Dunod. 131 p.
- Alexander M. (1977).** Introduction to Soil Microbiology. Wiley, New York. 480 p.
- Anonyme. (2004).** Inventaire myrmécologique de la réserve naturelle volontaire trésor. Rapport de mission 10 au 25 janvier 2004, PP 13-15.
- Agrios, G. N. (2005).** Plant pathology, 5^{ème} édition. Departement of plant pathology University of Florida; Elsevier Academic Press. PP.948.
- Abdelaziz, W. (2006).** Isolement des mycètes producteurs de substances antibactériennes à partir des sols sahariens. Mémoire de Magister, option Microbiologie et Biochimie Appliquées. Université de Constantine, Département des Siences de la nature et de la vie. 100 p.

B

- Balachowsky A. (1936).** Insectes nuisibles aux plantes cultivés, leur mœurs, leur destruction. Ed. Basson, Paris, Tome 1, PP 11-37.
- Borteli L. (1969) .** Contribution à l'étude du problème des oiseaux granivores en Tunisie Bull. Fac. Agro. 22-23 : PP 19-153.
- Bellatreche M. (1985).** Approche économique des dégâts aviaires en Algérie. Premières journées d'étude sur la biologie des ennemis des cultures, dégâts et moyens de lutte. I. N. A., El-Harrach (Alger), 8p.
- Bozzini A. (1988).** Origin, distribution, and production of durum wheat in the world in Fabriani G. et C. Lintas (éd). Durum: Chemistry and Technology. AACC (Minnesota), Etats-Unis, 1-16.
- Botton B., Breton A., Fevre M., Gauthier S., Guy P H., Larpent J P., Reymond P., Sanglier J J., Vayssier Y., Veau P. (1990).** Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2^{ème} édition. Masson. Collection Biotechnologies. P: 34-428.

- Bonjean, A. E., Picard. (1990).** Les céréales à paille origine, historique, économie et sélection Eds Nathan, 235p.
- Bouzerzour H., and Benmahammed A. (1994).** Environmental factor limiting barley grain yield in the high plateaux of eastern Algeria. *Rachis*. 12, 11-14.
- Benbrook C.M., Groth E., Halloran J.M., Hansen M.K. and Marquardt S. (1996).** Pest management at the crossroads, Consumers Union, Yonkers. 272
- Belaid D. (1996).** Aspects de la céréaliculture Algérienne. Ed. Office des publications universitaires, Ben-Aknoun aliments. 1^{ère} édition. Lavoisier. Paris, 206 p 397p
- Berg G., Kurze S., Buchner A., Wellington E.M. and Smalla K. (2000).** Successful strategies for the selection of new strawberry-associated rhizobacteria antagonistic to *Verticillium* wilt. *Can. J. Microbiol.* **46**, 1128-1137.
- Blok W. J., Lamers J. G., Termorhuizen A. J., Bollen G. J. (2000).** Control Of Soilborne Plant Pathogens By Incorporating Fresh Organic Amendments Followed By Tarping. *Phytopathology*, p90.
- Bouzerzour H., Bahloul F. Bnmahammed A. et Djekoun A. (2000).** Contribution de la biomasse aérienne, de l'indice de récolte et de la précocité à l'épiaison au rendement grain chez l'orge (*Hordeum vulgare* L.) en zones semi-aride. *Cahier d'Agriculture*, 8: 133-137
- Bouznad Z., Porta-puglia A., Tivoli B., Kharrat M., Di Vito M., Rubiales D., Labdi M. and Meskine M. (2001).** Contraintes biotiques des légumineuses alimentaires dans le bassin méditerranéen: Etat des problèmes, principaux parasites et pertes de rendements. In: *Symposium of legumed. Grain Legumes in the mediterranean Agriculture*. IAV Hassan II, Rabat, Morocco.
- Bressan W. (2003).** Biological control of maize seed pathogenic fungi by use of actinomycetes. *Biocontrol*. 48, 233-240.
- Badji B., Riba A., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N. (2005).** Antifungal activity of a saharan *Actinomadura* strain against various pathogenic and toxinogenic fungi. *J. Med. Myco.* 15, 211-219.
- Boufinar-Zaghouane F., et Zghouane O. (2006).** Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine)." Première édition. ITGC-Sétif (Algérie).154P.

Benamer Mehdim R., Sioud, S., Ben Fguira, L., Bejer, S., Mellouli L. (2006). Purification and structure determination of four bioactive molecules from a newly isolated *Streptomyces* sp. TN97 strain. *Process Biochemistry*. 41; 1506 - 1513.

Bouregghda H. and Z. Bouznad .(2009). Biological Control of *Fusarium* wilt of chickpea using isolates of *Trichoderma atroviride*, *T. harzianum* and *T. longibrachiatum*. *Acta Phytopathol. Entomol. Hung.* 44, 25-38.

Brouillard C. (2013). les maladies cryptogamiques et caractéristiques.(en ligne).P consulté le 31.05. 2014. Adresse URL <http://www.rustica.fr/articale-jardin/maladies-et-parasites/maladies-cryptogamique -définition-et-caractéristiques,4104. Html>

C

Clement Grandcourt et Prat. (1970). Les céréales. Collection d'enseignement agricole. 2ème Ed. PP351-360.

Cisowski W. (1985). Flavonoid compounds in *Myrrhis odorata* l. scop. *Herba polonica* 31, 13-19.

Capo M., Courilleeau V., Et Valette C. (1990). Chimie des couleurs et des odeurs. Culture et techniques, 204.

Corbaz R. (1990). Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. *Presse polytechniques et universitaires romandes*.

Corbaz R. (1990) .Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Presses polytechniques et universitaire romandes (première édition). Lausanne. Suisse, 286p.

Cook R. J. (1993). Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31, 53–80.

Crawford D. L., Lynch J. M., Whipps J. M. and Ousley M. A. (1993). Isolation and characterization of actinomycetes antagonists of a fungal root pathogen. *Appl. Environ. Microbiol.* 59(11), 3899 - 3905.

Cavalla M. and Éberlin T. (1994). Isolement des *Streptomyces* du sol L'opéron, XIX, 4, 13-17.

Copping L. G., and Menn J. J. (2000). Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Manage. Sci.* 56, 651-676.

Cyr. Lézin dumbou., Michelle. K., Hamby. Salove., Don . L., Crawford., Beaulieu.C. (2001). Actinomycetes promising tool to contrôle plant diseases and to promote plant growth. *Revue Phytoprotection* , 82: 85-102.

Chabasse D., Bouchara J.P., De Gentile L., Brun S., Cimen B., Penn P. (2002). Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation biologie médicale. Edition Bioforma. Paris. P. 11- 109.

Carver, B.F. (2009). Wheat science and trade. Ed. Wiley- Blackwell, pp 6 -160.

Choudhary D. K., Prakash A., Wray V. and Johri B. N. (2009). Insights of the fluorescent pseudomonads in plant growth regulation. *Current Science*, **97 (2)**:170-179.

D

Dennis, C., Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. Production of non-volatile antibiotics. Transactions of the British Mycological Society **57**, 25-39.

Dupont. (1982). Hemicellulosic polymers from cell walls of beeswing wheat bran: Part I, Polymers solubilised by alcali. *Carbohydr. Research* **163**: 99p.

Don-Pedro K.N. (1985). Toxicity of some citrus peels to *Dermistes maculatus* Deg-And *callosobruchus maculates* (F). *Journal of stored products research* **21(1)**, PP31-34.

Demain, A.L., Solomon N.A. (1985). Biology of industrial microorganisms. The Benjamin/Cummings publishing company, Inc. pp 291–357.

D'vorak J., Terlizzi P., Zhan H.B. et Resta P. (1992). The evolution of polyploidy wheat identification of the A genome donor species. *Genome* **36**: 21-31.

Decoin S. (1999). Evolution des produits de protection depuis deux ans : Nouvelles familles, promesses tenues *Phytoma Déf. Vég.* 1999, 521p,

Doumbou C. L., Salove M.K., Crawford D. L. and Beaulieu C. (2001). *Actinomycetes*, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. *Phytoprotection*. **82**, 85-102.

Demeke, T., Clear, R.M., Patrick, S.K., Gaba, D. (2005). Species-specific PCR based assays for the detection of *Fusarium* species and a comparison with the whole seed agar plate method and trichothecene analysis. *International Journal of Food Microbiology*, **103**, 271-284.

Djermoun A. (2009). La production céréalière en Algérie: Les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie*, n°01: 45- 53.

Dammer, K. H., Moller, B., Rodemann, B., Happner, D. (2011). Detection of head blight (*Fusarium ssp.*) in winter wheat by color and multispectral image analyses. *Crop Protection*, **30**, 420 - 428.

E

- Eunice, J. A. and Prosser J. I. (1983).** Mycelial growth and branching of streptomyces coelicolor. A3 (2) on solid medium *J.gen.Microbial.* 129, 2029-2036.
- Emmert E. A. B. and Handelsman J. (1999).** Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS. Microbiol. Lett.* 171, 1-9.
- Ezzahiri B. (2001).** Pathologies de blé. *IAV Hassan II*, 01-01-2001, P23
- El-Mehalawy A. A., Hassanein N. M., Khater H. M., Karam-El-Din E. A. and Youssef Y. A. (2004).** Influence of maize root colonization by the rhizosphere Actinomycetes and yeast fungi on plant growth and on the biological control of late wilt disease. *Int. J. agric. Biol.* 6, 599-605.
- El-Tarabily K. A. and Sivasithamparam K. (2006).** Non-Streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biol. Biochem.* 38, 1505-1520.
- Errakhi R., Bouteau, F., Lebrihi, A., Barakate, M. (2007).** Evidences of biological control capacities of *Streptomyces* spp. against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta vulgaris L.*). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23, 1503-1509.
- Errakhi R. (2008) .** Contribution d'actinomycètes (Actinobactéries) à la lutte biologique contre *Sclerotium rolfsii* et rôle de l'acide oxalique dans l'induction des mécanismes de défense. Thèse de Doctorat. Université Cadi Ayyad, Marrakech Maroc.
- Errakhi R., Lebrihi A. and Barakate M. (2009).** *In vitro* and *in vivo* antagonism of actinomycetes isolated from Moroccan rhizospheric soils against *Sclerotium rolfsii*: a causal agent of root rot on sugar beet (*Beta vulgaris L.*). *J. App. Microbiol.* 107, 672-681.

F

- Felix T.(1996).** Etude de la diversité allélique des protéines de réserves (Gluténines et Gliadines) en relation avec des tests de technologie appréciant la valeur d'utilisation de blé tendre (*Triticum aestivum L.*). *INRA.* Clermont Ferrand. France.
- Feldman M. (2001).** Origin of Cultivated Wheat. Dans Bonjean A.P. et W.J. Angus. Ed. *The World Wheat Book : a history of wheat breeding.* Intercept Limited, Andover, Angle terre, pp 3-58.
- Fernandez, M.R., Jefferson, P. G. (2004).** Fungal population in roots and crowns of common and durumwheat in Saskatchewan. *Canadian Journal of plant pathology*, 26, 325-334.

Fravel D. R. (2005). Commercialization and implementation of biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathol.* 43, 337-359.

FAO. (2005). Utilisation des engrais par culture en Algérie. Service de la gestion des terres et de la nutrition des plantes Division de la mise en valeur des terres et des eaux. Rome, 2005. 43p.

Fortas B., Mekhlouf A., Hamsi K., Boudiar R., Laouar A. M. et Djaidjaa Z. (2013). Impacts Des Techniques Culturelles Sur Le Comportement Physique Du Sol et La Culture Du Blé Dur (*Triticum Durum* Desf.) Sous Les Conditions Semi-Aride de La Région de Sétif.” *Revue Agriculture.*, 6: P 12 – P 20.

G

Gottlieb D. (1973). General consideration and implication of the actinomycetales, in Sykes. Skinner G., FA (eds); Actinomycetales ; characteristics and practical importance. *New York, Academic Press*, PP 1-10.

Goodfellow M. and Williams S. T. (1983). Ecology of actinomycetes. *Annu. Rev. Microbiol.* 37, 189-216.

Goodfellow M. and Cross T. (1984). Classification *In: The Biology of Actinomycetes.* Goodfellow M. M., Williams S.T. (Eds). *Academic Press, London.* 7-164.

Gwinner J., Harmisch R. et Muerf. (1996). Manuel sur manutention et la conservation des grains après récolte. Ed, GT2. Esehborn. 368.

Guignard, J. L. (2004). Biochimie végétal 2^{ème} édition Dunod. 188 p.

Guignard, J. L., Dupont, F. (2004). Botanique Systématique moléculaire.13 Ed révisée Masson Paris. PP 116-117.

Gamalero E., Lingua G., Tombolini R., Avidano L., Pivato B. and Berta G. (2005). Colonization of tomato root seedling by *Pseudomonas fluorescens* 92rkG5: spatio-temporal dynamics, localization, organization, viability, and culturability. *Microbial. Ecol.* 50, 289-297.

Gundliffe E. (2006). Antibiotic production by actinomycetes: the Janus faces of regulation. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 33, 500-506.

H

Harlan J. R. (1975). Our vanishing genetic resources .*Science*, (188).

Herve. Y. (1979). Introduction à l'amélioration des plantes. Cours. École nationale supérieure agronomique de Rennes.

Holt, J. G., Krieg, N. R., Sneath P. H. A., Staley, J. T., Williams, S. T. (1994). Bergey's manual of determinative bacteriology. Williams and Wilkins, Baltimore.

Hariri .(1999). Mosaïques sur blé: mise en évidence d'un nouveau virus. *Phytoma - La Défense des Végétaux*, 519 p

Hayakawa M., Yoshida Y. and Iimura Y. (2004). Selective isolation of bioactive soil actinomycetes belonging to the *Streptomyces Violaceusniger* phenotypic cluster. *J. Appl. Microbiol.* **96**, 973-981.

Helluy S. and Holmes J. C. (2005). Parasitic manipulation: further considerations. *Behav. Processes.* **68**, 185-99.

Hamel L. (2010). Appréciation de la variabilité génétique des blés durs et des blés apparentés par les marqueurs biochimiques. Mémoire magister, Département de Biologie végétale et d'écologie ; Université Mentouri Constantine. 83p.

I

I. T. C. F. (2002). Le ble tender. Ministère de l'agriculture. Algerie. Document de vulgarization, 7-55pp.

Inam-ul-Haq M., Javed N., Ahmed R., Rehman A. (2003). Evaluation of different strains of pseudomonas fluorescens for the biocontrol of Fusarium wilt of chickpea. *Pakistant Journal of Plant Pathology*, **2** (1); 65-74.

I. S. T. A. (2003). International Rules for Seed Testing. Zurich, Switzerland.

J

Jijakly M.H. (2003). La lutte biologique en phytopathologie, *In; Phytopathology. Lepoivre P. (Eds). De Boeck, Bruxelles.*

Jimenez-Esquilin T. M. and Roane A. E. (2005). Antifungal activities of actinomycetes strains associated with high altitude sagebrush rhizosphere. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* **32**, 378-381.

K

Kalakoutskaa L. V. and Agre N. S. (1976). Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. *Bacteriol. Rev.* **40** (2), 469-524.

Kuster K. (1979). The concept of gens and species within the *Actinomycetales* in *Nocardia* and *Streptomyces*. *Gutar fisher Verglas.* 21-25.

Kennedy A. C. (1999). Bacterial diversity in agroecosystems agriculture. *Ecosys. Environ.* **74**, 65-76.

Keulen G. V., Jonkers H. M., Closson D. and Woston H. A. B. (2003). Differentiation and anaerobiosis in standing liquid cultures of *Streptomyces coelicolor*. *J. Bacteriol.* 185(4), 1455-1458.

Kitouni M., Boudemagh A., Oulmi L., Reghioua S., Boughachiche F., Zerizer H. (2005). Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north-east of Algeria. *J. Med. Myco.* **15**, 45-51.

Kim B. S. and Hwang B. (2007). Microbial fungicides in the control of plant diseases. *J. Phytopathol.* 155, 641-653.

Kitouni M. (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques a partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de Doctorat en Microbiologie appliquée. Université Mentouri-Constantine. Algérie.170p.

Khamna S., Yokot A. and Lumyong S. (2009). Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25, 649-655.

L

Lechevalier M.P. and Lechevalier H. (1970). Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 20, 435-443.

Lacey J. (1973). Actinomycetales : Characteristics and Practical importance. Edited by G. Sykes and F. Skinner. *The Society for Applied Bacteriology Symposium Series.*

Lechevalier M. P. and Lechevalier H. (1980). The chimiotaxonoy of actinomycetes. *In: actinomycetes taxonomy, special publication 6.* Arlington, VA: Society for Industrial Microbiology. 227- 291.

Lechevalier H. A. and Lechevalier M. P. (1981). Introduction to the order Actinomycetales. *In: the procaryotes*, Eds: Starr M. P., H. Stolp, H. G. Truper, A. Ballows and H.G. Schlegel. Springer-Verlag. Berlin.2, 1915-1922.

Lechevalier M.P. and Lechevalier H. (1985). Biology of actinomycetes not belonging to genus *Streptomyces* *In: Biology of industrial microorganisms. The Benjamin Cummings Publishing Company, Inc.* 315-316.

Larpent J-P. and Larpent-Gourgaud M. (1985). Eléments de Microbiologie. *Hermann.* Paris. 264.

Lechevalier M.P. (1988). Actinomycetes in agriculture and forestry. *In: Actinomycetes in Biotechnology.*

- Larpent J-P. and Sanglier J. J. (1989).** Biotechnologie des antibiotiques. Masson, Paris. 481.
- Lacey J. (1997).** Actinomycetes in composts. *Ann. Agr. Env. Med.* 4, 113-121.
- Larkin R. P., Fravel D. R. (1999).** Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium*. *Wilt of tomato, Dis.* **82**, 1022-1028.
- Le Boulcl et Franque Mangne. (1999).** Evaluation de la qualité sanitaire du blé. A propos des mycotoxines et des moyens de les détecter. *Phytoma*, PP 21-26.
- Lyr, H., Russell, P. E., Dehne H. W. and Sisler H. D. (1999).** Modern fungicides and antifungal compounds. *Intercept Publishers, Andover, England.*
- Leroux P. (2003).** Modes d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogènes des plantes. *Comptes Rendus de Biologie* 326: 9-21.
- Lee Y J., Kim B K., Lee B H., Jo K I., Lee N K., Chung C H., Lee Y C., Lee J W. (2008).** Purification and characterization of cellulase produced by *Bacillus amyloliquefaciens* DL-3 utilizing rice hull. *Bioresource Technology.* 99: 378-386.

M

- Mckey J. (1968).** Species relation in *Triticum* Herditas, 237- 276.
- Meredith J.C., F. G., Pohland. (1970).** Some observation of purple sulfur bacteria association. With waste stabilization ponds. Purdue Eng.Ext. Series 137 (2): 699-707.
- Monneveux Ph. (1989).** Quelles stratégies pour l'amélioration génétique de la tolérance au déficit hydrique des céréales d'hiver. Journées Scientifiques de l'AUPELF :
" Amélioration des plantes pour l'adaptation au milieu aride". Tunis, 4 -9 Décembre.
- Mariat F. and Sebald M. (1990).** Actinomycètes. *In: Bactériologie Médicale.* Le Minor L. et Véron M. (Eds), 2^{ème} édition, *Flammarion.* Paris. 935 - 949.
- Messiaen C. M., Blancard D., Rouxel F. and Lafon R. (1991).** Les maladies des plantes maraîchères. *INRAA*, Paris.
- Matile. 1993.** Les mauvaises herbes d'Afrique du nord. Publication 948 d'Agriculture Maroc. 217p.
- Mahadevan B. and Crawford D. L. (1997).** Properties of the chitinase of the antifungal biocontrol agent *Streptomyces lydicus* WYEC108. *Enz. Microbil. Tech.* 20, 489-493.
- Malloch D. (1997) .** Moulds isolation, cultivation and identification. University of Toronto
[Http// www. Botany.utoronto.ca/researchlabs/malloch/moulds/html.](http://www.Botany.utoronto.ca/researchlabs/malloch/moulds/html)
- Mazzola M. (2002).** Mechanisms of natural soil suppressiveness to soilborne diseases. *Antonie van Leeuw.* 81, 557-564.

McKenna F., El-Tarabili K. A., Petrie S. and Dell B. (2002). Application of actinomycetes to soil to ameliorate water repellency. *Lett. Appl. Microbiol.* 35, 107-112.

Mincer T. J., Jensen P. R., Kauffman C. A. and Fenical W. (2002). Widespread and persistent population of a major new marine actinomycetes taxon in ocean sediments. *Appl. Env. Microbiol.* **68(10)**, 5005-5011.

Madigan, M. T et Martinko, J. M. (2007). Brock Biologie des microorganismes. 11^{ème} éditions. P 396 -398.

N

Nonomura H. (1974). Key for classification and identification of 458 species of the Streptomycetes included in ISP.J. *Fremont. Technol.* 52 (2): 78-92.

Nakkeeran S., Fernando W.G.D.& Siddiqui Z. A. (2005). Plant growth promotin rhizobacteria formulations and its scope in commercialization for the management of pests and diseases. In Siddiqui Z. A. (ed.) PGPR: Biocontrol and Biofertilization. Springer. Dordrecht.The Netherlands, 313p.

Nasraoui , B. (2006). Les champignons parasites des plantes cultivées, biologie, systématique, pathologie, maladies. *Centre de publication universitaire*,Tunis. P456

Nitschke, M., Aeaoujo, L. V., Costa, S. G., Pires, R. C., Zeraik, A. E., Fernandes, AC. L. B., Frieire, D.M.G.,Costiero, J. (2009). Surcaftin reduces the adhesion of food-borne pathogenic bacteria to solid surfaces. *Letters in Applied Microbiology*, 49, 241-247.

O

Okami Y. and Hotta K. (1988). Search and discovery of new antibiotics. In: Actinomycetes in biotechnology. Goodfellow M. G., Williams S.T. and Modarski M. (Eds). Academic Press London, New-York. 33 - 68.

Oufroukh F. et Hamadi M. (1993). Maladies et ravageur des céréales. In benchabane K.D. et Ould-Mekgloufi L. 1998. Evaluation phénologique de quelques variétés d'orge (*hordeum vulgare L.*) et leur sensibilité vis-à-vis de (*Drechslera graminea Rab.*), Mém. Ing Agro. INA.El-HARRACH. PP 59 - 62.

Omer, I., O'Neill,T.M., Rossall, S. (2006). Biological control of *Fusarium* crown and root of tomato with antagonistic bacteria and integrated control when combined with the fungicides carbendazim. *Plant. Pathology*, 55.

P

- Pochon J. et Tardieux P. (1962).** Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Edition de la tourelle, St. Mandé. PP110-111.
- Padrini F et Lucheroni M. T. (1996).** Le grande livre des huiles essentielles .Ed de Vecchi. 115.
- Pieckova, E., and Jesenska, Z. (1999).** Microscopic fungi in Dwellings and their health implications in humans. *Ann Agric Environ Med.*, 6: 1-11.
- Pawlowski K. and Sirrenberg A. (2003).** Symbiosis between *Frankia* and actinorhizal plants: root nodules of non-legumes. *Indian J. Exp. Biol.* 41, 1165-83.
- Perry, J. J., Staley, J. T., Lory S. (2004).** Microbiologie. *Edition dunod.* PP 492, 500.
- Pezet, R., Viret,O., and Gindro,K. (2004) .** Plant-microbe interaction : The Botrytis grey mould of grapes-biology, biochemistry, epidemiology and control management. In: *Advances in Plant Physiology* (Hemantaranjan A., ed), *Scientific publishers, Jodhpur, India*, 7 : 71-116.
- Pintureau, B., (2009).** La lute biologique : Application auxarthropods ravageurs et aux adventices. *Ellipses edition Marignac*, Paris. 19 - 106.

R

- Regnault-Roger C., Hqmrqoui A. (1947).** Lutte contre les insectes phytophages par les plantes aromatiques et leurs molécules allélochimiques. Ed. *Acta bot Gallica.* 401- 412.
- Rivoal. (1978).** Biologie d'*Hefero&rn azjenae* Wollenweber 1 France. 1. Différences dans les cyc.les d'éclosion et de d&veloppement de deux races Fr, et Fr, *Revue Ntimatol.* 1: PP 171-179.
- Rivoal. (1985).** Genetic and phenotypic diversity in the graminaceous cyst nematode complex, inferred from PCR-RFLP of ribosomal DNA and morphometric analysis. *European Journal of Plant Pathology*, 109: PP 227-241.
- Rémi C. (1997).** Identifier les champignons transmis par les semences. *INRA*, Paris.
- Reponen T. A., Gazenko S. V., Grinshpun S. A., Willeke K. and Cole E. C. (1998).** Characteristics of airborne actinomycete spores. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(10), 3807-3812.
- Rai M. K., Acharya D. And Wadegaonkar P. (2003).** Plant derivedantimycotics: Potential of Asteraceous plants, in: *Plant-derived antimycotics: Current Trends and Future prospects.* *Haworth press, N-York, Londin, Oxford*, 165-185.

Rachef S. A, Ouqmer F, Ouffroukh A. (2005). Inventaire des ravageurs de la fève en Algérie (Identification et caractérisation). *Recherches agronomiques*.16:36-41.

Rugthaworn P., Dilokkunanant U., Sangchote S., Piadang N. and Kitpreechavanich V. (2007). Search and improvement of actinomycete strains for biological control of plant pathogens. *Kasetsart. J. (Nat. Sci.)*. **41**, 248-254.

S

Shirling, E. B., Gottlieb, D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. Syst. Bacteriol.*, 16: 313-340.

Singh H. R. et Taylor T.A. (1978). Pest of grains legumes ecology a-And control. Ed. Singh S. R. Vanenden F. And TAYLOR T. A. *Academic press, b- Newyork*, 445p.

Schofield, G. M., K. P. Schaal .(1981). A numerical taxonomic study of members of the Actinomycetaceae and related taxa. *J Gen Microbiol*, 127(2):237–259.

Sabaou N., Bounaga N. and Bounaga D. (1983). Actions antibiotique, mycolytique et parasitaire de deux actinomycètes envers *Fusarium oxysporum* f.sp. *albedinis* et autres formae speciales. *Can. J. Microbial*. **29**, 194-199.

Sardi P., Saracchi M., Petrolini B., Borgonovi G. E. and Merli S. (1992). Isolation of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized roots. *Appl. Env. Microbiol*. 58 (8), 2691-2693.

Samson, R. A. (1994). Taxonomy and current concepts in *Aspergillus*. In J.E. Smith (ed.) , *Biotechnology Handbooks : Aspergillus Plenum Publishing Co.*, pp. 1- 22.

Simmons, S. R., Oelke, E. A., Anderson, P. M. (1995). Growth and development guide for spring wheat. Site web: <http://www.extension.umn.edu/distribution/cropssystems/dc2547.html>.

Sabaou N., Boudjella H., Bennadji A., Mostefaoui A., Zitouni A., Lamari L. (1998). Les sols du Sahara algérien, source d'actinomycètes rares producteurs d'antibiotiques. *Sécheresse*. **9**, 147-153.

Selvey, C., et Riba, G. (1999). Biopesticides contre maladies; insectes mauvaise herbes. *Les Dossiers de l'Environnement*, 19: 157-200.

Subbarao K. V., Hubbard J. C. (1999). Evaluation Of Broccoli Residue Incorporation Into Field Soil For *Verticillium* Wilt Control In Cauliflower. *Plant Dis*.83, 124-129.

Song J., Weon H. Y., Yoon S. H., Parrk D. S., Go S. G. and Suh J. W. (2001). Phylogenetic diversity of thermophilic actinomycetes and *Thermoactinimycetes* isolated

from mushroom composts in Korea based on 16S RNA gene sequence analysis. *FEMS Microbiol. Lett.* 202, 97-102.

Saubolle M. A., Sussland D. (2003). Nocardiosis; Review of Clinical and Laboratory Experience. *J. Clin. Microbiol.* **41**, 4497-4501.

Schouten, A., G, Van Der Berg., Edel-Hermann., C, Steinberg., Gautheron, N., Alabouvette, C., De Vos, C. H., Lemanceau, P. and Raaijmakers J. M. (2004). Defense Responses of *Fusarium oxysporum* to 2, 4-Diacetylphloroglucinol, a Broad-Spectrum Antibiotic produced by *Pseudomonas fluorescens*. The American Phytopathological Society. 11: 1201-1211.

T

Tahvonen R. T. and Avikainen H. (1987). The biological control of seedborne *Alternaria brassicicola* of cruciferous plants with a powdery preparation of *Streptomyces* sp. *J. Agr. Sci. Finland.* 59, 199-208.

Tu J. C. (1988). Antibiosis of *Streptomyces griseus* against *Colletotrichum lindemuthianum*. *J. phytopathol.* 121, 97-102.

Thirupl L., Johsen K. and Winding A. (2001). Succession of indigenous *Pseudomonas* spp. and *Actinomycetes* on barley roots affected by the antagonistic strain *Pseudomonas fluorescens DR54* and the fungicide imazali.. *Appl. Env. Microbiol.* 67(3), 1147-1153.

Takahashi Y. and Omura S. (2003). Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. *J. Appl. Microbiol.* 49, 141-154.

V

Vavilov N. I. (1951). The origin, variation, immunitan breeding of cultivated plants. *Chronica Botanica*, pp:1-351 (translated from Russian by Chester K.S.).

Vineeta S. (2008). Carotenoids in durum wheat grain. fargo, northdocata wheat and barley under a mediterranean environment in Catalonia, *Field Crops Research*(128); pp 109–118.

W

Weigand S, Bishara S. I. (1991). Status of insect pests of faba bean in the Mediterranean region and methods of control. *Options mediterraneennes* .10:67-74.

Wellington E. M. H., Al-Jawadi M. and Bandoni R. (1987). Selective isolation of *Streptomyces* species-groups from soil. *Devel. Indust. Microbiol.* 28, 99-104.

Wang, S. L., Hsaiao, W., J., Chang, W. T. (2002). Purification and characterization of an antimicrobial chitinase extracellularly produces by *Mnoscus purpureus* CCR 31499 in a shrimp and crab shell powder medium. *J. Aric. Food. Chem .*, 50: 2249 - 2255.

<http://www.univbrest.fr/esiabscientifique/Mycologie/Methodes+d%27%C3%A9tudes/Observation+et+Identification>.

X

Xiao K., Kinkel L. L. and Samac D. A. (2002). Biological control of *Phytophthora* root rots on alfalfa and soybean with *Streptomyces*. *Biol. Control*. 23, 285-295.

Y

Yuan W. M. and Crawford D. L. (1995). Characterization of *Streptomyces lydicus* WYEC 108 as a potential biocontrol agent against fungal root and seed rots. *Appl. Environ. Microb.* 61, 3119-3128.

Yilmaz E. I., Yavuz M. and Kizil M. (2008). Molecular characteriazation of rhizospheric soil Streptomycetes isolated from indigenous plans and their antimicrobial activity. *Word J. Microbiol. Biotechnol.* 24, 1461-1470.

Z

Zimmermam, W. (1990). Degradation of lignin by bacteria. *Journal of Biotechnology*.

Zaitlin B., Watson S. B., Ridal J., Satchwill T. and Parkinson D. (2003). Actinomycetes in lake Ontario: Habitats and geosmin and MIB production. *Peer-reviewe, J. AWWA*, 95 (2), 113 - 118.

Zitouni, A., Boudjella H., Lamari L., Badji B., Mathieu F., and Sabaou N. (2005). Nocardiosis and *Saccharothrix* genera in Saharan soils in Algeria: Isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. *Research in Microbiology.*, 156: 984-993.

<http://www.qnis-pedagogie.org>.

1. Milieux pour les microorganismes

Milieu ISP2

Extrait de malt.....	10g
Extrait de levure.....	4g
Glucose.....	4g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml
PH.....	7,2

Milieu Bennett

D-Glucose anhydre.....	10g
Tryptone.....	2g
Extrait de Levure.....	1g
Extrait de Viande.....	1g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml
PH.....	7,3

Milieu PDA

Extrait de pomme de terre.....	250ml
Glucose.....	20g
Agar.....	20g
Eau distillée.....	1000ml
PH.....	5,4

Eau physiologique 9%

Chlorure de sodium.....	9g
Eau distillée.....	1000ml

Milieu de bouillon extrait de levure tryptone

Extrait de levure.....	3g
Tryptone.....	5g
Eau distillée.....	1000ml

Résumé

Cette étude visait à évaluer et suivre le rôle des bactéries de la rhizosphère de sols dans la lutte biologique contre les maladies des champignons pathogène de sols. Où nous avons isolés deux souches des bactéries d'actinomycètes à partir de la rhizosphère de deux régions de M'sila (Hammâm Dalâa et le pole Universitaire). La résultat de l'isolement à permet d'obtenir 08 isolats d'actinomycètes (PU1, PU2, PU3 ,PU5, PU7,PU8, HDa, HDb), ces dernier sont le sujet de l'expérimentation dans laboratoire par un teste d'antagonistes vis à vis le champignons pathogènes *Aspergillus Niger* sur le milieu ISP₂ et Binette. Suivie par un essai à été réalisé sur ces actinomycètes (isolat PU7 et isolat HDa) pour évaluer et déterminer leurs rôles dans la croissance et la lutte biologique contre le champignon *Aspergillus Niger* l'agent responsable de la maladie de pourriture de semence de *maïs* (*Zea mays* L.). En brève les axes étudiés sont les isolats antagonistes (test d'antagonisme), le champignon pathogène qui influencent de la différente façon sur les paramètres de croissances. D'après les résultats de cette expérience deux isolats (HDa et PU₇) d'actinomycètes ont un effet importante dans la protection des semences des plantules contre le champignon, ainsi un effet sur la croissance des graines de *Zea mays*.

Mots clés : *Actinomycètes, Aspergillus niger, Zea mays*, lutte biologique, croissance, développement

الملخص

تهدف هذه الدراسة لتقييم دور بكتيريا تربة الجذور الخيطية الاكتينومييسات في مكافحة الحيوية ضد مختلف الأمراض التي تسببها فطريات التربة. خلال هذه الدراسة قمنا بعزل بكتيريا خيطية لنوعين من الأتربة (تربة الجذور لمنطقة حمام الضلعة و القطب الجامعي لولاية المسيلة). اين تحصلنا على 08 عزلات (PU1, PU2, PU3, PU5, PU7, PU8, Hda (HDb) من هذه البكتيريا للمنطقتين. هذه الاخيرة كانت موضوع الدراسة و التجربة المخبرية من اجل معرفة دورها في مكافحة الحيوية ضد الفطر *Aspergillus niger* العامل المسبب لمرض فساد و ذبول واحترق بذور الذرى. كانت السلالتين HDa و PU7 محل التجربة لمعرفة اثر تحسين النمو و مكافحة الحيوية بحيث ان المحاور المدروسة هي التضاد الحيوي . البكتيريا الخيطية والعامل الممرض *Aspergillus niger* التي تؤثر بدرجات متفاوتة على نمو بذور نبات الذرى. انطلاقا من النتائج المتحصل عليها للسلالات المدروسة تبين ان هناك سلالتين Hda, PU7 لها تأثير على نمو بذور الذرى و دور مهم في حماية النبتة المدروسة من الفطر الممرض *Aspergillus niger*.

الكلمات المفتاحية: بكتيريا خيطية ، مكافحة الحيوية، النمو التطور، *Aspergillus niger* ، *Zea mays*