

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

FACULTE: Sciences

DÉPARTEMENT: SNV

N°: BVM/SNV/10/2017



DOMAINE : SNV

FILIERE : SCIENCES BIOLOGIQUES

OPTION : BIOTECHNOLOGIES VEGETALES
ET METAGENOMIQUE (BVM)

Mémoire présenté pour l'obtention
Du diplôme de Master Académique

Par: DERDJ Djamila

Intitulé

**Effet des actinomycètes sur l'agent
phytopathogène (*Fusarium* ssp.)
chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.)**

Soutenu le **08/06/2017**, devant le jury composé de

Dr. KHOUDOUR Djamel, MCB

Dr. BENDERRADJI Laid, MCA

Mme. ADOUI Nabila, MAA

UMB, M'sila

UMB, M'sila

UMB, M'sila

Président

Encadreur

Examinatrice

Année universitaire : 2016 /2017

Remerciements

Je remercie ALLAH, le miséricordieux, le tout puissant et le plus clément qui nous aide et nous donne le courage de tout faire.

Je tiens à exprimer mes sentiments de reconnaissance à tous les personnes qui ont participé à ce travail, qui m'ont appris une infinité de choses et qui m'ont aidé, conseillé et soutenu à tout moment afin de réaliser ce travail dans les meilleurs conditions.

*En Premier lieu, j'adresse toute ma gratitude à mon encadreur Docteur **BENDERRADJ Laid**, je le remercie pour sa gentillesse, son soutien et pour le fait de m'avoir fait partager son expérience, je lui adresse toute ma reconnaissance pour sa patience, ses conseils, sa compétence, sa disponibilité et sa participation active lors de la rédaction de mémoire.*

*Mes remerciements sont également adressés au **Dr. Djamel KHOUDOUR** qui a accepté de présider le jury de mon mémoire, à **Mme Nabila ADOUI** qui a accepté d'examineur ce travail*

A Mr. Bendif H, Ghadbane M, Handel pour les informations et les conseils.

*Je tiens à remercier également tous les membres de nos familles, parents, mes amis et mes collègues de la promotion master B.V.M 2017: **Khauola, Iman, Siham, Samiha, Hiba, Warda, Fatiha, Fatima.***

Toute notre reconnaissance va aux chefs de département, les ingénieurs des laboratoires ainsi qu'au personnel du département SNV.

Enfin, que tous ceux de près ou de loin, dont l'assistance ou les conseils m'ont permis de mener à bien ce travail

Djamila

Dédicace

A l'aide de dieu tout puissant, qui ma tracé le chemin de vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédié aux personnes les plus chères au monde mes chers parents :

*A la lumière de mes yeux, le bonheur de ma vie ma chère mère **Fettoum** qui ma apporté son appui durant toutes mes années d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné confiance, courage et sécurité.*

*A mon cher père **Mokhtar** qui ma appris le sens de la persévérance tout au long de mes études, pour son sacrifice ses conseils et ses encouragements. Je ne cesserais jamais de remercier mon dieu pour m'avoir donné un père comme toi. Puisse Dieu te protéger inchallah.*

A mes très chères frères : Lazhar, Djamel, Marouane, Kamel et Mohamed et son petit fils Anis, ainsi mes sœurs: Saida, Hadda et Nadjette. A toute ma famille, à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à finaliser ce travail. Je vous dis merci.

A tous mes chérés Amines : Khauola, Imane, Samiha, Fatima, Samya. Merci pour votre soutien et votre présence à mes cotés. Sans oublier mes collègues de la promotion 2017/2018, Master 2 Biotechnologie végétale et méta-génomique (B.V.M).

Djamila

Liste des abréviations

Index	Signification
APG	Angiosperms Phylogeny Group
E	Echantillon
E₁	Echantillon n Numéro-1
E₂	Echantillon Numéro-2
F.ssp	<i>Fusarium ssp.</i>
HD_a	Isolats d'actinomycètes de la région de Hammam Dalaa, M'sila
HD_b	Isolats d'actinomycètes de la région de Hammam Dalaa, M'sila
ISP2	International Streptomyces Project N°2.
ITGC	Institut Technique des Grandes Cultures
PDA	Potato-Dextrose-Agar
PU₁	Isolats d'actinomycètes de la région du Pole Universitaire, M'sila, N°1
PGPR	Plant Growth Promoting Rhizobacteria
PU₂	Isolats d'actinomycètes de la région du Pole Universitaire, M'sila, N°2
PU₃	Isolats d'actinomycètes de la région du Pole Universitaire, M'sila, N°3
PU₅	Isolats d'actinomycètes de la région du Pole Universitaire, M'sila, N°5
PU₇	Isolats d'actinomycètes de la région du Pole Universitaire, M'sila, N°7
PU₈	Isolats d'actinomycètes de la région du Pole Universitaire, M'sila, N°8
R. f.	Rapport frontal

Liste des figures

N°	Titre	Page
01	Cycle de développement du blé	07
02	Symptômes de la fusariose observés chez le blé dur	10
03	Colonies des souches d'actinomycètes sur le milieu ISP2: A (Isolat HD b); B (Isolat PU3); C (Isolat PU2); D (Isolat PU1); E (Isolat PU7); F (Isolat HDa); G (Isolat PU5); H (Isolat PU8).	35
04	. Caractéristiques microscopiques des isolats actinomycètes (G:100X): A (Isolat PU1); B (Isolat PU7); C (Isolat PU2); D (Isolat HDa); E (Isolat PU8); F (Isolat HD b); G (Isolat PU5); H (Isolat PU3).	36
05	Activité antifongique des souches d'actinomycètes par les deux méthodes de confrontation (Technique de trait et de disque d'agar)	38
06	Résultats d'activité antifongique entre le <i>Fusarium ssp.</i> Et les 04 isolats d'actinomycètes (PU2, PU5, PU7 et HDa) par la méthode de confrontation direct (Méthode de trait).	38
07	Résultats d'activité antifongique entre le <i>Fusarium ssp.</i> Et les 04 isolats d'actinomycètes (PU2, PU5, PU7 et HDa) par la méthode de confrontation direct (Méthode de disque d'agar).	39
08	Taux de germination des graines de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par les 04 isolats d'actinomycètes après 06jours de culture	41
09	Nombre des racines de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par les isolats d'actinomycètes après 9 jours de culture	42
10	Longueur des racines de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par les isolats d'actinomycètes après 9 jours de culture	43
11	Longueur d'épi-cotyle de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par les isolats d'actinomycètes après 9 jours de culture	44
12	Nombre des Feuilles de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par les isolats d'actinomycètes après 10 jours de culture	44
13	Longueur des feuilles de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par les isolats d'actinomycètes après 10 jours de culture	45

Liste des figures (la suite)

14	Taux de germination des graines de blé dur (Boussalemet Waha) inoculée par la suspension de <i>Fusarium ssp.</i> et 04 les isolats d'actinomycètes après 06jours de culture	46
15	Nombre des racines de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par la suspension de <i>Fusarium ssp.</i> et les isolats d'actinomycètes après 9 jours de la culture	46
16	Longueur des racines de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par la suspension de <i>Fusarium ssp.</i> et les isolats d'actinomycètes après 9 jours de la culture	47
17	Longueur d'épi-cotyle de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par la suspension de <i>Fusarium ssp.</i> et les isolats d'actinomycètes après 9 jours de la culture	47
18	Nombre des feuilles de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par la suspension de <i>Fusarium ssp.</i> et les isolats d'actinomycètes après 10 jours de la culture	48
19	Longueur des feuilles de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par la suspension de <i>Fusarium ssp.</i> et les isolats d'actinomycètes après 10 jours de la culture	49

Liste des tableaux

N°	Titre	Pages
01	Origine de l'agent pathogène	22
02	Echantillonnage du sol	23
03	Caractères macroscopiques de champignon phytopathogène (<i>Fusarium ssp.</i>)	30
04	Caractères microscopiques de la souche fongique phytopathogène (100X)	31
05	Nombre et code d'isolats d'actinomycètes obtenus de deux sols de la région de M'sila	32
06	Aspect macroscopique d'isolats d'actinomycètes	32
07	Caractéristiques des souches d'actinomycètes par l'observation macroscopique dans le milieu ISP2 et Bennett .	34
08	Comparaison des souches d'actinomycètes par l'observation macroscopique dans le milieu ISP2 et Bennett .	34

Résumé

La rhizosphère du sol est riche en actinobactéries dont certains nombre de ce groupe montrent de fortes aptitudes dans la lutte biologique contre les maladies végétales et spécifiquement contre les champignons phytopathogènes qui réduisent de façon importante la productivité des cultures. Le but de cette étude est la sélection des isolats d'actinobactéries présentant une activité antifongique vis-à-vis de l'agent pathogène fongique *Fusarium ssp* de blé dur. Au cours de ce travail, nous avons isolés 8 souches d'actinomycètes (PU1, PU3, PU8, PU2, PU5, PU7, HDa et HDb) à partir de deux régions de la Wilaya de M'sila (Rhisosphère de la région de Hammam Dalaa et rhisosphère du Pole Universitaire). Après isolement, purification et conservation, l'activité antagoniste de ces isolats a été étudiée *in vivo* envers l'agent pathogène par des différentes méthodes. Ces dernières nous ont permis de sélectionner 4 isolats, nommées, PU2, PU5, PU7 et HDa présentant une activité non négligeable vis-à-vis de champignon pathogène. Nous avons testé l'effet de pathogène *in planta* sur deux variétés de blé dur (Waha et Boussalem). Les résultats montrent un bon effet sur les plantules du blé manifesté par un bon développement et une meilleure résistance vis-à-vis de ces plantules.

Mots clés: *Triticium durum*, *Fusarium ssp.*, Actinomycètes , lutte biologique, contrôle biologique

المخلص

لتربية الجذور قدرة كبيرة في مكافحة معظم الأمراض النباتية وذلك لكونها غنية بالبكتيريا الهيفية (الاكتينومييسات) و خصوصا الأمراض التي تسببها الفطريات السامة التي تتسبب في نقص كبير في الإنتاج الزراعي تهدف هذه الدراسة من جهة إلى انتقاء عزلات تملك فعالية ضد الفطر الممرض لنبات القمح الصلب و هو *Fusarium ssp.* وذلك لاستعمالها في مكافحة الحبيوية ضد مرض ذبول و احتراق نبات القمح . حيث قمنا بعزل 08 سلالات (PU5, PU3, PU2, PU1 PU8, PU7, HDa, HDb) من البكتيريا الهيفية لنوعين من الأتربة لولاية المسيلة (تربة الجذور لمنطقة حمام الضلعة و منطقة القطب الجامعي) ، بعد عزلها و تنقيتها و الحفاظ عليها قمنا بدراسة نشاطها المضاد للفطر حيث تم اختبار نشاطها بطرق مختلفة (*in vivo*) سمحت لنا بانتقاء سلالات سميت HD_a, PU₂, PU₅, PU₇ والتي أظهرت فعالية تضاد معتبرة ضد هذا الفطر. ومن جهة أخرى، قمنا بترجمة هذه النتائج إلى تجربة حية (*in planta*) على صنفين من نبات القمح الصلب (Boussalem, Waha) حيث أظهرت اثر ايجابي على نبتة القمح ترجم ذلك بنقص تطور الفطر و مقاومة هذه النبتة لهذا المرض.

الكلمات المفتاحية : القمح الصلب ، الفطر الممرض (*Fusarium ssp.*) ، البكتيريا الهيفية (الاكتينومييسات) ،
المكافحة الحبيوية ، المراقبة الحبيوية

Table de matières

Remerciement.....	I
Dédicace.....	II
Liste des abréviations.....	III
Liste des figures.....	IV
Liste des tableaux.....	VI
Tables des matières.....	VII
Résumé.....	XI
Introduction	01

Chapitre I: Revue bibliographique

I.1.Généralités sur les céréales.....	03
I.1.1.Historique et origine génétique de blé	04
I.1.2.Morphologie, classification et cycle biologique de blé	05
I.1.3.Importance de la culture de blé	07
I. 2. Maladies de blé	08
I. 2.1. Contamination.....	08
I. 2. 2. Période de l'incubation.....	08
I. 2. 3. Maladies phytopathogènes de blé.....	08
A. Fusariose de blé	08
B. Charbon du blé	09
C. Carie du blé.....	10
D. Rouilles.....	10
E. Mosaïque du blé.....	10
I. 2. 4. Action des microorganismes sur la physiologie des céréales	10
A. Germination.....	10
B. Décoloration.....	10
C. Odeur.....	11
D. Respiration.....	11
E. Photosynthèse	11
F. Reproduction.....	11
G. Croissance.....	12
H. Transport de l'eau et des éléments nutritifs.....	12
I. 2. 5. Adventices et ravageurs du blé	12
A. Plantes adventices.....	12

B. Oiseaux.....	12
C. Nématodes.....	13
D. Insectes	13
D1. Pucerons.....	13
D2. Vers blancs.....	13
D3. Mouche de Hesse.....	13
I. 3. Mécanismes et moyens de lutte contre les maladies de blé.....	14
A. Lutte chimique.	14
B. Lutte culturale.....	15
C. Lutte physique.....	15
D. Lutte biologique	16
I. 4. Intérêt de la lutte biologique dans le contrôle des maladies phytopathogènes	17
I. 4. 1. Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique.....	17
A. Antibioses	17
B. Compétition	18
C. Parasitisme	18
I. 5. Actinomycètes : Agents de lutte biologique contre les maladies phytopathogènes de blé.....	18
I.5.1. Propriétés générales des actinomycètes.....	18
I. 5. 2. Classification des actinomycètes.....	19
I. 5..3. Morphologie des actinomycètes	19
I. 5. 4. Physiologie et écologie des 'actinomycètes	20
I. 5. 5. Rôle des actinomycètes en biotechnologie	20
I. 5. 6. Production d'antibiotiques	21
I. 5. 7. .Avantages de l'utilisation des <i>streptomyces</i> en lutte biologique.....	21

Chapitre II: Matériel et méthodes

II. 1. Souches des microorganismes.....	22
II.1.1.Souche de champignons phytopathogènes	22
A. Provenance et origine de souches fongiques	22
B. Purification et conservation de souche fongique	22
C. Identification de l'agent pathogène.....	22
II. 2. Souches d'Actinomycètes.....	22

II. 2. 1. Isolement des souches d'Actinomycètes.....	22
II. 2. 2. Milieux d'isolement.....	23
II. 2. 3. Technique d'isolement	23
A. Prélèvement des échantillons du sol.....	23
B. Prétraitement des échantillons du sol.....	23
C. Méthode d'isolement (suspension-dilution).....	24
D. Purification des isolats d'Actinomycètes.....	24
E. Conservation des isolats d'actinomycètes	24
II. 2. 4. Identification des souches d'Actinomycètes	24
A. Identification macromorphologie.....	24
B. Identification microscopiques.....	24
C. Coloration de Gram et observation microscopique.....	25
II. 3. Activité antifongiques d'isolats d'actinomycètes	25
II. 3. 1. Mise en évidence de l'activité antagoniste <i>in vivo</i>	26
A. Méthode de confrontation directe en boîtes de pétri (technique de trait).....	26
B. Méthode de confrontation direct (disque d'agar).....	26
II. 4. Etude du phénomène d'antagonisme des isolats d'actinomycètes <i>in</i> <i>planta</i>.....	26
II. 4. 1. Matériel végétal.....	26
II. 4. 2. Préparation de l'inoculation du champignon et d'Actinomycètes	26
II. 4. 3. Mise en place de l'expérimentation	27
A. Désinfection et pré-germination des graines de blé.....	28
II. 5. Notion et mesures	29
II. 5. 1. Taux de germination.....	29
II. 5. 2. Nombre des racines	29
II. 5. 3. Longueur de racines et épi-cotyles.....	29
II. 5. 4. Croissance foliaire.....	29
II. 5. 5. Nombre des feuilles	29

Chapitre III: Résultats et discussion

Première Partie: Résultats

III. 1. Identification macromorphologique et microscopique de l'agent pathogène.....	30
---	-----------

III. 1. 1. Identification macromorphologiques.....	30
III. 1. 2. Identification microscopiques	30
III. 2. Isolement des actinomycètes	31
III. 2. 1. Identification des souches d'Actinomycètes.....	32
A. Identification macromorphologie	33
B. Identification microscopiques.....	35
III. 3. Activité antifongiques d'isolats d'actinomycètes.....	36
III. 4. Etude du phénomène d'antagonisme des isolats d'actinomycètes <i>in planta</i>.....	37
III. 4. 1. Effets des Actinomycètes sur les paramètres de croissance de blé dur.....	39
A. Taux de germination.....	39
B. Nombre des racines	41
C. Longueur de racines	42
D. Longueur d'épi-cotyles.....	43
E. Nombre des feuilles.....	44
F. Croissance foliaire.....	44
III. 4. 2. Effets des souches d'Actinomycètes sur l'expression de la fusariose de blé dur.....	45
A. Taux de germination.....	45
B. Nombre des racines	47
C. Longueur de racines et épicotyles.....	47
D. Croissance foliaire.....	48
E. Nombre des feuilles	48
 Deuxième Partie: Discussion	
III. 5. Discussion	48
Conclusion et perspectives	49
Références bibliographique.....	51
Annexe.....	63

Introduction Générale

Introduction

Les céréales constituent la base de l'alimentation dans le nombreux pays du monde à la production est le plus souvent destinée à l'autoconsommation ou aux marchés nationaux environ 10% de la production mondiale seulement, font l'objet d'échanges sur le marché nationaux environ 10% de la production mondiale (Joel *et al.*, 2009). Le blé est l'une des principales ressources alimentaires de l'humanité (Feille, 2000). Il est classé troisième céréale mondiale après le maïs et le riz et fournit la base de l'alimentation à une majorité de l'humanité. Contrairement au riz, le blé est essentiellement consommé sous forme de produits transformés, qui présentent une très grande variété selon les pays et les régions (FAO, 2005). Le sol est le réservoir de presque tous les microorganismes qui forment des communautés majeures est considéré comme un système vivant dont la qualité doit préservée (Bodoharisoa *et al.*, 2007). Dans les écosystèmes naturels et cultivés, diverses interactions peuvent avoir lieu entre les plantules et les micro-organismes. Ces relations, qu'elles soient neutres, ou encore à l'origine de maladies ou de symbioses, ont toujours suscité un très grand intérêt (Welbaum *et al.*, 2004).

La majorité des maladies de plantes sont causées par les champignons telluriques, largement distribuées dans le sol, provoquant les pourritures de cultures aussi ils endommagent de nombreuses espèces d'arbres forestiers. À l'instar des autres pays, les maladies dues aux champignons telluriques sont rencontrées en Algérie. Entres autres les fusarioses qui affectent diverses cultures: des lentilles (Belabid *et al.*, 2004), du pois chiche (Bouregghda et Bouzned, 2009) et le palmier dattier (Sabaou *et al.*, 1983). Par ailleurs, l'helminthosporiose (Bouzerzour, 1994), les taches chocolat (Bouznad, 2001) et la verticilliose (Bellahcene *et al.*, 2005) menacent les cultures en Algérie.

Les microorganismes pathogènes et surtout les champignons telluriques, sont difficiles à contrôler, parce qu'ils peuvent survivre dans le sol pour de longues périodes (Tschen, 1985). Pour lutter contre ces maladies, l'application illimitée de pesticides dans les sols peut entraîner la pollution de l'environnement et les eaux souterraines. En outre, l'efficacité des fongicides chimiques est souvent compromise par l'émergence de pathogènes résistants. En raison de l'aggravation des problèmes en matière de contrôle des maladies fongiques, une recherche sérieuse est nécessaire pour identifier des méthodes alternatives pour la protection des végétaux, qui sont moins dépendantes des produits chimiques et sont plus respectueux à l'environnement (Prapagdee *et al.*, 2008).

La lutte biologique est l'une des méthodes prometteuse, elle consiste en l'utilisation des microorganismes antagonistes. Parmi ces derniers les actinomycètes sont les meilleurs candidats à appliquer sous forme de cellules vivantes. Ils sont connus pour leur production de métabolites bioactifs. Leur capacité à coloniser la rhizosphère et les racines des plantes, à contrôler les microorganismes phytopathogènes et à former des spores adaptées pour la formulation de produits stables, sont des caractères important pour la réussite du biocontrôle (Yuan et Crawford, 1995; Emmert et Handelsman, 1999; 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 (*Fusarium ssp.*)(Doubou *et al.*, 2001; Rugthaworn *et al.*, 2007).

Le *Fusarium ssp* est un agent phytopathogène responsable de divers symptômes tel que la fonte des semis, les pourritures racinaires, la fusariose de l'épi, les pourritures de la tige ...etc. Chez des nombreuses espèces de plantes dicotylédones et monocotylédones, en particuliers chez les céréales. Ces maladies ont été contrôlés principalement par l'utilisation des fongicides synthétiques d'origine chimique. Cependant d'une part, la lutte chimique génère des impacts négatifs énormes sur l'environnement, et d'autres part l'utilisation répétée de ces fongicides chimiques provoque une résistance chez les champignons pathogènes.

Dans notre travail s'inscrit dans le cadre de la recherche des actinomycètes capables de jouer un rôle important dans la lutte biologique contre le maladie de fusariose de blé.

Aucune recherche n'a portée sur l'isolement des actinomycètes de la rhizosphère des sols de deux région de M'sila et sur leur éventuelle activité contre des microorganismes phytopathogènes. Pour cela nous avons choisi cette région pour mener notre étude, qui s'articule autour de deux axes principaux le premier correspond en la sélection et l'identification d'actinomycètes antagonistes vis-à-vis de champignon phytopathogène isolées localement. Le second correspond à l'étude du rôle des actinomycètes sélectionnés dans la lutte biologique contre une souche de *Fusarium ssp.*, agent de fusariose. Cette étude a été menée sur le blé dur (*Triticum durum* Desf.) comme une plante modèle.

Ainsi, autour de ces deux axes s'articulent les objectifs, à atteindre, suivants :

- L'identification et la caractérisation des champignons phytopathogènes;
- L'isolement d'actinomycètes à partir de deux échantillons de la région de M'sila;
- Et enfin, étude l'activité d'antagonisme *in vitro* et *in planta* des souches d'actinomycètes isolats contre *Fusarium ssp.*

Chapitre N°I:
Revue bibliographique

Chapitre. I. Revue bibliographique

I. 1. Généralités sur les céréales

Les céréales sont un groupe de plantes cultivées appartenant, à l'exception du Sarrasin (blé noir), à la famille des Poacées (Guignard et Dupont, 2004). Cette famille, parmi toutes celles du règne végétal, occupe une place à part, non seulement par le nombre de ses espèces, 9000, mais encore son ubiquité, sa répartition et son intérêt humain, historique comme économique (Guignard et Dupont, 2004; Alais *et al.*, 2003). De plus les Poacées fournissent les éléments indispensables à la nourriture, soit directement par leurs céréales, leurs variétés sucrières, soit indirectement par les espèces fourragères apportant, par le biais de l'animal, les protéines dont nous avons besoin (Guignard, 2004). Les graines alimentaires appartiennent à une dizaine d'espèces végétales. Les plus employées sont: le blé, le riz et le maïs. A cela il faut ajouter les céréales devenues secondaires actuellement: orge, seigle et triticale (Alais *et al.*, 2003).

I. 1. 1. Historique et origine génétique du blé

Le blé est l'une des premières espèces cueillies et cultivées par l'homme au proche Orient, il y a environ 10.000 à 15.000 ans avant Jésus christ (Herve, 1979). D'après Harlan (1975), des restes de blés, diploïde et tétraploïde, ont été découverts sur des sites archéologiques au proche Orient. Selon Feldman (2001), on croit que le blé dur provient des territoires de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran. Les travaux de (Kihara, 1924) cités par (Felix, 1996) ont permis d'attribuer l'origine du génome A à *Triticum monococcum* var. *boeoticum* ou var. *urartu*. Une étude basée sur le polymorphisme de séquences répétées a établi que *Triticum urartu* est le donneur du génome A pour tous les blés polyploïdes tandis que *Triticum monococcum* var. *boeoticum* est présent seulement chez *Triticum zhukovski* (Dvorak *et al.*, 1992). Le génome « D » aurait pour origine *Aegilops squarrosa*.

D'après Vineeta (2008), le blé est originaire de la région semi -aride de la Méditerranée orientale, Proche-Orient et Moyen-Orient. Sa domestication remonte à 10.000 à 15.000ans avant Jésus christ dans la zone nommée croissant fertile, située dans le bassin versant du Tigre –Euphrates (Bozzini, 1988). D'après Vavilov (1951) in (Hamel, 2010), les espèces de blé dur dont le nombre a été de 84 proviennent des espèces parentales primitives dont l'origine est le bassin méditerranéen. Le blé dur a été cultivé dans plusieurs régions du monde, le pourtour du bassin méditerranéen, le moyen orient,

l'Europe occidentale, l'URSS et couvrait également de grand étendus en Amérique du Nord et en Argentine (Bonjean, 2001).

I. 1. 2. Morphologie, classification et cycle biologique du blé

Le blé est une plante annuelle, monocotylédone qui appartient au genre *Triticum* de la famille des graminées (Feillet, 2000). En Algérie, deux espèces sont essentiellement cultivées, le blé dur (*Triticum turgidum* var. *durum*) et le blé tendre (*Triticum aestivum* var. *aestivum*). Elle présente comme une plante herbacée à feuilles assez larges (Bonjean et Picard 1990). La tige ou chaume ne commence à prendre son caractère de tige qu'au début de la montaison, Celle-ci, d'abord pleine, devient creuse sauf au niveau des nœuds qui restent pleins (Clement-Grandcourt et Prat, 1970). Les feuilles sont alternées, ligulées et engainantes. Elles ont des nervures parallèles et sont terminées en pointe. L'inflorescence est toujours en épillets associés en inflorescence complexe, épis ou grappes d'épillets, se recouvrant étroitement les uns aux autres. La fécondation est autogame et le fruit est un caryopse ou grain. Les racines sont de type fasciculé peu développées ; 55 % du poids total des racines se trouve entre 0 et 25 cm de profondeur (Clement-Grandcourt et Prat., 1970; Bonjean et Picard, 1990).

Les blés cultivés appartiennent au genre *Triticum*, qui comporte 21 espèces dont 16 peuvent être considérées comme domestiquées, deux seulement tiennent aujourd'hui une place déterminante dans la culture céréalière mondiale, à savoir, le blé tendre *T. aestivum* L. et le blé dur *T. turgidum* ssp. *durum* Desf. (Mackey, 1968). Au sein du genre *Triticum*, les espèces tétraploïdes sont les plus nombreuses (11 espèces) (Monneveux, 1989). Selon la classification botanique des angiospermes, le blé est classifié comme suit (Angiospermes Phylogény Group « APG »), 2009.

Règne	végétale
Embranchement	Stomatifères
Sous-embranchement	Angiospermes
Classe	Monocotylédones,
Ordre	poales
Famille	Graminées
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce1	<i>Triticum durum</i> Desf. (blé dur) ;
Espèce2	<i>Triticum aestivum</i> L. (blé tendre)

On distingue trois périodes importantes dans le cycle végétatif du blé, à savoir, une période végétative, une période de reproduction et une période de maturation.

*** Période végétative**

Elle s'étend du semis au début de la montaison, elle est subdivisée en plusieurs phases :

**** Phase germination - levée**

La germination commence quand le grain a absorbé environ 25 % de son poids d'eau. Les téguments se déchirent, la racine principale, couverte d'une enveloppe appelée Coleorhize, apparaît, suivie par la sortie de la première feuille, couverte d'une enveloppe appelée Coléoptile. À la surface du sol, puis apparaissent d'autres racines et feuilles. La durée de cette phase varie avec la température de 8 à 15 jours. (Clement-Grandcourt et Prat., 1970).

*** * Phase levée – tallage**

On peut distinguer pendant cette phase à travers le coléoptile, un filament ou rhizome, termine par un renflement qui va se gonfler de plus en plus pour former le plateau de tallage qui se forme presque au niveau de la surface du sol. Le plateau de tallage s'épaissit et des racines secondaires se développent très vite. Des nouvelles feuilles apparaissent et à chacune correspond l'apparition d'un talle. La place des épillets fait par un simple étranglement sur la partie supérieure du végétal. (Clement-Grandcourt et Prat, 1970).

**** Phase tallage-montaison**

La différenciation des épillets se poursuit par étranglements successifs du cône formateur de l'épi. Les talles herbacées se forment activement (Clement-Grandcourt et Prat., 1970)

*** Période de reproduction**

Elle s'étend de la montaison à la fécondation :

**** Phase de la montaison**

Au cours de cette phase, un certain nombre de talles herbacées vont évoluer vers des tiges couronnées d'épis, tandis que d'autres commencent à régresser. La croissance en taille et en matière sèche est alors active. Cette phase se termine au moment de la différenciation des stigmates. La durée de cette phase est de 29 à 30 jours. (Clément-Grandcourt et Prat; 1970).

**** Phase de l'épiaison**

La vitesse de croissance de la plante est maximale. Cette phase correspond à l'élaboration d'une grande quantité de la matière sèche, à l'organisation détaillée des épillets et à la fécondation. La durée de cette phase est d'environ 32 jours.

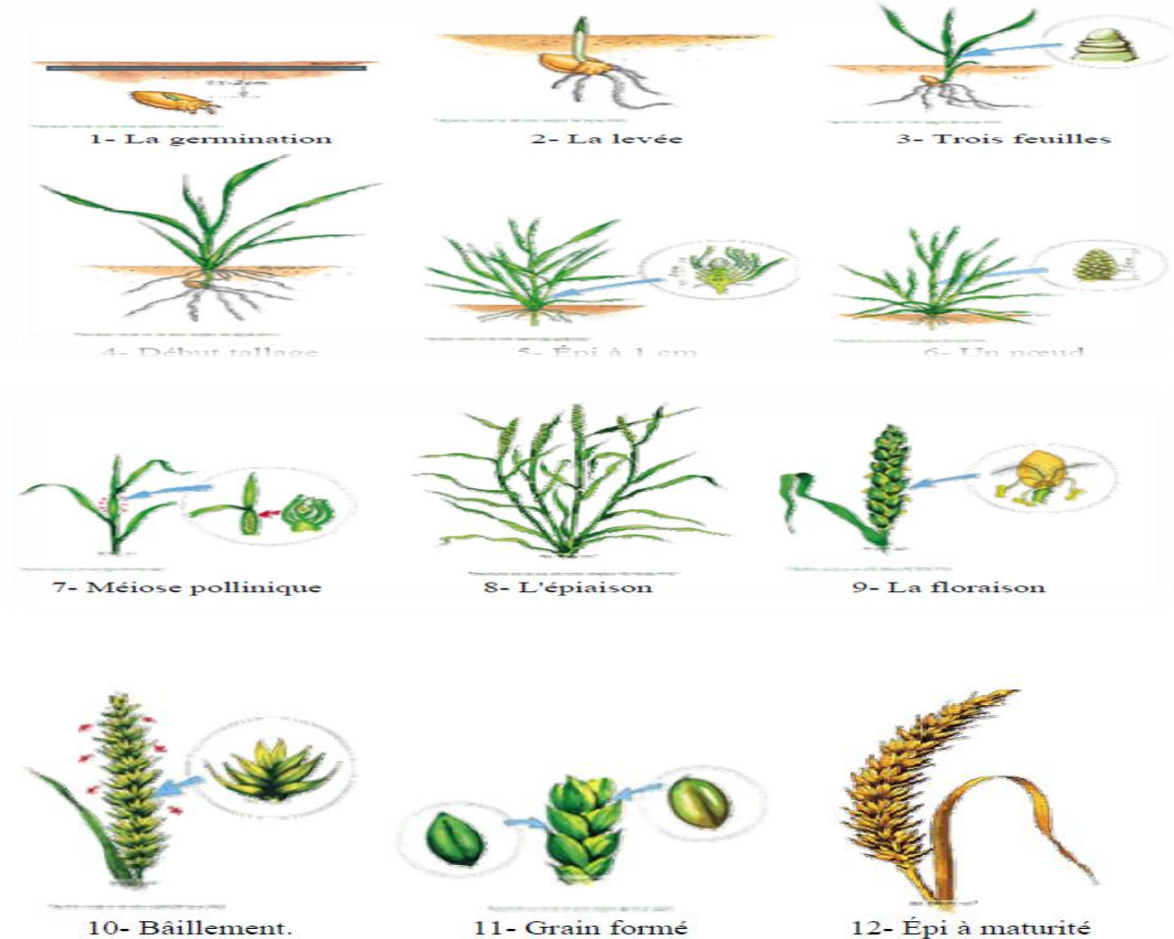


Figure 1: Cycle de développement du blé (Blaid, 1996).

I. 1. 3. Importance de la culture de blé

Le blé est l'une des principales ressources alimentaires pour l'homme et la principale source de protéines. Intensivement cultivé dans des zones arides et semi-arides. Il fournit également une ressource privilégiée pour l'alimentation animale et de multiple application industrielle. La presque totalité de la population mondiale est fournie par les aliments en grains dont 95% sont produits par les principales cultures céréaliennes (Bonjean et Picard, 1990). La production mondiale de blé se montre à environ 580 millions de tonnes et occupe 215 millions d'hectares (ITCF, 2002).

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie mondiale. Cette caractéristique est perçue d'une manière claire à travers tous les phases de la filière (Djermoum, 2009).

I. 2. Maladies de blé

1. 2. 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

1. 2. 2 Période de l'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. 2. 3. Maladies phytopathogènes de blé

A. Fusariose du blé

Les fusariose sont des maladies dévastatrices sur une gamme d'espèces végétales dont on peut citer une majorité sur les céréales (Nitschke *et al.*, 2009). Le blé, l'orge et d'autres céréales à petits grains peuvent être attaqués par un large éventail de *Fusarium spp.*, et cela, sur différents organes de la plante. Ces maladies d'origine tellurique peuvent survenir à tous les stades de développement des céréales, du semis à la récolte, des racines aux épis: fonte des semis et dépérissement des jeunes plantules, pourriture des racines et brûlure de l'épi (Fernandez et Jefferson, 2004).

Cette maladie présente une incidence directe sur les rendements provoquant une diminution de qualité et de nombre de grains par épi accompagnée du risque de présence de mycotoxine dans les grains (Demeke *et al.*, 2005).

La fusariose se manifeste à différents étapes de la croissance des plantes, dont l'infection peut se manifester à la levée, à la montaison et sur les feuilles dès la montaison

ou sur le col de l'épi (Jeunot, 2005). A levée, les pertes sont importantes surtout avec des semences d'épis fusarioses, le *Fusarium roseum* et *Fusarium nivale* sont présents dans le grains entier (réserve, embryon, téguments), alors qu'au début de la montaison, les attaques de *Fusarium spp.*, sur tige sont souvent superficielles. A la fin de la montaison, le *Fusarium roseum* peut s'installer sur la couronne racinaires (pourriture brune) notamment après des alternances sécheresse-humidité, (Jeunot, 2005).(Figure10).

Les symptômes entraînent de l'échaudage en fin de cycle. Au contraire, Les symptômes sur les feuilles se traduisent par des taches brunâtres ovales et verdâtre virant au marron et au dessèchement (Jeunot, 2005). Sur les plantes adulte, on observe une brulure totale ou partielle des épis (Carver, 2009). Au niveau du grain lui-même, et selon la précocité de l'attaque, on peut être en présence d'une brulure variable (Dammer et al., 2011). Les pertes de rendement sont directement liée à la proportion de grains fusarioses (Jeunot, 2005).(Figure 10).

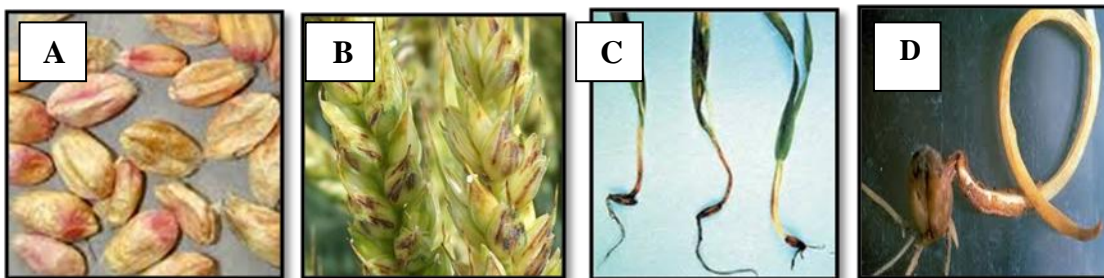


Figure2: Symptômes de la fusariose observés chez le blé D'après Agrios (2005).

A) grains de blé infecté par le *Fusarium* au stade de germination, B) pourriture des tiges et des racines au stade plantule, C) épis de blé fusarioses présentant des symptômes de nécroses; D) grains de blé provenant d'épis variablement infectés.

B. Charbon nu du blé

Cette maladie est causée par *Ustilago segetum*, d'autres variétés de la même espèce fongique affectent d'autres espèces des céréales. Les épis charbonnés de blé sont généralement plus hauts que ceux sains. Ils sont totalement (épillet, glumes, glumelles et grains) transformés en masse poudreuse noire qui est au début couverte d'une délicate membrane puis, rapidement après, éclate et libère la poudre noire. Cette poudre est finalement emportée par le vent, laissant uniquement le rachis (Nasraoui, 2006).

C. Carie du blé

Elle est due à *Tilletia carie* Elle entraîne des diminutions sensibles de rendement et de qualité et compte parmi les maladies les plus importantes du blé dans le bassin méditerranéen. Elle apparaît à l'épiaison. Le blé couvert de spores dorme de mauvaise qualité et inconsommable (Oufroukh et Hamadi, 1993).

D. Rouille

La rouille brune due à *Puccinia triticina*, se déclare entre l'épiaison et la fin de la floraison. Elle se présente sous forme de macules brunes arrondies sur les feuilles. La rouille noire due à *P.graminis*, est observée après la moisson sur les pailles, sous forme de pustules très allongées contenant des spores (Dupont, 1982).

E. Mosaïque du blé

Les deux agents de la mosaïque sont nommes l'un VMB (virus de la mosaïque du blé) et l'autre VMJB (virus de la mosaïque jaune du blé), tous deux sont transmis par le champignon du sol *Polymyxa graminus*. Parfois ces deux virus sont présents simultanément dans la même parcelle. La parade à ces deux maladies est l'utilisation de variétés résistantes (Hariri, 1999). Un autre virus est cité par (Decoin et al., 1999). Il s'agit du JNO (virus de la jaunisse nanisante de l'orge ainsi que celle du blé. Ce virus est transmis par le puceron *Rhopalosiphum padi puce*.

I. 2. 4. Action des microorganismes sur les céréales

A. Germination

La diminution de la germination se produit lorsque les champignons de stockage envahissent le germe ou l'embryon du grain. Ce dernier affaibli et meurt lorsque les champignons de stockage l'attaquent pour utiliser ses huiles et d'autres nutriments (Heredia et al., 2009). Cette réduction est influencée par la teneur en humidité des grains, la température de stockage, l'espèce de microflore impliqué et la durée de stockage (Bose et Hemantaranjan, 2008).

B. Décoloration

La décoloration peut être causée par les champignons de champ et de stockage et peut entraîner un noircissement du germe de blé (Heredia et al., 2009). Les moisissures des champs peuvent induire une décoloration des grains de blé, connue sous le nom (point noir ou tâche du noyau) entraînant l'échaudage des grains et l'affaiblissement ou la mort des embryons (Hanson et Christensen, 1953). Les moisissures de stockage provoquent une décoloration sévère des grains, *Aspergillus glaucus* provoque la décoloration du germe ;

Aspergillus candidus peut se reproduire dans le blé à une teneur en eau de 15-15,5 % entraîne la décoloration de l'ensemble du grain. *Aspergillus flavus* se développe dans le blé entreposé à une teneur en eau supérieure à 18-18,5% et provoque une décoloration rapide du germe et du grain entier. Les moisissures du genre *Penicillium* qui exigent des teneurs en eau relativement élevées peuvent causer la décoloration du grain (Brooker *et al.*, 1992).

C. Odeur

La contamination fongique des grains de céréales est responsable du rejet des odeurs indésirables. Il a été constaté que les grains stockés à des conditions d'humidité élevées ont une odeur de moisi (Mathew, 2010).

D. Respiration

La respiration permet aux cellules saines de libérer l'énergie sous une forme qui peut être utilisée pour le besoin de divers processus cellulaires, tels que l'activation des enzymes, la synthèse des protéines, l'accumulation et la mobilisation des composés, la croissance et la division des cellules, les réactions de défense, (Nasraoui, 2006) . Dans les plantes infectées par les pathogènes, l'une des premières fonctions à être affectées est la respiration du tissu de la plante qui s'accroît généralement en vitesse, indiquent que les carbohydrates sont utilisés plus rapidement que dans le tissu sain. L'augmentation majeure dans la vitesse de respiration coïncide d'habitude avec le commencement de la sporulation par le pathogène. Ce temps correspond précisément au maximum de drainage des éléments nutritifs de l'hôte par le pathogène à cause de l'énergie considérable nécessaire à la production de ses spores (Nasraoui, 2006).

E. Photosynthèse

Tout pathogènes qui attaque les tissus aériens verts affecte le rendement de la culture. En général, les effets nocifs des pathogènes peuvent être directement attribuées à la destruction des tissus photosynthétiques. C'est le cas de la chlorose, la défoliation, les taches foliaires, les brûlures, les nécroses,...Telle destruction dans les tissus verts réduit l'interception de la radiation solaire et par conséquent la capacité photosynthétique de la plante (Nasraoui, 2006).

F. Reproduction

Plusieurs champignons pathogènes ont un effet négatif direct sur la reproduction des plantes en attaquent ou tuant les fleurs, les fruits ou les semences. Ils peuvent aussi agir indirectement en interférant ou en inhibant la production de ces organes (Nasraoui, 2006).

G. Croissance

La croissance et le développement de l'hôte sont affectés à des niveaux plus ou moins importants. Les symptômes tels que les galles, les tumeurs, la ramification excessive, l'épinastie foliaire, l'induction anormale des racines adventices et l'abscission foliaire prématurée sont tous associés à des changements dans le contrôle de la croissance et la différenciation des plantes. Tels changements dans les activités de la plante hôte sont dues à leur infection par les pathogènes (Nasraoui, 2006).

H. Transport de l'eau et des éléments nutritifs

L'interférence du pathogènes avec le transport ascendant et descendant des substances aboutit à la privation de quelques ou plusieurs parties de la plante de recevoir ces substances. Ces partie de la plante ne seront plus capable de fonctionner normalement et par conséquent n'offriront plus leurs services ou leurs produits au reste de la plante, causant ainsi la maladie de la plante entière (Nasraoui, 2006).

I. 2. 5. Adventices et ravageurs du blé

A. Plantes adventices

D'après (Oufroukh et Hamadi, 1993), 20 % des pertes de rendements en céréaliculture sont dues aux mauvaises herbes. Parmi les monocotylédones les plus importantes en Algérie, la folle avoine (*Avena sterilis*), le brome (*Bromus rigidum*), le Phalaris (*Phalaris brachystachys* et *Phalaris paradoxa*) et le ray grass (*Lolium multiflorum*) (Belaid, 1990). La folle avoine s'enracine, talle et forme des tiges mieux que le blé. Elle peut recouvrir ce dernier et l'étouffer, ce qui provoque une concurrence à tous les stades de développement de la culture. Cet adventice est limité par la courbe d'altitude 700 m. Le brome présente un cycle court Il est limité par la zone d'altitude supérieure à 700 avec une pluviosité inférieure a 400 mm (Oufroukh et Hamadi, 1993). Parmi les dicotylédones les plus fréquentes en Algérie, la moutarde des champs (*Sinapis arvensis*), le coquelicot (*Papaver rhoeas*), le souci des champs (*Calendula arvensis*) et le medicago (*Medicago hispida*) (Belaid; 1990).

B. Oiseaux

Les plus redoutables en Algérie sont Les moineaux (Passer) sont des oiseaux de petite taille note que ces derniers touchent sévèrement les céréales précoces De manie (Borteli, 1969) attire l'attention sur le fait qu'un moineau cause une perte réelle sur la récolte de céréales estimée à 300 g de graines ce qui correspond a 150. 000 quintaux sur une population de 50 millions de moineaux. (Bellatreche, 1985) estime que les pertes sur le

blé dans la plaine de la Mitidja à 3,4 quintaux / ha. Parmi les oiseaux nuisibles, il existe également les Corneilles, tel que le Corbeau Freux (*Covrus frugilegus*) qui fait des dégâts sur les jeunes plantes. Un destructeur occasionnel de blé, non négligeable peut être l'Alouette qui s'attaque au blé à la levée.

C. Nématodes

Les céréales sont confrontées à de nombreux ravageurs entre autres les nématodes à Kystes. Dans le monde, un complexe d'au moins 10 espèces de nématodes est inféodé aux céréales (Rivoal et al., 1985). Parmi les plus dangereux, (*Heterodera avenae*) est considéré actuellement comme étant l'espèce la plus dommageable en raison de sa large distribution géographique et ses spécificités aux granunées (Rivoal et al., 1978). Les prospections menées dans quelques régions d'Algérie ont montré qu'il peut exister un mélange d'espèces de nématodes à Kystes des céréales à savoir (*H. avenae*, *H latipons* et *H. mani*) *h.avenae* a été découverte pour la première fois à Birtouta, Sidi bel abbes et Ain Defla (Ritter, 1982).

D. Insectes

Les insectes susceptibles de s'attaquer au blé sont fort nombreux, parmi les plus redoutables :

D1. Pucerons

Deux espèces sont importantes *sitobion avenae* et *rhopalosiphum padi*. *s. avenue* est l'espèce la plus dangereuse à l'épiaison (Capisano, 1997). il est de forme allongée atteignant 2,5 mm de long pour l'adulte et a une couleur variable du jaune, vert, rouge à noirâtre (Anonyme, 2004). *r.padi* petit pulluler à la montaison mais il est surtout à craindre en automne, car il peut transmettre le virus de la jaunisse naissante de l'orge (j n.o.). (Capisano, 1997) il est globuleux, a une couleur vert - sombre et possède le plus souvent une tache rouge à l'arrière du corps (Anonyme, 2004).

D2. Vers blancs

L'espèce la plus couramment observer sur le blé est *geotrogus deserticola*. la nuisibilité de ces ravageurs est due aux larves et débute en automne après la levée de la culture. Leur activité se poursuit et s'intensifie durant l'hiver et le printemps (Oufroukh et Hamadi, 1993).

D3. Mouche de Hesse

Elle est appelée également la cécidomyie destructrice (*mayetiola destructor*) elle est signalée en Afrique du Nord. Les larves attaquent les graines basales du blé, de l'orge et du seigle, ou elles forment un renflement bulbeux, provoquant le jaunissement et la mort

des feuilles (Matile, 1993). la mouche de Hesse peut avoir six générations par an les adultes de la première génération font leur apparition dans le courant du mois d'avril. ils pondent sur les jeunes blés et leurs larves se développent assez rapidement (Balachowsky et Mesnil, 1936).

I. 3. Mécanismes et moyens de lutte contre les maladies de blé

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 (Nasroaui, 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 l'inoculum des pathogènes, immuniser ou améliorer la résistance des plantes contres ces pathogènes (Nasroaui, 2006).

A. Lutte chimique

la lutte chimique contre les maladies des céréales est largement utilisée et s'est révélée depuis toujours une méthode de lutte efficace et indispensable (Leroux, 2003; Pezet *et al.*, 2004). Les fongicides de synthèse chimique font partie des pesticides, appelées également produits agro-pharmaceutiques ou produits phytosanitaires (Lyr *et al.*, 1999). L'utilisation des composées chimiques, qui sont toxiques aux pathogènes, et le moyen le plus commun du contrôle des maladies des plantes. Quand se produits chimiques ont pour cible les pathogènes fongiques, ils sont appelés fongicides. Ils inhibent la germination, la croissance et/ ou la multiplication des pathogènes ou ils les turent (Nasraoui, 2006). L'utilisation de produits de manière non contrôlé, notamment est néfaste aux milieux naturels, à la biodiversité et à la santé humaine. Elle est moins nuisible mais encore à éviter ou à utiliser des faibles quantités de produits possibles, en fréquence des traitements dose) chaque traitement, seulement lorsque cela semble absolument nécessaire, et en choisissant

les produits présentant la plus grande spécificité pour un ravageur, la plus faible toxicité pour l'environnement et la plus faible rémanence (Pinutreau, 2009).

B. Lutte culturale

La pratique culturale tels que l'enrichissement du sol par les débris organiques peuvent réduire divers phytopathologie (Subbararo et Hubbard;1999;Blok et al., 2000).les composés chimiques résultant de la décomposition des matières organiques peuvent avoir une influence direct ou indirect sur les micro-sclérotés de l'agent pathogène et/ou le développement de la die des plantes à travers la simulation des antagonistes d'agents pathogènes. Par ailleurs, la désinfection du sol, soit par la solarisation semble être une méthode de contrôle éprouvée. La solarisation du sol est le fait de le couvrir par des films en plastique polyéthylène clair durant des périodes de haute température de l'air. Ce traitement peut éradiquer ou réduire une série de pathogènes y compris ceux transmis par le sol. Dans les régions de climat chaud, la température du sol monte au dessus d'un certain seuil critique qui détruit les propagules des pathogènes (Nasraoui, 2006).

C. Lutte physique

La lutte physique consistant à créer des conditions climatiques (Pintureau, 2009). 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 (Nasraoui,2006).

*** Traitement à la chaleur**

La chaleur produite électriquement, par vapeur ou par l'eau chaude peut être utilisée pour stériliser le sol, par exemple dans la serre. A 50°C, certains champignons Oomycètes sont tués tandis que la plupart des pathogènes fongiques est tués entre 60 et 72°C. Le reste des pathogènes fongiques est tuée à environ 82°C. L'eau chaude peut être utilisée pour traiter les semences et d'autres organes de multiplication végétative. L'efficacité de cette méthode est basée sur le fait que les organes végétaux dormants peuvent résister pendant un temps donné à des températures plus élevée que celles pour les quelles les pathogènes peuvent survivre. Ce traitement tue les pathogènes qui infectent les semences et autres organes de multiplication ou existent sur leurs surface externes ou sur leurs blessures. Cette méthode peut encore être utilisée maintenant dans le cas l'agriculture Biologique à la place des fongicides systémiques qui sont efficaces car ils sont par ailleurs absorbés avec l'eau par les semences en germination (Nasraoui, 2006).

*** Réfrigération**

Les basses températures au niveau ou légèrement au-delà du point de congélation ne tuent pas les pathogènes mais inhibent ou retardent fortement leur croissance et leurs activités. Pour cela, la réfrigération est une méthode très efficace pour contrôler les maladies des produits végétaux charnus en concentration (Nasraoui, 2006).

*** Air sec**

Tous les produits végétaux véhiculent avec eux divers et nombreux pathogènes qui peuvent, sous humidité suffisante, causer la pourriture de ces organes. Dans le cas des produits végétaux non charnus, tels que grains et autres types de fruits secs (Nasraoui, 2006), le pourrissement peut être évité si ces produits sont récoltés à maturité convenable et sont alors laissés séchés ou sont traités avec l'air chauffé.

*** Lumière**

Certains pathogènes, sont connus sporuler seulement sous lumière dans la gamme de l'ultraviolet en dessous de 360nm. Les maladies causées par de tels pathogènes peuvent être contrôlées sous serre couverte par un film vinyle spécial absorbant l'ultraviolet qui bloque la transmission de la lumière de longueur d'ondes en dessous de 390nm (Nasraoui, 2006).

*** Radiation**

Certains types de radiation ont été utilisés pour protéger les produits végétaux de conservation en tuant les pathogènes présents sur eux. Des résultats satisfaisants étaient expérimentalement obtenus avec les rayons gamma pour protéger les pêches, les fraises, et les tomates contre pathogènes fongiques (Nasraoui, 2006).

D. 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 (Pintureau, 2009). D'après Vanhui(1991), La lutte biologique peut être définie par l'usage d'organismes vivants ou de leur produits pour empêcher ou réduire les pertes ou les dommages causés par des organismes nuisibles, s'appuie sur une stratégie de défense écologiques et durables. 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).

1. 4. Intérêt de la lutte biologique dans le contrôle des maladies phytopathogènes

En plus de son rôle dans la restauration de la biodiversité dans les écosystèmes, la lutte biologique présente un rôle important dans le contrôle des maladies phytopathogènes. (Emmert et Handelsman ,1999) affirment que la lutte biologique peut être aussi efficace dans le contrôle des maladies phytopathogènes que l'utilisation des fongicides chimiques.

La lutte biologique est considérée comme une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques qui constituent un danger sur l'environnement et sur l'homme. L'utilisation de plusieurs modes d'action par un seul agent antagoniste et sa capacité d'adaptation à la rhizosphère contribuent à ce que la lutte biologique devient plus durable que les produits chimiques (Cook, 1993; Benbrook *et al.*, 1996). La plupart des espèces actinomycètes vivent dans le sol, qui est leur réservoir principal. Ils peuvent agir par différents mécanismes d'action (Emmert et Handelsman, 1999). L'action antagoniste de ce groupe bactérien dans la lutte biologique a été démontrée contre *Fusarium oxysporum* f sp. *albedenis* (Sabaou *et al.*, 1998), *Alternaria* sp. (Khamna *et al.*, 2009) *Phytophthora* sp. (Xiao *et al.*, 2002), *Pythium ultimum* (Mahadevan et Crawford, 1997), *Colletotrichum lindemuthianum* (Tu, 1988).

I 4. 1. 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, l'oxygène, l'espace), l'antibiose, le parasitisme, la diminution de l'agressivité du pathogène 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 (Jijakli, 2003).

A. Antibioses

La sécrétion de substances antibiotiques par les microorganismes est un phénomène fréquent. Certains métabolites sont capables 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 cellulaire. L'antibiose est le mode d'action le plus étudié chez les agents de lutte biologique (Jijakli,

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 (Jijakli, 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. 5. Actinomycètes : Agents de lutte biologique contre les maladies phytopathogènes de blé

I. 5. 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 diphteroïdes jusqu'à des formes filamenteuses ramifiées à mode de sporulation complexe (Larpen et sanglier, 1989).

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).

I. 5. 2. Classification des actinomycètes

Les actinomycètes sont rattachés à la famille des *Actinobacteria* (bactéries à Gram (+) et G + C% élevé), classe des *Actinobactéria*, sous classe des *Actinobacteridae* et à l'ordre des *Actinomycetales* créé par Buchanan en 1917, (Bergey's manual, 2007). La famille *Actinobacteria* tel qu'il figure dans "Bergey's manual, 2007" renferme une seule classe qui est *Actinobactéria*, cette classe est subdivisée en 5 sous classe, 13 sous ordre dont 9 appartiennent à l'ordre des Actinomycetales, 41 familles, 193 genres et près de 1711 espèces.

I. 5. 3. 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 attachés 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* (Kalakoutskii 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. 5. 4. 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. 5. 5. Rôle des actinomycètes en 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. 5. 6. 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...) qui ont de nombreuses applications thérapeutiques (Okami et Hotta, 1988).

I. 5. 7. Avantages de l'utilisation des *streptomyces* en lutte biologique

Notre choix des *streptomyces* en vue d'une lutte biologique contre les agents pathogènes est basé sur plusieurs propriétés associées au à ce genre qui peuvent expliquer leur capacité d'agir comme agent de lutte biologique, ces propriétés sont:

- ❖ Leur capacité de coloniser la surface des plantes et les sites d'infections (Dubey *et al.*, 2007; Doumbou *et al.*, 2002).
- ❖ Leur capacité de produire différents types de métabolites secondaires et des substances biologiquement actives d'une valeur hautement commerciale comme les enzymes et les antibiotiques (Lee et Hwang, 2002; Doumbou *et al.*, 2002; Grabley et Thiericke, 1999).
- ❖ Les *Streptomyces* sont des contributeurs au tampon biologique des sols et ont un rôle dans la décomposition de la matière organique (Lee et Hwang, 2002; Grabley et Thiericke, 1999).
- ❖ Certains *Streptomyces* améliorent la croissance des plantes (Merriman *et al.*, 1974; Brown, 1974).
- ❖ Ce genre de microorganisme est adapté à la formulation et l'application dans le champ (Landa *et al.*, 1997).

Chapitre N°II: Matériels Et Méthodes

II. Matériel et Méthodes

II. 1. Souches des microorganismes

II. 1. 1. Souches de champignons phytopathogènes

A. Provenance et origine des souches fongiques

Il faut faire donner certaines informations sur l'agent phytopathogène dans notre étude telle que l'origine. (Tableau 01).

Tableau 1. Origine de l'agent pathogène

Souche fongique	Origine
<i>Fusarium ssp.</i>	Laboratoire de microbiologie de Université de Mohamed Boudiaf (M'sila)

B. 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 pétris, la conservation de souche sont effectuée sur milieu PDA à 23°C dans l'étuve (Botton *et al.*, 1990).

C. 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 actinomycètes sont des microorganismes faciles à cultiver, par ailleurs, leur croissance lente et leur faible nombre dans les échantillons du sol sont souvent masqués par les bactéries et les champignons à croissance rapide lors de l'isolement. En effet l'utilisation d'un milieu spécifique additionnée d'antibiotiques combinés des traitements des échantillons du sol facilité l'isolement de ces microorganismes. L'isolement du maximum de souches d'actinomycètes contenues dans les échantillons du sol nécessite plusieurs méthodes entre autre, la sélection par l'antibiotiques dont un prétraitement des ces échantillons sera entrepris avant d'entamer cette opération.

II. 2. 2. Milieux d'isolement

Plusieurs milieux solides, à avoir, ISP2 et Bennett ont été utilisés afin d'isoler et de conserver les souches d'actinomycètes à partir des échantillons du sol choisi. Tous les milieux utilisés sont stérilisés) 120°C pendant 2heur dans un autoclave et la verrerie est stérilisée) 180°C dans une étuve pendant 30min. Il est à noter que toutes les manipulations microbiologiques sont effectuées dans des conditions stériles sous hotte flux laminaire autour d'une flamme d'un bec bezn.

II. 2. 3. Technique d'isolement

A. Prélèvement des échantillons du sol

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 de sol a été effectué selon la technique de [Pochon et Tardieux \(1962\)](#). 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) 20à 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 ([Tableau 02](#)).

Tableau 2. Echantillonnage du sol

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

B. 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.

C. 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 échantillons 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 servit pour l'isolement des Actinomycètes sur milieu de ISP2. Pour réaliser cette opération, nous avons utilisé la méthodes d'ensemencement en masse (Madigan *et al.*, 2007). Cette méthode consiste à déposer tout d'abord 0,1ml de la dilution dans une boite de pétri, puis coulé environ 15ml de milieu ISP2en surfusion. Les boites sont agitées par un mouvement circulaire lent, afin d'homogénéisation le contenu des boites. Les boites sont ensuite incubées pendant 07-21jours à 30°C (Madigan *et al.*, 2007).

D. Purification des isolats d'actinomycètes

Après une semaine d'incubation, les colonies d'Actinomycètes apparus 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 ronde 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 boite 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).

E. Conservation des isolats d'actinomycètes

Après l'isolement et purification des isolats d'actinomycètes sur le deux milieux ISP2etBennett. Ces dernières sont conservées dans un réfrigérateur à température 4°C. Les isolats d'actinomycètes sont repiqués régulièrement (tous les 03mois).

II. 2. 4. Identification des souches d'actinomycètes

A. Identification macromorphologie

L'étude morphologique et les caractéristiques culturelles 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 21jours d'incubation (Nonomura, 1974).

B. Identification microscopiques

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 boîtes 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).

C. 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 ensemencer... 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).

*** Technique de coloration**

- 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 5à10secondes;
- Recoloration par la fuchsine: Recouvrir la lame d'eau et verser quelques goutte de fuchsine à chaque extrémité du frottis, laisser la fuchsine 10à20secondes;
- 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 antifongiques d'isolats d'actinomycètes

II. 3. 1. Mise en évidence de l'activité antagoniste *in vivo*

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 (*Fusarium ssp.*).

L'activité antifongique des souches d'actinomycètes est mise en évidence par deux méthodes, à savoir, la méthode de confrontation directe (technique de trait) sur le milieu PDA (Annexe1) et par la méthode de disque d'agar (Badji *et al.*, 2005).

A. Méthode de confrontation direct en boîtes de pétri (technique de trait)

Le principe de la technique de confrontation direct consiste:

Les champignons (*Fusarium sp.*). Comme les espèces bactériennes proviennent de pré cultures 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. A 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 où l'inoculum bactérien est remplacé par l'eau distillée stérile (Dennis et Webster, 1971; Inam-ul-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):

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

R témoin: distance radiale maximale de croissance du champignon.

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

B. 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 14 jours ensuite les déposer dans une boîte de pétri contenant le milieu PDA. une rondelle de 6mm de diamètre de champignon âgée de 10 jours est ensuite déposée au centre de la boîte et à une distance de 3cm des cylindres d'agar. Les boîtes sont ensuite incubées à 25°C pendant 5 jours. 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 formule citée auparavant (Wang *et al.*, 2002):

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

Cette méthode est utilisée pour étudier l'action des isolats d'actinomycètes sur la croissance de mycélium du agent pathogène (*Fusarium ssp.*), d'une part, et d'évaluer l'efficacité des l'inoculation actinomycétales sur la croissance de blé dur.

II. 4. 1. Matériel végétal

Le matériel végétal est composé de deux variétés de blé dur, à savoir, Bousselam, et Waha fournies par l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC). Le choix de ces variétés est lié à leur forte demande par les agriculteurs et leur adaptation aux conditions locales.

La variété Bousselam est caractérisée par un cycle végétatif tardif (Fortas *et al.*, 2013). Elle est résistante presque à toutes les maladies : rouille jaune, brune et noire, piétin verse et échaudage, l'Oïdium et à la fusariose et moyennement résistante à la Septoriose. Elle possède un fort tallage, une bonne résistance à la sécheresse, un poids de mille grains élevé et un rendement en grain optimal de 38q/ha (Boufinar-Zaghoune et Zaghoune, 2006)

La variété Waha présente un fort tallage et un poids de mille grains moyen. C'est une variété précoce, (Bouzerzour *et al.*, 2000) . Elle se caractérise par une stabilité du rendement (rendement grain optimal 45q /ha) et une tolérance à la sécheresse élevée (Meziani *et al.*, 1993), Waha Montre une tolérance à certaines maladies : rouille jaune, brune et noire et est résistante à d'autres : piétin verse et l'Oïdium. Elle est moyennement résistante à la septoriose et à la fusariose (Boufinar-Zaghoune et Zaghoune, 2006).

II. 4. 2. préparation de l'inoculation du champignon (*Fusarium ssp*) et d'Actinomycètes

Les spores des champignons phytopathogène "*Fusarium sp* "sont obtenues en inondant une culture de 14jours 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).

Pour les 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. 3. Mise en place de l'expérimentation

L'objectif de cette expérience est la détermination les effets des souches d'actinomycètes du genre *Streptomycètes* qui sont isolée à partir de deux sols dans la région de M'sila (Pole universitaire et Hammam Dalaa), comme un agent de lutte biologique sur la croissance des plantules de blé et leur effet sur les agents pathogènes *Fusarium ssp* qui cause la maladie de fusariose de blé. Lors de cette expérimentation, nous avons utilisé les graines de Waha et Boussalem .

A. Désinfection et pré-germination des graines de blé

La désinfection des graines de blé à été réalisé dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5%. Les graines 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 boîtes 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 3jours à 25°C. Après gonflement, les graines de chaque variété ont été ensemencée dans une boîtes de pétri qui contient le papier filtre stérile imbibée par l'eau distillé stérile puis ajout la suspension de l'inoculation des actinomycètes et des agents pathogènes par le traitement suivantes:

*** En présence seulement de l'actinomycète (Test positive)**

- **Témoin (-):** 5 graines de blé dur (Boussalem ou Waha) désinfectées par l'eau distillée sont ensemencés dans une solution hydroponique (4ml d'eau distillée stérile).
- **Test positive (+):** 5 graines de blé dur (Boussalem ou Waha) sont ensemencée en une culture hydroponique en présence de 3ml de la suspension d'actinomycètes.

*** En présence de l'actinomycète et de l'agent pathogène (test de bio contrôle)**

- **Témoin négative (-):** Cinq graines de blé dur infectées par 2ml de la suspension de *Fusarium* sont semées dans la culture hydroponique de boîte.
- **Test positive (+):** Cinq graines à chaque variété de blé dur sont ensemencée dans une solution hydroponique additionné 3ml de suspension fusarienne et inoculer directement par la suspension d'actinomycètes.

L'essai est mis en place dans un dispositif factoriel en blocs, avec trois répétitions, à raison d'une boîte de pétri par répétition (boîtes de pétri ont été utilisé au total pour chaque génotype. Après la désinfection des graines à raison de 5 graines par boîtes sont incubées 6jours à 25°C.

II. 5. Notions et mesures

II. 5. 1. Taux de germination

La germination est notée par comptage effectué tous les 24heurs jusqu'au 10^{ième} jour. Le pourcentage des graines germées est détermine par le rapport entre le nombre des plantules normales développées sur le nombre total de graines incubées (ISTA, 2003), d'où

$$G(\%) = (NGG/NTG)*100, \text{ d'où}$$

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

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 graduée de la base du limbe à la pointe.

II. 5. 3. Longueur de racines et 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'échantillon de 10 plantules, 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).

II. 5. 4. Croissance foliaire

A l'aide de la surface foliaire, on appliquant la formule : $L \times l \times 0.709$, dont L est la longueur de la feuille, l est la largeur de la feuille et 0.709 est un constant (K)

II. 5. 5. Nombre des feuilles

A l'aide de comptage des feuilles des plantules.

Chapitre N°III:

Résultats et discussions

III. Résultats et discussions

Première partie: Résultats

III. 1. Souches des champignons pathogènes


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

L'identification de cette souche est 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, 1997](#).

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

Les caractères macroscopiques de l'agent pathogène avec un mycélium de substrat sont étudiées sur le milieu PDA ([Annexe 1](#)), le tableau suivant résumé l'aspect du mycélium de la souche fongique, la surface et la croissance des colonies, la couleur du revers de la boîte ainsi que la présence ou l'absence de pigments caractéristiques de la souche fongique.

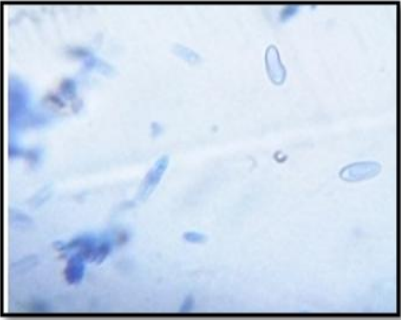
Tableau 03.Caractères macroscopiques de champignon phytopathogène (*Fusarium ssp.*)

Souche de champignon	Aspect macroscopique	Caractères macroscopiques
<i>Fusarium ssp.</i>	 <p data-bbox="533 1469 943 1563">Photo Originale : (DERJ et BENDERRADJI, 2017)</p>	<p data-bbox="978 1099 1391 1464">Colonie volumineuse cotonneux a une couleur blanche, la croissance est rapide, avec un mycélium aérien dense de couleur blanc et un mycélium du substrat blanchâtre</p>

III. 1. 2. 2. Identification microscopique

L'étude microscopiques porté sur l'observation des structures caractéristiques de la souche fongique isolées (mycélium, conidiophore, conidies) deux genres de moisissures sont mise en évidence, le tableau suivant résumé l'aspect microscopiques de la champignon phytopathogène.

Tableau 4 . Caractères microscopiques de la souche fongique phytopathogène (100X)

Souche fongique	Caractères microscopique	Aspect microscopique
<i>Fusarium ssp.</i>	*Thalle à croissance rapide, *Conidiophores parfois très ramifiés *Phialides plus ou moins allongés pouvant produire deux types de conidies : macroconidies fusiformes, microconidies septées fusiformes ou ovoïde	 <p data-bbox="927 730 1394 819">Photo Originale : 100X (DERJ et BENDERRADJI, 2017)</p>

III. 2. Souches des actinomycètes

III. 2. 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). 08 isolats d'actinomycètes ont été isolée à partir deux échantillons des sols semi-aride prélevés dans deux régions de M'sila. A partir du sol semi-aride de pole de M'sila 06 isolats d'actinomycètes ont été isolées, c'est le grande nombre d'actinomycètes obtenu dans cette étude (Tableau 05). A partir du sol 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 a.l*, 2007).

Toutes 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 étudiées 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 5. Nombre et code d'isolats d'actinomycètes obtenus de deux sols de la région de M'sila


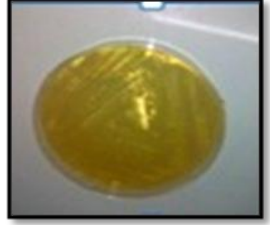
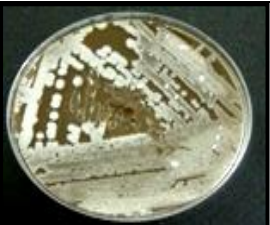
Région	Nombre et code des isolats d'actinomycètes	Nombre total
Hammam Dalaa (M'sila)	HD _a , HD _b	2
Pole universitaire (M'sila)	PU ₁ , PU ₂ , PU ₃ , PU ₅ , PU ₇ , PU ₈	6

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 06, figure 03 AetB).

Tableau 6. Aspect macroscopique d'isolats d'actinomycètes

Echantillons du sol	Dilution	Milieu de culture	Code	Aspect macroscopique de colonie	Colonie
Hammam Dalaa (M'sila)	10 ⁻⁴	ISP2	HD _a	Colonies plus petits, bombées et adhérent dans la gélose, mycélium de substrat jaune, mycélium aérien gris claire	
			HD _b	Colonies plus petits, bombées et adhérent dans la gélose, mycélium de substrat jaune, mycélium aérien jaune claire	
Pole (M'sila)	10 ⁻⁵	ISP2	PU ₁	Petits colonies, plats, poudreuse, contour réguliers, mycélium aérien Gris, mycélium de substrat Brune à marron.	

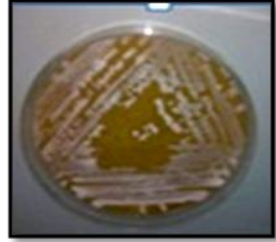




			PU₂	Petits colonies, bombées, poudreuse, à contour arrondi, mycélium aérien Blanche, mycélium de substrat Jaune	
			PU₃	Grands colonies, blanche avec de contour sous forme réguliers, mycélium aérien Blanche, mycélium de substrat Jaune	
			PU₅	Plats, poudreuse, farineuse, mycélium aérien Beige claire, mycélium de substrat brune claire	
			PU₇	Colonies moyenne, gris foncé avec un contour irrégulier, mycélium aérien gris foncé, mycélium de substrat est marron foncé	
			PU₈	Colonies moyenne avec un contour arrondi, mycélium aérien Blanche, mycélium de substrat est marron	

Photo Originale : (DERJ et BENDERRADJI, 2017)

Tableau 7. A: Comparaison des isolats d'actinomycètes par l'observation macroscopique dans le milieu ISP2 et Bennett.

Mc	Isolats d'actinomycètes	PU₁	PU₂	PU₃	HD_b
ISP₂	Croissance	Moyenne	Moyenne	Moyenne	Moyenne
	Couleur de mycélium aérien	Gris	Blanche	Blanche	Moyenne
	Couleur de mycélium de substrat	Brune à marron	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

Tableau 7. B: Comparaison des isolats d'actinomycètes par l'observation macroscopique dans le milieu ISP2 et Bennett .

Mc	Isolats d'actinomycètes	PU₅	PU₇	PU₈	HD_a
ISP₂	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

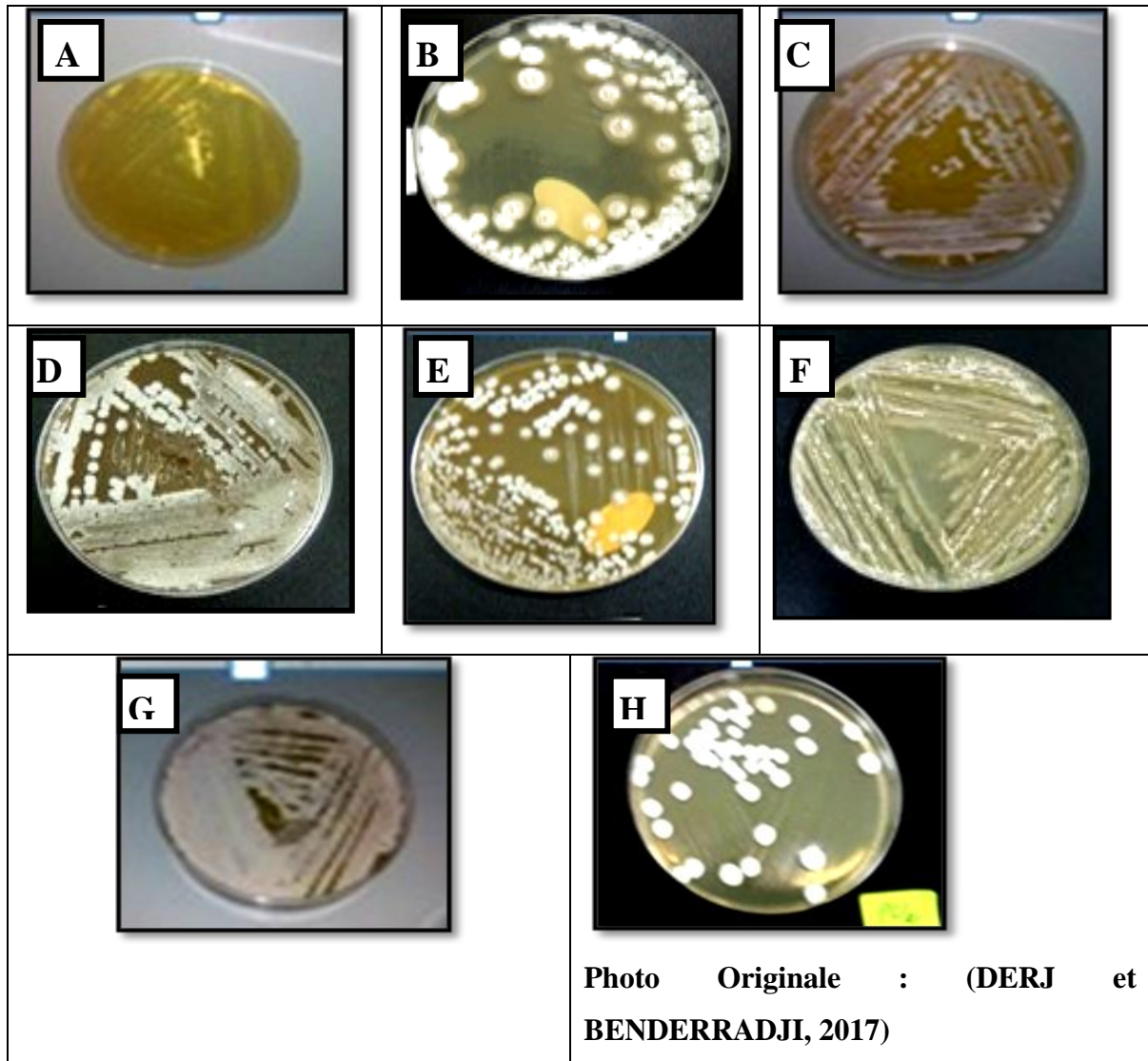


Figure 3. Colonies des souches d'actinomycètes sur le milieu ISP2: A(Isolat HDb); B(Isolat PU3); C(Isolat PU2); D(Isolat PU1); E(Isolat PU7); F(Isolat HDa); G(Isolat PU5); H(Isolat PU8).

2. Identification microscopique

D'après la coloration de Gram, les souches présentent l'aspect typique des actinomycètes à filaments ramifiés de couleur violet (Gam^+) (Figure 04)

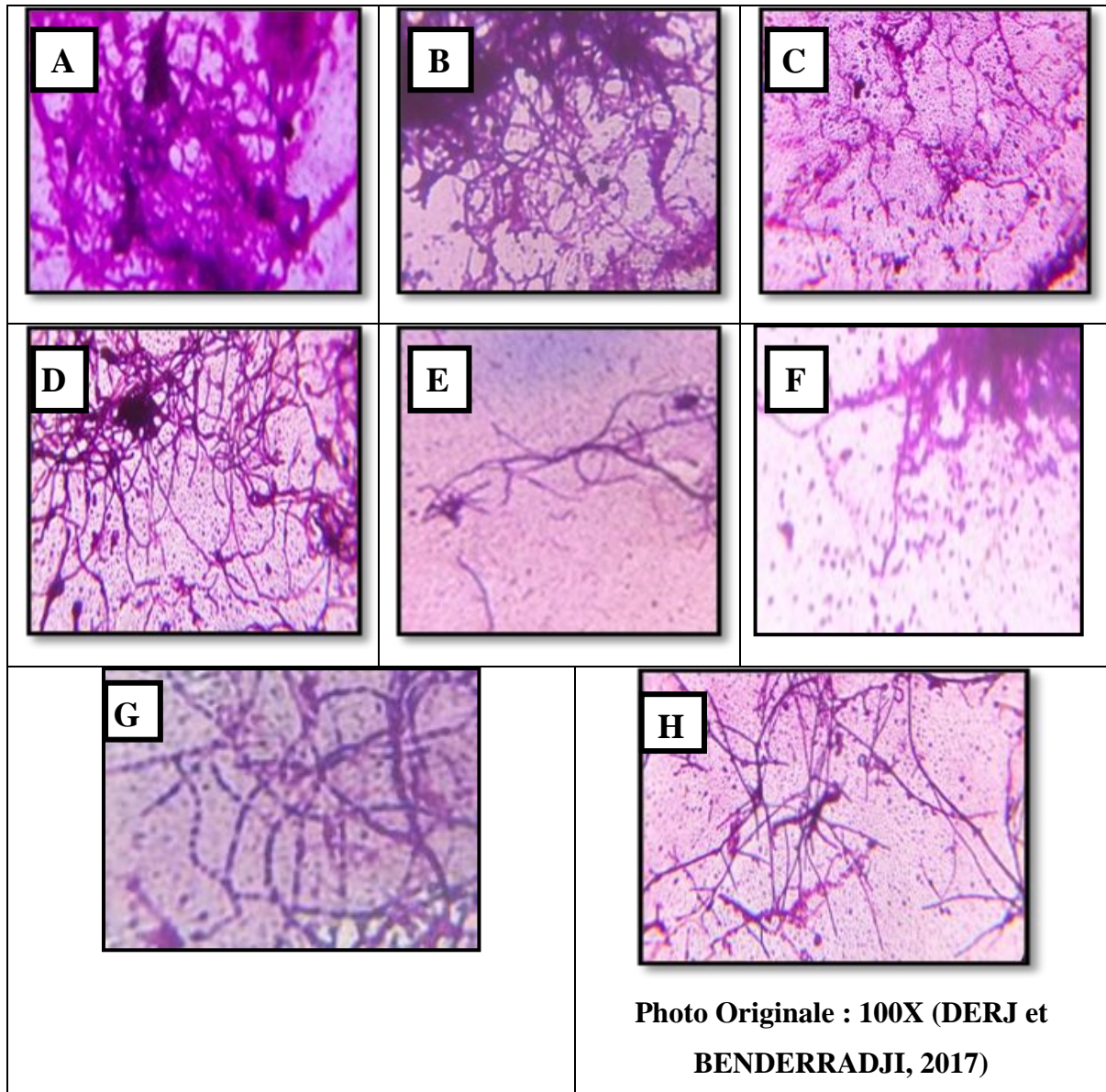


Figure 4. Caractéristiques microscopiques des isolats actinomycètes (G:100X):

A(Isolat PU1); **B**(Isolat PU7); **C**(Isolat PU2); **D**(Isolat HDa); **E**(Isolat PU8); **F**(Isolat HDb); **G**(Isolat PU5); **H**(Isolat PU3).

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 les 08 isolats sélectionnés et de les rapprocher au genre correspondant. En effet, les 08 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 violat par la coloration de Gram pour les sept isolats (PU₁, PU₂, PU₃, PU₅, PU₇, PU₈ HD_a et HD_b) permet de rattacher ces actinomycètes au genre *Streptomyces* (Holt et al, 1994).

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

Le comportement des agents antagonistes et leurs interactions avec l'agent pathogène est une phase primordial de l'étude des phytopathogènes (Larkin et Fravel, 1999), c'est pourquoi des tests d'activités antagonistes, qui ont pour quelle but de sélectionner les isolats performants, ont été réalisé. Ces tests représentent un des critères de sélection, il a été effectué *in vitro*, par deux méthodes, à savoir, la confrontation directe et la méthode de disque d'agar entre les deux protagonistes. Dans notre étude, on a pu déterminer l'action antagonisme de 08 isolats d'actinomycètes contre un souche de champignon pathogène (*Fusarium ssp.*).

II. 3. 1. Résultats des essais de confrontation direct (technique de trait et disque d'agar)

Parmi tous les isolats d'actinomycètes (08 isolats), on a seulement 4 isolats qui présentent une activité antagonistes contre l'agent pathogène *Fusarium sp.* il s'agit des souches (PU₂, PU₅, PU₇ et HD_a) Selon les deux méthode appliqués technique de trait et de disque d'agar. L'action antagoniste se traduit par une faible croissance mycélienne de agent pathogène durant les 05 premiers jours d'incubation, suivi l'arrêt totale de la croissance du coté de la confrontation (antagonistes- pathogènes). (Figure 06). Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne d'agent pathogène varie d'un isolat à une autre et cela, quelle que soit la technique utilisé (technique de trait ou technique de disque agar). Selon les deux techniques appliqués, on a enregistré la même activité pour les souches PU₇ et PU₂ avec au maximum (86.6 et 93.3%), quand aux souches PU₅ et HD_a pour la technique de disque d'agar, on remarque une augmentation dans l'activité antifongiques avec un pourcentage de (94.66 et 97.3%) respectivement (Figure 07), alors que pour la technique de trait, on note le pourcentage (86.6 et 80%). (Figure 06).

En effet, après 5 à 8 jours d'incubation, la colonie de champignon phytopathogène présente dans la boite correspondant au témoin atteint environ 7 à 8 de diamètre, alors qu'en présence des 04 isolats d'actinomycètes précédemment citées, le diamètre de ces

champignons ne dépasse pas le 5,7Cm. Sur la base de ses résultats, les quatre souches PU₂, PU₅, PU₇ et HD_a d'actinomycètes ont été retenus pour le teste *in planta* (Figure 05, 06 et07).

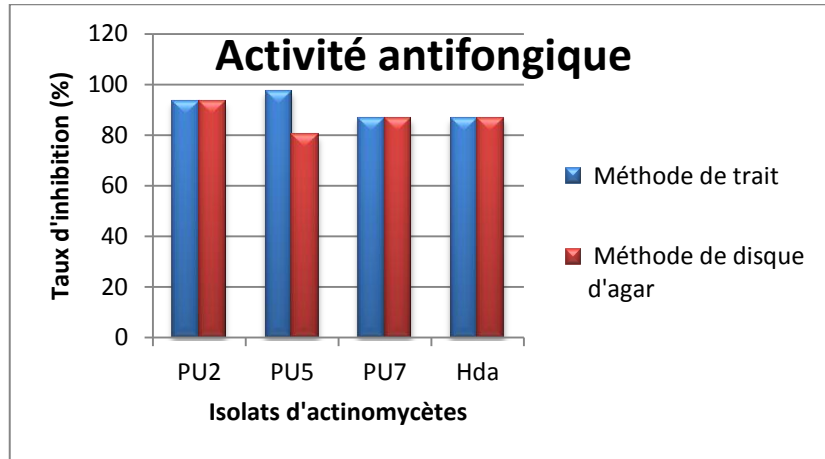


Figure 5. Activité antifongique des souches d'actinomycètes par les deux méthodes de confrontation (Technique de trait et de disque d'agar)

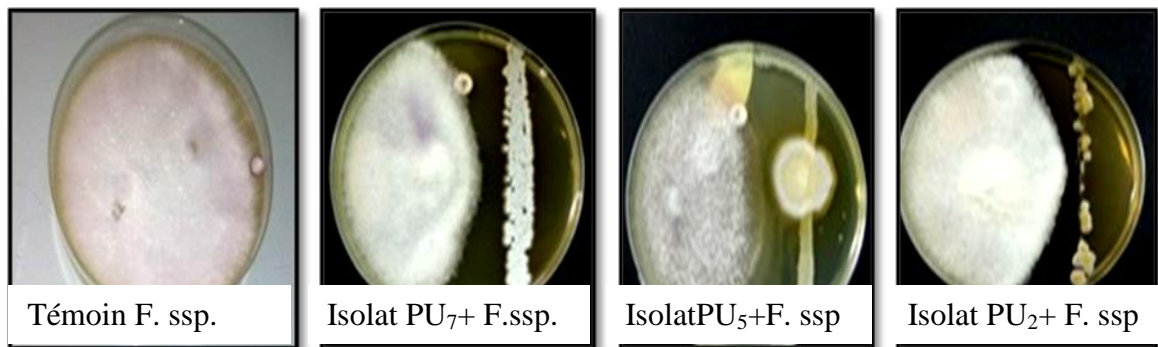


Figure 6. Résultats d'activité antifongique entre le *Fusarium ssp.* Et les 04 isolats d'actinomycètes (PU₂, PU₅, PU₇ et HD_a) par la méthode de confrontation direct (Méthode de trait). Photo Originale : (DERJ et BENDERRADJI, 2017)

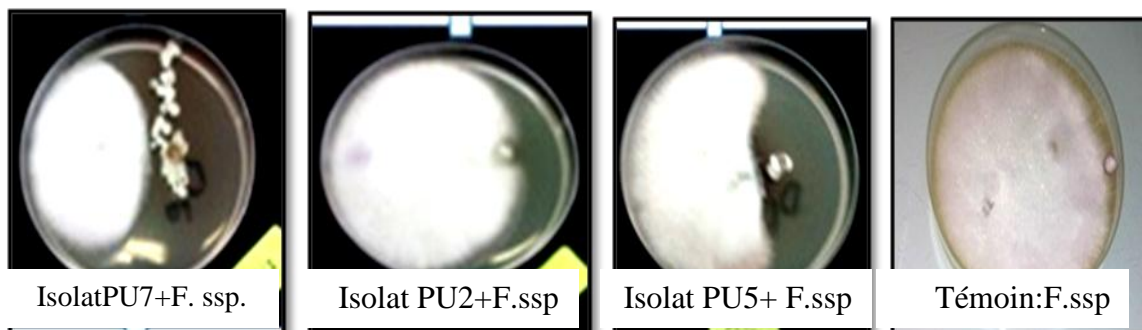


Figure 7. Résultats d'activité antifongique entre le *Fusarium ssp.* et les 04 isolats d'actinomycètes (PU₂, PU₅, PU₇ et HD_a) par la méthode de confrontation direct (Méthode de disque d'agar). Photo Originale : (DERJ et BENDERRADJI, 2017)

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

III.4.1.Effets des Actinomycètes sur les paramètres de croissance de blé dur (Waha et Boussalem)

III.4.1.1.Taux de germination

Ce histogramme représente le taux de germination de deux variétés de blé dur (Waha et Boussalem) en fonction des quatre isolats d'actinomycètes après 06jours de culture, où on observe le nombre des graines germées après l'inoculation par les 4 isolats est différent pour les graines de deux variétés (waha et boussalem) où nous avons trouvé que l'effet de isolat PU5, PU7 et HDa est plus grande (33.33, 33.33 et 26.67% pour les graines de Waha et 20, 26.67, 20% pour les graines de boussalem (Figure 8).

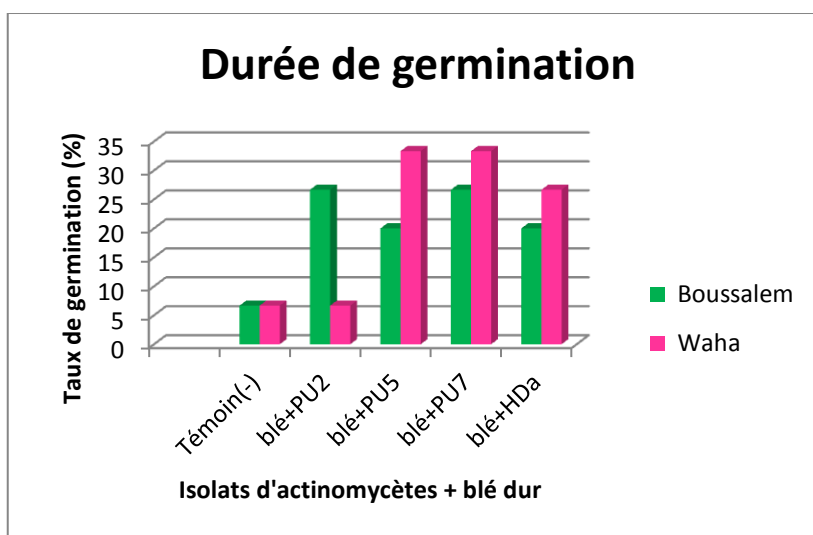


Figure 8: Taux de germination des graines de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par les 04 isolats d'actinomycètes après 06jours de culture.

III.4.1.2.Nombre des racines

D'après ces résultats, on observé le nombre des racines est plus élevé pour les plantules obtenus à partir des graines traité par l'inoculum de l'isolats HDa, PU7 et PU2 (7, 6 et 5 racines respectivement pour les graines de Boussalem), mais pour les graines de Waha le nombre des racines est resté restreint par les trois souches (1, 4 et 3 pour HDa, PU7 et PU2). Par contre pour l'isolat PU5 le nombre des racines est presque le même pour les deux variétés (3 racines respectivement) (Figure 09).

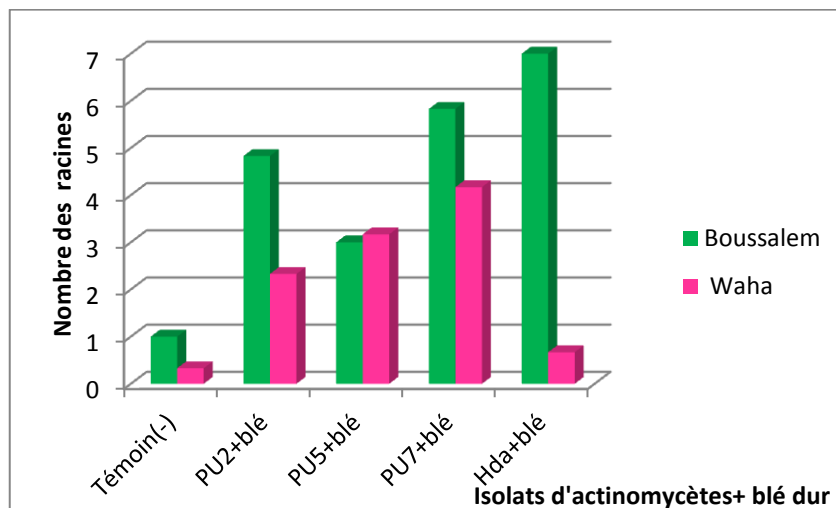


Figure 9. Nombre des racines de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par les isolats d'actinomycètes après 09 jours de culture.

III. 4. 1. 3. Longueur des racines

D'après ces résultats, on observé la longueur des racines est plus élevé pour les plantules obtenus à partir des graines traité par l'inoculum de l'isolats PU7 et PU5 (6.28 et 7.98 cm respectivement pour les graines de waha), mais pour les graines de boussalem la longueur des racines est resté restreinte par les deux souches (4.28 et 2.5 pour PU7 et PU5 et PU2). Par rapporte les deux souches resté la longueur des racines est presque le même pour les deux variétés (3.76, 4 cm pour l'isolat PU2 et 3.17, 1.87 cm pour l'isolat HDA, respectivement (Figure 10).

L'analyse de la variance des traitements effectués sur ce paramètre, 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 nombre et longueur des racines et dépend au ces facteurs. La comparaison des moyennes à l'aide du test LSD au seuil de ($\alpha = 0.05$) a révélé un effet significatif ($\alpha = 0.01\%$) pour de valeur de 0.1 %.

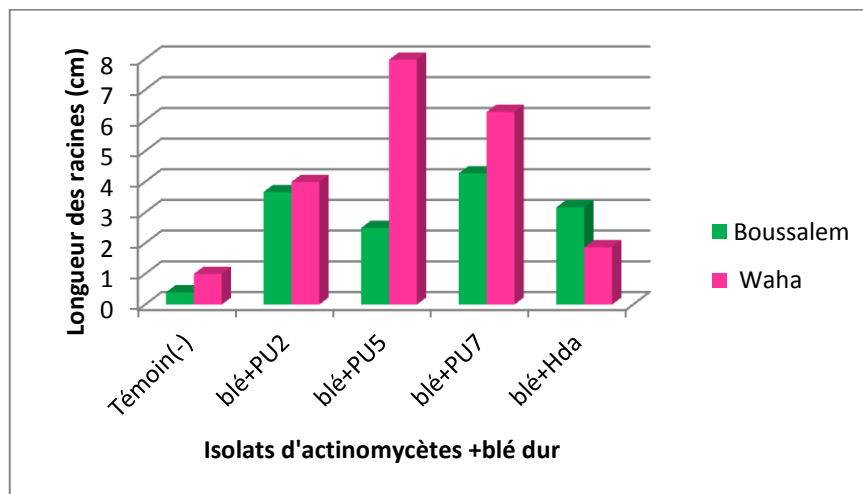


Figure10. Longueur des racines de deux variété de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par les isolats d'actinomycètes après 09jours de culture .

III.4.1.4. Longueur d'épicotyle

La mesure effectuée démontrent que la longueur d'épicotyle des graines de blé dur (Boussalem) sont très proche en présence des trois isolats d'actinomycètes (2.25 cm pour PU2 ; 2.12 cm pour l'isolat PU7; 2.03 cm pour HDa), tandis que les mesures de blé dur (Waha) représente (1.3cm pour PU2; 1.47cm pour PU5 et 0.93cm pour l'isolat PU7). Mais pour l'isolat PU5 la longueur d'épicotyle est presque la même pour les deux variétés (1.4cm pour boussalem , 1.47cm pour waha)(Figure11).

L'analyse de la variance des traitements effectués sur ce paramètre, 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 de 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 9).

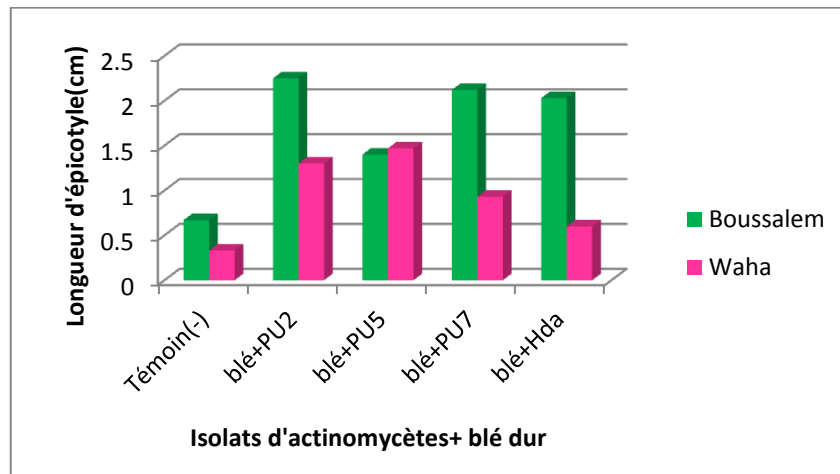


Figure11. Longueur d'épicotyle de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par les isolats d'actinomycètes après 09 jours de culture.

III. 4. 1. 5. Nombre des feuilles

Le nombre des feuilles est plus élevé pour les plantules obtenus à partir des graines de blé dur Boussalem traité par la souche PU2 et HDa (3 et 4 feuilles respectivement). Alors que le nombre des feuilles pour les graines de blé waha en présence de ces deux isolats est moins que le première(1 et 1 feuilles respectivement). Par contre les autre souches est représenté un effet presque le même pour les deux variétés (2 pour PU5 et 1 pour PU7 respectivement) (Figur12).

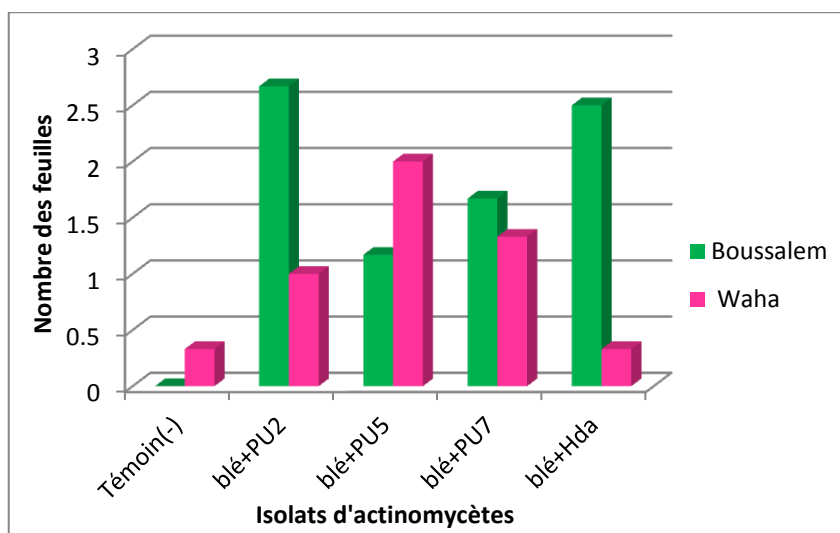


Figure12. Nombre des Feuilles de deux variété de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par les isolats d'actinomycètes après 10 jours de culture.

III. 4. 1. 6. Longueur des feuilles

D'après ces résultats, on observé la longueur des feuilles est plus grande pour les plantules obtenus à partir des graines de Boussalem traité par l'inoculum de l'isolats HDa

et PU2 (6.82cm et 6.88 cm respectivement), mais pour les graines de blé Waha la longueur des feuilles est réduite par les deux souches (1.67cm et 2.5cm pour HDa et et PU2). Par contre les autre souches(PU7et PU5) la longueur des racines le blé élevé est variété de Waha (Figure 13).

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 nombre et la longueur des feuilles 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 9).

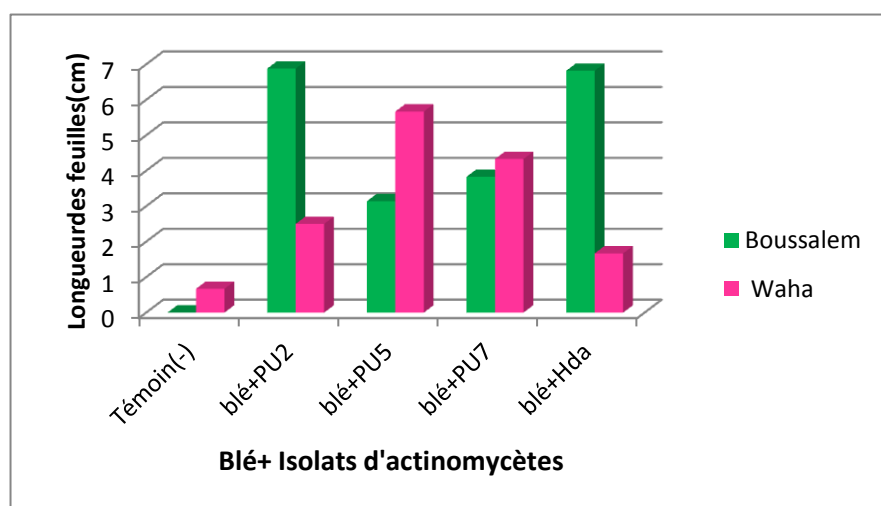


Figure13. Longueur des feuilles de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par les isolats d'actinomycètes après 10jours de culture

III.4.2.Effets des souches d'Actinomycètes sur l'expression de la fusariose de blé dur (waha et Boussalem)

III.4.2.1.Taux de germination

Les résultats obtenues, montrent que les effets des quatre isolats d'actinomycètes sur le taux de germination est très importants pour les graines de variétés de blé dur (waha) qui inoculés par la suspension de *Fusarium ssp.* et les quatre isolats respectivement (33.33, 46.67, 40 et 40% pour les isolats PU2, PU5, PU7 et HDa), cependant le taux de germination pour les graines de blé dur (Boussalem) est moins que le Waha (Figure 14).

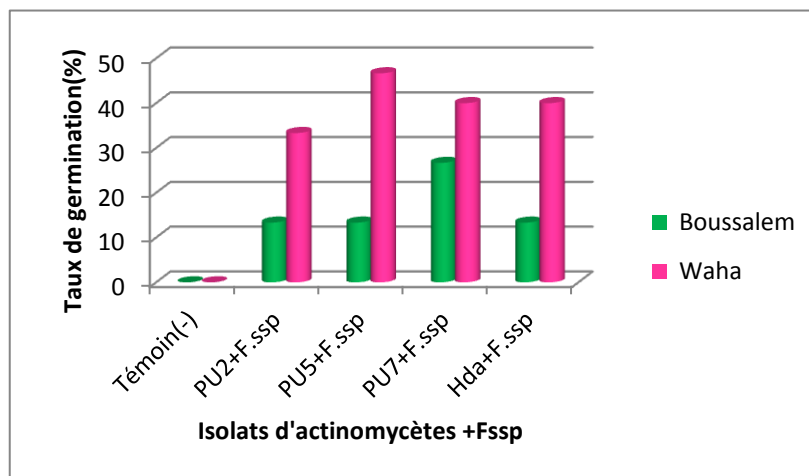


Figure14. Taux de germination des graines de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par la suspension de *Fusarium ssp.* et 04 les isolats d'actinomycètes après 06 jours de culture

III.4.2.2. Nombre des racines

D'après ces résultats, on observé le nombre des racines pour les plantules obtenus à partir des graines traité par la suspension de *Fusarium ssp.* et la suspension de l'isolats PU2, PU5 et PU7 est proche (2, 5 et 3 racines respectivement), par contre les autres isolats représentent un nombre de racines élevé pour les graines traitées par l'isolat Hda pour Waha et réduite pour Boussalem. (Figure 15).

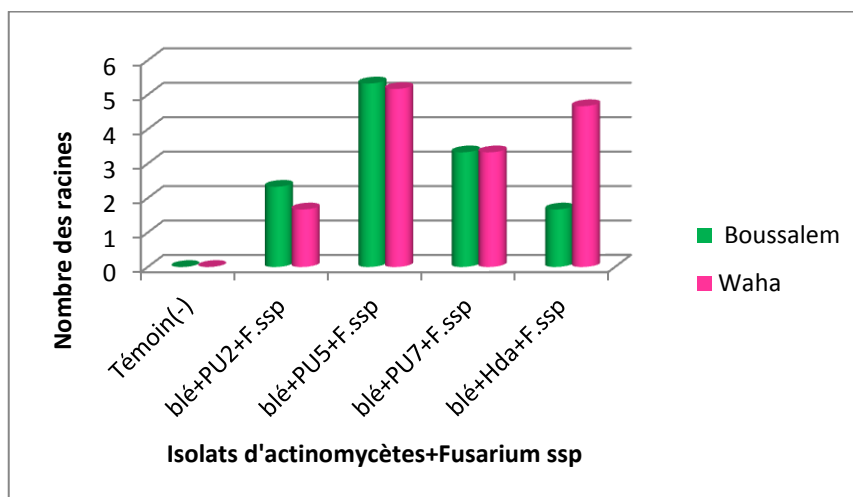


Figure 15. Nombre des racines de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par la suspension de *Fusarium ssp.* et les isolats d'actinomycètes après 09 jours de culture.

III.4.2.3. Longueur des racines

D'après ces résultats, on observé la longueur des racines est plus élevée pour les plantules obtenues à partir des graines traitées par la suspension de *Fusarium ssp.* et l'inoculum de l'isolats Hda et PU5 (5.6 et 6 cm respectivement pour les graines de Waha),

Par rapporte la longueur des racines de boussalem est presque le même pour les deux isolats PU7 et PU5 (Figure 16).

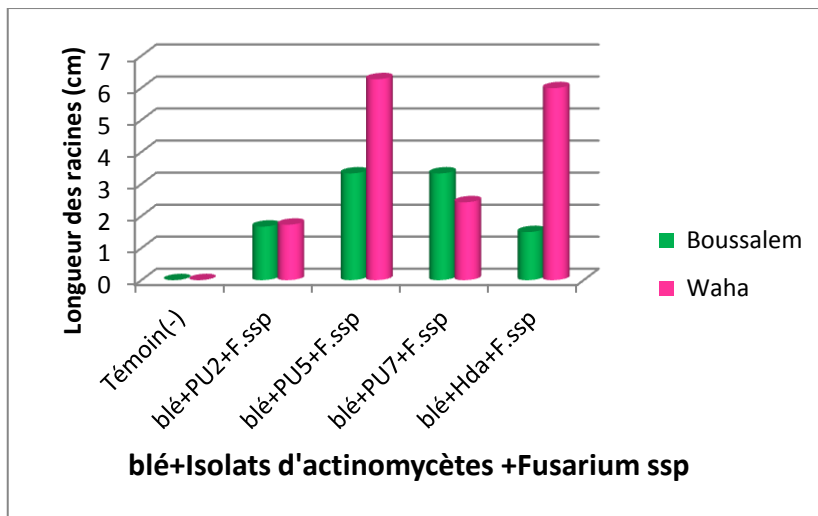


Figure 16. Longueur des racines de deux variété de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par la suspension de *Fusarium ssp.* et les isolats d'actinomycètes après 09jours du culture.

III.4.2.4. Longueur d'épi-cotyle

De même pour la longueur moyenne d'épicotyle, le test de biocontrôle par les isolats montre que les graines de blé dur de boussalem ont des épicotyles très longues pour l'isolat PU7 par rapport les autre isolats ont un longueur comprise entre 0.5 et 1.5cm. Ainsi que la longueur d'épicotyle des graines de blé dur(waha) est efficace pour l'isolatPU5 et moins efficace pour les autres souches d'actinomycètes (Figure17).

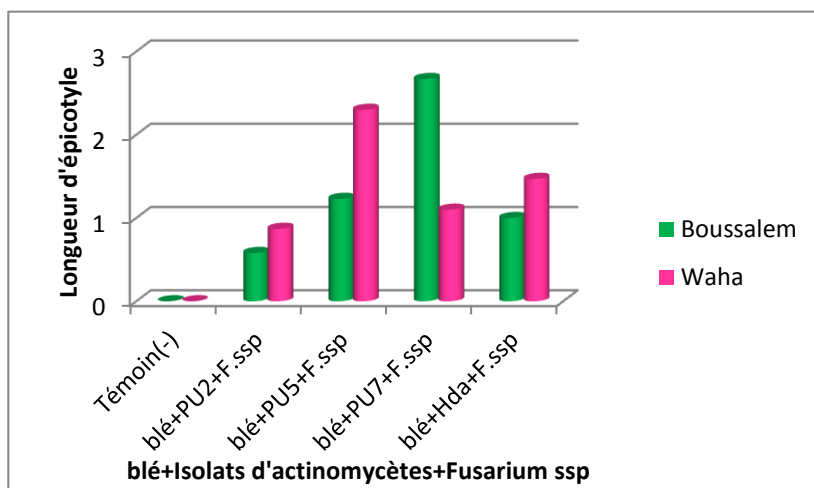


Figure 17. Longueur d'épicotyle de deux variété de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par la suspension de *Fusarium ssp.* et les isolats d'actinomycètes après 09jours du culture.

III.4.2.5. Nombre des feuilles

Le *Fusarium ssp.* n'a aucune influence sur le nombre des feuilles pour les plantules de blé (Boussalem) inoculés par les isolats PU5 et PU7 qui représentent un nombre des feuilles important (feuilles 2 et 3 feuilles respectivement). Tandis que le nombre des feuilles des graines de waha est moins que les graines de boussalem pour l'isolat PU7 par contre dans l'isolat HDa qui représente un nombre des feuilles élève pour les graines de waha par rapport le Boussalem (Figure18).

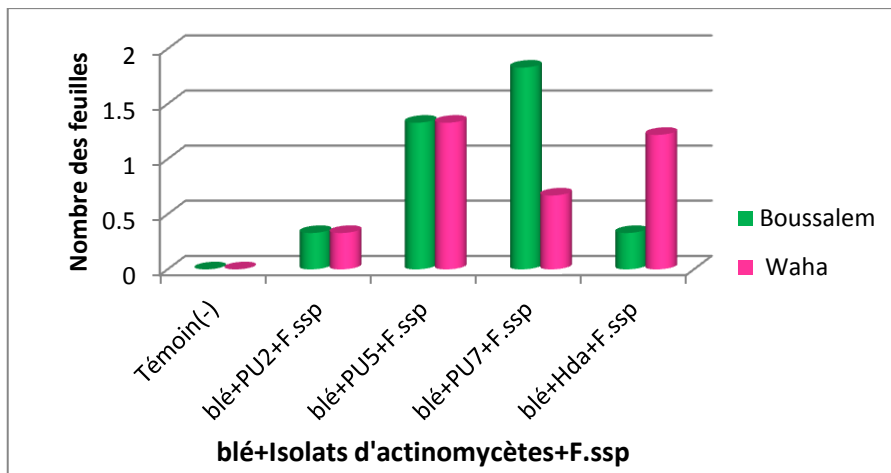


Figure 18. Nombre des feuilles de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par la suspension de *Fusarium ssp.* et les isolats d'actinomycètes après 10 jours de culture.

III.4.2.6 Longueur des feuilles

La longueur des feuilles après l'inoculation par le *Fusarium ssp.* comprise entre 5 et 7 cm pour les graines de blé (Boussalem) inoculé par les isolats PU5 et PU7. Par contre les graines de blé de waha (Figure 19).

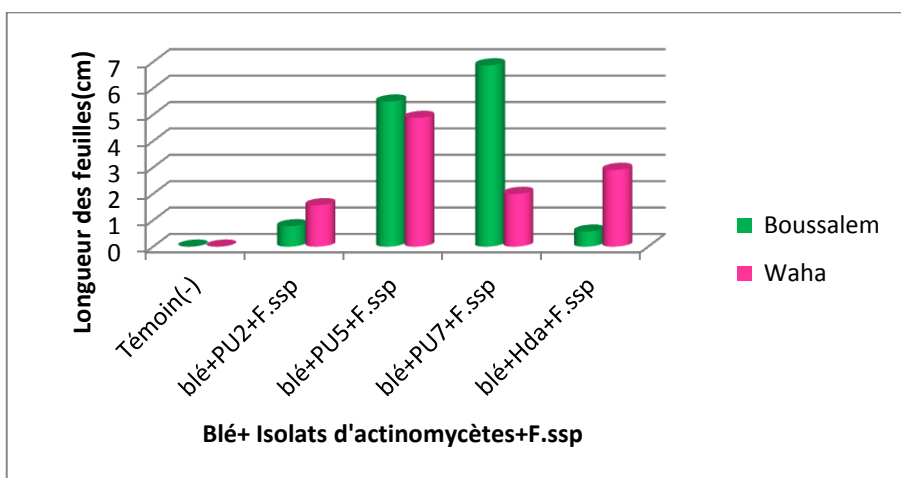
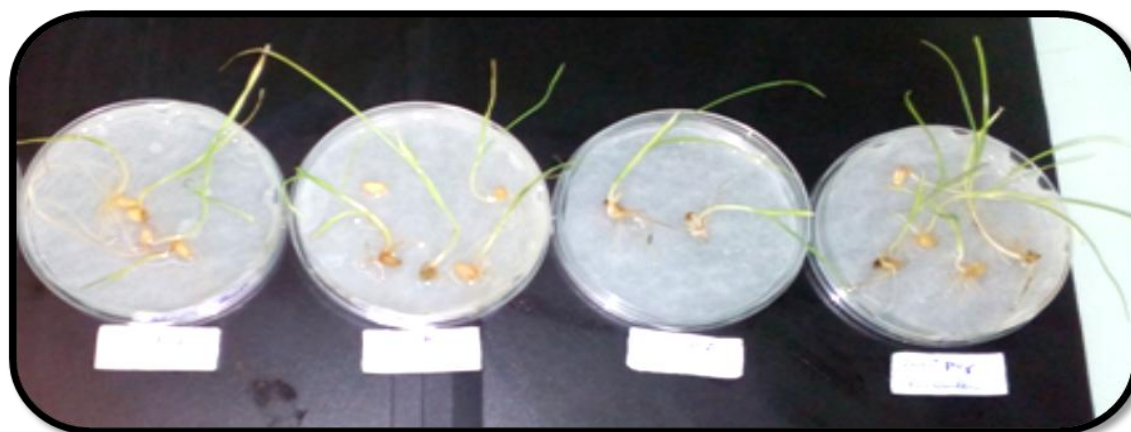


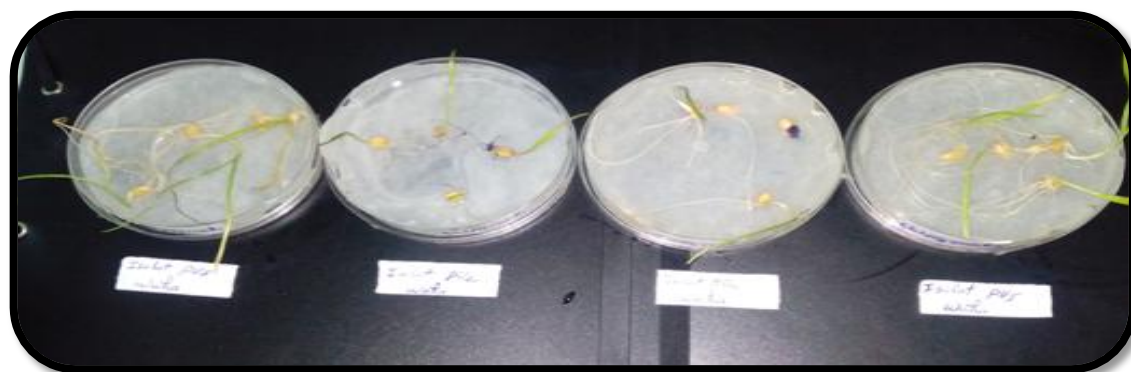
Figure 19. Longueur des feuilles de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) inoculée par la suspension de *Fusarium ssp.* et les isolats d'actinomycètes après 10 jours de culture.

Deuxième partie: Discussions

Les résultats de l'effet des isolats d'actinomycètes sur les paramètres de croissance de deux variétés de blé dur (Boussalem et Waha) sont présentés dans les figures précédentes. L'analyse de ces résultats montrent que le traitement des graines de blé dur (Boussalem et Waha) par les 04 isolats d'actinomycètes isolée à partir de deux échantillons du sol de la région de M'sila a donné un effet important qui est traduit par l'amélioration des paramètres de croissance tels que le taux de germination, longueur d'épicotyle, le nombre et longueur des racines et des feuilles. Cette effet est différent d'un isolat à un autre selon leur stimulation. En outre, les isolats PU2, PU5 et PU7 ont un effet efficace surtout pour les graines de variété de Boussalem. Cette stimulation se traduit essentiellement par une meilleure croissance sur les différents paramètres ([Prise photo](#)).



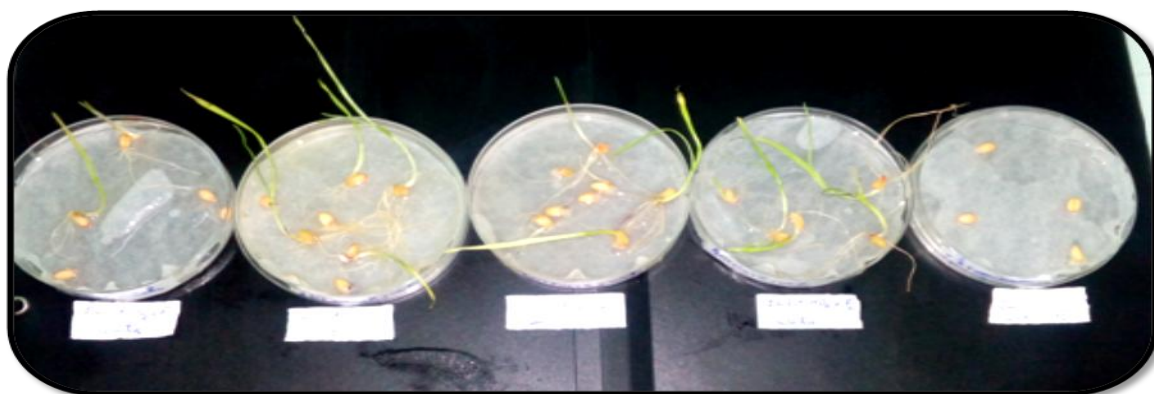
Prise photo 01: Graines de blé dur (Boussalem) inoculés par les quatre isolats d'actinomycètes (PU2, PU5, PU7 et HDa) après 08 jours de culture. **Photo Originale : 100X (DERJ et BENDERRADJI, 2017)**



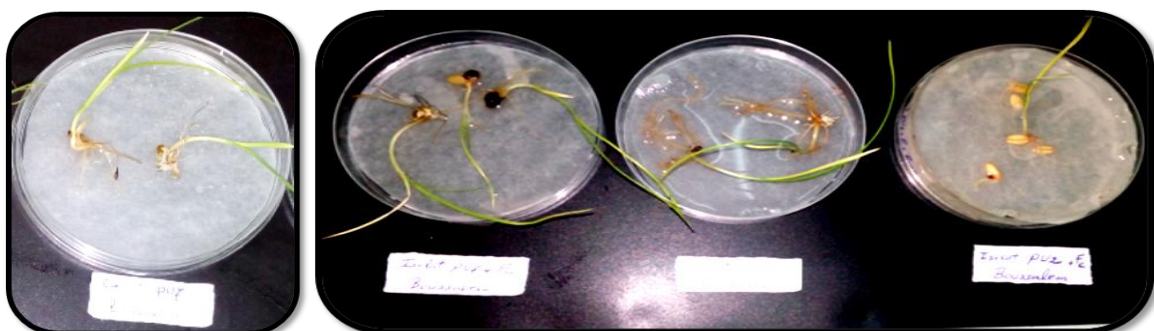
Prise photo 02: Graines de blé dur (Waha) inoculés par les quatre isolats d'actinomycètes (PU2, PU5, PU7 et HDa) après 08 jours de culture. **Photo Originale : (DERJ et BENDERRADJI, 2017)**

Ces résultats participent certainement dans le processus de biocontrôle (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).

Les résultats de l'effet des isolats d'actinomycètes sur l'expression de la fusariose de blé dur (waha et Boussalem) sont présentés dans les figures précédentes. Ces résultats montrent que les souches d'actinomycètes ont un effet inhibitrice contre l'agent pathogène *Fusarium ssp.* Cette inhibition se traduit par l'amélioration des paramètres de croissance tel que le taux de germination, le nombre et longueur des racines, des épicotyles et des feuilles. Donc on peut dire que, la meilleure solution pour éviter les maladies de blé est l'utilisation des actinomycètes comme un agent biologique contre ces maladies ([Prise photo](#)).

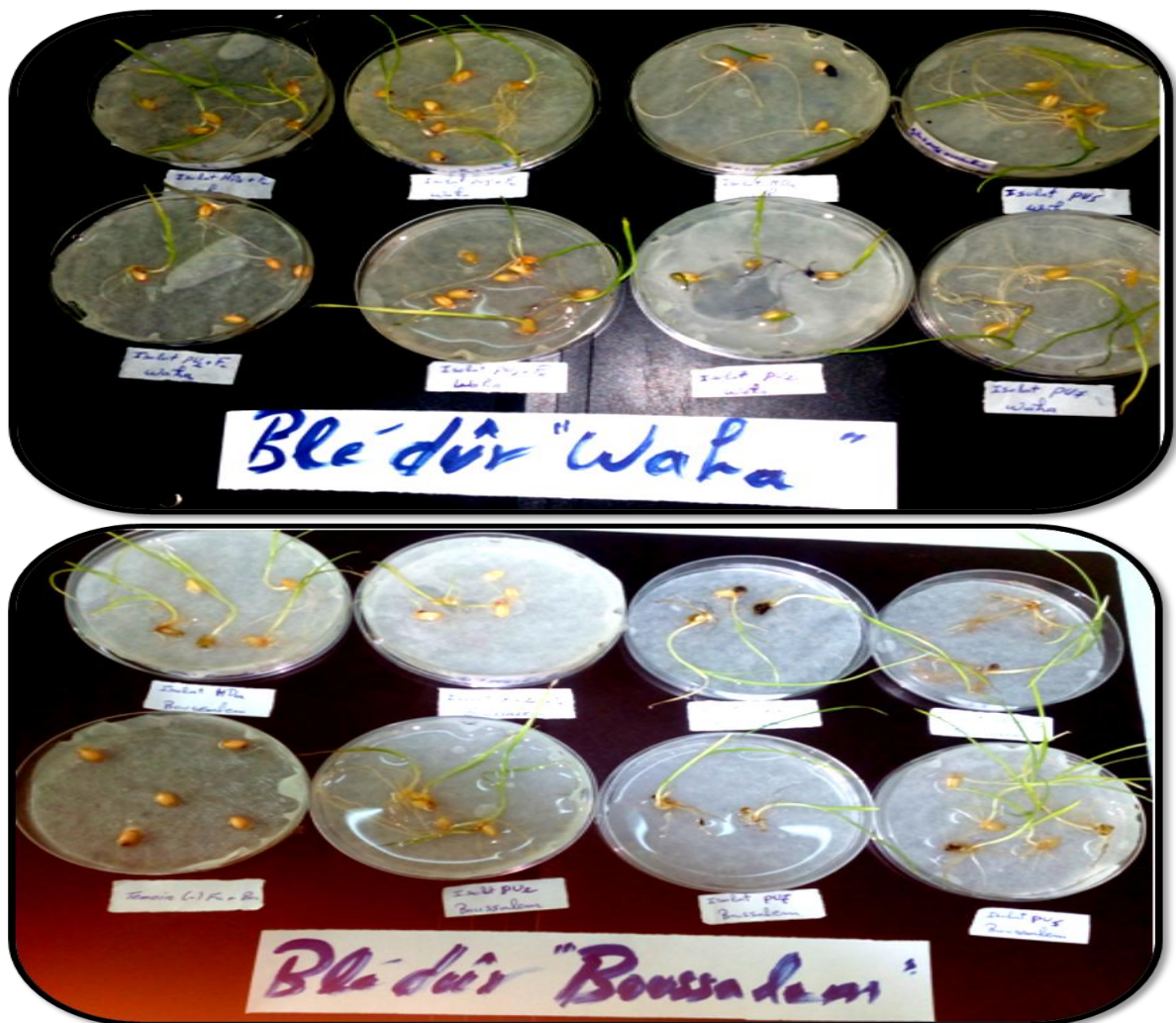


Prise photo 03: Plantules obtenues à partir des graines de blé dur de variété Waha inoculées par la suspension de *Fusarium ssp.* + l'isolat d'actinomycètes après 08 jours de culture. **Photo Originale :** (DERJ et BENDERRADJI, 2017)



Prise photo 04: Plantules obtenues à partir des graines de blé dur de variété Boussalem inoculées par la suspension de *Fusarium ssp.* + l'isolat d'actinomycètes après 08 jours de culture. **Photo Originale :** (DERJ et BENDERRADJI, 2017).

En comparaison de notre résultats qui nous avons obtenues avec les résultats de travaux de nombreux chercheurs qui ont confirmé le rôle des microorganismes dans la lutte biologique contre les maladies des plantes. On prend par exemple le travaux de [El jaafari et al., \(1995\)](#) qui utilise les microorganismes pour déterminer leur effet sur les ennemis de la culture et comme un agent de lutte biologique. Ainsi pour mle chercheur [Yekkour et al., \(2012\)](#) qui sont appliqué les actinomycètes sahariens pour la lutte biologique contre les maladies de "Fonte de semis ". Pour les chercheurs [Meredith et Pohland, \(1970\)](#) qui sont montré que les actinomycètes sont des producteurs des produites antibiotique qui pourraient empêcher la croissance des agents phytopathogènes d'un part, et d'autre part pour l'amélioration des rendement.



Prise photo 05: Les plantules des graines de blé dur (Boussalem et waha) obtenues au cours de cette expérience après les 08 jours de culture. **Photo Originale :** (DERJ et BENDERRADJI, 2017)

Conclusion et perspective

Conclusion

Les maladies infectieuses sont causées par des microorganismes (champignons, bactéries, virus, mycoplasmes et rickettsies) qui peuvent être transmises par divers vecteurs (vent, eau, contact entre les végétaux, nématodes, insectes, etc.), d'autres plantes saines, ou être présents dans le sol, provoquent ainsi les maladies chez les nouveaux hôtes sensibles. Un germe pathogène est donc un organisme vivant, éventuellement virulent c'est-à-dire qui permet provoquer une maladie chez les plantes. Le contrôle de cette maladie peut se faire par certaines méthodes de lutte classiques, comme les variétés résistantes et l'application de fongicides, dont les limites de leur efficacité sont bien connues. L'utilisation excessive de fongicides chimiques peut entraîner la pollution de l'environnement et avoir pour conséquence l'émergence de pathogènes résistants aux fongicides spécifiques et, par ailleurs, sont responsables de divers problèmes de santé chez les humaines et les animaux. Les microorganismes antagonistes à des agents pathogènes ont été découvert et certaines d'entre eux sont utilisés comme agents de lutte biologiques contre les maladies des plantes.

L'objectif de ce travail était de sélectionner et d'identifier de potentiels agents de lutte biologique. La première partie a été consacrée à la purification et l'identification macromorphologique et microscopique de souche fongique pathogène (*Fusarium ssp*) qui est l'agent responsable de la fusariose du blé dur (*Triticum durum*.Desf). Dans une deuxième partie, le travail que nous avons mené sur les souches actinomycètes isolés à partir de deux échantillons du sol de région de M'sila (région de Hammam Dalaa et de pole universitaire). Après l'isolement, purification et l'identification macromorphologique et microscopique nous avons obtenue 08isolats d'actinomycètes qui nommée (PU1, PU2, PU3, PU5, PU7, HDa, HDb et PU8). La troisième partie est consacrée aux tests d'antagonisme *in vitro* et *in planta* vis-à-vis de *le Fusarium ssp.*, agent causal de la fusariose de blé dur. L'antagonisme *in vitro* est réalisé par la deux techniques (technique de trait et de disque d'agar) s'est montré positif seulement avec les quatre souches (PU2, PU5, PU7et HDa). Ce qui reflète leur action d'antibiose. Cependant, les expériences *in planta* menées sur les deux variété de blé dur (Boussalem et Waha), ont montré que le traitement des graines de blé dur seulement par la suspension de quater isolats d'actinomycètes est présentent des meilleurs résultats au niveau des paramètres de croissance (taux de germination, nombre et longueur des racines, nombre et longueur des feuilles). De même pour le test de biocontrôle, l'isolat PU5 et PU7 a une forte action contre la suspension fusarienne.

Selon ces résultats obtenus, on peut dire que les 04isolats d'actinomycètes jouent à la fois un rôle de protection contre l'agents pathogène de fusariose de blé dur et à l'amélioration des paramètres de croissance. Alors que la meilleure solution Our augmenter le rendement en blé dur et éviter les agents pathogènes, c'est l'utilisation des microorganismes a un effet PGPR. Dans le cas de notre étude, on affirme que les actinomycètes sont plus efficaces dans la lutte biologique et l'amélioration de la croissance.

Perspectives

En perspective des études complémentaires sont cependant nécessaires pour achever ce travail préliminaire, notamment, d'évaluer l'efficacité de ces agents de lutte biologique potentiels sur une grande échelle (en serre puis en champ); de purifier les antibiotiques produits par ces isolats et déterminer leur structure et d'étudier les mécanismes d'action d'éventuelles PGPR, à savoir, la production de phytohormones, production de sidérophores, la solubilisation du phosphate, induction du système de la résistance chez les plantes.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

- 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, 100p.
- Agrios, G. N. (2005).** Plant pathology, 5^{ème} édition, department of plant pathology University of Florida; *Elsevier Academic Press*. PP.948.
- Alais, C., Linden, G., MICHON. (2003).** Biochimie Alimentaire. 5^{ème} Ed. Dunod. p 131.
- Alexander M. (1977).** Introduction to soil microbiology. *Wiley, New York*. 480.
- 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-arides d'altitude. *Revue Sciences et Technologie* (Uni. Mentouri, Constantine). *Numéro spécial D*, 33-38.
- Badji, B., Riba, A., Mathieu F., Lebrihi, A. and Sabaou N. (2005).** Antifungal activity of a saharan *Actinomyces* strain against various pathogenic and toxinogenic fungi. *J. Med. Myco.* 15, 211-219.
- Balachowsky A. (1936).** Insectes nuisibles aux plantes cultivés, leur mœurs, leur destruction. Ed. Basson, Paris, Tome 1, PP11-37.
- Bonjean, A. E., Picard. (1990).** Les céréales à paille : Origine, historique, économie et sélection Ed Nathan, 235p.
- Borteli L. (1969)-.**Contribution à l'étude du problème des oiseaux granivores en Tunisie *Bull. Fac. Agro.*22-23 : PP19-153.
- 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.
- Brooker Donald B., Bakker-Arkema Fred W., Hall Carl W. (1992).** Drying and storage of grains and oil seeds. *Springer*; 468P.
- Belaid D. (1996).** Aspects de la céréaliculture Algérienne. Ed. Office des publications universitaires, Ben-Aknoun .1^{ère} édition, 206
- Belabid L., Baum M., Fortas Z., Bouznad Z. and Imad-Eujayl I. (2004).** Pathogenic and genetic characterization of Algerian isolate of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lentis* by RAPD and AFLP analysis. *Afr. J. Biotechnol.* 3(1), 25-31.

- Benameur Mehdim R., Sioud, S., Benfeguir, 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.
- 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.
- Bose Bandana., Hemantaranjan A., (2008).** Developments in physiology, biochemistry and molecular biology of plant. vol 2. *New India Publishing Agency*; 369 P.
- Boufenar-Zaghouane F. et Zaghouane 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.
- Boureghda 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.
- Bouzerzour H., Benmahamed A. (1994).** Environmental factor limiting barley grain yield in the high plateaux of eastern Algeria. *Rachis*. 12, 11-14.
- Bouzerzour H., Bahloulï F. Bnmahamede 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 legume. Grain legumes in the mediterranean Agriculture*. IAV Hassan II, Rabat, Morocco.
- 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.
- Bressan W. (2003).** Biological control of maize seed pathogenic fungi by use of actinomycetes. *Biocontrol*. 48, 233-240.

- Brouillard C. (2013).** Caractéristiques des maladies cryptogamiques (en ligne). Consulté le 31. 05. 2014. Adresse URL : <http://www.rustica.fr/articale-jardin/maladies-et-parasites/maladies-cryptogamique -definition-et-caracteristiques>, 4104. Html
- Capo M., Courilleeau V., Et Valette C. (1990) -** Chimie des couleurs et des odeurs. *Culture et techniques*, 204.
- Carver, B.F. (2009).** Wheat science and trade. Ed. *Wiley- Blackwell*, pp.6-160.
- Cavalla M. , Éberlin T. (1994).** Isolement des *Streptomyces* du sol L'opéron, XIX, 4, 13-17.
- 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, 53, 55, 57, 59, 81, 85, 93, 102, 103, 109.
- Cisowski W. (1985).** Flavonoid compounds in *Myrrhis odorata* l. scop. *Herba polonica* 31, 13-19.
- Clement- Grandcourt et Prat. (1970).** Les céréales : collection d'enseignement agricole. 2^{ème} Ed. PP 351-360.
- Cook R. J. M. (1993).** Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* **31**, 53–80.
- Copping L. G., and Menn J.J. (2000).** Biopesticides: a review of their action, applications and efficacy. *Pest Manage. Sci.* **56**, 651-676.
- 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.
- 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.
- Decoin S. (1999).** Evolution des produits de protection depuis deux ans : Nouvelles familles, promesses tenues *Phytoma déf. Vég.* 1999, 521p, PP28-33.
- Djermoun, A. (2009).** La production céréalière en Algérie: Les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie*, N°01: 45- 53.
- 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.

- Dennis, C., Webster, J. (1971).** Antagonistic properties of species-groups of Trichoderma. I. Production of non-volatile antibiotics. Transactions of the British Mycological Society 57, 25-39.
- Don-Pedro K.N. (1985).** Toxicity of some citrus peels to *Dermistes maculatus* Deg., and *Callosobruchus maculatus* (F). *Journal of stored products research* 21(1), PP: 31-34.
- Dupont. (1982).** Hemicellulosic polymers from cell walls of beeswing wheat bran: Part I, polymers solubilised by alkali at 2°C. *Carbohydr Research* 163: 99p.
- 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.
- Doumbou C. L., Salove M. K., Crawford D. L. Beaulieu C. (2001).** Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. *Phytoprotection*. 82, 85-102.
- Emmert E. A. B and Handelsman J. (1999).** Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS. Microbiol. Lett.* 171, 1-9.
- 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. (2006b).** 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 rolfisii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *World J. Microbiol. Biotechnol.* 23, 1503-1509.
- Errakhi R., Lebrihi A. and Barakate M. (2009).** *In vitro* and *in vivo* antagonism of actinomycetes isolated from Moroccan rhizospheric soils against *Sclerotium rolfisii*: a causal agent of root rot on sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *J. App. Microbiol.* 107, 672-681.
- Ezzahiri B. (2001).** Pathologies de blé. IAV Hassan II, 01-01-2001, département de phytopathologie. Maroc, président de l'association marocaine de protection des plantes (AMPP), 23.
- Errakhi R. (2008).** Contribution d'actinomycètes (Actinobactéries) à la lutte biologique contre *Sclerotium rolfisii* et rôle de l'acide oxalique dans l'induction des mécanismes de défense. Thèse de Doctorat. Université Cadi Ayyad, Marrakech Maroc. Xp

- Ezzahiri B. (2011).** Production du blé, la septoriose potentiellement dommageable cette année. Bulletin de l'agriculture du Maghreb N°49. *Fusarium* spp. *Phytopathology* 89: 1152–1161. 1999.
- 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.
- F. A. O. (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.
- 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.
- 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.
- Fernandez, M.R., Jefferson, P. G. (2004).** Fungal population in roots and crowns of common and durum wheat in Saskatchewan. *Canadian Journal of plant pathology*, 26,325-334.
- Fillet, P. (2000).**Le grain de blé, composition et utilisation. Edition INRA, paris: 23-25pp.
- Fortas B., Mekhlof A., Hamsi K., Boudiar R., Laouar A.M. et Djaidjaa Z. (2013).** “Impacts des techniques culturales sur le comportement physique du sol et la culture du blé dur (*Triticum durum* Desf.) Sous les conditions semi-arides de La région de Sétif.” *Revue Agriculture.*, 6: P 12 – P 20.
- Fravel D. R. (2005).** Commercialization and implementation of biocontrol. *Ann. Rev. Phytopathol.* 43, 337-359.
- 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.
- 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.

- 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.
- Guignard, J. L. (2004).** Biochimie végétal 2^{ème} edition Dunod. 188 p.
- Guignard, J. L; Dupont, F. (2004).** Botanique Systématique moléculaire.13 Ed révisée Masson Paris. Pp 116-117.
- Gundliffe E. (2006).** Antibiotic production by actinomycetes: The Janus faces of regulation. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 33, 500-506.
- Gwinner J., Harmisch R et Muer F (1996).** Manuel sur manutention et la conservation des grains après récolte. Ed, GT2. Esehborn. 368.
- 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.
- Hanson E.W., Christensen J.J. (1953).** The black point disease of wheat in the United States. *Tech. Bull.* 206. MINN. AGRI: 30.
- Hariri. (1999).** Mosaïques sur blé: Mise en évidence d'un nouveau virus. *Phytoma - La Défense des Végétaux*, No. 519 p, PP21-22.
- Harlan J. R . (1975).** Our vanishing genetic rescources .*Science*, (188).
- 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.
- Heredia N., Wesley I., García S. (2009).** Microbiologically safe foods. *John Wiley*; 596P.
- 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. p234.
- 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.
- 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.

- Kalakoutskii L. V and Agre N. S. (1976).** Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. *Bacteriol. Rev.* 40 (2), 469-524.
- Kennedy A. C. (1999).** Bacterial diversity in agro-ecosystems 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.
- Kuster K. (1979).** The concept of gens and species within the *Actinomycetales* in *Nocardia* and *Streptomyces*. *Gutar fisher Verglas.* 21-25
- 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.
- Kim , B. S and Hwang B. (2007).** Microbial fungicides in the control of plant diseases. *J. Phytopathol.* 155, 641-653.
- 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.
- Kitouni, M. (2007).** Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à 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.
- Kleopfer J. L., Leong J., Teintze M and Schroth M. N. (1980).** Enhanced plant growth by siderophores produced by plant growth-promoting rhizobacteria. *Nature.* 286: 885-886.
- Lacey J. (1997).** Actinomycetes in composts. *Ann. Agr. Env. Med.* 4, 113-121.
- Larkin R. P., FravelD. R. (1999).** Efficacy of various fungal and bacterial biocontrol organisms for control of *Fusarium*. *Wilt of tomato, Dis.* 82, 1022-1028.
- Larpent J-P and Sanglier J. J. (1989).** Biotechnologie des antibiotiques. Masson, Paris. 481.
- 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.
- Lechevalier M. P and Lechevalier H. (1980).** The chemotaxonomy 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 Benjamen Cummings Publishing Company, Inc.* 315-316.
- 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.
- 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-3utilitizing rice hull. *Bioresource Technology*. 99: 378-386.
- Leroux P. (2003).** Modes d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogenes des plantes. *Comptes Rendus de Biologie* 326: 9-21.
- Leroux P. (2003).** Modes d'action des produits phytosanitaires sur les organismes pathogenes des plantes. *Comptes Rendus de Biologie* 326: 9-21.
- Madigan, M. T et Martinko, J.M. (2007).** Brock Biologie des microorganismes. 11^{ème} éditions. PP: 396-398.
- 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).
- Mariat F and Sebald M. (1990).** Actinomycètes. In: Bactériologie Médicale. Le Minor L. et Véron M. (Eds), 2^{ème} édition, *Flammarion*. Paris. 935-949.
- Mathew S. (2010).** A review on the wheat grain quality under post harvest storage. *International Journal of Pharmaceutical and Applied sciences*/1 (2). ISSN : 0976-6936.
- Matile . (1993)** .Les mauvaises herbes d’Afrique du nord. . Publication 948 d’Agriculture Maroc. 217p.
- 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.
- Mckey J. (1968).** Species relation in *Triticum*. *Herditas*, 237-276.

- Messiaen C. M., Blancard D., Rouxel F and Lafon R. (1991).** Les maladies des plantes maraîchères. INRAA, Paris.124p.
- 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.
- 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.
- 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.
- 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. V. A. O., Pires, R. C., Zeraik, A. E., Fernandes, AC. L. B., Friere, 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.
- Nonomura, H. (1974).**Key for classification and identification of 458 species of the Streptomycetes included in ISP.J. *Fremont. Technol.* 52 (2) : 78-92.
- 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. 92–99
- 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.
- Padrini F et Lucheroni M. T. (1996).** Le grande livre des huiles essentielles .Ed de *Vecchi*. 115P.
- 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.

- Pieckova E and Jesenska Z. (1999).** Microscopic fungi in Dwellings and their health implications in humans. *Ann Agric Environ Med.*, 6: 1-11.
- Pintureau, B. (2009).** La lutte biologique. Application aux arthropodes ravageurs et aux adventices. Ellipses edition Marignolles, Paris. 19-22, 80-106.
- Pochon J et Tardieux P. (1962).** Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Edition de la tourelle, St. Mandé. PP110-111.
- Rachef S. A, Ouqmer F, Ouffroukh A. (2005).** Inventaire des ravageurs de la fève en Algérie (Identification et caractérisation). *Recherches agronomiques.* 16:36-41.
- Rai M. K., Acharya D. And Wadegaonkar P. (2003).** Plant derived antimycotics: Potential of Asteraceous plants, in: *Plant-derived antimycotics: Current Trends and Future prospects.* Haworth press, N-York, London, Oxford, 165-185.
- 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.
- 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.
- Ritter. (1982).** Importance des nématodes à kystes des céréales. *Bulletin OEPP*, 12 (4): PP 307-316.
- 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.
- 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.
- 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. Microbiol.* 29, 194-199.
- 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.
- Samson, R. A.(1994).** Taxonomy and current concepts in *Aspergillus*. In J.E. Smith (ed.), *Biotechnology Handbooks : Aspergillus* Plenum Publishing Co., pp. 1-22.

- 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.
- 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-Diacetylphoroglucinol, a Broqd-Spectrum Antibiotic produced by *Pseudomonas fluorescens*. *The American Phytopathological Society.*, 11: 1201-1211.
- Selvey, C., et Riba, G. (1999).** Biopesticides contre maladies; insectes mauvaise herbes. Les Dossiers de l'Environnement, 19: 157-200.
- Shirling, E. B., Gottlieb, D. (1966).** Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. Syst. Bacteriol.*, 16: 313-340.
- 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>
- 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.
- 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 mush room composts in Korea based on 16S RNA gene sequence analysis. *FEMS Microbiol. Lett.* 202, 97-102.
- 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.
- 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.
- Takahashi Y and Omura S. (2003).** Isolation of new actinomycete strains for the screening of new bioactive compounds. *J. Appl. Microbiol.* 49, 141-154.
- 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 imazalil. =*Appl. Env. Microbiol.* 67(3), 1147-1153.

- Tu J.C. (1988).** Antibiosis of *Streptomyces griseus* against *Colletotrichum lindemuthianum*. *J. phytopathol.* **121**, 97-102.
- Vavilov N. I. (1951).** The origin, variation, and immunity 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.
- Wang, S. L., Hsiao, W., J., Chang, W. T. (2002).** Purification and characterization of an antimicrobial chitinase extracellularly produced by *Mnoscus purpureus* CCR 31499 in a shrimp and crab shell powder medium. *J. Agric. Food. Chem.*, **50**: 2249-2255.
- 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.
- 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.
- Yilmaz E. I., Yavuz M and Kizil M. (2008).** Molecular characterization of rhizospheric soil Streptomycetes isolated from indigenous plants and their antimicrobial activity. *World J. Microbiol. Biotechnol.* **24**, 1461-1470.
- 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.
- Zaitlin B., Watson S. B., Ridal J., Satchwill T. and Parkinson D. (2003).** Actinomycetes in lake Ontario: Habitats and geosmin and MIB production. *Peer-reviewed, J. AWWA*, **95** (2), 113-118.
- Zimmerman, W. (1990).** Degradation of lignin by bacteria. *Journal of Biotechnology.*
- 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.

Annexes

Annexe1: 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

Annexes 2: Le matériel végétal utilisé au cours de l'expérimentation.



Figure 02: Les semences des plantes des deux variétés de blé dur.