



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine 1  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة 1  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

**Département : Microbiologie**

قسم : ميكروبيولوجيا

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Sciences Biologiques**

**Spécialité : Biotechnologie des Mycètes / Fermentation et production de substances fongiques.**

## **Intitulé**

**Recherche de bactéries développant une activité antagoniste  
vis -à- vis des agents de la pourriture racinaire de blé dur**

**Présenté par**

**BOUCHAIB Asma**

**FARES Ramila**

**Soutenu le : 06/07/2017**

**Jury d'évaluation :**

**Président :** Mme MIHOUBI Ilhem

Professeur . Université Constantine 1.

**Rapporteur :** Mr KACEM – CHAOUCHE Nouredine

Professeur. Université Constantine 1.

**Examineurs :** Mme CHERFIA Radia

Maître assistant A. Université Constantine 1.

**Année universitaire  
2016 - 2017**

## *Remerciements*

Notre première gratitude va au tout-puissant ALLAH (الله), pour nous donner la vie, le b nedicite et la force pour accomplir ce travail ; nos sincères remerciements aux Dieu le grand créateur qui nous a guidé dans nos pats pour arriver à ce stade-là.

Nos remerciements les plus vifs s'adressent à notre encadreur Mr KACEM-CHAOUCHE, professeur à l'université des fr eres Mentouri Constantine.1 et directeur du laboratoire de Recherche LaMyBAM , d'avoir accepté de nous encadrer, conseiller et de nous orienter avec beaucoup de pertinence et de patience.

Nous tenons à remercier chaleureusement, Mlle KARA ALI Mounira, Maitre de conférences à l'université des fr eres Mentouri Constantine.1, qui nous a appris les méthodes de travail, pour l'attention qu'elle nous a accordé, sa patience et ses précieux conseils.

Nous tenons à remercier également :

Mme MIHOUBI I, professeur à l'université des fr eres Mentouri Constantine.1, qui nous a fait le plaisir de présider ce jury.

Mlle CHERFIA R, Maitre assistante à l'université des fr eres Mentouri Constantine.1, d'avoir accepté de juger ce travail.

Nous sommes également reconnaissantes envers Mr. DEHIMET L, Doyen de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie pour son dévouement professionnel, son écoute et aide précieuse.

Nos remerciements s'adressent à Mme SEBIHI FZ de l'Université de kenchela pour sa contribution précieuse pour mener à bien notre expérimentation. Je ne saurais oublier Melle BOUZIANE Zahira Maitre assistante à l'Université de kenchela pour sa gentillesse, ses encouragements, son aide précieuse et ses très bons conseils.

Nous n'oublions pas tous nos cher(e)s enseignant(e)s,

Enfin, on remercie tous ceux qui, à des titres divers, ont apporté leur aide, leur soutien, leur contribution de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

## Dédicaces

### Je dédie ce travail

A mes chers parents : **Khallef et Nadjet**

Sources de mes joies, secrets de ma force

Vous serez toujours le modèle

Papa, dans ta détermination, ta force et ton honnêteté

Maman dans ta bonté, ta patience et ton dévouement pour nous

Merci pour tous vos sacrifices pour que vos enfants

Grandissent et prospèrent

Merci de trimer sans relâche, malgré les péripéties de la vie

Au bien être de vos enfant

Merci d'être tout simplement mes parents

C'est à vous que je dois cette réussite.

A mon adorable sœur **SARA**

A mes frères : Abderrahmane et Yahia

A Ma grand-mère Dieu accorde le repos de son âme : Ourida

A mes grands-pères : Ali et Bachir

A ma grand-mère **Baya**

A mes tantes : Samia, Zahira, Nour elhouda, Khalissa, Fahima

A Fouzia, Yamina, Saida et leurs enfants

A mon oncle : Messoud et sa femme Soumia

A mon oncle **Mustapha**

A mes oncles : Redjem et Zohir et leurs femmes

A mes cousins et cousines

A mon binôme : Asma Bouchaïb

A tous ceux qui me sont chères. À tous ceux qui m'aiment

**RAMLA**

Avec tout respect et amour je dédie ce modeste travail à toute personne chère à moi.

Asma

## Table des matières

<b>1- Introduction</b> .....	1
<b>2- Revue bibliographique</b> .....	4
2.1- Le blé dur.....	4
2.1.1-Historique.....	4
2-1.2- Classification et origine génétique.....	4
2.1.3-Position (Importance) socio-économique du blé dur.....	5
2.1.3.1-Le marché mondial de blé dur.....	5
2.1.3.2-La production de blé dur en Algérie.....	7
2.1.4- Caractéristiques physiologiques et morphologiques de la plante.....	9
2.1.5 - Cycle de développement.....	11
2.1.6 -Pathologie de la plante de blé.....	13
2-2- Données sur la maladie de fusariose du pied du blé.....	15
2.2.1 - Incidence économique de la fusariose.....	15
2.2.2- Le genre <i>Fusarium</i> .....	15
2.2.2.1- Taxonomie et classification des espèces <i>Fusarium</i> .....	15
2.2.2.2- Identification des espèces du genre <i>Fusarium</i> .....	18
2.2.2.2.1-Identification morphologique.....	18
2.2.2.2.2- Identification moléculaire.....	18
2.2.2.3- Morphologie et caractéristiques physiologiques.....	19
2.2.2.4- Production de mycotoxines.....	20

2.2.3 - Maladie de fusariose du pied (Fusarium foot rot).....	21
2.2.3.1- Agents responsables.....	21
2.2.3.2- Symptômes de la maladie.....	21
2.2.3.3- Implantation de la maladie.....	22
2.2.3.3.1- Source d'inoculum.....	22
2.2.3.3.2 -Evolution de la maladie.....	24
2.3-Les actinomycètes, agents de lutte biologique.....	26
2.3.1-Aperçu sur les approches de lutte contre la fusariose du blé.....	26
2.3.2-La lutte biologique, une approche de lutte indépendante et /ou alternative de la lutte intégrée.....	27
2.3.3- Action des microorganismes de lutte biologique.....	28
2.3.3.1-La rhizosphère : lieu d'interaction plantes-microorganismes (Environnement des maladies telluriques).....	28
2.3.3.2- Mécanismes d'action des microorganismes.....	29
2.3.4-Les actinomycètes.....	31
2.3.4.1- Définition et caractéristiques.....	31
2.3.4.2-Taxonomie.....	32
2.3.4.3- Biologie de développement.....	34
2.3.4.4- Production des métabolites secondaires.....	35
2.3.4.5- L'interaction plante-actinomycètes.....	36
3-Matériel et Méthodes.....	38
3.1-Provenance et origine des souches fongiques.....	38
3.1.1- Réalisation de la culture du blé.....	38

3.1.2 – Isolement de pathogène.....	38
3.1.3 - Identification de l'isolat fongique.....	39
3.1.3.1- Etude Macroscopique.....	39
3.1.3.2 - Etude Microscopique.....	39
3.2 - Isolement d'antagonistes bactériens.....	39
3.2.1 - Suspension et dilutions.....	40
3.2.2- Purification et consevation des isolats.....	40
3.3.3 - Recherche et sélection des isolats producteurs des substances anti -Fusarium ( <i>F. culmurom</i> et <i>Fusarium</i> Sp.).....	41
3.3.3.1- Evaluation de l'inhibition exercée par les antagonistes.....	42
3.4- Etude des caractéristiques des souches bactériennes à activité antifongique.....	43
3.4.1-Caractérisation morphologique et physiologique des souches actives.....	43
3.4.1.1- Aspect macroscopique.....	43
3.4.1.2 - Aspect microscopique.....	43
3.4.2 - Caractérisation enzymatique des souches actives.....	44
3.4.2.1- Détermination des pigments mélanoïdes.....	44
3.4.2.2- Utilisation de différents substrats carbonés.....	44
3.4.2.3- Recherche de l'activité amylasique.....	45
3.4.2.4 - Utilisation du citrate comme seule source de carbone.....	45
3.4.2.5- Recherche de la catalase.....	45
3.4.2.6 - Recherche de la gélatinase.....	46
3.4.2.7- Hydrolyse de la caséine.....	46
3.4.2.8- Coagulation ou peptonisation du lait écrémé.....	46
3.4.2.9- Détermination du type respiratoire.....	46

4- Résultats.....	47
4.1- Identification morphologique de l'isolat fongique phytopathogène.....	47
4.2- Isolement des souches bactériennes et recherche de l'activité antifongique des isolats bactériens obtenus.....	48
4.3- Etude des caractéristiques des souches bactériennes à activité antifongique.....	50
4.3.1- Caractérisation morphologique et physiologique des souches actives.....	50
4.3.2- Caractérisation biochimique des souches actives.....	53
5- Discussion.....	56
6- Conclusion et perspectives.....	61
7- Références bibliographiques.....	63

Annexes

Résumés

## Liste des figures

N° de Figure	Titre	N° de page
1	Phylogénie du blé	5
2	Marché mondial du blé dur	6
3	(a) Pôles agricoles algériens de filière blé dur. Source MADRP, 2016 ;(b) production algérienne des céréales lors de la campagne 2014/2015. Source DSASI	8
4	Morphologie d'un plant de blé	9
5	Fleurs et graine (caryopse) de blé	10
6	Stades de développement du blé	12
7	Caractères morphologiques des <i>Fusarium</i>	19
8	Importance des espèces de <i>Fusarium</i> sur le blé et leurs mycotoxines associées	21
9	Principaux symptômes de pied fusarien du blé	22
10	Cycle de Fusariose des céréales	23
11	Principales sources d'inoculum des maladies cryptogamiques	24
12	Evolution de la maladie de fusariose de blé	25
13	Structure de la rhizosphère	28
14	Complexe d'interactions au niveau de la rhizosphère	31
15	Cycle de développement de <i>Streptomyces</i> sur milieu solide	35
16	Site d'échantillonnage (Sebkha Ain M'lila)	40
17	Confrontation équidistance <i>Fusarium culmorum</i> ou <i>Fusarium Sp .et</i> Actinomycètes par contact direct	41

<b>18</b>	Témoin de la souche <i>Fusarium</i>	42
<b>19</b>	Technique de de culture sur lamelle	44
<b>20</b>	Aspect macroscopique de <i>Fusarium</i>	47
<b>21</b>	L'isolat fongique sous microscope (G x 40)	48
<b>22</b>	Inhibition in vitro de la croissance des moisissures phytopathogènes par les isolats bactériens	49
<b>23</b>	Potentiel d'activité antifongique pour les isolats bactériens sélectionnés	50
<b>24</b>	Aspect macroscopique des colonies des souches bactériennes sélectionnées sur milieu GLM	51
<b>25</b>	Observation des isolats bactériens à l'état frais et avec coloration au microscope	52
<b>26</b>	Mycélium des isolats A <sub>13</sub> et G <sub>3</sub>	52
<b>27</b>	Production des pigments mélanoides par l'isolat C <sub>1</sub>	53
<b>28</b>	Tests enzymatiques	54

## Liste des tableaux

<b>N° du tableau</b>	<b>Titre</b>	<b>N° de page</b>
<b>1</b>	Bilan des exportations des principales céréales algériennes. Source : ONFAA à partir des données CNIS, 2015	<b>7</b>
<b>2</b>	Les principales maladies fongiques du blé en Algérie	<b>14</b>
<b>3</b>	Les différentes sections et espèces des <i>Fusaria</i> selon les principaux systèmes taxonomiques (Jeunot, 2005)	<b>17</b>
<b>4</b>	Classes, ordres et familles du phylum des actinobactéries (Goodfellow <i>et al.</i> , 2012)	<b>33</b>
<b>5</b>	Quelques exemples de métabolites secondaires produits par les actinomycètes	<b>36</b>
<b>6</b>	Pourcentage d'inhibition des isolats bactériens sélectionnés vis- à-vis de <i>Fusarium sp.</i> et <i>F. culmorum</i>	<b>49</b>
<b>7</b>	Caractères cultureux des isolats bactériens sélectionnés	<b>51</b>
<b>8</b>	Tests enzymatiques d'utilisation des sources de carbone par les souches antagonistes	<b>54</b>
<b>9</b>	Tests enzymatiques d'utilisation des sources protéiques par les isolats bactériens sélectionnés	<b>55</b>

## Liste des Abréviations

BD : Blé dur.

CIC : Conseil international des céréales.

CNIS : Centre National de l'Informatique et des Statistiques .

DSASI : Direction des Statistiques Agricoles et des Systèmes Informatiques.

Fruct : Fructose.

Galac : Galactose.

GLM : Gélose à l'extrait de levure et l'extrait de malt.

Gluc : Glucose.

GN : Gélose nutritive

ISP : International Sterptomyces Project.

Lac : lactose.

MADRP : Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche.

Malt : maltose.

ONFAA : Observatoire National des filières Agricoles et Agroalimentaires.

PDA : Potato dextrose agar.

SAU : Superficie agricole utile du pays.

UE : Union européenne.

USD: United States Dollar.

µl : microlitre.

MS/cm : millisiemens par centimètres.

# Introduction

## **1- Introduction**

La production de blé dur (BD) en Algérie est en question. Le coût de production du quintal demeure élevé. Jusque-là, les pouvoirs publics soutenaient à bout de bras les producteurs, les organismes de collecte et l'industrie de la transformation.

Parmi toutes les céréales, le blé est la principale production céréalière, en Algérie. Dans le marché mondial, il représente avec le riz et le maïs 85.4 % de la production céréalière mondiale (Gustafon *et al.*, 2009). Effectivement, la culture de blé dur occupe une place prépondérante de la surface agricole algérienne, durant la période 2010/2015 les superficies récoltées consacrées au blé dur a été estimées à environ de 120.000 hectares. Aussi, la production en blé dur a représenté 55 % de la récolte nationale des céréales lors de la campagne 2014/2015 (MADRP, 2015).

Vue la place très importante qu'occupe le blé dans le régime alimentaire des algériens, l'état déploie beaucoup d'effort pour améliorer cette culture. Mais, avec une production céréalière qui n'a pas dépassé les 3,3 millions de tonnes, l'Algérie connaîtra un recours élargi à l'importation durant la saison 2016/2017 pour faire face au déficit sur le marché local dont les besoins dépassent les 8 millions de tonnes de blé, dont plus d'un tiers en blé dur. La facture des importations de cette céréale dépasse du loin les 1,5 milliards de dollars depuis 2013 (Allal , 2016).

Au cours de sa croissance, le blé peut-être soumis à un certain nombre d'agressions de natures diverses, entre autres les maladies fongiques. Celles-ci sont nombreuses, variées et touchent le blé au cours de toute sa croissance. Parmi les agents phytopathogènes qui causent beaucoup de dégâts aux cultures, les champignons responsables de la pourriture racinaire telles que *Fusarium* spp. s'avèrent plus dangereux du fait de leur caractère ubiquiste (Hofte *et al.*, 1992) et de leur potentiel important par rapport aux production des mycotoxines . De ce fait, la fusariose du pied du blé est fréquemment aboutie à des pertes considérables d'ordre économique, et d'ordre santé public et animale.

Par ailleurs, les produits chimiques utilisés à l'heure actuelle pour lutter contre les agents responsables de la fusariose du blé présentent des inconvénients. La plupart d'entre eux sont toxiques pour les utilisateurs qui entrent en contact avec la substance de préservation. Cela justifie les recherches actuellement menées dans ce domaine, qui tendent à mettre au point de nouvelles méthodes de lutte biologique, impliquant des organismes vivants ou des produits de leurs gènes.

C'est dans ce contexte que des organismes comme l'ITGC (Institut technique des grandes cultures) et l'INRA (Institut national de la recherche agronomique), associés à l'université Frères Mentouri de Constantine, viennent de mettre en place le réseau scientifique et technique pour la modernisation de la filière blé dur.

Encore, la nouvelle initiative, baptisée Réseau blé dur, est lancée dans la perspective d'instaurer « des schémas de recherche dans le domaine de la culture du blé, et ce, à travers l'exploration et l'analyse des différents aspects liés à l'itinéraire technique en amont et en aval, à savoir, la sélection des semences jusqu'au traitement et le stockage des récoltes, en passant par la préparation des sols, les techniques de labours, les produits phytosanitaires et la lutte contre les parasites» (Allal, 2016).

Le présent travail fait partie des travaux qu'ont été réalisés dans le cadre « Réseau blé dur », développé dans le cadre de la collaboration université Mentouri - secteur de l'agriculture algérien, et qui se focalise sur la thématique : « Recherche de potentialités biofertilisantes, biocontrôle, et de phyto-stimulation chez des microorganismes sélectionnés localement », partie prise en charge par le laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne.

Aussi, l'objectif principal de ce travail est de décrire la potentialité des bactéries isolées à partir des échantillons du sol en provenance du lac salé d'Ain Mlila, à limiter le développement des champignons phytopathogènes du genre « *Fusarium* », agents responsables de la maladie de fusariose racinaire du blé.

La partie pratique est réalisée au laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne suivant les étapes suivantes :

- Isolement et purification des isolats fongiques phytopathogène, du genre *Fusarium*,
- Isolement et purification des isolats bactériens susceptibles d'inhiber les phytopathogènes fongiques,
- Recherche in vitro des isolats bactériens à potentiel antifongique à l'égard des champignons phytopathogènes *Fusarium sp* et *F. culmorum* ,
- Caractérisation partielle des isolats bactériens sélectionnés.

# Revue Bibliographique

## 2- Revue bibliographique

### 2.1-Le blé dur

#### 2.1.1- Historique

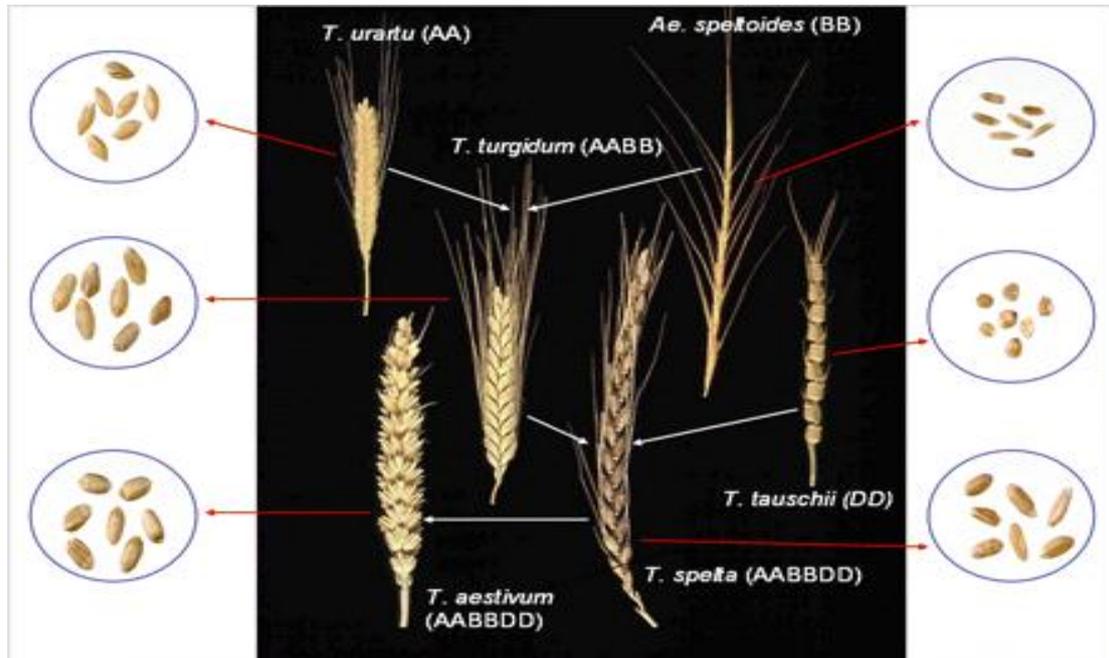
L'histoire de l'homme et celle des plantes cultivées constituent un ensemble d'interactions continues dans le temps et l'espace (Bonjean et Picard, 1990). En ce qui concerne la localisation et la domestication de blé, on considérait jusqu'à aujourd'hui qu'elle avait eu lieu dans le Croissant fertile, vaste territoire comprenant, selon les auteurs, la vallée du Jourdain et des zones adjacentes de Palestine, de la Jordanie et de l'Iraq, voire, de la bordure Ouest de l'Iran (Lev-Yadun et *al.*, 2000). Il s'agit d'une époque où l'homme pratiquait déjà la cueillette et faisait ses débuts comme agriculteur. Cette période coïncidait avec un épisode climatique sec, aboutissant à l'arrêt du mode de vie de « chasseur- cueilleur », et engendrant la domestication progressive des plantes, associée à la création des premières communautés villageoises (Wadley et Martin, 1993). Des restes des blés, diploïdes et tétraploïdes, remontant au VII<sup>ème</sup> millénaire avant J.C ont été découverts sur des sites archéologiques au proche Orient (Harlan, 1975). Selon Feldman, (2001) le blé dur provient des territoires de la Turquie, de la Syrie, de l'Iraq et de l'Iran .

#### 2.1.2- Classification et origine génétique

Le blé dur (*Triticum turgidum* ssp. *Durum*) est une plante de la classe de Monocotylédones, de la famille des Graminées, appartient au groupe tétraploïde, du genre *Triticum*. En termes de production commerciale et d'alimentation humaine, cette espèce est la deuxième plus importante du genre *Triticum* après le blé tendre. Leur famille comprend 600 genres et plus de 5000 espèces (Feillet, 2000).

Selon Mackey, (1968), l'origine génétique du blé dur remonte au croisement entre deux espèces ancestrales *Triticum monococcum* et une graminée sauvage du nom d'*Aegilops speltoïdes*. Le croisement naturel de *Triticum monococcum* (porteur du génome A) × *Aegilops speltoïdes* (porteur du génome B) a permis l'apparition d'un blé dur sauvage de type AABB (*Triticum turgidum* ssp. *Dicoccoïdes*) qui a, ensuite, progressivement évolué vers *Triticum turgidum* ssp. *Dicoccum* puis vers *Triticum durum* (blé dur cultivé) (figure 1).

Le blé dur est allotétraploïde (deux génomes : AABB), comptant au total 28 chromosomes ( $2n = 4x = 28$ ), contenant le complément diploïde complet des chromosomes de chacune des espèces souches. Comme telle, chaque paire de chromosomes du génome (A) a une paire de chromosomes homologues dans le génome (B), à laquelle elle est étroitement apparentée (Wall *et al.*, 1971).



**Figure 1** Phylogénie du blé. (Shewry, 2009).

### 2.1.3-Importance socio-économique du blé dur

#### 2.1.3.1-Le marché mondial de blé dur

Le blé fait partie des trois grandes céréales avec le maïs et le riz. C'est la deuxième par l'importance de la récolte mondiale, et la plus consommée par l'homme après le riz. On parle souvent du blé tendre (*Triticum aestivum* L. ssp. *aestivum*) et du blé dur (*Triticum turgidum* L. ssp. *Durum* (Desf.) Husn.), qui représentent les deux espèces les plus communément cultivées du fait de leur exigences pédo-climatiques et de leur qualités biochimiques et techniques répondant à des besoins alimentaires complémentaires.

- Le blé tendre, cultivé principalement dans les régions de hautes latitudes, a pour débouché principal la production de farine panifiable ;

- Le blé dur, essentiellement cultivé dans les zones chaudes et sèches du globe, est une céréale très riche en gluten utilisée pour produire les semoules et les pâtes alimentaires (Anonyme 1). La culture de blé dur est concentrée au Moyen-Orient, en Afrique du Nord, en Russie, aux Dakotas, au Canada, l'Inde et l'Europe méditerranéenne, elle occupe 8 à 10% du total des terres réservées aux blés dur et tendre, dans le monde. La superficie moyenne consacrée annuellement à la culture du blé dur est estimée à 8 millions d'hectares, pour une production annuelle moyenne de 37.9 millions de tonnes, moyennes de la période 2006-2010.

La production de blé dur des différents pays n'est pas stable, ceci en raison du fait que cette céréale est produite dans des zones et climats très variables (Royo *et al.*, 2000).

Cependant, on peut constater que les principaux pays exportateurs du blé dur sont : le Canada, les Etats-Unis, l'Union Européen (80 % des parts de marchés) et le Mexique. Par ailleurs, les principaux pays importateurs sont : l'Algérie, l'Italie et le Maroc (pays méditerranéens : 2/3 des échanges mondiaux) (Crystel, 2014) (figure 2). Leurs importations augmentent régulièrement, en relation avec une production déficitaire et parfois irrégulière, et une population en hausse (Renaud, 2014).

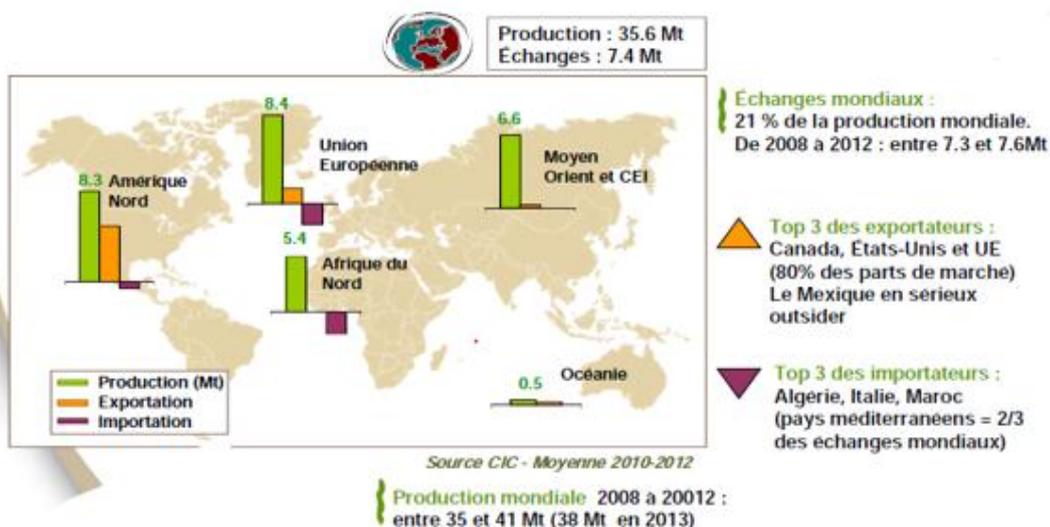


Figure 2 Marché mondial de blé dur. (Crystel, 2014).

**2.1.3.2-La production de blé dur en Algérie**

Situé au nord de l’Afrique, au climat méditerranéen, le territoire algérien s’étend sur une superficie totale de 237.806.620 hectares dont seulement 3% représentent des terres arables (Mara ,1992). De toutes les productions algériennes, la production des céréales est la plus importante. Elles constituent la base même de l'alimentation des populations tant européennes qu’indigènes ; sans peser très sérieusement sur le marché mondial des céréales, l'appoint de l'Algérie n'est pas négligeable, et apporte son contingent au commerce d'exportation (tableau 1).

À ce titre, les céréales ont joué un grand rôle dans le développement de la prospérité économique du pays. Leur aire de culture s’étend depuis le littoral jusqu’à la limite des Hauts-Plateaux (1). Jachère comprise, elle occupe environ 80% de la superficie agricole utile (SAU) du pays. La superficie emblavée annuellement en céréales se situe entre 3 et 3,5 million d’hectares. Les superficies annuellement récoltées représentent 63% des emblavures.

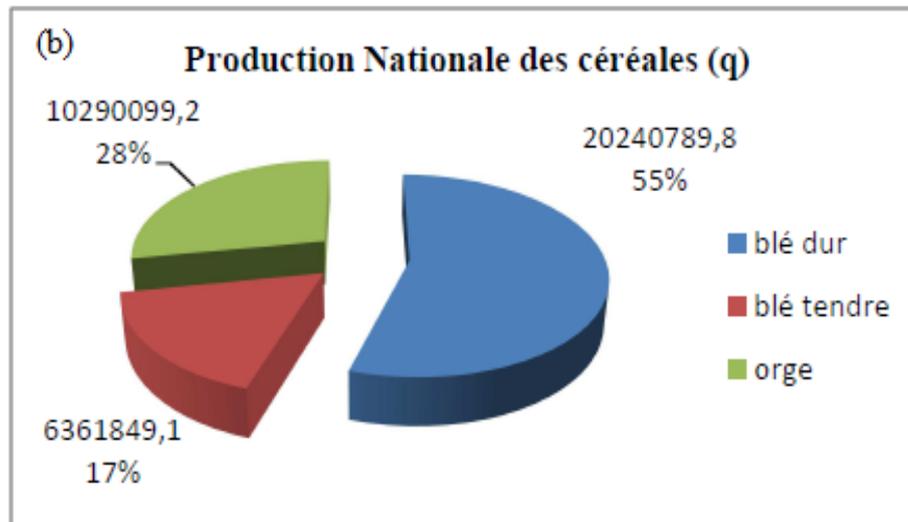
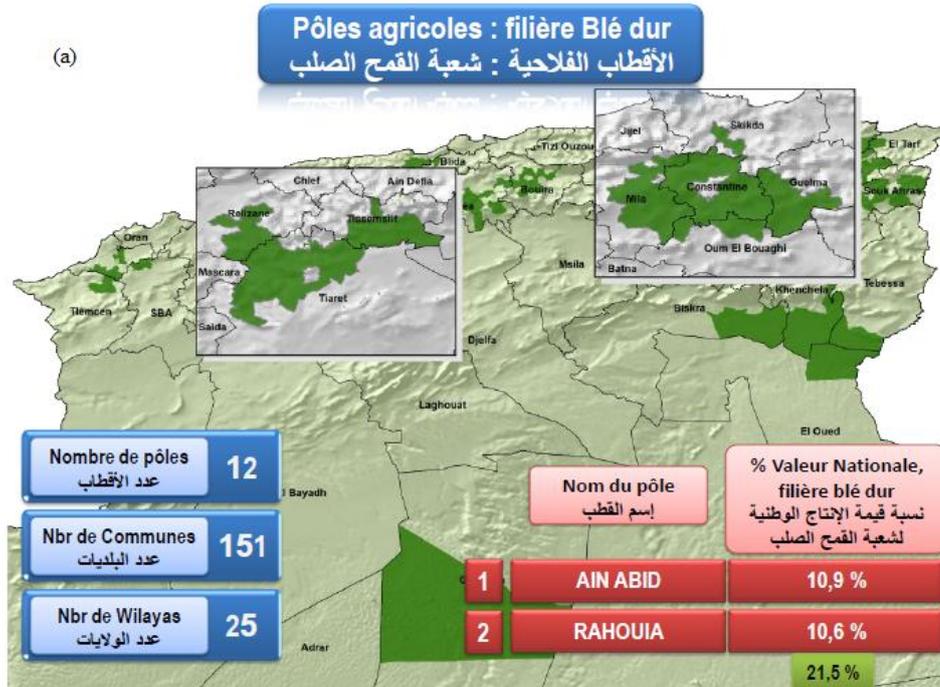
**Tableau 1** Bilan des exportations des principales céréales algériennes. ONFAA à partir des données CNIS, 2015.

Années	Pays fournisseurs	Blé dur		Blé tendre (t)		Total	
		Quantité (T)	Valeur (USD)	Quantité (T)	Valeur (USD)	Quantité (T)	Valeur (USD)
2014	France	10	10 725,7	17,3	20 735,5	27,3	31 461,2
2015	Canada	11	4 347,9	0	0	11	4 347,9

La culture de blé dur occupe une place prépondérante de la surface agricole algérienne (figure 3a). Durant la période 2010/2015 les superficies récoltées consacrées au blé dur ont été estimées à environ de 120.000 hectares. La production en blé dur a représenté 55 % de la récolte nationale des céréales lors de la campagne 2014/2015(MADRP, 2015) (figure 3b).

En relations avec le marché mondial, les produits céréaliers représentent plus de 40% de la valeur des importations des produits alimentaires, en occupant le premier rang (39,22 %), devant les produits laitiers (20,6%), le sucre et sucreries (10%) et les huiles et corps gras (10%). De 1995 à 2005, le marché Algérien a absorbé, en moyenne annuelle, 4244903 tonnes de blés dont 70,44% de blé dur (Chehat, 2007).

La production de blé dur, en Algérie est loin de couvrir la demande qui est de plus en plus importante, suite au faible nombre de produits de substitution et au soutien des prix des céréales. La faiblesse de la production, dont les causes sont multiples, associée à une forte demande alimentaire, justifie le fait que le pays se présente comme un gros importateur potentiel.



**Figure 3** (a) pôles agricoles algériens de filière blé dur. MADRP, 2016 ;  
 (b) production algérienne des céréales lors de la campagne 2014/2015. DSASI.

#### 2.1.4- Caractéristiques physiologiques et morphologiques de la plante

Il s'agit d'une graminée annuelle de hauteur moyenne (Bozzini, 1988), dont l'appareil végétatif comporte un appareil racinaire et un appareil aérien (figure 4).



**Figure 4** Morphologie d'un plant de blé .1-Fleur de blé ; 2-Etamine ; 3-Pistils  
4-grain de blé ; 5- Racines du blé. (Anonyme 2).

Le système racinaire est de type fasciculé qui résulte de la succession de deux systèmes au cours du développement de la plante :

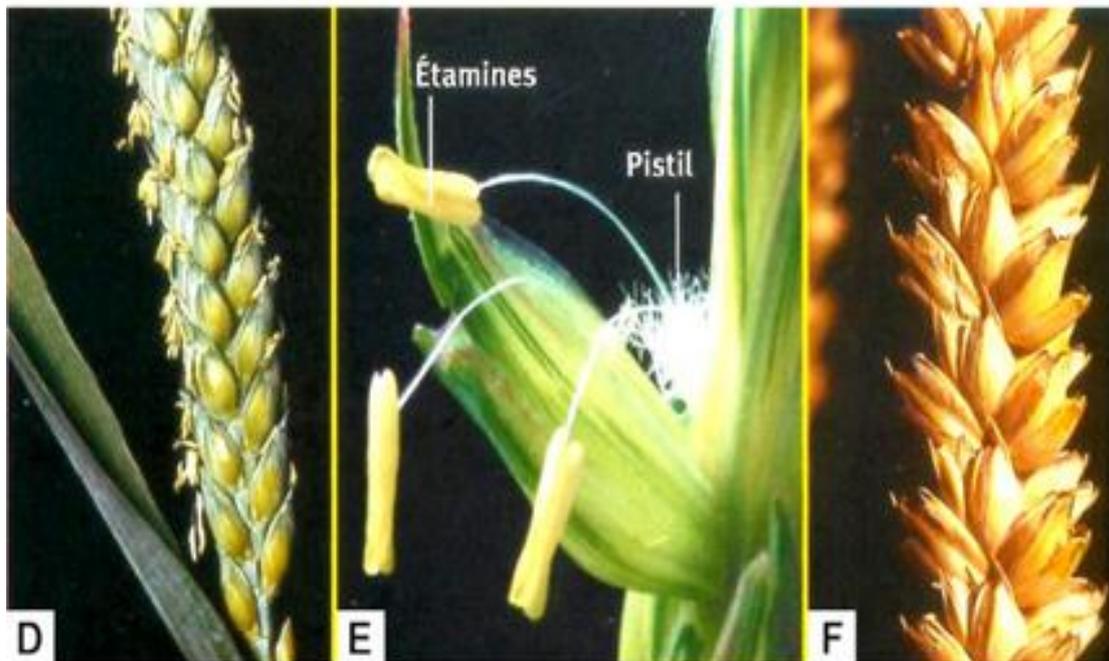
- Système primaire (racines séminales) : ce système de racines fonctionne de la germination à la ramification de la plante c'est-à-dire au tallage. Ces racines sont d'origines embryonnaires cependant associés dans le grain aux différentes parties de l'embryon ce sont :

- Une racine principale résultant de l'allongement de la radicule.
- Deux paires de racines latérales.
- Une racine épiblastique (Grignac, 1965).

- Système secondaire (racines adventives) : c'est un système de racines coronaires ou système de racines de tallage. Il se forme dès le tallage et se substitue parallèlement au système séminal (Grignac ,1965 ; Hazmoune, 1994 ; Hamadache ,2001).

En revanche, le système aérien de la plante est composé de plusieurs longues tiges herbacées, cylindriques, grêles, non ramifiées, renflées au niveau des nœuds. Les tiges sont pleines au niveau des nœuds et creuses dans les entre-nœuds. De telles tiges, appelées chaumes, sont, grâce à cette structure, à la fois souples et résistantes. Les feuilles sont à nervures parallèles et formées en deux parties : La partie inférieure et la partie supérieure (Soltner, 1998).

Les fleurs qui constituent l'appareil reproducteur de la plante sont groupées en inflorescences de type épi (figure 5). Ce dernier est constitué d'un axe appelé le rachis sur lequel sont fixés les épillets (Belaid, 1996). Cette plante est monoïque à fleurs parfaites (Cook et *al.* 1991). Elle se reproduit par voie sexuée et par l'autofécondation (espèce autogame) (Soltner, 1999). À maturité, le grain de blé est un caryopse ou fruit sec indéhiscent dont les parois sont soudées à celles de la graine (Belaid, 1996 ; Soltner, 2005).



**Figure 5** Fleurs et graine (caryopse) de blé. (D) Epi composé de plusieurs épillets possédants plusieurs fleurs ; (E) Une fleur de blé ; (F) Epi avec grains matures (caryopse). (Anonyme 2).

### **2.1.5 - Cycle de développement**

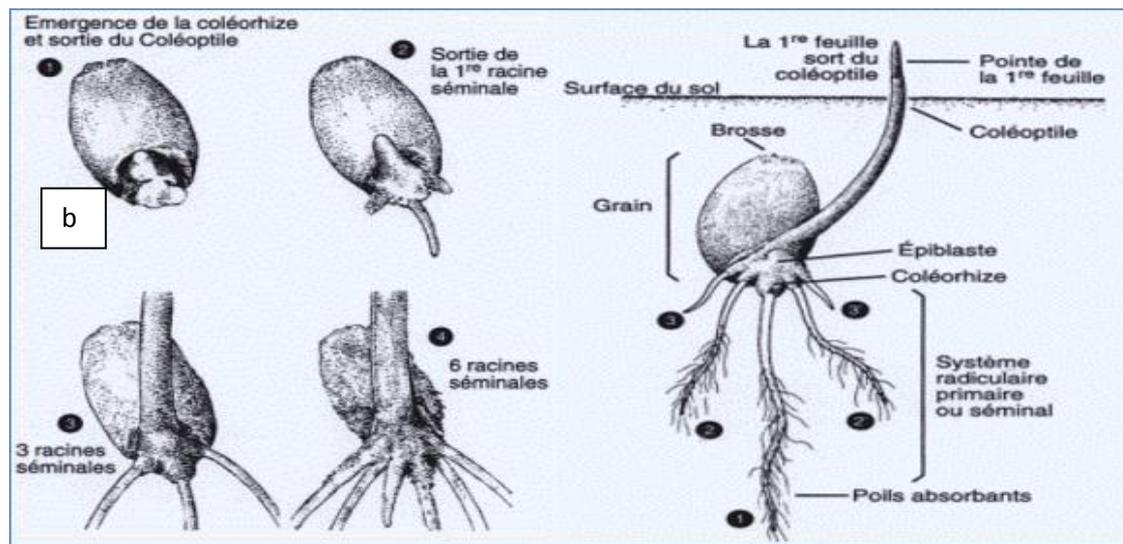
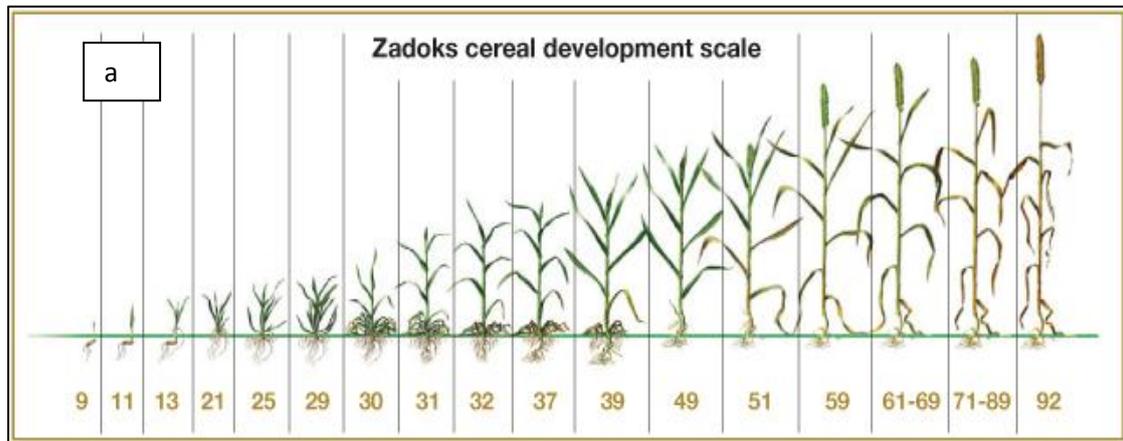
De graine à graine, le cycle biologique du blé se divise en trois périodes successives : la période végétative, reproductrice et de maturation de grain (Hamadache, 2013). Ces périodes sont marquées par des stades repères. Selon Soltner (2005), différentes échelles de notation ont été développées, celle de Feekes (1954), Zadoks (1974) (figure 6a), et Jonard (1952). Elles sont basées sur l'évolution de l'aspect externe ou sur les modifications internes des organes producteurs (Soltner, 2005).

Pendant la période végétative la plante produit des feuilles et des racines. Cette période s'étend de la germination à l'ébauche de l'épi (Bozzini, 1988). La germination du grain de blé commence quand il a absorbé environ 25% de son poids d'eau. La racine principale, couverte d'une légère enveloppe ou coléorhize, apparaît de même que la coléoptile recouvrant la gemmule, il perce la couche superficielle du sol, percé à son tour par la première feuille (Grandcourt et Prats, 1970). La levée est notée quand 50% des plantes sont sorties de la terre (Karou et *al.*, 1998) (figure 6b).

La phase de tallage s'amorce à partir de la quatrième feuille. La formation de la première talle se fait au stade 3 feuilles. La première talle primaire (maitre-brin) apparaît à l'aisselle de la première feuille du blé. La 2<sup>ème</sup> et la 3<sup>ème</sup> talle apparaissent à l'aisselle de la 2<sup>ème</sup> et la 3<sup>ème</sup> feuille (Hamadache, 2013). La fin tallage est celle de la fin de la période végétative, elle marque le début de la phase reproductive, conditionnée par la photopériode et la vernalisation qui autorisent l'élongation des entre-nœuds (Gate, 1995).

La Période reproductrice comprend la formation et la croissance de l'épi (Grandcourt et Prats, 1970). Elle est caractérisée essentiellement par le passage de l'apex ou bourgeon terminal de la période végétative à une ébauche d'inflorescence (ébauche épi). Elle débute au cours du tallage et compte trois stades : la formation de l'ébauche épi, l'initiation florale (montaison-gonflement) et la méiose – fécondation (Hubert, 1998 ; Soltner, 2005). Le cycle de développement de blé s'achève par la période de maturité de grain qui correspond à l'accumulation des hydrates de carbone et de l'azote dans le grain (Gallais et Bannerot, 1992).

Le grain passe par trois stades consécutifs : laiteux, pâteux et grain mûr. Entre les stades laiteux et pâteux, la quantité d'eau contenue dans le grain est stable ; c'est le palier hydrique, phase critique du remplissage du grain, où un dessèchement prématuré de la plante peut bloquer la migration des réserves et provoquer un "échaudage" du grain (Robert *et al.*, 1993).



**Figure 6** Stades de développement du blé, (b) Phase de semis-levée. Boyeldieu, 1997 ; (a) Échelle de Zadoks décrivant le cycle de développement du blé. (Anonyme 3).

### 2.1.6 -Pathologie de la plante de blé

Une maladie de plantes peut être définie par une succession de réponses invisibles et/ou visibles à un microorganisme phytopathogène ou à la modification d'un facteur environnemental (température, pH, humidité et disponibilité d'oxygène), qui provoquent des bouleversements de forme, de fonction ou de l'intégrité de la plante. Il existe, de ce fait, deux types de maladies de plantes, à savoir : des maladies non infectieuses (abiotiques) ; et des maladies infectieuses (biotiques) causées par des champignons, des bactéries, des plantes supérieures parasites, des virus et viroïdes, des nématodes et des protozoaires (Sarah *et al.*, 2008).

Dans ce cadre, le blé peut être attaqué par de nombreuses maladies à différents stades de son développement, ces attaques peuvent occasionner des pertes importantes lorsque les variétés utilisées sont sensibles et les conditions de l'environnement sont favorables à l'expansion des maladies (Ezzahiri, 2001). Les deux principales causes de maladies du blé sont les champignons et les virus, il peut également être touché par certaines bactérioses (Ruel, 2006). Les champignons parasites sont responsables de mycoses dénommées de façon trop générale « maladies cryptogamiques ».

Chez les végétaux, ces maladies se traduisent par des symptômes qui sont la résultante de l'action parasitaire du champignon et de la réaction de l'hôte (Bailly, 1980). Ils sont responsables de 70% des pathologies végétales. En effet, sur les 100.000 espèces fongiques décrites dans la littérature, 8000, sont des pathogènes de plantes (Anonyme 4). Les fontes de semis et les pourritures racinaires (piétins) font partie des plus importantes maladies du blé (Anonyme 5) (Tableau 2).

De nombreuses espèces de *Fusarium* sont associées à ces maladies chez la plupart des céréales cultivées actuellement (Devaux, 1995). Les deux maladies les plus communes provoquées par les *Fusaria* sur les céréales à paille sont la gale de l'épi (fusariose de l'épi) et la pourriture racinaire (Zillinsky, 1983).

**Tableau 2** Les principales maladies fongiques du blé en Algérie

Maladie/ Organes Attaqués	Nom de la maladie	Agents causaux	Transmission par semence	Sources
<b>Fontes de semis</b>	Fontes de semis ( <i>damping-off</i> )	<i>Stagonosporanodorum</i> (berk) E Castell & Germano	Oui	(Aouati et Douici-Khalfi, 2009) (Zillinsky,1983) (Weise,1987) (Simone et <i>al.</i> , 1989)
		<i>Fusarium spp</i>	Oui	
		<i>Microdochium nivale</i> (Fr) Samuels& I.C Hallett	Oui	
<b>Le pied du blé</b>	Piétin verse ( <i>eyespot</i> )	<i>Oculima culayalundae</i> (Wallwork& Spooner) Crous&W.Gams	-	(Zillinsky,1983) (Weise,1987) (Simone et <i>al.</i> , 1989) (Aouali et Douici-Khalfi, 2009) Smiley et <i>al.</i> , 2009)
	Piétin échaudage ( <i>take-all</i> )	<i>Gaeumannomyces</i> <i>graminis</i> (sacc) Arx et Olivier var <tritici td="" walker<=""> <td>-</td> </tritici>	-	
	Fusariose du pied ( <i>common</i> <i>foot rot</i> )	<i>Fusarium spp</i>  Cochliobolus sativus (S.Ito) &Kurib.) Drechsler ex Dastur <i>Microdochium nivale</i>	Oui  Oui  Oui	

## **2.2- Données sur la maladie de fusariose du pied du blé**

### **2.2.1 - Incidence économique de la fusariose**

Les espèces du genre *Fusarium* sont des pathogènes responsables des pertes, économiquement, importantes chez la majorité des cultures. Ces agents pathogènes peuvent causer la fonte de semis, la pourriture des racines et du collet (Pauvert, 1984). Ils attaquent tous les organes végétatifs et reproducteurs des plantes (Gargouri, 2003).

Les conséquences économiques dues à cette maladie sont considérables. À titre d'exemple, les pertes causées par la fusariose dans les états du Nord et du Centre des Etats-Unis entre 1998 et 2000 ont été évaluées à 2,7 milliards de dollars (Nganje et *al.*, 2002).

Le développement de la maladie peut occasionner des pertes de rendement par une diminution du poids de 1000 grains, mais aussi par une réduction du nombre de grains par épis et par une diminution du poids des épis (Arseniuk et *al.*, 1993).

En plus des pertes de production, certaines espèces de *Fusarium* présentent sur les céréales peuvent conduire à la contamination des grains par diverses mycotoxines qui causent en outre divers problèmes, d'ordre santé public et animale, liés à la présence des mycotoxines (Symons et *al.*, 2002).

La maladie pourriture racinaire est répandue dans tous le Maghreb et en Algérie (Sayoud et *al.*, 1999). L'importance des dégâts est intimement liée au type de culture, à la région et surtout aux conditions climatiques (El hadj Hammiche, 2013).

### **2.2.2- Le genre *Fusarium***

#### **2.2.2.1- Taxonomie et classification des espèces *Fusarium***

La première et véritable description du genre *Fusarium* a été réalisée par Link en 1809. Il tire son nom du latin *fuscus* (fuseau) en rapport à la forme de ses macroconidies fusiformes et cloisonnées. A l'heure actuelle nous utilisons principalement un classement dérivé de celui de Nelson *et al.* (1983) lesquels regroupent les *Fusarium* dans 15 sections (Tableau 3).

Ce classement a été amendé par Burgess *et al.* (1994), puis par d'autres chercheurs grâce à l'utilisation des techniques de biologie moléculaire (Leslie et Summerell, 2006).

Le genre *Fusarium* inclue des champignons imparfaits ou anamorphes dont la reproduction est asexuée et se fait par le biais des conidies de formes et d'organisation très variées (Jeunot, 2005). D'autres sont parfaits ou téléomorphes dont leur reproduction est sexuée (Nelson *et al.*, 1983). Les anamorphes sont des espèces du genre *Fusarium* qui appartient aux Champignons Anamorphiques et au groupe des Hyphomycètes (champignons à conidies produites sur des sporodochies). Les conidies des espèces de *Fusarium* sont généralement pluricellulaires et arquées en forme de croissant. La taille, la forme et le nombre de cellules varient avec l'espèce (Gargouri *et al.*, 2006).

Lorsque les téléomorphes existent, ils sont des espèces du genre *Gibberella* ou *Nectria* et appartiennent au phylum des *Ascomycota* (champignons produisant des ascospores) et au groupe des Pyrénomycètes (champignons dont les asques sont enveloppés dans des périthèces) (Nasraoui, 2002). L'espèce *Microdochium nivale*, anciennement *Fusarium nivale* appartient à la famille des *Tuberculariacées* (Glynn *et al.*, 2005). Cette espèce ne possède pas de phialides mais plutôt des cellules conidiogènes annellidiques (Keith et Seifert, 2001).

**Tableau 3** Les différentes sections et espèces des Fusaria selon les principaux systèmes taxonomiques (Jeunot, 2005).

Section de Wollenweber et Reiking (1935)	Espèces de Snyder et Hansen (1940)	Espèces de Messiaen et Cassini (1968)	Système de Nelson et al., (1983)	
			Sections	Espèces
<i>Submicrocera</i>				
<i>Pseudomicrocera</i>				
<i>Macroconia</i>	<i>F. epispaeria</i>	<i>F. epispaeriavargigas</i>		
<i>Eupionnotes</i>		<i>F. epispaeria</i> <i>F. epispaeriavardimerum</i>	<i>Eupionnotes</i>	<i>F. aquaeductuum</i> <i>F. merismoides /F. dimerum</i>
<i>Spicarioides</i>	<i>F. rigidiscula</i>	<i>F. rigidisculum</i>	<i>Spicarioides</i>	<i>F. decemcellular</i>
<i>Arachnites</i>	<i>F. nivale</i>	<i>F. nivale</i>	<i>Arachnites</i>	<i>F. nivale</i> ► <i>M. nivale</i>
<i>Sporotrichiella</i>	<i>F. tricinctum</i>	<i>F. tricinctum</i>	<i>Sporotrichiella</i>	<i>F. tricinctum /F. poae</i> <i>F. sporotrichioides</i> <i>F. chlamydosporum</i>
<i>Roseum</i>	<i>F. roseum</i>	<i>F. roseum</i> Var <i>avenaceum</i> <i>F. roseum</i> <i>arthrosporioides</i>	<i>Roseum</i>	<i>F. avenaceum</i> (dont <i>F. arthrosporioides</i> ) <i>F. graminum</i>
<i>Arthrosporiella</i>			<i>Arthrosporiella</i>	<i>F. semitectum</i> <i>/F. camptoceras</i>
<i>Gibbosum</i>		<i>F. roseum</i> var <i>gibbosum</i>	<i>Gibbosum</i>	<i>F. equiseti /F. acuminatum</i> <i>F. longipes</i>
<i>Discolor</i>		<i>F. roseum</i> Var <i>sambucinum</i> <i>F. roseum</i> var <i>graminearum</i> <i>F. roseum</i> var <i>culmorum</i>	<i>Discolor</i>	<i>F. heterosporum</i> <i>F. retuclatum</i> <i>/F. sambucinum</i> <i>F. graminearum</i> <i>F. culmorum</i> <i>F. crookwellense</i>
<i>Lateritium</i>	<i>F. lateritium</i>	<i>F. lateritium</i>	<i>Lateritium</i>	<i>F. lateritium</i> <i>F. udum</i>
<i>Liseola</i>	<i>F. moniliforme</i>	<i>F. moniliforme</i> <i>F. moniliforme</i>	<i>Liseola</i>	<i>F. moniliforme</i> <i>F. proliferatum</i> <i>F. subglutinans</i> <i>F. anthophilum</i>
<i>Elegans</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>Elegans</i>	<i>F. oxysporum</i>
<i>Martiella</i>	<i>F. solani</i>	<i>F. solani</i>	<i>Marteilla</i>	<i>F. solani</i>
<i>Ventricosum</i>			<i>Ventricosum</i>	

### 2.2.2.2-Identification des espèces du genre *Fusarium*

#### 2.2.2.2.1-Identification morphologique

Tous les principaux systèmes taxonomiques de *Fusarium* (Wollenweber et Reinking, 1935 ; Booth, 1971 ; Gerlach et Nirenberg, 1982 ; Nelson et *al.*, 1983) sont fondés sur des critères morphologiques et culturales. Le regroupement des espèces en sections a été basé sur les caractéristiques culturales (la croissance, la morphologie des cultures et la pigmentation).

La morphologie des macroconidies, sporodochies, microconidies, mycélium aérien, conidiophores et des chlamydospores étaient aussi utilisés pour regrouper les espèces en sections (Nelson et *al.*, 1983).

Une étude réalisée par Burgess et al. (1994) sur les espèces de *Fusarium* a montré que la morphologie de la colonie et sa couleur ne peuvent pas être utiles qu'en travaillant dans les conditions standards. L'identification morphologique des espèces du genre *Fusarium* nécessite la culture des isolats sur différents milieux de cultures, les plus utilisés sont les milieux PDA, CLA et SNA (Kammoun –Gargouri, 2010).

#### 2.2.2.2.2-Identification moléculaire

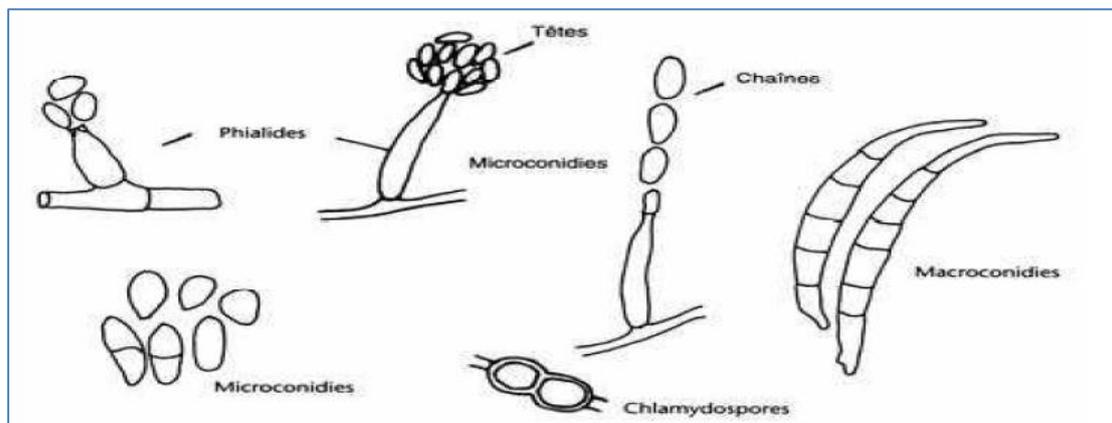
Compte tenu de la difficulté de l'identification morphologique, l'identification moléculaire est de plus en plus utilisée. Elle est généralement basée sur l'amplification, par PCR (Polymérase Chain Reaction), de régions spécifiques (Hsu et *al.*, 2003). Cette technique caractérise par sa simplicité, sa rapidité et son extrême sensibilité avec le potentiel théorique de détecter une seule molécule cible (Edwards et *al.*, 2002).

Une ou plusieurs couples d'amorces spécifiques ont été synthétisées pour l'identification des espèces *F. graminearum*, *F. pseudograminearum*, *F. culmorum* et *F. avenaceum*, *Microchium nivale*, et d'autres espèces de *Fusarium* (Kammoun – Gargouri, 2010). O'Donnell et *al.*, (1998) ont utilisé des séquences nucléotidiques de trois gènes le P-tubuline, ITS2 et mtSSU ADNr pour analyser 45 espèces de *Fusarium*, vingt-six espèces ont été résolus comme des espèces nouvelles.

### 2.2.2.3- Morphologie et caractéristiques physiologiques

La principale caractéristique morphologique des *Fusarium* est la présence de macroconidies en forme fusiformes, cloisonnées (figure 8) (Tabuc, 2007). Le thalle des *Fusarium* est à croissance, habituellement, rapide et de couleur variée (Jeunot, 2005), les conidiophores parfois très ramifiés formant sur le thalle des coussinets (sporodochies) et portent des masses de spores d'aspects grasseux, les phialides sont plus ou moins allongées et peuvent produire deux types de conidies: des macroconidies fusiformes, avec une cellule basale pédicellée, portant une sorte de talon et/ou des microconidies petites, généralement septées, piriformes, fusiformes ou ovoïdes (Botton et al., 1990 ; Jeunot, 2005). Les chlamydospores peuvent être présentes comme absentes, se différenciées soit par le mycélium ou par les conidies (Botton et al., 1990 ; Jeunot, 2005).

Au niveau de physiologie cellulaire, les *Fusarium* ont une croissance optimale à une température comprise entre 22 et 37°C. La majorité des moisissures se développent bien dans un milieu humide ( $A_w=0,85$ ), les *Fusarium* se développent dans un milieu très humide ( $A_w>0,9$ ), ce qui explique leur présence dans les champs et sur les plantes vivantes (Castegnaro et Pfohl-Leszkowicz, 2002). Les moisissures sont aérobies ; l'oxygène leur permet d'effectuer une croissance normale (Tabuc, 2007 ; Mahanna, 2002). Cependant, la plupart peuvent se développer même si l'oxygène est limité. Les moisissures se développent normalement à un pH compris entre 3 et 8. Généralement, une croissance fongique est optimale à un pH compris entre 5 et 6 (Tabuc, 2007).



**Figure 7** Caractères morphologiques des *Fusarium*. (Tabuc, 2007).

### 2.2.2.3-Production de mycotoxines

Outre les pertes quantitatives qu'ils occasionnent, les champignons du genre *Fusarium* produisent de mycotoxines dans les grains et les rendent impropres à la consommation (Jouany, 2007 ; Keller, 2011). Les mycotoxines sont des métabolites secondaires produits par certains champignons microscopiques (Prandini *et al.*, 2007). Elles peuvent être produites avant la récolte et donc retrouver dans les grains, pendant le transport et le stockage des céréales. Elles diffusent dans le substrat qu'elles contaminent même après la destruction du champignon responsable de leur production. Peu labiles, elles sont souvent actives à très faibles doses, thermostables, stables dans le temps et résistantes aux traitements biologiques et aux processus de transformation. Ainsi, lorsqu'elles sont présentes dans le grain, elles persistent tout au long de la chaîne alimentaire.

Les fusariotoxines (produites par les *Fusarium*) sont diverses : trichothécènes A et B (TCT A et B), zéaralénone (ZEA) et fumonisine (figure 8). Ce sont des inhibiteurs de synthèse protéique des cellules eucaryotes (Cumagunet *al.*, 2004) et de l'activation des gènes de défense de la plante (Wagacha et Muthomi, 2007). Par ce fait, ces mycotoxines sont responsables d'effets indésirables sur la santé humaine ou animale en cas de consommation d'aliments contaminés et peuvent ainsi provoquer une grande variabilité de symptômes comme des altérations du foie, des reins, du système nerveux central, des dérèglements hormonaux ou encore une réduction des défenses immunitaires (Prandini *et al.*, 2007).

La présence et la quantité de ces mycotoxines dans les céréales à la récolte constituent des critères déterminants de la qualité des grains. La communauté européenne a d'ailleurs baissé de nouveau les limites de tolérance en mycotoxines dans les céréales grâce à l'entrée en application en 2007 de la réglementation CE N° 1881/2006. Certaines espèces de *Fusarium* ne produisent pas de mycotoxine alors que d'autres, telle que *F. graminearum*, sont susceptibles de produire une ou plusieurs mycotoxines (Desjardins and Proctor, 2007 ; Quarta *et al.*, 2006).

<b>BLÉ</b>	
ESPÈCE	TOXINE
<i>F. graminearum</i>	TCT B, ZEA
<i>F. avenaceum</i>	MON, BEA, ENN
<i>F. poae</i>	TCT B (NIV)
<i>F. culmorum</i>	TCT B, ZEA
<i>F. tricinctum</i>	MON, BEA (TCT A)
<i>F. sambicum</i>	TCT A, ZEA, BEA
<i>F. sporotrichioides</i>	TCT A
<i>F. equiseti</i>	TCT A et B, ZEA
<i>F. acuminatum</i>	TCT A
<i>F. crookwellense</i>	TCT B, ZEA
<i>F. pseudograminearum</i>	TCT B
<i>F. heterosporum</i>	ZEA
<i>F. oxysporum</i>	FUM
<i>F. verticillioides</i>	FUM
<i>F. subglutinans</i>	MON, BEA, FUM
<i>F. langsethiae</i>	TCT A

**Figure 8** Importance des espèces de *Fusarium* sur le blé et leurs mycotoxines associée  
**TCT** : Trichothécène, **ZEA** : Zéaralénone, **MON** : Moniliformine, **BEA** : Beauvericine,  
**ENN** : Enniantine, **FUM** : Fumonisine. (Ballois, 2012).

### 2.2.3- Maladie de fusariose du pied (*Fusarium* foot rot)

#### 2.2.3.1- Agents responsables

La fusariose du pied est une maladie grave des grandes cultures, céréales et plantes fourragères, dans les régions arides et semi-arides. Le complexe fongique responsable de maladie de la pourriture de pied du blé inclue plusieurs espèces du genre *Fusarium* dont *Fusarium culmorum*, *F. graminearum* et *F. avenaceum* (El hadj Hammiche, 2013). Ce complexe fongique qui varie selon les régions est responsable de la pourriture des racines et du collet (Elyacoubi *et al.*, 2012). Cependant, les espèces du genre *Fusarium* les plus courantes causants les maladies ont *F. graminearum* et *F. culmorum* (Tony *et al.*, 2015).

#### 2.2.3.2- Symptômes de la maladie

Elle se traduit par la fonte de semis, les semences pourrissent ou les plantules meurent avant leur levée (figure 9a). Les plantules qui lèvent sont jaunes et rabougries (figure 9b) ; leur collet, leurs racines ou la base de leur tige présentent une pourriture allant du brun au brun rouge (figure 9c). La tige peut comporter des stries brunes ou rougeâtres. Les lésions sont de forme et de taille variables et n'ont pas de pourtours définis.

La maladie peut aussi frapper des plants plus vieux, ce qui cause une réduction du nombre ou de la taille des talles qui viennent à maturité prématurément et qui comportent des épis blancs et ratatinés. Les plants infectés sont moins vigoureux (Anonyme 4, 2017)



**Figure 9** Principaux symptômes de pied fusarien du blé (a) plantes mortes ; (b) dessèchement des jeunes plantes, (c) pourriture de pied sur la base de la tige du blé.( Tony et al., 2015).

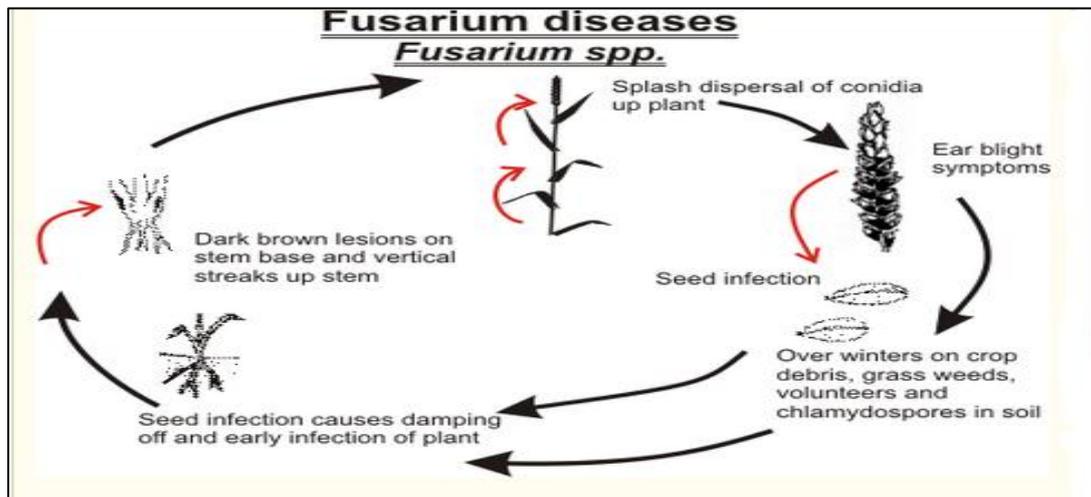
### 2.2.3.3-Implantation de la maladie

#### 2.2.3.3.1-Source d'inoculum

La fusariose est considérée comme une maladie polycyclique (figure 10), mais l'inoculum primaire est la source principale de la contamination pour l'apparition de la maladie (Trail, 2009). Les sources de l'inoculum qui peuvent être à l'origine du développement de fusariose du pied sont :

- Les conidies sur les résidus de culture en surface, en particulier, les tissus qui se dégradent plus difficilement comme les nœuds (Champeil *et al.*, 2004 ; Osborne Stein, 2007). La survie des champignons sur résidus peut atteindre plus de 2 ans après récolte ce qui les classe en « source à long terme ». L'inoculum primaire se trouve sur les résidus de culture antérieure infectés qui permettent, après la récolte, le développement de périthèces et donc d'ascospores. Les périthèces permettent au champignon de passer l'hiver sous cette forme de conservation. Lorsque des conditions favorables à l'ouverture du périthèce sont réunies, c'est-à-dire obscurité et humidité suffisante (Kang et Buchenauer, 2002), les pluies et les vents disséminent les spores qui se forment à la surface du sol et sur les résidus de culture.

Si l'automne est chaud, ce mode de contamination peut encore avoir de l'importance pour les espèces de genre *Fusarium*. Les précédents culturaux les plus à risque sont les cultures hôtes de la fusariose comme le maïs, le blé et l'orge (Caron, 1993).



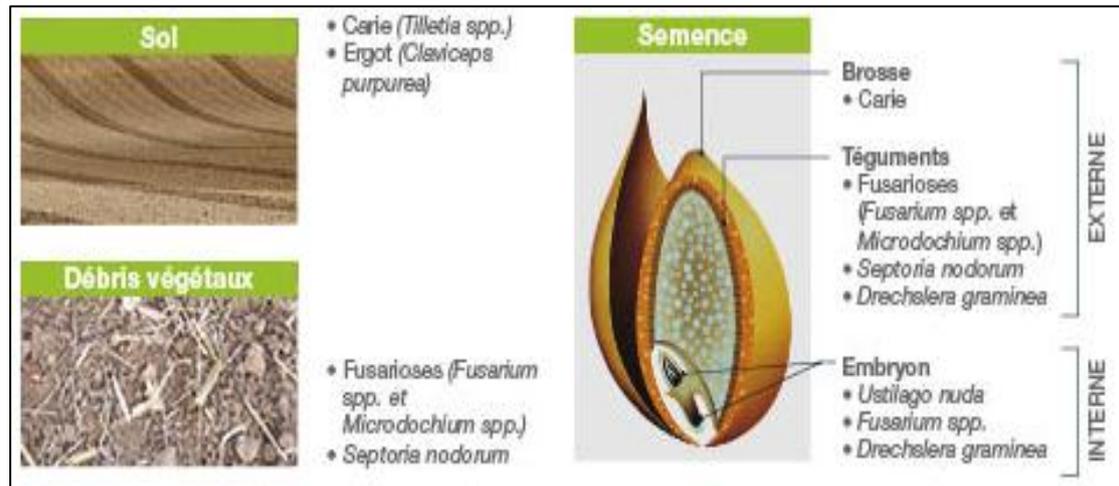
**Figure 10** Cycle de Fusariose des céréales. (Anonyme 6).

-Les chlamydospores dans le sol : Dans la partie plus profonde du sol, seules les chlamydospores peuvent subsister jusqu'à quatre ans; sous forme d'hyphes mycéliens ou de conidies. Ces spores ont une vie ralentie et une paroi épaisse leur permettant de résister longtemps à la sécheresse et l'asphyxie. Les attaques à partir de sol sont moins rapides qu'à partir des semences et se sont essentiellement le collet et la partie supérieure des racines qui sont atteintes (Caron, 1993). L'infection peut intervenir à différents stades de développement de la plante-hôte puisque la pénétration du champignon se fait par les zones dites sensibles (Kang et Buchenauer, 2002).

Dans ce cas de fusariose de pied, les pathogènes pénètrent par les coléoptiles, le rhizome ou les racines secondaires (Burgess *et al.*, 1981). C'est-à-dire les plantes peuvent devenir infectées par leurs bouts de racine, directement, par des blessures, ou au moment de la formation des racines latérales (Agrios, 1988).

- Les semences infectées : lors des infections sur épi, le mycélium attaque les grains à travers les glumes, pénètre dans le péricarpe, l'albumen, voire l'embryon (figure 11). Cette source d'inoculum permet à la maladie de se développer dès l'automne.

Pendant la germination, le mycélium reprend son activité et selon le degré de pénétration initial, il ralentit ou inhibe la germination, entraînant des manques à la levée et de la fonte des semis (Xu et Nicholson, 2009).



**Figure 11** Principales sources d'inoculum des maladies cryptogamiques, Anonyme 7.

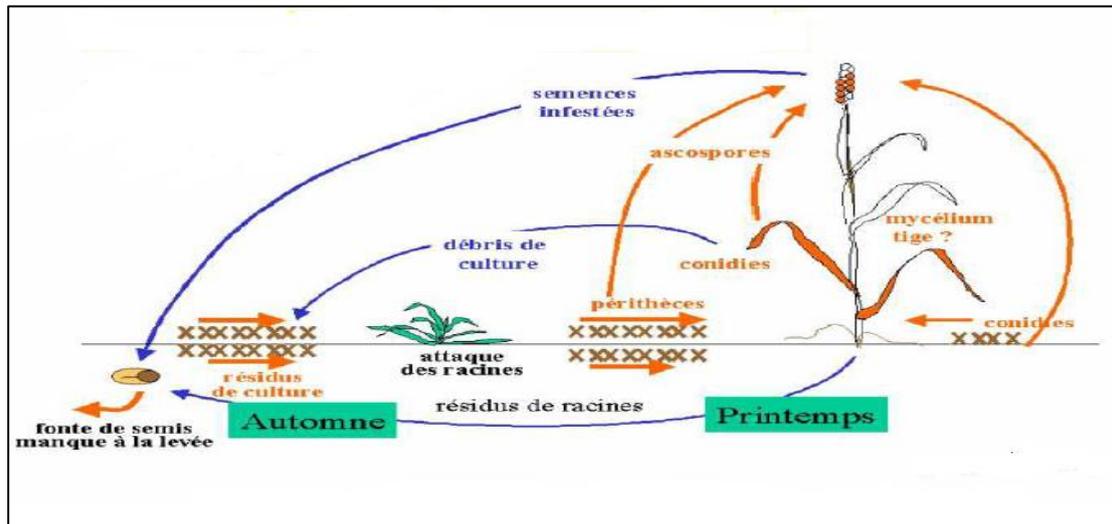
#### 2.2.3.3.2-Evolution de la maladie

En hiver, l'infection reste latente et ne se développe que si la plante se trouve dans les conditions de stress hydrique. Si les conditions sont trop sèches, la maladie va s'arrêter pour reprendre à la première pluie encore plus violemment que la sécheresse sera longue et profonde. Les alternances de sécheresses avec quelques pluies favorisent la propagation de la maladie (figure 12) (Osborne *et al.*, 2007 ; Caron, 1993). Chez les céréales d'automne, ces champignons envahissent le collet, les racines ou les gaines foliaires. À ce stade, ils peuvent provoquer la pourriture des semences et la fonte des semis (Anonyme 4).

Par ailleurs, le développement de la maladie entre les plantes est assuré par contact racinaire est se fait plus rapidement entre les plantes ayant le moins de thalles (Sayaud *et al.*, 1999).

Au printemps, les conditions climatiques et la densité des plantes sont les deux facteurs qui conditionnent la propagation de la maladie (Caron, 1993). Les sols humides à l'automne favorisent l'infection du plant, mais les sols secs et de fortes concentrations d'engrais azoté favorisent la progression de la maladie au printemps.

Dans le cas général, après l'infection par le parasite, les lésions continuent de s'étendre, donnant lieu à la pourriture du collet, de la tige et des racines (Anonyme 4). Les nœuds et les entrenœuds supérieurs sont rarement atteints (Caron, 1993).



**Figure 12** Evolution de la maladie de fusariose de blé. (Fusariose des blés © ITCF. Décembre 1999) (ITCF, Institut Technique des Céréales et des Fourrages, a été rebaptisé Arvalis Institut du végétal).

## 2.3-Les actinomycètes, agents de lutte biologique

### 2.3.1-Aperçu sur les approches de lutte contre la fusariose du blé

Différentes approches de lutte sont appliquées afin de combattre les champignons phytopathogènes du genre *Fusarium*. La lutte culturale à objectif préventif qui vise à limiter l'accroissement de taux de l'inoculum dans le sol et consiste à plusieurs pratiques culturales, parmi lesquelles :

- L'utilisation des semences saines (Caron, 2003).
- L'élimination des résidus de culture contaminés par incinération ou enfouissement profond (DillMacky *et al.*, 2000).
- La réalisation des rotations d'au moins deux ans en dehors des céréales (alterner avec les légumineuses), cela réduit la densité de l'inoculum (Gilbert et Tekauz, 2000).

Par ailleurs, le choix d'un cultivar peu sensible à la fusariose constitue un outil de la lutte génétique à l'égard des fusarioses du blé (Trembly *et al.*, 2012). Cependant, ce choix reste moins efficace en manque d'un génotype du blé présentant une résistance absolue à la fusariose (Mascher *et al.*, 2005).

Dans le même cadre, la lutte chimique utilise des pesticides (fongicides), prescrits par leurs fabricants comme les triazoles utilisés au moment de la floraison, limitent la fusariose sur l'épi des céréales et donc l'accumulation de toxines dans la plante (Anonyme 8).

Encore, pour l'ensemble des fongicides, une application homogénéisée, dans le temps approprié est indispensable pour la réussite de traitement (Yuen, 2007). Quant à la lutte biologique, plusieurs microorganismes ont montré leur efficacité dans la protection du blé contre la fusariose. Les bactéries des genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Lysobacter* sont les agents les plus étudiés (Yuen *et al.*, 2007). Des champignons des genres *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, *Cryptococcus* et *Trichoderma* peuvent réduire l'inoculum de nombreuses espèces du genre *Fusarium* notamment *F.graminearum* (Palazzini *et al.*, 2007).

### **2.3.2-La lutte biologique, une approche de lutte indépendante et /ou alternative de la lutte intégrée**

En générale, plusieurs définitions de la lutte biologique ont été proposées mais aucune n'est adoptée par tous les acteurs concernés. La lutte biologique est définie comme « l'utilisation d'organismes vivants, ou des produits de leurs gènes, pour limiter ou supprimer les activités et les populations de pathogènes » (Fravel, 2005 ; Paulitz et Bélanger, 2001).

En fait, elle peut se faire par utilisation des microorganismes entomopathogènes ou pathogènes de mauvaises herbes ou encore antagonistes d'autres organismes phytopathogènes. Ces microorganismes jouent un rôle important dans la protection de la plante (Benizri et *al.*, 2001), au titre d'exemples, les actinomycètes utilisés comme antagonistes naturels de plusieurs champignons phytopathogènes tels le cas de *Fusarium oxysporum* (Rakotoarimanga et *al.*, 2014).

L'application des agents de lutte biologique sur les cultures présente plusieurs avantages, les plus importants sont l'absence d'effets secondaires nocifs (absence de résidus chimiques, de pollution chimique) et de danger pour l'environnement ou sur les cultures, car les biopesticides sont spécifiques à l'espèce-cible (Meyer, 2002).

De plus, les biopesticides sont souvent efficaces en faible quantité et leurs activités protectrices peuvent relever de mécanismes multiples déclenchant rarement ainsi des phénomènes de résistance chez le pathogène grâce à une faible pression de sélection (Fravel, 2005 ; Thakore, 2006). En outre, les biopesticides ont la capacité d'être formulés sous forme liquide pour présenter les mêmes facilités d'utilisation qu'un insecticide chimique (Lacey et *al.*, 1986).

Tenant compte, ces avantages et en dehors, des dépenses en temps, efforts humains et financiers importants (Meyer, 2002), la lutte biologique se révèle parfois, insuffisante pour obtenir une bonne protection des plantes. Il est nécessaire de compléter son efficacité par l'utilisation de traitements chimiques : on pratique ainsi la lutte intégrée qui consiste, donc, à mettre en œuvre différents moyens et produits pour obtenir une protection satisfaisante des plantes.

En effet, la lutte biologique et la lutte intégrée sont développées dans différentes situations, à titre d'exemple, la substitution des produits phytosanitaires à effet toxique par des préparations à base de bactéries, champignons ou virus entomopathogènes, dans la lutte intégrée contre les infections des insectes (Anonyme 9).

### 2.3.3- Action des microorganismes de lutte biologique

#### 2.3.3.1-La rhizosphère : lieu d'interaction plantes-microorganismes

##### « Environnement des maladies telluriques »

Le terme rhizosphère fut employé pour la première fois en 1904 par Hiltner pour désigner la partie du sol soumise à l'influence de la racine des légumineuses (Lynch, 1990). Actuellement, la rhizosphère est définie comme étant la zone du sol dans laquelle la microflore tellurique est soumise à l'influence des racines (Campbell et al., 1990 ; Westover, 1997). Généralement, la rhizosphère comprend trois parties :

- La rhizosphère éloignée qui est la fine couche du sol adhérent aux racines ;
- Le rhizoplan qui est la surface même de la racine ;
- La zone rhizosphérique intra-racinaire (endorhizosphère) qui correspond aux tissus corticaux des racines âgées (Dommeregues et Mangenot, 1970) (figure 13).

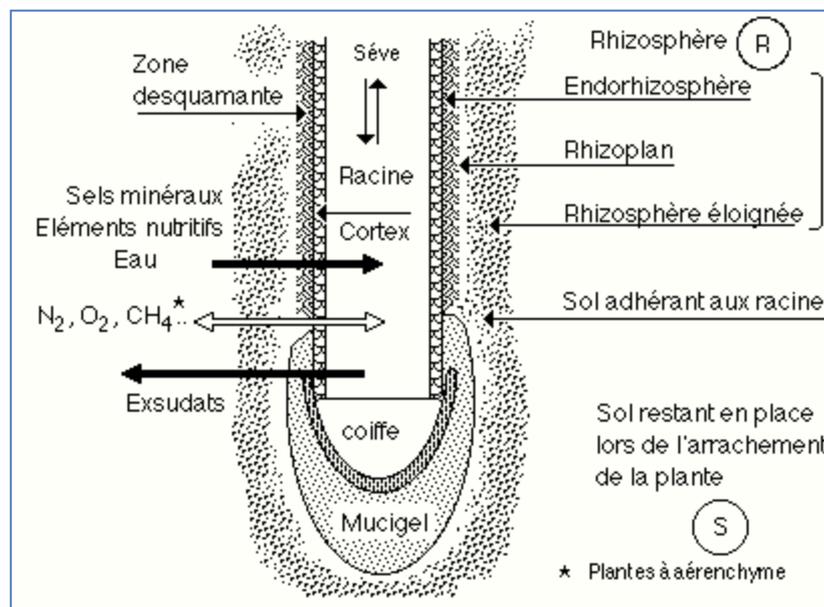


Figure 13 Structure de la rhizosphère. (Chaillou, 2008.)

De nombreuses recherches ont montré que la densité, la diversité et l'activité des microorganismes sont fortement élevées à proximité de la racine étant donné que c'est dans cette zone que se manifeste l'effet rhizosphère (Hamdan, 2010).

Parmi les microorganismes couramment rencontrés dans la rhizosphère se trouvent les bactéries dont la densité peut aller jusqu'à  $10^9$  par gramme de sol (Balasubramanian et Rangaswami, 1978), les champignons microscopiques environ  $10^5$  par gramme de sol (Morel, 1996 ; Soufiane, 1998), les virus, les algues, les protozoaires, et un groupe très particulier qui est constitué d'actinomycètes ou bactéries filamenteuses dont la densité peut atteindre jusqu'à  $10^7$  par gramme de sol (Iwai et Takashi, 1992; Soufiane, 1998).

Le rôle bénéfique le plus connu de ces microorganismes est l'amélioration de la croissance des plantes par divers mécanismes, la protection de la plante contre les agents pathogènes et l'amélioration de la propriété biotique et abiotique du sol (Schardl *et al.*, 2004 ; Stefan *et al.*, 2012). Il existe néanmoins des microorganismes rhizosphériques qui ne sont pas bénéfiques pour les plantes ou pour les autres organismes vivants dans le sol (Sharma, 2014). Ces agents pathogènes sont également capables de modifier les propriétés biologiques du sol et influencent ainsi négativement le développement des plantes.

### **2.3.3.2- Mécanismes d'action des microorganismes**

Les mécanismes par lesquels les agents de lutte biologique peuvent prodiguer leur effet protecteur sont multiples et peuvent varier pour un microorganisme donné en fonction du pathosystème (couple hôte végétal/pathogène) (Van Den Broek *et al.*, 2003 ; Bloemberg *et al.*, 2001). On peut distinguer, des effets directs sur l'agent pathogène, des effets sur la pathogénèse et des effets indirects par l'intermédiaire de la plante (figure 13).

Parmi les effets directs sur l'agent pathogène l'antibiose est probablement le plus connu, il s'agit du mécanisme par lequel une souche antagoniste inhibe le développement d'une souche cible grâce à la production de métabolites secondaire toxique.

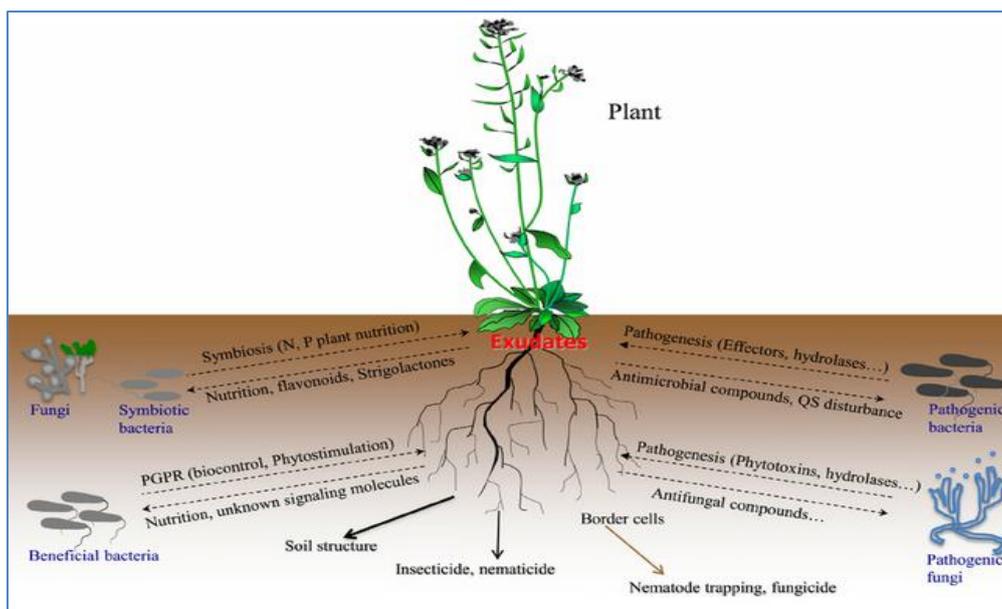
Les substances toxiques sont susceptibles de diffuser dans le milieu. Qui signifie que l'effet d'un microorganisme agissant par antibiose ne nécessite pas la juxtaposition des deux microorganismes (Alabouvette et Cordier, 2012).

Un autre mode d'action d'antagonisme directe des agents de protection biologique, le phénomène d'hyperparasitisme est le seul qui soit propre aux agents microbiens. Il est associé le plus souvent à la production d'enzymes capables de dégrader les parois cellulaires des agents pathogènes (chitinases, bêta1-3 glucanase,) (De Boer *et al.*, 1998 ; Fernandes, 2006).

Dans le même contexte, le troisième mode d'action est la compétition pour le carbone, l'azote et autres facteurs de croissance en même temps que la complétion pour l'espace et les sites spécifiques d'infection peuvent être utilisées par les agents de lutte biologiques contre les agents phytopathogènes (Vinal *et al.*, 2008). L'efficacité liée à un tel mécanisme repose sur l'exclusion des agents pathogènes, en particuliers ceux dont les spores ont besoin de source nutritive exogènes pour germer (Elad, 2000).

Par exemple, la compétition pour le fer entre la bactérie auxiliaire *Pseudomonas* spp. et des bactéries ou champignons pathogènes (Fernandes, 2006). Outre ces mécanismes d'antagonisme direct, certaines souches microbiennes influencent avantageusement l'hôte végétal par la stimulation directe de la croissance (fixation de l'azote, solubilisation de phosphate, et production des phytohormones) ou/et en le protégeant contre l'infection par des phytopathogènes.

En raison de l'effet global qu'elles procurent, ces souches sont désignées également sous le terme de rhizobactéries promotrices de la croissance des plantes ou Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPRs) (Mercado-Blanco et Bakker, 2007). Ce type de mécanisme est connu chez certains *Trichoderma*, *Pytiumoligandrum* et deux bactéries, *Pseudomonas* et *Bacillus* spp. (El-Tarabily *et al.*, 1997 ; Fernandes, 2006).



**Figure 14** Complexe d'interactions au niveau de la rhizosphère. (Anonyme 10).

## 2.3.4- Les actinomycètes

### 2.3.4.1- Définition et caractéristiques

D'un point de vue étymologique, le mot Actinomycète provient des mots grecs « **Aktis** » qui veut dire rayon et « **mykes** » qui signifie champignon. Les actinomycètes ont été considérés comme étant un groupe intermédiaire entre bactéries et champignons du fait qu'ils possèdent une structure procaryote, mais que leur cycle biologique est semblable à celui de certains champignons (Waksman, 1959).

Les actinomycètes sont des bactéries hétérotrophes, possédant une coloration gram positif, généralement filamenteux, sporulant (Larpent et Larpent Gourgaud, 1997), aérobies mais certaines sont facultatifs ou obligatoirement anaérobies (Ouhdouch, 2003). La majorité des actinomycètes connus sont mésophiles, mais il existe des individus capables de se multiplier à des températures avoisinant les 50°C, appelés les « Thermoactinomyces ». Leur ADN est riche en Guanine et en Cytosine (taux de GC est supérieur à 55%). Parmi les actinomycètes, le genre *Streptomyces* est le plus dominant, les non-*Streptomyces* sont appelés actinomycètes (Omura, 1992). Ce groupe de bactéries ayant une croissance lente par rapport aux autres bactéries, variables allant de quelques jours à quelques semaines, une croissance relative aux espèces et aux conditions de culture (De Jage *et al.*, 2009 ; Saurav et Kannabiran, 2010).

Les actinomycètes sont des organismes ubiquitaires ; largement répertoriés dans les sols de différente nature (humus, salissures) (Barakate *et al.*, 2002, Oskay *et al.*, 2004), dans les eaux douces et les sédiments de fonds fluviaux ou lacustres où elles jouent un rôle important dans la décomposition des débris végétaux et donnent à l'eau son odeur de terre et sa faveur (Lechevalier, 1981 ; Kang *et al.*, 2010).

#### 2.3.4.2-Taxonomie

La taxonomie des actinobactéries est basée sur un ensemble de caractères morphologiques, physiologiques, chimiotaxonomiques et génomiques (Goodfellow *et al.*, 2012). En 1997, Stackebrandt *et al.*, proposèrent une nouvelle classification hiérarchique des Actinomycètes reposant uniquement sur l'analyse des séquences de l'ARNr 16S et des gènes codant pour l'ARNr 16S.

Cette nouvelle classe définit un ensemble de souches présentant plus de 80% de similitude dans la séquence de l'ARNr 16S ou de l'ADNr 16S. Cette proposition ne change pas les descriptions courantes des espèces et des genres à partir des caractéristiques morphologiques, chimiotaxonomiques ou physiologiques. Elle a été vérifiée pendant ces 20 dernières années, et il s'est avéré qu'elle est en accord avec le regroupement phylogénétique basé sur l'ADNr/ARNr 16S.

Les actinobactéries sont classées dans le Domaine des *Bacteria* ou *Eubacteria*, le Phylum des *Actinobacteria*, la Classe des *Actinobacteria* et la Sous-Classe des *Actinobacteridae* (Euzéby, 2015). Ils sont rattachés au phylum des actinobactéries comprend maintenant cinq classes, 21 ordres et de nombreuses familles (Tableau 4). Les genres sont caractérisés par une diversité morphologique importante, allant du simple cocci (ex: *Micrococcus*) à des formes mycéliennes qui peuvent être fragmentées ou non.

**Tableau 4** Classes, ordres et familles du phylum des Actinobactéries (Goodfellow *et al.*, 2012).

<b>Classes</b>	<b>Ordres</b>	<b>Familles</b>
<b>Actinobacteria</b>	<i>Actinomycetales</i>	<i>Actinomycetaceae</i>
	<i>Actinopolysporales</i>	<i>Actinopolysporaceae</i>
	<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>
	<i>Catenulisporales</i>	<i>Catenulisporaceae, Actinospicaceae</i>
	<i>Corynebacteriales</i>	<i>Corynebacteriaceae, Dietziaceae, Mycobacteriaceae, Nocardiaceae, Segniliparaceae, Tsukamerullaceae</i>
	<i>Frankiales</i>	<i>Frankiaceae, Acidothermaceae, Cryptosporangiaceae, Geodermatophilaceae, Nokamurellaceae</i>
	<i>Glycomycetales</i>	<i>Glycomycetaceae</i>
	<i>Jiangellales</i>	<i>Jiangellaceae</i>
	<i>Kineosporales</i>	<i>Kineosporaceae</i>
	<i>Micrococcales</i>	<i>Micrococcaceae, Beutenbergiaceae, Bogoriellaceae, Brevibacteriaceae, Cellulomonadaceae, Dermabacteriaceae, Dermacoccaceae, Dermatophilaceae, Intrasporangiaceae, Jonesiaceae, Micobacteriaceae, Promicomonosporaceae, Rarobacteriaceae, Ruaniaceae</i>
	<i>Micromonosporales</i>	<i>Micromonosporaceae</i>
	<i>Propionibacteriales</i>	<i>Propionibacteriaceae, Nocardidoidaceae</i>
	<i>Pseudonocardiales</i>	<i>Pseudonocardaceae</i>
	<i>Streptomycetales</i>	<i>Streptomycetaceae</i>
<i>Streptosporangiales</i>	<i>Streptosporangiaceae, Nocardiopecaceae, Thermomonosporaceae</i>	
<b>Acidimicrobiia</b>	<i>Acidimicrobiales</i>	<i>Actinomicrobiaceae</i>
<b>Nitriliruptoria</b>	<i>Nitriliruptorales</i>	<i>Nitriliruptoraceae</i>
	<i>Euzebyales</i>	<i>Euzebyaceae</i>
<b>Rubrobacteria</b>	<i>Rubrobacterales</i>	<i>Rubrobacteraceae</i>
<b>Thermophilia</b>	<i>Thermophilales</i>	<i>Thermophilaceae</i>
	<i>Solirubrobacterales</i>	<i>Solirubrobacteraceae, Conexibacteraceae, Patulibacteraceae</i>

#### **2.3.4.3- Biologie de développement**

Les actinomycètes se caractérisent par un cycle biologique semblable à celui de certains Eucaryotes. Sur un milieu gélosé, la plupart des actinomycètes se développent, en formant, une masse d'hyphes mycéliens répartis en deux couches distinctes : le mycélium aérien et le mycélium du substrat (figure 15). Selon les cas, des spores peuvent se former sur le mycélium aérien ou sur le mycélium du substrat ou les deux à la fois, qui, permettant la propagation de la souche.

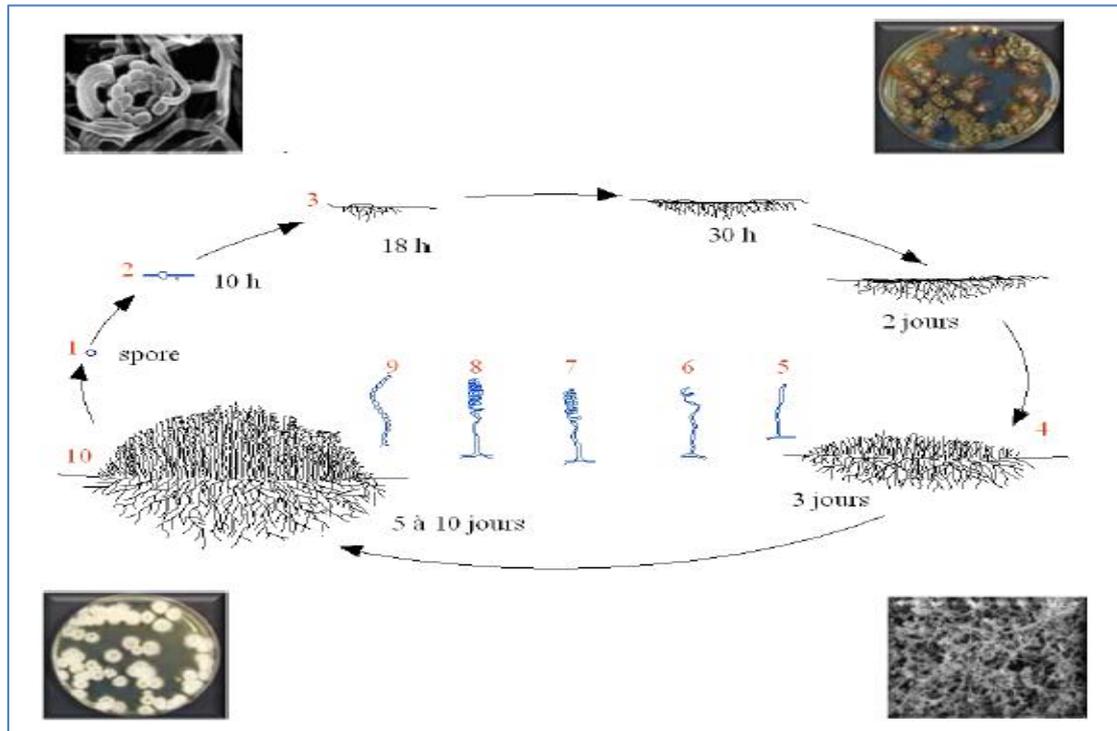
Le mycélium du substrat, ou encore, mycélium végétatif, se développe à partir du tube de germination issu de la spore primaire à la surface et dans le milieu de culture gélosé. Il est ancré dans le support solide où il puise ses nutriments (Theilleux, 1993). Le mycélium du substrat a une croissance apicale. Le diamètre et la longueur des hyphes varient considérablement selon les espèces (Kalakoutskii et Agre, 1976).

Le mycélium aérien ou mycélium secondaire, est formé d'hyphes dressés sur le mycélium du substrat (figure 15). Ces hyphes aériens sont en général pigmentés et enfermés dans une enveloppe externe hydrophobe. Ils sont plus épais et moins ramifiés que les hyphes du substrat (Chater et Merrick, 1979).

En revanche, deux types de sporulation sont distingués chez les Actinomycètes : le premier est réalisé par le processus de fragmentation et l'autre par le processus de segmentation (Waksman, 1950 ; Ensign, 1978). La sporulation par fragmentation commence depuis la partie apicale de l'hyphe aérien jusqu'à sa base alors que la segmentation consiste en une simple dispersion du sporophore par contraction des parois (Prescott *et al.*, 2003). La plupart de ces spores (exospores) ne sont pas particulièrement résistantes à la chaleur, mais supportent bien la dessiccation, et ont, de ce fait, une importante faculté adaptative (Prescott *et al.*, 2007).

Les spores issues de la fragmentation sont produites uniquement par le mycélium aérien, alors que le mycélium végétatif donne naissance à des chlamydospores ou arthrospores (Prescott *et al.*, 2003). En revanche, en milieu liquide, les cellules se développent uniquement sous forme de mycélium végétatif (Hodgson, 1992). Les colonies formées par les actinomycètes sur milieu solide sont très particulières.

Elles résultent de l'accumulation des hyphes ramifiés et non pas de cellules comme le cas des bactéries non filamenteuses. L'aspect des colonies peut être compact, sec, lisse, rugueux à contours lisse ou échancrés. Elles sont souvent pigmentées (blanc, crème, jaune, violet, rose, gris) (Perry *et al.*, 2004) (figure 15).



**Figure 15** Cycle de développement de *Streptomyces* sur milieu solide. (Hopwood *et al.*, 1985, Jakimowicz, 2007).

#### 2.3.4.4- Production des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont définis comme des composés de faible poids moléculaire, non essentiels à la croissance du microorganisme producteur (Demain, 1995). En effet, l'une des propriétés les plus significatives des actinomycètes est leur aptitude à synthétiser de nombreux métabolites secondaires bioactives, qui sont dotés d'une diversité structurale très vaste dont la plupart d'entre eux sont doués d'un potentiel d'activité biologique important (Higashide, 1984 ; Vining, 1992).

Plusieurs études ont été réalisées sur les actinomycètes du sol et plus précisément sur le genre *Streptomyces* ont montré un pouvoir protecteur intéressant vis-à-vis d'agents pathogènes fongiques telluriques (Bolton, 1978 et Broadbent *et al.*, 1971 ; Filnow et Lockwood ; Hussain *et al.*, Zitouni *et al.*, 2005).

Ce genre est beaucoup plus présent dans la production par fermentation des composés pharmaceutiques actifs tels les antifongiques, les antibactériens (tableau 5), les antiviraux, les anticancéreux.

L'activité antagoniste de *Streptomyces* vis-à-vis des pathogènes fongiques est généralement liée à la production de composés antifongiques extracellulaires et des enzymes hydrolytiques (Prapagdee *et al.*, 2008), d'autres genres appartenant aux actinomycètes sont également des producteurs de molécules possédant des activités antifongiques (Trujillo, 1997). Les ramicidines sont par exemple des antifongiques produits par une souche d'*Actinomadura bisca* (Tomita *et al.*, 1990).

A ces antifongiques s'ajoutent d'autres métabolites à grande potentialité industrielle entre autres, les enzymes hydrolytiques y compris des nucléases, des lipases et des enzymes hydrolysant les polysaccharides, les nucléotides et certaines vitamines. En revanche, les actinomycètes sont absents dans trois secteurs : la production d'acides organiques, de polysaccharides et d'alcaloïdes (Conn, 2005).

**Tableau 5** Quelques exemples de métabolites secondaires produits par les actinomycètes

Actinomycètes producteurs	Antibiotiques	Références
<b>1/ Les agents antibactériens :</b>		
<i>Micromonospora sp</i>	Clostrymycine	Takahashi <i>et al.</i> , 2003
<i>Streptomyces griseus</i>	Candicidine	Jmenez <i>et al.</i> , 2009
<i>Streptomyces lydicus</i>	Streptolydigine	Liu <i>et al.</i> , 2007
<i>Streptomyces lindensis</i>	Rétamycine	Inoue <i>et al.</i> , 2007
<i>Marinispora sp.</i>	Marinomycine	Sturdiková et Sturdik, 2009
<i>Verrucosipora sp.</i>	Abyssomycine	Sturdiková et Sturdik, 2009
<b>2/ Les agents antifongiques :</b>		
<i>Streptomyces griseochromogenes</i>	Blasticidine	Fukunagak <i>et al.</i> , 2008
<i>Streptomyces humidus</i>	Phénylacétate	Hwang <i>et al.</i> , 2001
<i>Nocardia transvalensis</i>	Transvalencine	Mukai <i>et al.</i> , 2006
<i>Streptomyces nodosus</i>	Amphotéricine B	Carle <i>et al.</i> , 2003

#### 2.3.4.5- *L'interaction plante-actinomycètes*

En lutte biologique l'efficacité d'une souche donnée est basée sur son potentiel à coloniser efficacement le système racinaire et la couche environnante du sol (rhizosphère). Cela signifie qu'elle doit être dominante par rapport aux autres populations microbiennes et qu'elle persiste sous les faibles ressources nutritionnelles disponibles dans le micro environnement (Van Den Broek *et al.*, 2003 ; Bloemberg *et al.*, 2001).

En effet, 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'antagonisme, comme l'antibiose, la compétition nutritionnelle ou spatiale ou encore le parasitisme (Errakhi, 2008). Ils ont la capacité de parasiter des champignons en produisant des enzymes qui leur permettent de dégrader la paroi des cellules fongiques (Mahadevan et Crawford, 1997).

Le parasitisme des mycéliums de champignons par les Actinomycètes a été décrit dans plusieurs travaux (El-Tarabily et Sivasithampar, 2006 ; Errakhi *et al.*, 2007 ; Jain et Jain, 2007).

En revanche, certaines espèces des actinomycètes sont symbiotiques des plantes supérieures. Ces bactéries endophytes forment des associations appelées actinorhizes permettant la fixation d'azote. Le genre *Frankia* établit une association symbiotique avec plusieurs phanérogames. L'exemple le plus connu est l'aulne (*Alnus*) où ces Actinomycètes forment au niveau des racines, des nodules où l'azote gazeux est fixé grâce à une nitrogénase (Baker, 1988).

# Matériel et Méthodes

### 3-Matériel et méthodes

#### 3.1-Provenance et origine des souches fongiques

Les champignons qui ont servi comme agents phytopathogènes dans cette étude sont : *Fusarium culmorum* (Fus1) ; a été fourni aimablement par Dr. Sebihi, (2015) ; *Fusarium sp.* a été isolé à partir d'une culture de blé dur lors du stade de deux feuilles présentant des symptômes de la fusariose, réalisée au laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM).

##### 3.1.1- Réalisation de la culture du blé

Les graines de blé dur ont été désinfectées dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5% où elles y ont été immergées pendant 3 minutes afin d'éliminer toute trace de contamination superficielle préexistée, ensuite, rincées 6 fois avec de l'eau distillée stérile.

Les graines désinfectées ont été transférées dans des boites de Pétri contenant de papier wattman (N°4) imbibé avec 2 ml de l'eau distillée stérile à raison de six graines par boite, ensuite, les boites ont été incubées à 30°C pendant 3 jours. Les graines germées ont été transférées dans des pots qui contiennent du sol non stérile.

##### 3.1.2- Isolement du pathogène

L'isolement a été effectué à partir des racines contaminées. Un rinçage des racines avec de l'eau distillée stérile a été appliqué suivi d'une désinfection avec de l'hypochlorite de sodium (Eau de javel) de manière à éliminer la contamination superficielle, après un autre rinçage à l'eau distillée stérile, les racines ont été coupées en fragments de 1 à 2 cm puis déposées dans de boites de Pétri renfermant le milieu PDA à raison de 2 à 3 fragments par boite. Les boites ont été, ensuite, incubées à une température de 28°C pendant une semaine (Samahi,2008).

L'isolat purifié, a été ensemencé dans des tubes contenant le milieu PDA incliné (Aannexe 1), après développement de 48h, les tubes ont été stockés à 4°C (Botton et al ., 1990 ; Davet et Rouxel, 1997).

### **3.1.3-Identification de l' isolat**

L'identification se base sur les caractères macroscopiques et microscopiques.

#### **3.1.3.1- Etude Macroscopique**

Cette étude se fait à l'œil nu, en observant les caractères suivants : la vitesse de croissance, la couleur et l'aspect de la colonie fongique.

#### **3.1.3.2- Etude Microscopique**

L'identification microscopique fait appel aux caractères morphologiques des hyphes et des structures de reproduction.

- Les hyphes : présence ou non de cloisons, diamètre approximatif, structures particulières ;
- Structure et disposition des spores : couleur, forme, cloisons et taille.

L'observation a été réalisée selon la technique de drapeau, qui consiste à prélever un peu de culture avec du ruban adhésif et le déposer sur une lame contenant une goutte de bleu coton. Après 5 minutes, l'observation a été réalisée à l'objectif 40.

### **3.2- Isolement d'antagonistes bactériens**

Les isolats utilisés dans notre travail ont été isolés à partir d'un sol semi-aride environnant de la sebkha d'Ezzemoul localisée dans la région d'Ain M'Lila (Wilaya d'Oum El Bouaghi) et vise préférentiellement des actinomycètes. Le sol a été prélevé à partir de la Rhizosphère de plante près du chotte (figure 16).

Après avoir écarté le sol superficiel avec une spatule stérile, une profondeur de 15 à 20 centimètres a été atteinte (Pochon et Taradieux, 1962). Environ 200 grammes du sol ont été prélevés et mis dans des sachets stériles et transportés au laboratoire.



**Figure 16** Site d'échantillonnage (Sebkha Ain M'Lila)

### **3.2.1- Suspension et dilutions**

Un gramme du sol a été introduit dans 9 ml d'eau physiologique stérile (NaCl 9 ‰), puis agité rigoureusement au vortex pendant 4 à 5 minutes. Cette suspension a été considérée comme étant une solution mère. À partir de la solution mère, une série de dilutions décimales a été réalisée jusqu'à  $10^{-6}$ .

Des volumes de 100  $\mu$ l (0.1ml) de chaque dilution ont été déposés et étalés sur la surface des boîtes de Pétri contenant les différents milieux de culture GN et GLM (Annexe1), ensuite les boîtes ont été incubées pendant 7 jours à 30 °C.

### **3.2.2-Purification et conservation des isolats**

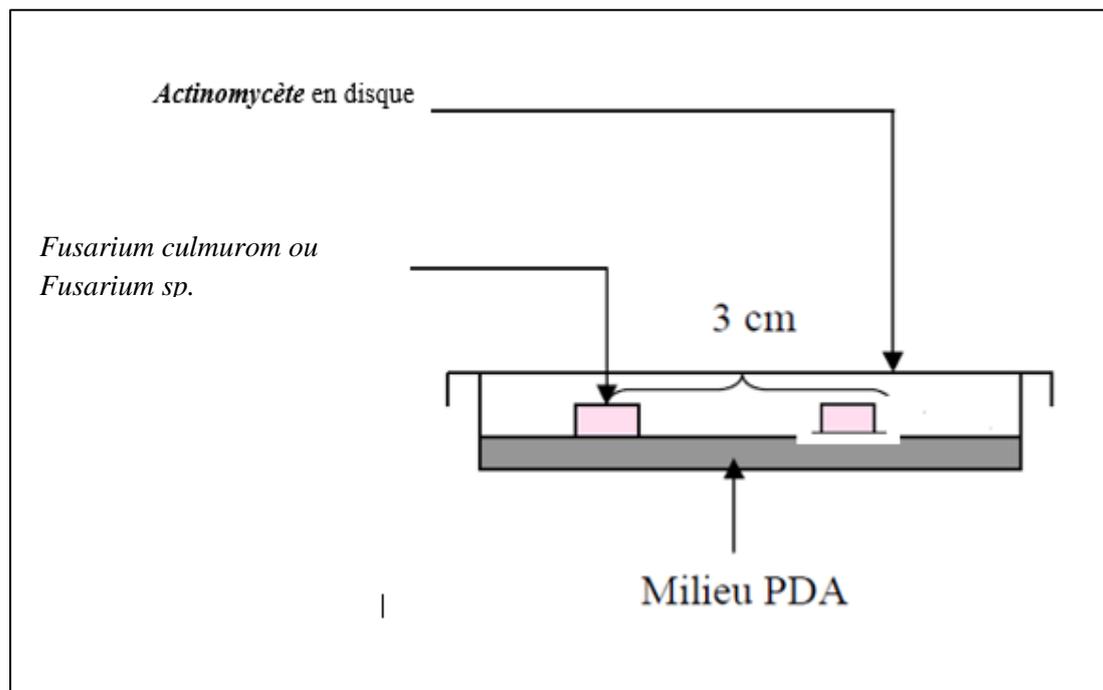
Après incubation pendant 7 jours, les colonies présentant des aspects macroscopiques et microscopiques typiques aux actinomycètes ont été repiquées sur des boîtes de Pétri contenant les mêmes milieux d'isolement selon la méthode des stries, ensuite, incubées pendant une semaine à 30 °C.

Les isolats ont été conservés à basse température en utilisant un cryoprotecteur. Pour ce faire, les colonies bactériennes jeunes ont été mises dans des tubes Eppendorf contenant une solution à 20% de glycérol et ils ont été, ensuite, congelés à -20°C.

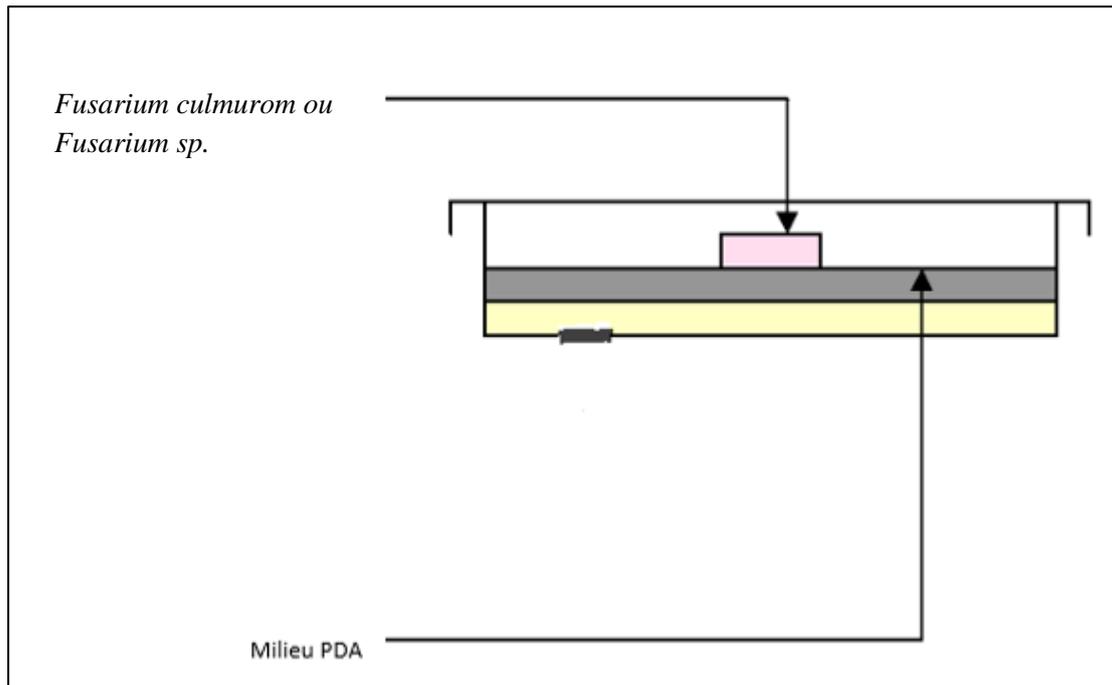
### 3.3.3 - Recherche et sélection des isolats producteurs de substances anti - *Fusarium* (*F. culmurom* et *Fusarium Sp.*)

Ce test a pour objectif de sélectionner le ou les isolats d'actinomycètes possédant une activité biologique sur la croissance du *Fusarium* utilisé.

Cette technique consiste à placer des pastilles de 0.6 cm de diamètre prélevées à partir d'un clone de *Fusarium* « *Fusarium culmurom Fus1* et *Fusarium sp* », ensuite les déposées à l'extrémité des boîtes de pétri contenant le milieu PDA, sur l'autre extrémité un disque bactérien d'actinomycète a été déposé (figure 16) et comme témoin, on met chaque souche de *Fusarium* dans une boîte de Pétri contenant le même milieu(figure 17) (Benhamoue ou Chet ,1996).



**Figure17** Confrontation equidistance *Fusarium culmurom* ou *Fusarium Sp* .et Actinomycètes par contact direct



**Figure 18** Boite témoin (*Fusarium* sans antagoniste)

### 3.3.3.1- Evaluation de l'inhibition exercée par les antagonistes

L'évaluation de l'inhibition exercée par les antagonistes est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du pathogène (Hmouni et al., 1996).

Selon la formule suivante :

$$I (\%) = \frac{DN - D0}{D0} \times 100$$

**I (%)** : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de champignon phytopathogène par le germe antagoniste,

**D<sub>N</sub> (mm)** : Mesure de la croissance mycélienne normale représentant le rayon opposé à la colonie du germe testé,

**D<sub>0</sub>(mm)** : Mesure de la croissance mycélienne de champignon phytopathogène Influencée.

### **3.4- Etude des caractéristiques des souches bactériennes à activité antifongique**

#### **3.4.1- Caractérisation morphologique et physiologique des souches actives**

##### **3.4.1.1-Aspect macroscopique**

Des observations quotidiennes ont été effectuées après une semaine d'incubation, afin de déterminer l'aspect des colonies. Les caractères macroscopiques observés ont été : la couleur, la taille et la forme des colonies. Les actinomycètes ont été reconnus par leurs aspects filamenteux caractéristiques. Ces observations ont été facilitées par l'emploi d'un microscope optique au grossissement 40 X (Williams et Cross, 1971).

##### **3.4.1.2- Aspect microscopique**

###### **➤ Observation à l'état frais**

Elle permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur morphologie. La méthode consiste à déposer une petite goutte d'eau distillée stérile sur une lame, puis on prélève une fraction de colonies sur gélose, de préférence aux bords de celle-ci, en faisant une suspension homogène dans la goutte d'eau en incorporant progressivement l'inoculum et en remuant très délicatement (afin de ne pas casser le mycélium) ; ensuite, la lame a été recouverte d'une lamelle en évitant d'enfermer des bulles d'air et en évitant que le liquide déborde. L'observation a été faite à différents grossissements (10X puis 40X).

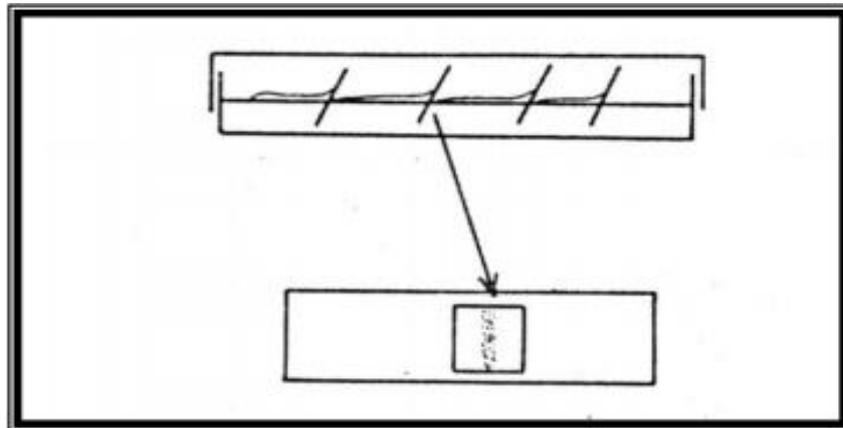
###### **➤ Coloration de Gram**

Un frottis a été prélevé à partir d'une colonie de 24h, fixé à la chaleur, puis recouvert par le violet de Gentiane pendant 1min, ensuite l'élimination de ce colorant a été effectuée par l'ajout de lugol pendant 1 min., le frottis a été décoloré par de l'éthanol (environ 20 secondes ). Enfin, une contre-coloration a été réalisée avec de la Fuschine (Madigan et Martinko, 2007).

L'observation des lames a été faite aux différents grossissements. La couleur violette due au violet de Gentiane est l'aspect caractéristique des bactéries à coloration Gram positive, les bactéries Gram négatif se colorent en rose par la fushine.

➤ **Technique de culture sur lamelle**

La culture sur lamelle permet une observation de la partie aérienne du mycélium en conservant sa structure et sa morphologie. Pour ce faire, une lamelle stérile a été introduite délicatement dans le milieu gélosé ISP2 de telle sorte qu'elle forme un angle de 45° (figure16). Une goutte de l'inoculum a été déposée contre la lamelle en contact avec le milieu de culture. Après 5 jours d'incubation, les lamelles ont été retirées délicatement pour éviter l'altération de mycélium, puis placées sur des lames et observées au microscope optique au grossissement 40 X (Williams et Cross, 1971).



**Figure19** Technique de culture sur lamelle

**3.4.2 -Caractérisation biochimique des souches actives**

**3.4.2.1 Détermination des pigments mélanoides**

Les pigments mélanoides sont des pigments bruns diffusibles. La mise en évidence de ces pigments pour les souches d'actinomycètes a été réalisée en ensemencement les isolats sur milieu gélosé ISP7. Une boîte non ensemencée sert de témoin. L'observation de la couleur brune noire caractéristique des pigments mélanoides se fait au 2ème jour et au 4ème jour d'incubation des boîtes à 30 °C.

**3.4.2.2- Utilisation de différents substrats carbonés**

Le milieu de base utilisé est l'ISP9. Ce milieu est préconisé par Goodfellow (1971). Les glucides ont été ajoutés au milieu de culture à raison de 1 %. Les différentes sources de carbone testées les suivantes : Arabinose, Inositol, Fructose, Maltose, Xylose, Galactose, Glucose, Lactose.

Après ensemencement et incubation à 30°C la croissance a été estimée sur les boîtes par comparaison de la croissance des actinomycètes en présence des glucides ou en leur absence (milieux ISP9 sans source de carbone sert comme témoin négatif et le milieu contenant du glucose sert de témoin positif).

#### **3.4.2.3-Recherche de l'activité amyliques**

Ce test a été réalisé sur milieu gélose nutritive contenant 1% d'amidon soluble selon la méthode de Gordon et Smith (1953). Après 7 jours d'incubation à 30 °C, la gélose a été recouverte d'une solution de lugol. L'hydrolyse a été mise en évidence par l'absence de coloration autour des colonies. A l'inverse, les zones contenant de l'amidon se colorent en brun.

#### **3.4.2.4- Utilisation du citrate comme seule source de carbone**

Ce milieu permet de mettre en évidence l'utilisation du citrate comme seule source de carbone et d'énergie. Ce caractère est intéressant pour différencier les bactéries. La pente du milieu de citrate de Simmons (Annexe2) a étéensemencée par les souches d'actinomycètes en stries longitudinales à l'aide d'une anse de platine.L'incubation s'effectue à 30°C. L'observation de la croissance se fait quotidiennement durant une semaine (Camille, 2007).

#### **3.4.2.5- Recherche de la catalase**

La catalase est une enzyme qui dégrade le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en eau et en oxygène. Ce produit est toxique par rapport aux bactéries aérobies.



Pour ce faire, une goutte d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> a été déposée sur une lame, puis un fragment de colonie a été mis en contact. Le dégagement gazeux indique la production d'O<sub>2</sub>provenant de la dégradation d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, ce qui révèle que la souche est catalase +.

#### **3.4.2.6 - Recherche de la gélatinase**

La gélatinase ou collagénase est une enzyme qui hydrolyse la gélatine (collagène) en acides aminés et peptides. La recherche de la gélatinase peut se faire par différentes techniques dont la suivante a été empruntée dans cette étude pour arriver à l'objectif.

Les souches ont étéensemencées dans des tubes contenant de la gélatine nutritive (Annexe2) puis incubées à 28°C pendant 7jours. Les tubes ont étéensuite placés pendant une heure au réfrigérateur. Si la gélatine devient solide cela implique qu'elle n'a pas été attaquée par les bactéries, si elle reste liquide, cela implique qu'une enzyme extracellulaire en l'occurrence, la gélatinase l'a hydrolysé (Larpen et Larpen-Ghourgoud, 1985).

#### **3.4.2.7- Hydrolyse de la caséine**

Les souches ont étéensemencées dans des tubes contenant le milieu protéase(Annexe 2) par piqure centrale.L'apparition de toute zone claire le long du tube après 7 jours d'incubation à 28° C, témoigne de l'hydrolyse de la caséine.

#### **3.4.2.8- Coagulation ou peptonisation du lait écrémé**

Ce test a été réalisé selon la méthode de Williams et Cross (1971). En utilisant des tubes à 10% de lait écrémé en poudre, dilué dans de l'eau distillée stériles. Ces tubes ont étéensemencés et incubés à 28°C. Des observations régulières, pendant 7 jours permettant de noter la coagulation ou peptonisation du lait provoquée par les souches.

#### **3.4.2.9-Détermination du type respiratoire**

Elle a été réalisée selon le protocole de Guiraud (1998). La gélose viande foie (VF) répartie en tubes profonds,les tubes ont étéensemencés à l'aide d'une anse de platine qui traverse la gélose jusqu'au fond du tube, puis remontée, de façon àensemencer uniformément le milieu. Les cultures ont été incubées à 35°C pendant 7 jours .

# Résultats

## 4- Résultats

Le présent travail porte sur l'isolement et la sélection des isolats bactériens possédant une activité antifongique, afin de les utiliser comme agents de lutte biologique vis-à-vis des champignons du genre *Fusarium*, agents causaux de la maladie de fusariose de pied du blé. Les échantillons utilisés pour cet objectif ont été prélevés du sol environnant du lac salé d'Ain Mlila.

Au surplus, la coïncidence nous a permis d'isoler une souche fongique phytopathogène du genre *Fusarium*, à partir d'une culture du blé infectée, réalisée au niveau de laboratoire.

### 4.1- Identification morphologique de l'isolat fongique phytopathogène

Les caractères macroscopiques et microscopiques de l'isolat fongique sont étudiés sur milieu PDA, le plus communément utilisé à cet effet (Botton, 1990). Quant à l'étude microscopique, elle porte sur l'observation des structures caractéristiques d'isolat (conidiophores, conidies, mycélium, etc.). Ces examens ont permis d'identifier l'isolat sélectionné selon les caractères morphologiques établis par Nelson et *al.*, (1983).

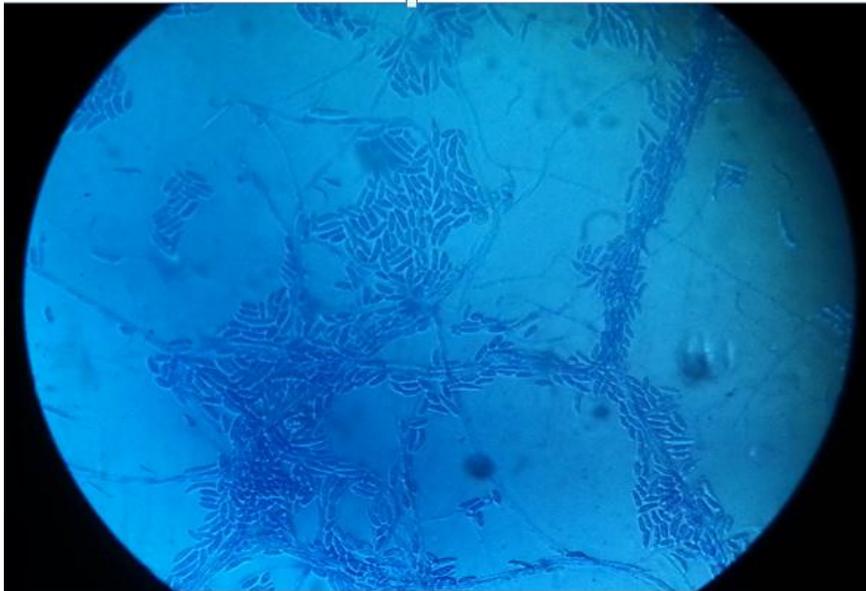
Sur milieu PDA, l'isolat est caractérisé par une croissance rapide. Le mycélium aérien (recto) est abondant, ras, poudreux de pigmentation blanchâtre homogène. Le mycélium de substrat (verso) est incolore (figure 20)



**Figure 20** Aspect macroscopique de l'isolat fongique

Sous microscope, les macro conidies sont fusiformes, allongées, légèrement incurvées, peu pointues aux extrémités. Les chlamydospores sont terminales et les micro conidies sont absentes (figure 21).

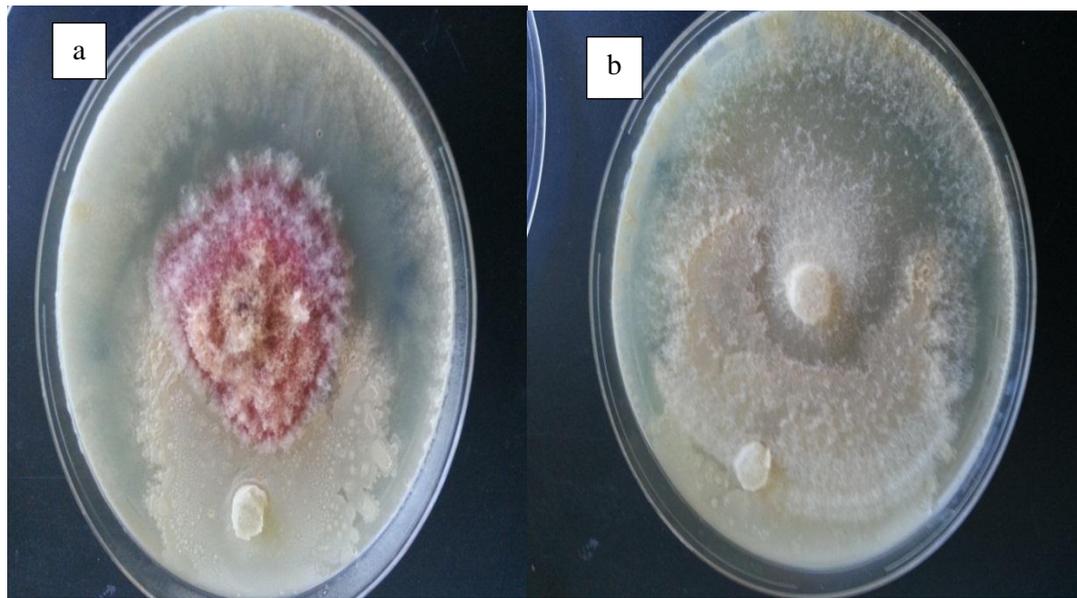
Ces caractères morphologiques correspondent à celles d'une espèce du genre *Fusarium*.



**Figure 21** L'isolat fongique sous microscope (G x 40).

#### **4.2-Isolement des souches bactériennes et recherche de l'activité antifongique des isolats bactériens obtenus**

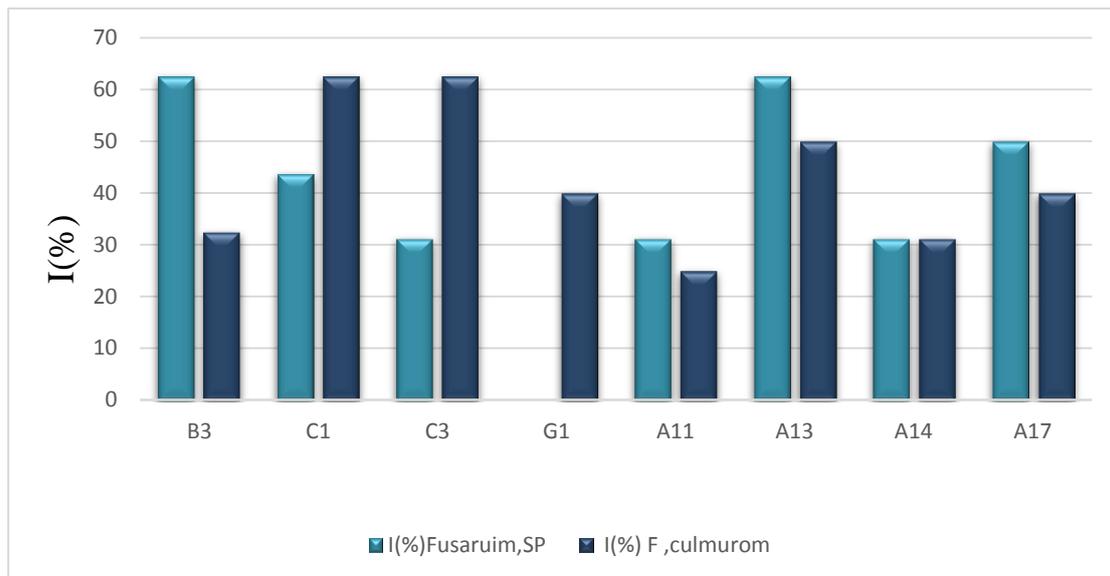
Quarante-quatre isolats bactériens sont isolés à partir de l'échantillon du sol collecté. Le test de confrontation directe (antagoniste-pathogène) appliqué sur les isolats bactériens, vis-à-vis des deux moisissures phytopathogènes, *Fusarium sp.* et *F.culmorum* a révélé que huit (08) isolats ont été sélectionnés pour leur faculté à inhiber la croissance de champignon *F.culmorum*. En plus, parmi ces isolats sélectionnés, sept (07) ont montré la même faculté à l'égard de la moisissure *Fusarium sp.* Les résultats globaux relatifs à cette rubrique sont récapitulés dans le tableau 6, et les figures 22 et 23.



**Figure 22** Inhibition in vitro de la croissance des moisissures phytopathogènes par les isolats bactériens : (a) *Fusarium culmorum* ; (b) *Fusarium sp.*

**Tableau 6** Pourcentage d'inhibition des isolats bactériens sélectionnés vis-à-vis de *Fusarium sp.* et *F. culmorum*.

Codes isolats bactériens	I (%) <i>F. culmurom</i>	I (%) <i>Fusarium sp</i>
B <sub>3</sub>	32.5	62.5
C <sub>1</sub>	62.5	43.75
C <sub>3</sub>	62.5	31.25
G <sub>1</sub>	40	0
A <sub>11</sub>	25	31.25
A <sub>13</sub>	50	62.5
A <sub>14</sub>	31.25	31.25
A <sub>17</sub>	40	50



B<sub>3</sub>, C<sub>1</sub>, C<sub>3</sub> G<sub>1</sub>, A<sub>11</sub>, A<sub>13</sub>, A<sub>14</sub>, A<sub>17</sub>: Isolats bactériens à activité antifongique.

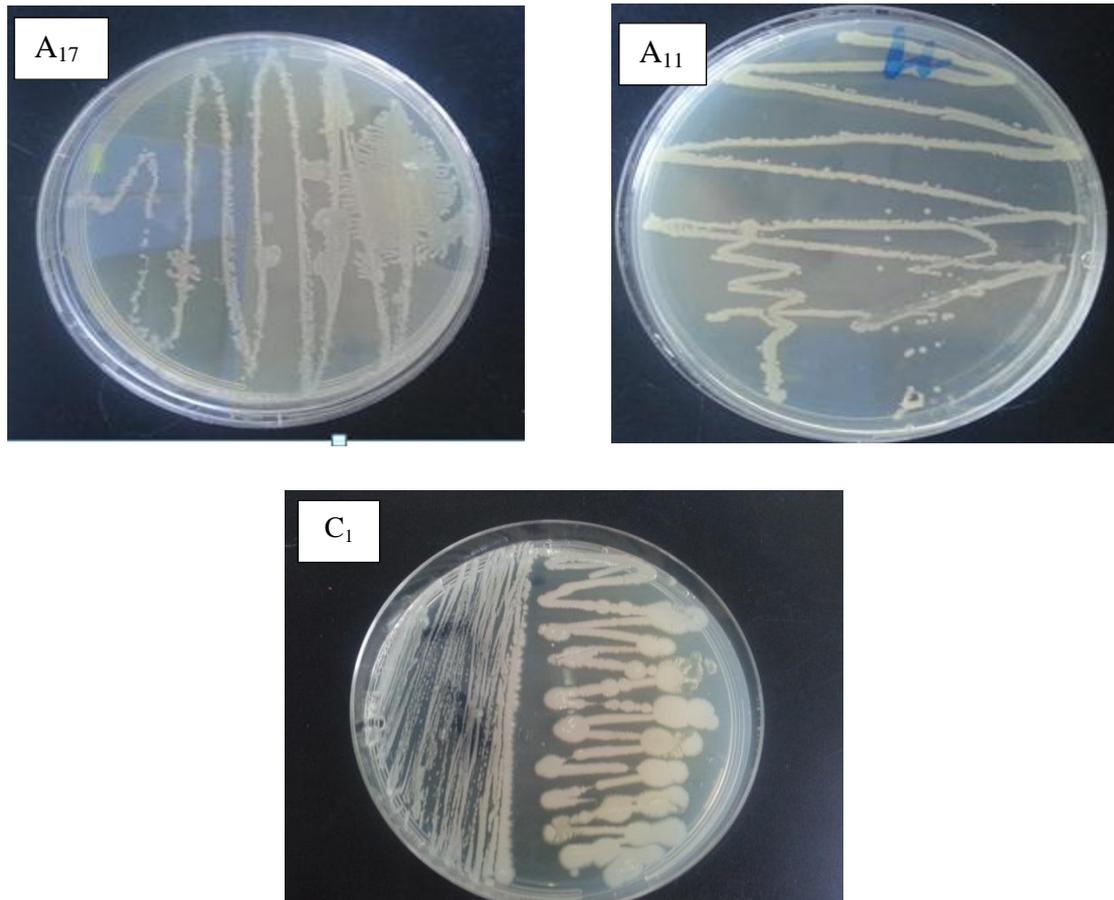
**Figure 23** Potentiel d'activité antifongique pour les isolats bactériens sélectionnés.

### 4.3-Etude des caractéristiques des souches bactériennes à activité antifongique

#### 4.3.1-Caractérisation morphologique et physiologique des souches actives

L'étude macroscopique des isolats sélectionnés a montré qu'ils forment des colonies à caractères cultureux partiellement différents (figure 24). En effet, les colonies ensemencées sur milieu GLM, apparaissent au bout de deux jours d'incubation à 30°C, leurs caractéristiques morphologiques suggèrent qu'il s'agit de souches actinomycétales. 07 isolats étudiés forment des colonies caractérisées par un aspect crémeux, rondes à contours réguliers, opaques, de couleur blanche, incrustées dans le milieu de culture.

La souche A<sub>17</sub> est à contours irréguliers, filamenteuse avec un aspect pâteux, elle est profondément incrustée dans le milieu de culture. Les caractères cultureux des souches sélectionnées sont rassemblés dans le tableau 7.



**Figure 24** Aspect macroscopique des isolats bactériens sélectionnés sur milieu GLM.

**Tableau 7** Caractères cultureux des isolats bactériens sélectionnés

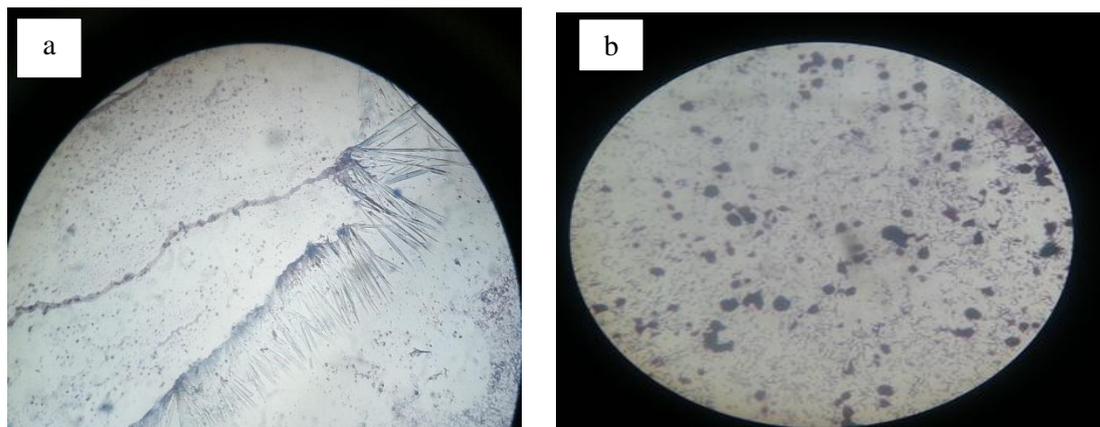
Isolats	Croissance	Mycélium aérien	Mycélium substrat	Pigments diffusibles
B3	++++	Blanc	Blanc	–
C1	++++	Blanc	Blanc	–
C3	++++	Blanc	Blanc	–
G1	++++	Blanc	Blanc	–
A11	++++	Blanc	Incolore	–
A13	++++	Blanc	Blanc	–
A14	++++	Blanc	Blanc	–
A17	++++	Blanc	Incolore	–

(++++): Croissance abondante

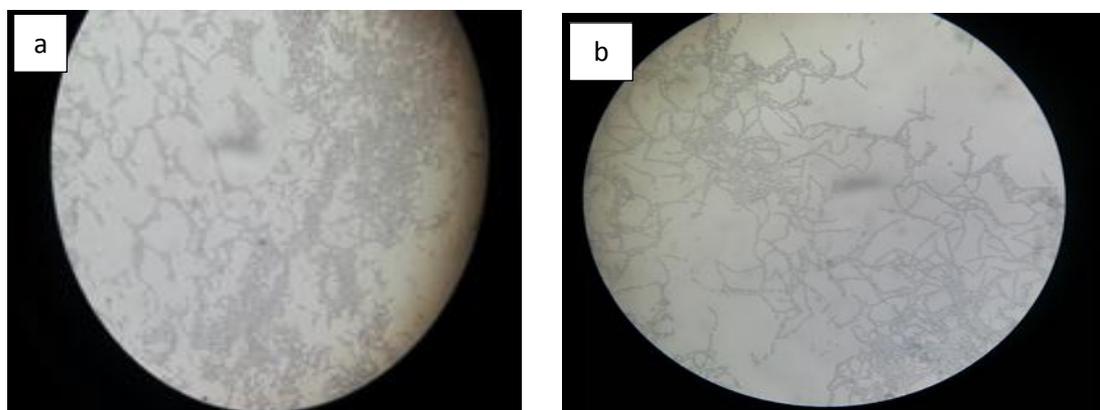
Encore, l'observation à l'état frais, la coloration de Gram et la technique des lamelles ont permis de développer une idée sur la morphologie des cellules bactériennes, leur mobilité, la composition de leur paroi, le mycélium de substrat et le mycélium aérien. En fait, toutes les souches sont Gram positif et immobiles (colonies sous forme pellet, filaments, etc.).

Quant à l'observation microscopique des lamelles contenant les souches A13, A17, le mycélium de substrat est de nature fragmentée, alors que le mycélium aérien chez la souche C<sub>1</sub> est formé d'hyphes dressés, portant des chaînes de spores de forme arrondie (figure 25).

Les caractères morphologiques de quelques isolats observés sous microscope optique (grossissement x40) sont présentés par les figures 25 et 26.



**Figure 25** Observation des isolats bactériens à l'état frais et avec coloration au microscope (40 X) : (a) : isolat C<sub>3</sub>; (b) : isolat A<sub>17</sub>.



**Figure 26** Mycélium des isolats ; (a) : A<sub>13</sub>, (b) : G<sub>1</sub> (40X).

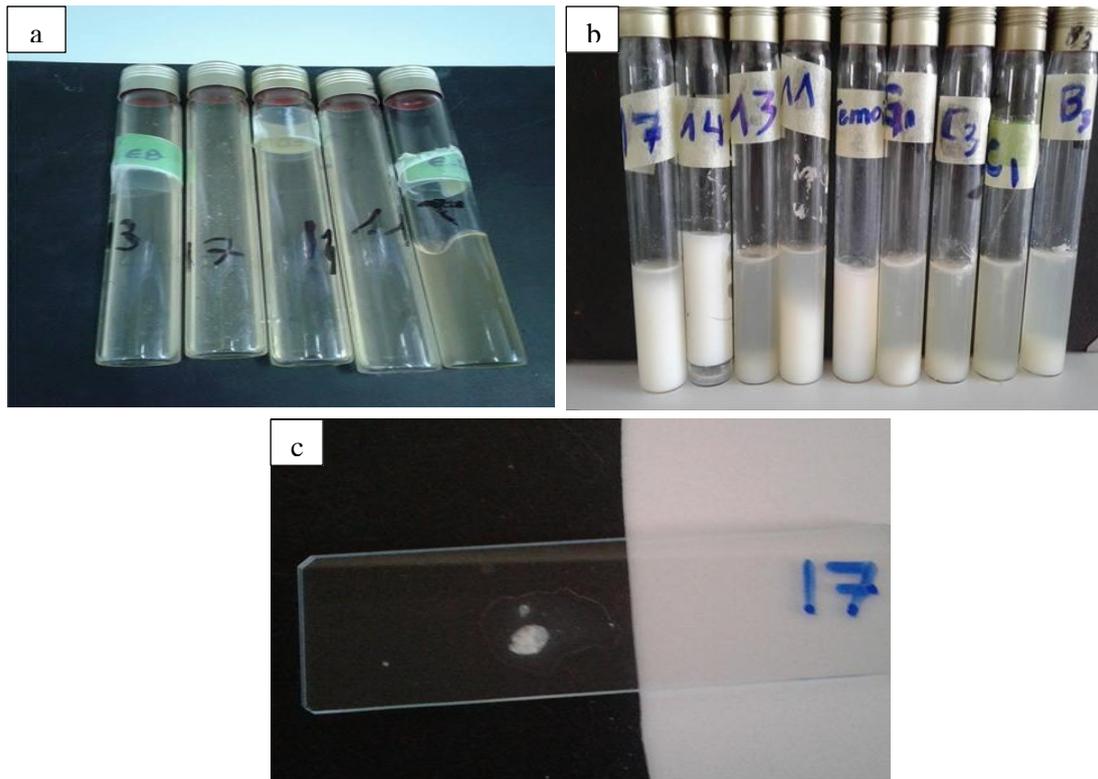
À propos de la production des pigments, parmi les huit isolats retenus, seul l'isolat C<sub>1</sub> a produit des pigments mélanoides, les autres souches n'ont aucune faculté par rapport à la production des pigments (figure 27).



**Figure 27** Production des pigments mélanoides par l'isolat C<sub>1</sub>.

#### ***4.3.2- Caractérisation enzymatique des souches actives***

Les résultats des tests enzymatiques d'assimilation des sources de carbone et d'azote sont montrés dans les tableaux 8 et 9. En effet, les isolats testés montrent un métabolisme protéique et glucidique important car ils hydrolysent : les sources carbonées, la caséine, coagulent le lait écrémé et possèdent de la gélatinase (figure 28). Cependant, certains sont dépourvus par rapport à l'un ou à l'autre de ces activités (A<sub>13</sub>, A<sub>14</sub> et B<sub>3</sub>). En note que ces isolats possèdent de la catalase et se développent sur milieu VF, qui signifie qu'ils sont soit aérobies ou aéro anaérobies facultatifs (figure 28). Au contraire, ces isolats sont dépourvus d'enzymes de peptonisation du lait et ils sont incapables d'utiliser le citrate de Simmons comme source de carbone



**Figure 28** Tests enzymatiques, (a) : test gélatinase ; (b) : test caseïnase ; (c) : test catalase.

**Tableau 8** Tests enzymatiques d'utilisation des sources de carbone par les souches antagonistes actives

Souche	ISP 9	Gluc	Lac	Galac	Ino-sitole	Xyl-ose	Malt	Fruct	Amid on	Citrate de simmons
<b>B3</b>	-	+	+	+	+	-	+	+	+	-
<b>C1</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<b>C3</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<b>G1</b>	-	+	+	+	+	+	+	-	+	-
<b>A11</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<b>A13</b>	-	+	-	+	+	-	+	+	+	-
<b>A14</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-
<b>A17</b>	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-

**Tableau 9** Tests enzymatiques d'utilisation des sources proteiques par les isolats bactériens sélectionnés.

Isolats bactériens	Caséinase	Gélatinase	Coagulation du lait	Peptonisation du lait
B3	+	+	+	-
C1	+	+	+	-
C3	+	+	+	-
G1	+	+	+	-
11	+	+	+	-
13	+	+	+	-
14	-	+	+	-
17	+	+	+	-

Au terme de ces résultats, une identification finale des isolats bactériens n'a pas été obtenue. Cependant et considérant la pluparts des tests, il probable que l'ensemble des isolats appartiennent au genre *Streptomyces*.

# Discussion

## 5-Discussion

La culture du blé dur en Algérie est actuellement menacée. Le coût de production du quintal de blé dur reste élevé. C'est dans ce contexte que des organismes comme l'ITGC et l'INRA, associés à l'université frère Mentouri à Constantine, viennent de mettre en place le réseau scientifique et technique pour la modernisation de la filière blé dur.

Dans ce cadre, la lutte biologique contre les parasites de blé dur annonce une approche alternative dans l'itinéraire technique de protection des cultures du blé dur en Algérie.

La lutte biologique contre la maladie de fusariose du pied du blé, implique la recherche des microorganismes possédant un potentiel antagoniste vis-à-vis des champignons phytopathogènes causant la maladie. Parmi ces microorganismes antagonistes, les Actinomycètes sont les plus connus et classés parmi les plus actifs (Antoun *et al.* 1980, Crawford *et al.* 1993). Les espèces du genre *Streptomyces*, retrouvées dans la rhizosphère des plantes cultivées (Suzuki *et al.*, 2000), sont connues pour leur capacité à inhiber la croissance de nombreuses espèces de champignons phytopathogènes (Kavitha *et al.*, 2010).

En effet, les souches d'actinomycètes étudiées dans le présent travail, sont isolées du sol environnant du lac salé d'Ain M'lila. Ce site est choisi par rapport à sa particularité écologique. À titre de précision, l'interprétation des valeurs de la conductivité électrique (CE), a permis de révéler que le sol environnant du lac salé englobe 8.93 mS/cm, ce qui prouve qu'il est extrêmement salé. Selon Auberts, (1960) les sols sont classés comme sols salés dès que leur conductivité électrique dépasse les 4 mS/cm. Alors que Willams et Cross, (1971) ont préconisé l'exploitation des écosystèmes où, un ou plusieurs des facteurs environnementaux sont extrêmes pour favoriser la détection d'actinomyetales pouvant éventuellement, avoir un potentiel d'activité antibactérien et /ou antifongique important.

Sur le volet microbiologique, l'examen de l'échantillon collecté a abouti à l'isolement de quarante-quatre isolats bactériens, dont, au moins, dix-sept isolats représentent des bactéries de groupe actinomycètes, en se basant sur leur aspect filamenteux spécifiques (Larpent et Larpent Gourgaud, 1997). Effectivement, la

présence des actinomycètes dans les lacs salés et en particulier, dans ce site de du Ain-Mlila a été auparavant citée par quelques auteurs (Kitouni, 2005 ; Boughachiche *et al.*, 2011 et Djaballah, 2009).

La recherche d'activité antifongique a été recherchée chez les quarante-quatre souches obtenues précédemment. La technique utilisée pour la mise en évidence des propriétés antagonistes est la confrontation de l'agent phytopathogène (*Fusarium sp.* ou *F. culmorum*) avec une souche d'actinomycètes dans une même boîte de Pétri. Le milieu PDA utilisé dans le présent test est capable de pourvoir une source de carbone nécessaire pour la croissance des actinomycètes ,plus, la présence d'un agent phytopathogène a stimulé la production des substances bioactives telles que les antifongiques (in Kialozafy).

À titre de rappel, ce test a permis de sélectionner huit souches qui ont une activité inhibitrice contre le champignon *F.culmorum*, et sept souches possédant la même faculté contre le champignon *Fusarium sp*, sachant que le taux d'inhibition de chacun des isolats sur l'un ou l'autre des deux champignons était variable, exempté de la souche A<sub>14</sub> avec laquelle les deux champignons testées ont la même réponse. Effectivement, le taux d'inhibition se varie de 25% à 62.5 % et de 31.25 % à 62.5% respectivement, sur *F. culmorum* et *Fusarium sp.*

En 1993, Crawford *et al.*, ont montré que les actinomycètes sont des antagonistes puissants des champignons phytopathogènes en utilisant l'exsudat des racines des plantes pour leur croissance et la synthèse de substances antifongiques . Nos résultats ont aussi montré que les actinomycètes sont des puissants antagonistes des champignons du genre *Fusarium* avec un pourcentage d'inhibition *in vitro* des souches C<sub>1</sub> ,C<sub>3</sub>, B<sub>3</sub> et A<sub>13</sub> est égal à 62.5%. Aussi, ces résultats corroborent avec ceux obtenus par Kamara et Gangwar (2015) qu'ont aussi montrés que les actinomycètes isolés à partir d'une plante médicinale ont un pouvoir antifongique très élevé contre *Fusarium* avec un taux d'inhibition variant de 20% à 70%. Ceci révèle l'importance de certaines souches sélectionnées dans ce travail.

Par ailleurs, la variation de taux d'inhibition des champignons test à l'égard de l'action des souches antagonistes pourrait être liée à la composition des métabolites

secondaires secrétés qui varie selon la souche productrice, comme elle pourrait être liée aux conditions de production des métabolites antifongiques.

En fait, cette capacité des Actinomycètes à inhiber la croissance des champignons phytopathogènes est d'habitude liée à la production de substances antifongiques (Fguira *et al.*, 2005 ; Atta, 2009) et/ou à la production d'enzymes extracellulaires hydrolytiques (Mukherjee and Sen, 2006; Prapagdee *et al.*, 2008), elle pourrait être influencée par certains facteurs physiques (Allaire, 2005), dont les plus importants sont la présence de source de carbone et d'azote dans le milieu de culture, mais aussi les divers facteurs environnementaux à savoir le pH, la température, ou encore la période d'incubation. Il devient alors nécessaire d'optimiser au maximum les conditions de culture pour avoir une production élevée en métabolites secondaires (Himabindou et Jetty, 2006).

Quant à la température optimale d'incubation, celle-ci varie en fonction des souches concernées car chaque espèce présente une température idéale pour sa croissance et sa physiologie (Shuler et Kargi, 1992). La température optimale de croissance de la majorité des actinomycètes se situe entre 25 et 30°C, du fait, ce sont des microorganismes mésophiles. Une incubation au-delà des 30°C entrainera ainsi une diminution de la production de métabolites secondaires donc une baisse notable de l'activité antifongique (Sujatha *et al.*, 2005).

En complément, nos résultats n'ont pas élucidés les mécanismes par lesquels ces isolats ont inhibé le développement des champignons phytopathogènes. En effet, les mécanismes utilisés par ce groupe de microorganisme sont très diversifiés et plusieurs scientifiques ne cessent de faire la recherche sur ce domaine. Poomthongdee *et al.*, (2014) ont mis en évidence que certaines souches peuvent produire des sidérophores pour entrer en compétition avec les phytopathogènes. D'autres auteurs ont pu montrer que parmi les mécanismes qui peuvent être utilisés par les actinomycètes, leur grande capacité à produire des variétés d'antibiotiques semble être le plus efficace (Sharma et Parihar, 2010).

En revanche, il a été clairement démontré par nos résultats que la cohabitation entre les isolats inhibiteurs et les champignons phytopathogènes ne sera pas possible. Cette situation pourrait être exploitée pour des futures luttes contre ces agents phytopathogènes (Sharma et Parihar, 2010).

Par ailleurs, pour caractériser les souches d'actinomycètes sélectionnées, trois caractéristiques sont largement utilisées : caractéristiques morphologiques, caractéristiques microscopique et macroscopique. Les caractères morphologiques sont considérés comme des caractères stables selon Shirling et Gottlieb (1976). Leur étude est donc, essentielle dans l'identification des souches d'actinomycètes. Pour toutes les souches, les colonies commencent à apparaître après 24 heures d'incubation. Ceci est une caractéristique des Actinomycètes à croissance rapide.

En effet, des études ont montré que les colonies de *Streptomyces coelicolor* développent des hyphes aériens en 24 heures (Nodwel et Losick, 1998). Ces souches à croissance rapide peuvent donc être rapprochées du genre *Streptomyces*. Ainsi, l'observation microscopique après coloration de gram, a révélé que toutes les souches étudiées sont à coloration gram positif, ce qui correspond à une caractéristique commune des actinomycètes.

En outre, parmi les huit souches étudiées, une seule souche produit des pigments mélanoides. Les pigments produits par les souches d'Actinomycètes peuvent être des substances bioactives (Margalith, 1992). La production de mélanine (pigment brun noir) est une clé de classification des *Streptomyces* (Shirling et Gottlieb, 1972), dont la biosynthèse se fait par la voie de Raper- Mason. Cette voie est une série d'auto-oxydation consistant à transformer la tyrosine, sous l'action de la tyrosinase, en acide 5,6-dihydroxyindol qui est le produit final. Ce dernier, coloré en jaune, se condense pour donner la mélanine caractérisée par une couleur noircit (Margalith, 1992).

Dans le présent cas, les informations apportées par cette étude ne sont pas suffisantes pour l'identification au niveau de genre mais, ils ont permis d'attribuer ces souches au groupe des actinomycètes et de les rapprocher du genre *Streptomyces*.

À propos, de l'étude des caractéristiques enzymatique, ces souches ont montré une diversité métabolique importante : l'hydrolyse des protéines, des glucides, etc. d'autant plus, les informations obtenues pourront être exploitées, tout d'abord, dans les recherches visant l'étude des mécanismes d'action de ces souches sur les champignons phytopathogènes, et en second lieu, en biotechnologie industrielle.

En effet, l'ensemble des enzymes microbiennes catalysant ces réactions biochimiques jouent un rôle majeur dans les bioprocédés industriels, à guise d'exemple, les

protéases (incluant les gélatinases) sont aujourd'hui très importante notamment dans l'industrie alimentaire et la fabrication des nouveaux détergents (Najafi *et al.* ;2005 ; Thumar et Singh, 2007) ; les alpha-amylases ont une large application en industrie alimentaire et la fabrication de papiers, de textiles, de détergents et dans l'industrie pharmaceutique ( Aiyer,2005, De Souza et Magalhaes,2010).

Ces résultats ont permis, également, d'attribuer ces souches au groupe des actinomycètes et de les rapprocher du genre *Streptomyces*.

Conclusion

## **6- Conclusion et perspectives**

Dans cette étude qui se focalise sur la recherche des microorganismes développant une activité antifongique des champignons phytopathogène responsables du fusariose de blé du blé. L'exploitation des échantillons du sol en provenance du lac salé de Ain Mlila a abouti à l'isolement de quarante-quatre isolats bactériens, dans le but de sélectionner des souches qui pourront être efficaces dans la gestion de la maladie de pied fusarien du blé. Cette partie a permis de conclure que cet écosystème est riche en actinomycètes.

Les résultats d'évaluation du pouvoir antagonisme de chaque souche a montré que certains actinomycètes isolés à partir d'échantillon cité précédemment présentent une activité antifongique puissante vis-à-vis du *Fusarium sp* et *F.culmorum* . Cette propriété pourrait être exploitée dans le cadre de la lutte biologique.

L'étude d'un ensemble des caractéristiques morphologiques, physiologiques et biochimiques des souches actives a permis d'apporter des informations sur des propriétés biologiques des actinomycètes, en particulier, leur diversité métabolique importante.

Aussi, ce travail a permis d'enrichir la collection du Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM) par des nouveaux agents bactériens efficaces dans la lutte biologique et un isolat fongique phytopathogène du genre *Fusarium*.

Bien que ces résultats soient préliminaires, ils permettent d'orienter les recherches vers des nouvelles perspectives aussi bien dans l'agriculture que dans la bio-industrie.

De ce fait, il est intéressant de se fixer des point de la recherche future, en compliment de ce travail ce qui suit :

- Evaluer l'effet antagoniste in vitro des souches isolées sur d'autres agents phytopathogènes
- .- Déterminer la structure et le mécanisme d'action des substances antifongiques produites au cours de la confrontation sur PDA.
- Tester in vivo l'effet antagoniste sur des plantes de blé cultivées pour le cas des souches fortement inhibitrices.

- Identifier génétiquement les isolats d'Actinomycète antagonistes et l'isolat fongique phytopathogènes.
- Etudier la possibilité d'exploiter ces souches dans la production des enzymes biocatalyseurs.
- Faire des tests d'activité aussi bien sur d'autres microorganismes pathogènes que des parasites de l'Homme et des animaux.

# Références Bibliographiques

## Références bibliographiques

1. Agrios G.N., (1988). Plant pathology. 3rd edition. San Diego (CA): Academic Press, Inc. 803.
2. Alabouvette C., et Cordier C., (2012). Les Trichoderma, trois fois bénéfiques ? Bio-protecteurs, bio-fertilisants, bio-stimulant? Un peu des trois, mais gare aux généralisations. *Phytoma* 652 : 17-21. and deoxynivalenol accumulation in wheat. *International journal of Food Microbiology* 119: 126-130. Angeles: 93-114.
3. Allaire M., (2005). Diversité fonctionnelle des *Pseudomonas* producteurs d'antibiotiques dans les rhizosphères de conifères en pépinières et en milieu naturel. Maître ès Sciences (M. Sc.) en Microbiologie Agricole. Université Laval ; 80p848.
4. Allal M., (2016). Les scientifiques se penchent sur la problématique du blé.
5. Anonyme 4. Source : <https://agronomie.info/fr/home/page/4/1059>.
6. Anonyme 10. Source : Research Gate.
7. Anonyme 2. Source : [Collège Louisa Paulin](#)
8. Anonyme 3. Source : [wheat.pw.usda.gov](http://wheat.pw.usda.gov)
9. Anonyme 5. Grandes cultures. Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires Source : <http://www.omafra.gov.on.ca/french/crops/pub811/14cereal.htm>.
10. Anonyme 6. Source: HGCA.com. En linge : [College of Agriculture and Life Sciences](#) universitaires, Ben-Aknoun (Alger), 206 p.
11. Benhamou N et Chet I, (1996) .Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum* : ultra structural and cytochemical aspects of the interaction . *phytopathology* 86.p405-416
12. Benizri E., Baudoin E., Di Battista-Leboeuf C., et Guckert A., (2001). Des bactéries pour la santé des plantes. *Biofutur* 210 :52-56.
13. Bloemberg G.V., et Lugtenberg, B.J.J. ; (2001). Molecular basis of plant growth
14. Bolton A.T., (1978). Effects of amending soilless growing mixtures with soil containing antagonistic organisms on root rot and black leg of geranium (*Pelargonium hortorum*) caused by *Pythium spendens*. *Can. J. Plant Sci.*, 58: 379-383. *Bordeau*, 151 (1-4) 35- 48.
15. Bonjean A .et Picard E., (1990) - Les céréales à paille origine, historique, économie et sélection. Eds Nathan, 235 pages.
16. Booth C., (1971). The Genus *Fusarium* . Commonwealth Mycology Institute, Kew, Surrey, England. 237.
17. Botton B, Bretion A, Fevre M, Gauthier S, Guy Ph, Larpent J.P, Reymond P, Sanglier J.J, Vayssier Y., et Veau P., (1990) . Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. 2eEd. Masson. Paris, Milan, Barcelone et Mexico. 512.
18. Boughachiche F., Reghioua S., Oulmi L., Zerizer H., Kitouni M., Boudemagh A. and Boularhouf A. (2005). Isolement d'actinomycétales productrices de substances antimicrobienne à partir de la sebkhah d' Ain M'Lila. *Sciences et Technologies*. C- n° 23 pp. 5-42.
19. Boyeldieu J., (1997). Blé tendre .Techniques Agricoles Fascicule n°2020.
20. Bozzini A. (1988). Origin, distribution, and production of durum wheat in the world. In: Fabriani G. et Lintas C. (éd). *Durum: Chemistry and Technology*. AACC (American Association of Cereal Chemists), Inc. St. Paul, Minnesota, États-Unis. pp 1-16.

21. Bozzini A. 1988. Origin, distribution and production of durum wheat in the world. In Fabriani G. & Lintas C. (éd). Durum: Chemistry and Technology. AACCC (Minnesota). Etats-Unis :1-16.
22. Broadbent P., Baker K. F., Waterworth Y., (1971). Bacteria and actinomycetes antagonistic to fungal root pathogens in Australian soils. Aust. J. Biol. Sci., 24: 925-944.
23. Burgess L.R., Dodman P., Mayers et W Pont. (1981). *Fusarium* diseases of wheat, maize and grain sorghum in eastern Australia. Dans *Fusarium: Diseases, Biology and Taxonomy*. Nelson, P., T Toussoun et R Cook (éds). University Park, Pennsylvania State University Press. 64-76.
24. Burgess, L.W.; Summerell, B.A.; Bullock, S.G. and Backhouse, K.D. (1994). Laboratory Manual for *Fusarium* Research. 3<sup>rd</sup> Ed. Univ. of Sydney. 133.
25. Camille Delarras, (2007). Microbiologie pratique pour laboratoire : d'analyse ou de contrôle sanitaire. Edition Tech & Doc. Lavoisier, Paris. P. 476.
26. Campbell R. et Greaves M.P., (1990) Anatomy and community structure of the CIMMYT. 141.
27. Caron D., (1993). Les fusarioses. In Maladies des blés et orges (ITCF, ed.), 30- 39.
28. Castegnaro M., Pfohl-Leskowicz A., (2002). Les mycotoxines : contaminants omniprésents dans l'alimentation animale et humaine, dans la sécurité alimentaire du consommateur, Lavoisier, Tec&Doc.
29. Chaillou S. (2008). Développement racinaire, fonctionnement de la rhizosphère et nutrition minérale. 61.
30. Champeil A., Doré T., Fourbet J.F., (2004). *Fusarium* head blight: epidemiological origin of the effects of
31. Chater K.F., Merrick M.J., (1979). Streptomycètes. *Developmental Biology of*
32. Chehat, F. 2007. Analyse macroéconomique des filières, la filière blés en Algérie. Projet PAMLIM «
33. CIC. (2013) .Rapport annuelle du Conseil international des Céréales «CIC » pour l'année 2013
34. Conn V. M., (2005). Molecular Interactions of Endophytic Actinobacteria in Wheat and Arabidopsis. Thèse de Doctorat. Flinders University. 297. cultural practices on head blight attacks and the production of mycotoxins by *Fusarium* in wheat grains. *Plant*
35. Cook J., Johnson V.A., Allan R. E, (1991). Le blé. In : Greef M.W. (Eds). Méthodes traditionnelles de sélection des plantes: un aperçu historique destiné à servir de référence pour l'évaluation du rôle de la biotechnologie moderne. Organisation de coopération et de développement économiques, Belgique, 27-38.
36. Crawford D. L., Lynch J. M., Whipps J. M. et Ousley M. A., (1993). Isolation and characterization of Actinomycete antagoniste of a fungal root pathogen. Applied and Environmental Microbiology. 59:3899-3905.
37. Crystel L., 2014. Le marché du blé dur : service agronomie- Economie- Environnement. Mercredi 06 Février 2014. Édition : ARVALIS. n. 79.
38. Cumagun C.J.R., Bowden R.L., Jurgenson J.E., Leslie J.F., Miedaner T., (2004). Genetic mapping of pathogenicity and aggressiveness of *Gibberella zeae* (*Fusarium graminearum*) toward wheat. Phytopathology 94, 520-526.
39. Davet P and Rouxel F. (1997). *Détection et isolement des champignons du sol*, (edn)
40. De Boer W., Gunnewiek P.J.A.K., Lafeber P., Janse J.D., Spit B.E., Woldendorp, J.W., (1998). Anti-fungal properties of chitinolytic dune soil bacteria. Soil Biol.

- Biochem., 30: 193–203. de la pourriture racinaire du blé tendre au Nord Ouest du Maroc. Ball. Soc. Pharm.
41. De Jager D., Sheldon M.S., Edwards W., (2009). Modelling growth kinetics of *Streptomyces coelicolor* A3 (2) in a pressurised membrane gradient reactor (MGR). *Enzyme and Microbial Technology*. 45 :449-456.
  42. Demain A.L., (1995). Emerging concepts of secondary metabolism in Devaux A., (1995). Rapport No.4 : Essais sur la Résistance du blé à la fusariose de l'épi (*Fusarium graminearum*). Ministère de l'agriculture des Pêcheries et de l'alimentation du Québec,
  43. Dill Macky, R., et Jones R. K. 2000. The effect of previous crop residues and tillage on *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Disease* 84 : 71-76.
  44. diversity. *Gene*. 115:135-140.
  45. Djaballah A., (2009). Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de sebkha de Ain-Mlila. Mémoire en vue de l'obtention de diplôme de magister : Ecologie microbienne. Algérie : Université Mentouri-Constantine, Faculté des Sciences de la nature et de la vie.
  46. Dommergues Y. et Emangenut. (1970). *Écologie Microbienne du sol*. Eds. Masson et Cie, Paris, 796 pages *Drugs pharm.Sci.* 22:452-508. *Ecol.* 85: 863-873. *Economics Report*. 538.
  47. Dommergues Y., et Emangenut., (1970). *Écologie Microbienne du sol*. Eds. Masson et C<sup>ie</sup>, Paris, 796 .
  48. Dunod, Paris. 168-333 *ermann*. Paris. 157-162
  49. Edwards, S., O'Callaghan, J., et Dobson, A.D.W. (2002). PCR based detection and quantification of mycotoxigenic fungi. *Mycological Research* 106: 1005-1025.\*
  50. El hadj Hammiche F., (2013) . Problématique. 1er Workshop international sur La
  51. El yacoubi H., Hassikou R., Bado A., Rachdi A and Douira A., Complexe fongique .
  52. Elad Y., (2000). Biological control of foliar pathogens by means of *Trichoderma harzianum* and potential modes of action. *Crop Prot.*, 19, 709–714. en agriculture (PNTTA) N0 77 IAVHII
  53. El-Tarabily K.A, Hardy G.E., Sivasithamparam K., Kurtboke I.D, (1996). Microbiological differences between limed and unlimed soils and their relationship with cavity spot disease of carrots (*Daucus carota* L.) caused by *Pythium coloratum* in Western Australia. *Plant and Soil*. 183.
  54. Ensign J. C., Normand P., Burden J. P. and Yallop C. A., (1993). Physiology of some actinomycete genera. *Res. Microbiol.*, 144: 657-660.
  55. Euzéby J.P., (2015). List of bacterial names with standing in nomenclature.
  56. Extracellular Metabolites Produced by *Streptomyces hygroscopicus* against
  57. Ezzahiri B., (2001). Les maladies du blé. Programme national de transfert de technologie
  58. Feillet P. (2000). Le grain du blé. Composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, pp : 17-18
  59. Fernandes B., (2006). Lutte biologique. *PHM-revue Horticole*, U465:U 31-34.
  60. Fguira, L.F., S. Fotso, R.B. Ameer-Mehdi, L. Mellouli and H. Laatsch, (2005). Purification and structure elucidation of antifungal and antibacterial activities of newly isolated *Streptomyces* sp. strain US80. *Res. Microbiol.*, 156: 341-347.
  61. Filnow A. B., Lockwood J.L., (1985). Evaluation of several actinomycetes and the fungus *Hypochoytrium catenoides* as biocontrol agents of *Phytophthora* root rot of soybean. *Plant Dis.*,

62. Fravel D. R., (2005). Commercialization and implementation of biocontrol. *Annu. Rev.fusariose des céréales en Algérie*. INPV Institut National de la Protection des végétaux
63. Gallais A., et Bannerot H., (1992). Amélioration des espèces végétales cultivées: objectifs et critères de sélection. Edition: INRA. 768 .
64. Gargouri S., (2003). Evaluation de l'incidence de la pourriture du pied et étude de la diversité génétique de la structure des populations espèces de *Fusarium* associées à la maladie. Thèse de doctorat, Université de Tunis El Manar, Faculté des sciences de Tunis Département de Biologie. Tunisie. 108.
65. Gargouri S., Hamza S., Hajlaoui M.R.,( 2006 ). AFLP analysis of the genetic variability and population structure of the wheat foot rot fungus *Fusarium pseudograminearum* in Tunisia. *Tunisian Journal of Plant Protection*, 1 (2) (*in press*).
66. Gate P., (1995). Ecophysiologie du blé de la plante à la culture. Paris, Lavoisier Tech & Doc - ITCF.351. gentamicin production by *Micromonospora echinospora*. *Indian J. Exp. Biol.* 44: 842-
67. Gerlach W., Nirenberg H. (1982). The genus *Fusarium* -a pictorial atlas. Mitt. Biol. Bundesanst. Land Forstwirtschaft. Berl. Dahlem 209 : 1-406.
68. Gilbert, J. et Tekouz, A. (2000) .Effect of *Fusarium* head blight and seed treatment on germination, emergence, and seedling vigour of wheat. *Canadian Journal of Plant Pathology* 17: 252-259.
69. Glynn NC, Hare MC, Parry DW, Edwards SG., (2005). Phylogenetic analysis of EF-1 alpha gene sequences from isolates of *Microdochium nivale* leads to elevation of varieties *majus* and *nivale* to species status. *Mycol. Res.* 109:872–80.
70. Goodfellow M., (1971). Numerical taxonomy of somenocardioform bacteria. *J. Gen.Microbiol.* 69 : 33-90
71. Goodfellow M., Kämpfer P., Busse H.J., Trujillo ME., Suzuki K., Ludwig W., Withman W.B., (2012). *Bergey Manuel of Systematic Bacteriology, The Actinobacteria* (2èmeEds) vol. V, parts A and B, New York, Dordrecht, Heidelberg, London. 2083 p.
72. Gordon R. E. and Smith M. M., (1953). Rapidly growing, acid fast bacteria Species descriptions of *Mycobacteriimu J. Bacteriol.* 66: 41-48.
73. Grandcourt M.C. and Prats J. (1970). Les céréales. 2e édition Revue et Augmentée. Editeurs J.-B. Baillière et Fils. pp 22.
74. Grignac P., (1978). Amélioration variétale de blé dur (*Triticum durum* Desf.).*Annale de l'INA (El -Harrach)* : 83 -110.
75. Guiraud J.P. (1998). *Microbiologie alimentaire*, (edn) Dunod. Paris.
76. Gustafson P., Raskina O, Ma X.-F., Nevo E., (2009). Wheat evolution, domestication and improvement. In: *Wheat science and Trade*. pp. 5-29.
77. H Guiraud J. P. (1998). Techniques d'analyses microbiologiques. In: *Microbiologie alimentaire*.
78. Hamadache A.M., (2001). Manuel illustré des grandes cultures à l'usage des valorisateurs .
79. Hamadache, A. (2013). Eléments de phytotechnie générale : Grandes Culture-Tom I : Le blé. 1ère édition. Mohamed Amrani. 49-69.Henri Poincaré - Nancy 1.
80. Hamadache, A. (2013). Eléments de phytotechnie générale : Grandes Culture-Tom I : Le blé. 1ère édition. Mohamed Amrani. 49-69
81. Hamdan L., (2010). Caractérisation de la communauté fongique.
82. Harlan J.R. (1975) *Crops and man* .Eds Jhon Wiley and Sons .NY.350 Pages

83. Hazmoune T., (1994) . Contribution à la caractérisation de l'appareil racinaire de quelques variétés de blé dur (*Triticum durum* Desf.) en relation avec les composants de rendement. Thèse Magistère. Université, Batna 80p.
84. Higashide E., (1984). The macrolides: properties, biosynthesis and fermentation.
85. Hiltner L., (1904). Über neuer erfahrungen und probleme auf dem gebeit der bodenbakteriologie unter besonderer nerücksichtigung der gründüngung und brache. Arbeiten aus dem Deutschen Landwirtschafts Gesellschaft. 98:59-78.
86. Himabindu M. and Jetty A., (2006). Optimization of nutritional requirements for <http://www.bacterio.cict.fr/>.
87. Hmouni.A., Hajlaoui M.R., Mlaiki A. (1996). Résistance de *Botrytis cinerea* aux
88. Hodgson D. A., (1992). Differentiation in actinomycetes. In: Prokaryotic Structure and Function, Cambridge University Press, Cambridge. (4). 995–1004.
89. Höfte H and Chrispeels M.J., (1992). Protein sorting to the vacuolar membrane. Plant Cell .
90. Hsu M.C., Chen K.W., Lo H.J., Chen Y.C., Liao M.H., Lin Y.H., et Li S.Y.,(2003). Species identification of medically important fungi by use of real-time Light CyclerPCR. Journal of Medical Microbiololgy 52: 1071-1076.
91. Hubert,P.,(1998)- Recueil de fiches techniques d'Agriculture Spéciale 17 : 23-27
92. Hussain S., Ghaffar A., Aslam M., (1990). Biological control of Macrophomina phaseolinacharcoal rot of sunflower and mung bean. J. Phytopathol., 130: 157-160.
93. In Abekhti A., Ben Cheua A., Laarbi Y.,(2013).Les mécanismes de défense d'une céréale contre les attaques des champignons des champs cas des *Fusarium*. Mémoire pour l'obtention du diplôme de License d'état en biologie, Universit de Bacher, Faculté des sciences techniques et des sciences. Algerie. international symposium on lameness in ruminants.  
INRA. *OEPP/EPPO Bull.* 26, p. 697–705.
94. Ioos R., Belhadj A., Mennez M., (2004). Occurrence and distribution of *Microdochium nivale* and *Fusarium* species isolated from barley, durum and soft wheat grains in France from 2000 to 2002 . Mycopathologia. Vol. 158, n°3, 351-362.
95. Iwai Y., and Takahashi Y., (1992). Selection of microbial sources of bioactive compounds" in «The search for bioactive compounds from microorganisms», SpringerVerlag, New York, (Ed.), 281 -302.
96. Jakimowicz D., 2007. Chromosome segregation and cell division durind the growth and differenciation of Streptomyces. Postepy Hig.Med.Dosw. (61): 565-575.Larcier.
97. Jeunot B ; (2005) . Les fusariotoxines sur céréales : détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse : pour obtenir le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université
98. Jouany J.P., (2007). Vaches laitières et mycotoxines, l'étau se resserre. En attendantles outils de dignostic. PLM, 383: p. 46-48.
99. Kalakoutski L. V. and Agre N. S. (1976). Comparative aspects of development and differentiation in actinomycetes. *Bacteriol. Rew.*, 40: 469-525.
100. Kamara V. and Gangwar M., (2015). Antifungal Activity of Actinomycetes from Rhizospheric Soil of Medicinal plants against phytopathogenic fungi. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 4(3): 182-187.

101. Kammoun-Gargouri, L., (2010). La fusariose de l'épi de blé en Tunisie : identification, pathogénie et chémotypage des espèces toxigènes. Thèse de Doctorat, Université de Tunis El Manar, Faculté des sciences de Tunis Département de Biologie. Tunisie.124.
102. Kang M.J., Strap J.L., Crawford D.L., (2010). Isolation and characterization of potent antifungal strains of the *Streptomyces violaceus*niger clade active antagonist *Candida albicans*.*Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37 :35-41.
103. Kang Z., Buchenauer H., (2002). Studies on the infection process of *Fusarium culmorum* in wheat spikes: Degradation of host cell wall components and localization of trichothecene toxins in infected tissue ». *European Journal of Plant Pathology*.Vol. 108, n°7, 653–660.
104. Karou, M., Haffid, R., Smith, D. N., & Samir, K. (1998). Roots and growth water use and water use efficiency of spring durum wheat under early-season drought. *Agronomy*, 18: 181-186.
105. Keith and Seifert D.Sc., (2001).*Systematique of fungal plant disease* .source: [www.BS#Spp.Org.uk](http://www.BS#Spp.Org.uk).
106. Keller N., (2011). The fungal treasure chest: Spore origins? *Fungal Biol. Rev*, 25. 73-77.
107. Kialozafy M., (2016) . Etude morphologique et fonctionnelle des actinomycètes isolés de sol rhizosphérique de *Momordica charantia*. Mémoire en vue de l'obtention de diplôme de Master :Biochimie fondamentale et appliquée, Faculté des Sciences : Université d'Antananarivo, . Madagascar.
108. 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 d'état : Microbiologie appliquée. Algérie : Université Mentouri-Constantine, Faculté des Sciences de la nature et de la vie ; 170.
109. Lacey L. A., Heitzman C. M., Meisch M. et Billodeaux J., (1986). Beecomist (R) applied *Bacillus sphaericus* for the control of rice land mosquitoes. *Ibid.*, 2 : 548-551.
110. Larpent J. P. et Larpent-Gonrgaud M., (1985). Manuel pratique de microbiologie.
111. Larpent J.P., et Larpent Gourgaud, (1997). Mémento technique.Paris,Tec et Doc-Lavoisier,1997. 3<sup>ème</sup> édition.ISBN-2-7430-0163-1.
112. Lechevalier M. P., (1981). Ecological associations involving actinomycetes. In: Actinomycetes. Shaal and Pulverer (Eds.). *Zbl. Bakt. suppl.*, 11, 159-166.
113. Leslie, J.F., Summerell, B.A., (2006). The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishing, Ames USA.
114. Lev-Yadun S., Gopher A. & Abbo S. (2000). The cradle of agriculture. *Science*. 288 : 1602-1603p.
115. Lounaci L., Athmani-Guemouri S., (2014). Action de *Paenibacillus polymyxa* SGK2 sur quelques champignons de la fusariose du blé dur (*Triticum durum*) en Algérie, *Algerien J. Nat. Products* 2:2 35-42.manuel for identification. The Pennsylvania State University Press, University Park.193.
116. Lynch J.M., (1990). Introduction: some consequences of microbial rhizosphere competence for plant and soil. In: *The Rhizosphere*. Ed. J. M. Lynch. pp. 1-10. John Wiley & Sons Ltd, Essex.
117. Mackey J. (1968). Species relations in *Triticum*. *Proc. 2nd International Wheat Genetic Symposium, Hereditas*, 2 : 237-276

118. Madigan M and Martinko J. (2007). *Biologie des microorganismes*, (11th edn) Pearson education. France
119. MADRP., (2015). Observatoire National des filières Agricoles et Agroalimentaires (ONFAA). Bilan de la campagne céréalière 2014/2015.5.
120. Mahanna B., (2002). Impact points for improving forage quality and consistency. In 12<sup>th</sup>
121. Mara. (1992). Le secteur agricole et les perspectives de sa promotion et de son développement. Rapport général de la commission nationale consultative sur l'agriculture. 292.
122. Margalith P.Z. (1992). Pigment microbiology. *Shapman and Hall*. London: 5-114.
123. Mascher, F., Michel, V. et Browne, R. A. (2005). Sélection de variétés de blé et detriticale résistantes à la fusariose sur épi. *Revue suisse Agricole*. 37 (5): 189-194. microbial community structure associated with co-occurring plant species. *Journ of minéralisation de soufre organique dans les rhizosphères de colza et d'orge*. Thèse en sciences Agronomiques. Nancy: Nancy Université, 247. molecule involved in production of aerial mycelium by *Streptomyces coelicolor*. J.
124. Mercado-Blanco J., et Bakker P.A.H.M., (2007). Interactions between plants and beneficial *Pseudomonas* spp.: exploiting bacterial traits for crop protection. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 92: 367-389.
125. Meyer J.Y., (2002). La lutte biologique contre les espèces introduites envahissantes : solution miracle ou méthode risquée? Fiche technique. 16.
126. Morel R. (1996). Les sols cultivés, 2 éd. Paris : *Tech.Doc* :389.
127. Nasraoui B., (2002). Main fungal diseases of food legumes in Tunisia. Principales maladies fongiques des légumineuses alimentaires en Tunisie. Centre de Publication Universitaire, 97 p, Tunisia. (in Arabic, English and French)
128. Nelson P.E., Toussoun T.A. et Marasas W.F.O., (1983). *Fusarium species*. An illustrated
129. Nganje, W., Kaitibie, S., Wilson, W., FL., L., and Bangsund, D., (2004). Economic impacts of Fusarium Head Blight in Wheat and Barley: 1993-2001. *Agribusiness and Applied*
130. Nodwell J.R. and Losick R., (1998). Purification of an extracellular signaling
131. O'Donnell K., Kistler H.C., Cigelnik E., et Ploetz R.C. (1998). Multiple evolutionary origins of the fungus causing Panama disease of banana: Concordant evidence from nuclear and mitochondrial gene genealogies. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* 95: 2044-2049.
132. Omura S., (1992). The search for bioactive compounds from microorganisms.
133. Osborne L. E., Stein J.M., (2007). Epidemiology of Fusarium head blight on small-grain cereals. *International Journal of Food Microbiology* 119: 103-108.
134. Osborne, L. E. et Stein, J. M. 2007. Epidemiology of *Fusarium* head blight on small-grain cereals. *International Journal of Food Microbiology* 119: 103-108.
135. Oskay A., Tamer U. and Azeri C., (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of turkey. *African Journal of Biotechnology*, 9 : 441-446.
136. Ouhdouche Y., Barakate M., Finance C., (2001). Actinomycetes of maroccan habitats: isolation and screening for antifungal activities. *Eur. J. Biol.*, 37: 69-74.
137. Palazzini J.M., Ramirez M.L., Torres, A.M., et Chulze S., 2007. Potentiel biocontrol for *Fusarium* head blight and deoxynevalenol production in wheat. *Crop Protection* 26: 1702-1710.

138. Parikka P., Hakala K., Tilikkala K.,(2012). Expected shifts in *Fusarium* species' composition on cereal grain in Northern Europe due to climatic change. *Food Additives et Contaminants: Part A*.1-13.
139. Paulitz T.C., et Bélanger R.R., (2001). Biological control in greenhouse systems. *Annu.*
140. Paulitz T.C., Smiley R.W., Cook R.J., (2002). Insight into the prevalence and management of soilborne cereal pathogens under direct seeding in the Pacific Northwest, U.S.A. - *Can. J. Plant Pathol.*, 24(4). 416-428.
141. Pauvet P., (1984). Les fusarioses des céréales. *Phytoma*, 202: 15-16. Perspectives agricoles et agroalimentaires Maghrébines Libéralisation et Mondialisation » Alger : 7-9 avril 2007.
142. Perry J.J., Staley J.T. and Lory S., (2004). *Microbiologie*. Dunod, Pais. 497-498.
143. Phytopathogenic Fungi. *Int. J. Boil. Sci.* 4(5):330-337 *Phytopathol.* 43:337-359 plant disease. *Ohio state university extension.* 401-405 pp. *prokaryotes*. Ed: J.H. PARISH. University of California press, Berkeley and Lospromotion and biocontrol by rhizobacteria. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4(4):343-350.
144. Pochon J. et Tradieux P.,(1962) . Technique d'analyse en microbiologie du sol Edition de La tourelle, St Mandé .pp.110-111
145. Prandini A, Sigolo S, Filippi L, Battilani P, Piva G, (2009). Review of predictive models for *Fusarium* head blight and related mycotoxin contamination in wheat. *Food and Chemical Toxicology* 47(5), 927–931.
146. Prapagdee B., Kuekulvong C., Mongkolsuk S., (2008). Antifungal Potential
147. Prescott L. M., Harley J. P. and Klein .D. A., (2003). *Microbiologie*. Paris : De Boeck & Larcier., 1137p
148. Prescott L.M., Harley J.P. and Klein D.A.; (2007). *Microbiologie*. Edition de Boeck
149. Rakotoarimanga N., Zananirina J., Ramamonjisoa D., Ramanankierana H.,(2014). Lutte biologique antifongique : actinomycètes du sol rhizosphérique antagonistes de *Fusarium* isolé du fruit de tomate (*Solanum lycopersicum* L., 1753) pourri. Laboratoire de Biotechnologie et de Microbiologie, Faculté des sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar
150. Ravolomantrarivo A.H.F.,(2015). Propriétés biologiques des souches d'actinomycètes associées a la plante *Ocotea trichophlebia*, lauraceaE endémique de Madagascar. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master en science : Faculté des sciences, université d'Antananarivo Madagascar.
151. Renaud, A. 2014. Depuis 50 ans, l'offre mondiale de céréales s'est régulièrement adaptée à la demande. *Agriste Synthèses – Grandes cultures – Céréales*, Janvier 2014, n. 229/2014, 7p. *Rev. Phytopathol.*, 39:103-133. rhizosphere. *Lynch J. M.*: 11-34.
152. Robert, D., Gate P., et Couvreur F., (1993). Les stades du blé. *Editions ITCF.* 28 p.
153. Robert, D., Gate, P., & Couvreur, F. (1993). Les stades du blé. *Editions ITCF.* 28 p
154. Royo, C., Abaza, M., Blanco, R., and Garcia del Moral. L-F. 2000. Triticale grain growth and morphometry
155. RUEL T., (2006). Document sur la culture du blé, édition Educagri Saint-Hyacinthe.25

156. Samahi Asma(2008), contrôle biologique de la fusariose vasculaire de la tomate causée par la *fusarium oxysporum f.sp lycopersici*.these de Magistère en microbiologie fondamentale . Université d'Oran. 142 pages.
157. Sanglier J.J., et TrujilloM., (1997) Substances bioactives produites par les actinomycètes et stratégie de sélection de souches.Bull Soc Fr Microbiol.12: 13.
158. Sarah, D., Ellis, S.D, Boehm, M.J. (2008). Plants Get Sick Too. An introduction to.
159. Saurav K., et Kannabiran K., (2010). Diversity and optimization of process parameters for the growth of Streptomyces VITSVK9 spp isolated from Bay of Bengal.J of Natural and Environmental Science.2010, 1(2) : 56-65.
160. Sayoud R., Ezzahiri B. et Bouznad Z.,(1999). Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb, Guide Pratique. Projet Maghrébin sur la Surveillance des Maladies et le Développement de Germoplasme Résistant des céréales et des légumineuses Alimentaires. PNUD RAB/91/007 Maroc-Algérie-Tunisie. Trames Ed, Algérie. 64.
161. Sayoud R., Ezzahiri B., Bouznad Z., (1999). Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. ITGC. Alger. 64.
162. Scauftaire J., Gorge M., Callebaut A., Munaut F.,(2012). *Fusarium temperatum* a mycotoxin-producing pathogen of maize. European Journal of Plant Pathology. 2012. Vol. 133, n°4, p. 911-922.
163. Schardl C. L., Leuchtman A. et Spiering M. J., (2004). Symbioses of grasses with seed-borne fungal endophyte. Annual Review of Plant Biology. 55: 315–340.  
Schollenberger M., Drochner W., Mueller H.M., (2007). *Fusarium* toxins of the scirpentriol subgroup: a review .Mycopathologia. Vol. 164, n°3, p. 101-118  
*Science* 166, 1389-1415.
164. Sharma M., (2014). Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 3(2): 801-832.
165. Sharma M., (2014). Actinomycetes: Source, Identification, and Their Applications. International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences. 3(2): 801-832.
166. Shewry P., (2009).Wheat. Journal of experimental botany, 60 (6): 1537.
167. Shirling E.B. and Gottlieb D., (1972). Cooperative description of type strains of
168. Shirling E.B. and Gottlieb D., (1976). Retrospective evaluation of International
169. Shuler M.L., Kargi F., (1992). Bioprocess engineering. New Jersey: Prentice-Hall Inc.
170. Soltner D., 1998. Les grandes productions végétales : céréales, plantes sarclées, prairies. Sainte-Gemme-sur-Loire, Sciences et Techniques Agricoles.
171. Soltner, D., (2005)- La base de la production végétale Tom I. Le sol et son amélioration 24eme Edi. collection science et technique agricole. 472P.
172. Soufiane B., (1998). Isolement à partir de la rhizosphère des conifères de bactéries et d'Actinomycetes antagonistes aux champignons phytopathogènes. Quebec : Université Laval. 60.
173. Source : <http://guelma.piednoir.net/>
174. Source : <http://www.leconews.com/fr/> [consulté le 20 Juin 2017].
175. Source:<http://www.mesmarches.chambagri.fr/menu-horizontal/apprendre-les-marches/marches-physiques/marche-du-ble.html>.

176. Source:[https://www.researchgate.net/figure/263737343\\_fig1\\_Fig-1-Representation-of-the-complex-interactions-that-take-place-in-the-Springer-Verlag,-New-York.-Inc.-281-303](https://www.researchgate.net/figure/263737343_fig1_Fig-1-Representation-of-the-complex-interactions-that-take-place-in-the-Springer-Verlag,-New-York.-Inc.-281-303).
177. Stackebrandt E., Rainey FA., Ward-Rainey NL., (1997). Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *Int J Syst Bacteriol.*, 47:479–491.
178. Stefan M., Munteanu N. et Dunca S., (2012). Plant-microbial interactions in the rhizosphere strategies for plant growth-promotion. *Analele Științifice ale Universității „Alexandru Ioan Cuza”*, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară, TOM XIII.
179. Stefan M., Munteanu N. et Dunca S., (2012). Plant-microbial interactions in the rhizosphere –strategies for plant growth-promotion. *Analele Științifice ale Universității „Alexandru Ioan Cuza”*, Secțiunea Genetică și Biologie Moleculară, TOM XIII
180. Streptomyces Project taxonomy criteria. *Actinomycetes the boundary microorganisms.*
181. *Streptomyces. Intern. J. Syst.* 22: 265-394.
182. Sujatha P., BapiRaju K.V., Ramana T., (2005). Studies on a new marine streptomycete BT-408 producing polyketide antibiotic SBR-22 effective against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbiol. Res.*, 160(2): 119-126.
183. Symons. S, J, Clear. R.M, Bell. K et Butler. C., (2002). Identification des grains de blé et d’orge endommagés par la fusariose de l’épi. 3e édition, Canada.
184. SYNGENTA techniciens de l’agriculture. Stades et variétés de blé, ITGC, Alger : p 22.
185. Tabuc C., (2007). Incidence of Fusarium species and of their toxins in the compound feeds for poultry, International Scientific symposium: Performances and competitiveness in animal production. A avril 2007, Iasi, Roumanie. 26-27.
186. Thakore Y., (2006). The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial*
187. Theilleux J. In Levreau J.I. and Bouix M. (1993). Microbiologie Industrielle. Les microorganismes d’intérêt industriel. Lavosier, Paris. Ch : 6 : 425-481. *Technique et documentation. Lavosier. Paris.*
188. Tomita K., M. Nishito K., Sitoh H., Yamamoto Y., Hashino H., Okhuma M., Konishi T., Miyaki et T. Oki. (1990). Pramimidins A, B and C: new antifungal antibiotics. I. Taxonomy, production and physico-chemical properties. *J. Antibiot.* 43: 755-762.
189. Tony O. ,Stephen N., Robert N., (2015). Common Root Rot and Fusarium Foot Rot of Wheat. Nebguide. University of Nebraska.
190. Trail F., (2009). For blighted waves of grain: Fusarium graminearum in the postgenomics era. *Plant Physiology* 149(1), 103-110.
191. Tremblay L., Simard N., Pagaue D., Riux S., (2012). Pour que on savoir plus sur la fusariose reference. Fédération des producteurs de céréales du Québec. Solution publicité. U69U:1033-1036.
192. Van den Broek D., Chin-A-Woeng T.F.C., Eijkemans K., Mulders, I.H.M., Bloemberg G.V., and Lugtenberg B.J.J., (2003). Biocontrol traits of *Pseudomonas* spp. are regulated by phase variation. *Mol. Plant–Microbe Interact.*, 16: 1003–1012.
193. Vinale F., Sivasithamparam K., et Ghisalberti E. L., (2008). Trichoderma-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry* 40: 1-10.

194. Vining L.C., (1992). Secondary metabolism: Inventive evolution and biochemical.
195. Wadley G., Martin A. 1993. The Origins of Agriculture, A Biological Perspective and New Hypothesis. *Australian Biologist* 6: 96-105.
196. Wagacha J.M., Muthomi J.W., (2007). *Fusarium culmorum*: Infection process, mechanisms of mycotoxin production and their role in pathogenesis in wheat. *Crop Protection* 26, 877-885.
197. Waksman S.A. (1959). The actinomycetes: nature, occurrence and activities. Baltimore. v1:29-46.
198. Wall A.M., Ripley R. & Gale M.D. (1971). The position of a locus on chromosome 5B of *Triticum aestivum* affecting homoeologous meiotic pairing. *Genet Res.* 18: 329 - 339 p
199. Westover K.M., Kennedy A.C., Kelleys S.E., (1997). Patterns of rhizosphere
200. Willams S.T., Cross T., (1971). *Methods in microbiology*. Academic press, Londre. 4: 295-334.
201. Wollenweber HW, Reinking O.A., (1935). *Die Fusarien, ihre Beschreibung, Schadwirkung und Bekämpfung*. Berlin: Paul Parey.
202. Xu XM, Nicholson P, 2009. Community ecology of fungal pathogens causing wheat head blight. *Annual Review of Phytopathology* 47, 83–103.
203. Yuen G. Y., et Schoneweis S. D., (2007). Strategies for managing *Fusarium* head blight
204. YOUCEF-ALI Mounia (2014). Etude de l'activité anti-*Candida albicans* des microorganismes isolés à partir du sol des zones arides. Thèse de Doctorat en Bioprocédés et Biotechnologie, Applications Mycologiques. Université Constantine 1. 193p
- 205.
206. Zillinsky, F.J., (1983). *Maladies communes des céréales à paille. Guide d'identification*
207. Zitouni A., Boudjella H., Lamari L., Badji B., Mathieu F., Lebrihi A., 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

## **Annexe 1**

### **Composition des milieux de cultures**

#### **Gélose nutritive**

10g Peptone

5g Extrait de viande

5g Chlorure de sodium

15g Gélose

pH 7.2, autoclaver 20 minutes à 120°C (Guiraud, 1998)

#### **Milieu PDA**

Laver et couper en petits cubes 200g de pommes de terre non pelées. Les mettre dans un litre d'eau distillée et porter à l'ébullition pendant une heure. Ecraser, filtrer et compléter un litre.

Composition du milieu finale :

1000ml Extrait de pomme de terre

20g Glucose

15g Agar

Stériliser 30 minutes à 110°C (Larpen, 1997)

#### **Milieu GLM**

3g Extrait de levure

3 g Extrait de malt

5g Peptone

10 g Glucose

Eau distillée 1000 ml

20 g Agar

pH = 7,2

**Milieu ISP 2**

4g Extrait de levure

10 g Extrait de malt

4 g Glucose

1000 ml Eau distillée

20 g Agar

pH = 7,3

**Milieu ISP 7**

15 g Glycérol

1 g L-Asparagine

0,5 g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>

0,5 g NaCl

0,01 g FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O

1000 ml Eau distillée

20 g Agar

pH = 7,2-7,4

## **Annexe 2**

### **Milieu pour les tests enzymatiques**

#### **Milieu ISP9**

2.64g (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>  
2.38g KHPO<sub>4</sub>  
5.65g K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>·3H<sub>2</sub>O  
1g MgSO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O  
1ml Solution saline  
1000ml Eau distillée  
pH=6,7-8

#### **Milieu gélatine**

10g Peptone  
4g Extrait de viande  
2.5g Sodium de chlorure  
120g Gélatine  
pH=6.8 à 7

#### **Milieu Citrate de Simmons**

1g Citrate de sodium  
5g Chlorure de sodium  
200mg Sulfate de magnésium  
1g Dihydrogénophosphate d'ammonium  
80mg Monohydrogénophosphate de potassium  
1g Bleu de bromotyymol  
Agar 13g

#### **Milieu Protéase (lait gélosé)**

La préparation du milieu s'effectue de la manière suivante :

Flacon 1 : 13.5 g d'agar sont ajoutés à 600ml d'eau distillée et sont bien mélangés.

Flacon 2 : 10.5 g de l'ait en poudre sont ajoutés à 350ml d'eau distillée et sont bien mélangés.

Les deux flacons sont portés pour autoclavage à 121°C pendant 15min.

Après autoclavage et refroidissement, le contenu des deux flacons est bien mélangé et répartie en tube (Youcef Ali 2014)

**Solution saline 2**

0,64 g CuSO<sub>4</sub> 5H<sub>2</sub>O

0,11 g FeSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O

0,79 g MnCl<sub>2</sub> 4H<sub>2</sub>O

0,15 g ZnSO<sub>4</sub> 7H<sub>2</sub>O

100ml Eau distillée

## Résumé

La pourriture racinaire, pourriture du pied, fusariose du pied, pourriture des racines sèches, ou encore pourriture commune sont des appellations décrivant la même maladie. Cette maladie qui affecte les cultures du blé se manifeste suite aux attaques des champignons phytopathogènes du genre *Fusarium*, et représente une maladie répandue dans tous le Maghreb et en Algérie. L'importance des dégâts est intimement liée au type de culture, à la région et surtout aux conditions climatiques.

Dans le cadre de recherche des agents de lutte biologique de la maladie citée auparavant, l'exploration du sol en provenance de lac salé de Ain Mlila a abouti à l'obtention de quarante-quatre isolats bactériens, dont environ 18 % sont sélectionnés pour leur potentiel à inhiber la croissance des deux champignons phytopathogènes, en l'occurrence, *Fusarium sp* et *F. culmorum*. Le taux d'inhibition par ces isolats bactériens sur la croissance des champignons *Fusarium sp* et *F. culmorum* a varié respectivement, de 31.25 % à 62.5 et de 25% à 62.5 % selon l'isolat bactériens. Ceci révèle l'importance de certaines souches sélectionnées dans ce travail.

Ces résultats n'ont pas élucidés les mécanismes d'antagonismes par lesquels ces isolats ont inhibé le développement des champignons phytopathogènes, cependant, il a été clairement démontré que la cohabitation entre les isolats inhibiteurs et les champignons phytopathogènes n'est pas possible. Cette situation pourrait être exploitée pour des futures luttes biologiques contre ces agents phytopathogènes.

La caractérisation morphologique et l'étude des caractéristiques enzymatiques de ces isolats bactériens qu'ont montré une diversité métabolique importante, ont permis de les attribuer au groupe des actinomycètes et de les rapprocher du genre *Streptomyces*.

**Mots clés :** Actinomycètes, Blé, *Fusarium*, Pied fusarien du blé, Pourriture racinaire, Lutte biologique.

## Summary

The rot root, Rot of the foot, fusariose of the foot, rot of the dry roots, or common rot are names describing the same disease. This disease which affects the cultures of wheat expresses following the attacks of the phytopathogenes fungi of the *Fusarium* kind, and represents a disease answered in all Maghreb and in Algeria. The importance of the damage is closely related on the type of culture, the area and especially to the climatic conditions.

Within the framework of research about the agents of biological fight of the disease quoted before, the exploration of the ground coming from salted lake of Ain Mlila is allowed to obtaining forty-four bacterial isolates, of which approximately 18 % are selected for their potential to inhibit the growth of the two phytopathogenes fungi in fact, *Fusarium sp* and *F. culmorum*. The rate of inhibition by bacterial isolates on the growth of the fungus *Fusarium sp* and *F. culmorum* varied respectively, of 31.25 % to 62.5 % and 25% to 62.5 % according to the isolate bacterial. This reveals the importance of certain stocks selected in this work.

These results did't elucidate the mechanisms of antagonisms by which these isolates inhibited the development of the phytopathogenes fungi, however, it was clearly shown that the cohabitation between the inhibiting isolates and the phytopathogenes fungi is not possible. This situation could be exploited for future biological fights against these phytopathogenes agents.

The morphological characterization and the study of the enzymatic characteristics of these bacterial isolates that showed a significant metabolic diversity, made it possible to allot them to the group of the actinomycètes and to bring them closer the *Streptomyces* kind.

**Key words:** Actinomycètes, , *Furarium* foot rot of wheat, Root rot, Biological fight, *Fusarium*.

## ملخص

تعفن الجذور – تعفن القدم، فيزار يوز القدم، تعفن الجذور الجاف أو العديد من الأعفان مشتركة التسمية لنفس المرض. حيث يظهر هذا المرض عند هجوم الفطريات الممرضة النباتية من صنف الفيزاريوم، ويتواجد هذا المرض في كامل مناطق المغرب والجزائر. هذا المرض يصيب زراعة القمح. تكمن درجة خطورة المرض في نوع الزراعة، المنطقة وخاصة الظروف المناخية.

في إطار البحث عن عوامل المقاومة البيولوجية للمرض المذكور أعلاه أنفا فإن تحليل التربة المجلوبة من منطقة السبخة بعين مليلة انتهى بالحصول على 44 سلالة بكتيرية وحوالي 18% اختيرت لقدرتها على تثبيط عزلتين من الفطريات الممرضة للنبات (*F.culmorum* ، *Fusarium sp.*) نسبة تثبيط السلالات البكتيرية لنمو الفطريات (*F.culmorum* ، *Fusarium sp.*) تتراوح بالترتيب من 31.25% إلى 62.5% ومن 25% إلى 62.5% حسب السلالات البكتيريا.

هذه النتائج لم توضع ميكانيزم العامل المضاد من خلال العزلات التي تثبط تطور الفطريات الممرضة للنبات. و لكن تبين بوضوح ان التعايش بين السلالات المثبطة والفطريات الممرضة للنباتات غير الممكنة. ان الخصائص المورفولوجية ودراسة الخصائص الأنزيمية للسلالات البكتيرية يثبت تنوع مهم في الميتابوليزم. هذه المعلومات سمحت بتثبيتها في مجموعة الأكتينوميستات وقربها من صنف *Streptomyces*

**الكلمات المفتاحية:** الأكتينوميستات القمح، القدم الفيزروني للقمح، تعفن الجذور ،المقاومة البيولوجية ،الفيزاريوم .

<b>Nom et prénom : BOUCHAIB Asma FARES Ramila</b>	
<b>Titre : Recherche de bactéries développant une activité antagoniste Vis -à- vis des agents de la pourriture racinaire de blé dur</b>	
<b>Diplôme : Master Biotechnologie des Mycètes / Fermentation et production de substances fongiques.</b>	
<b>Résumé</b> <p>La pourriture racinaire, pourriture du pied, fusariose du pied, pourriture des racines sèches, ou encore pourriture commune sont des appellations décrivant la même maladie. Cette maladie qui affecte les cultures du blé se manifeste suite aux attaques des champignons phytopathogènes du genre <i>Fusarium</i>, et représente une maladie répandue dans tous le Maghreb et en Algérie. L'importance des dégâts est intimement liée au type de culture, à la région et surtout aux conditions climatiques.</p> <p>Dans le cadre de recherche des agents de lutte biologique de la maladie citée auparavant, l'exploration du sol en provenance de lac salé de Ain M'Lila a abouti à l'obtention de quarante-quatre isolats bactériens, dont environ 18 % sont sélectionnés pour leur potentiel à inhiber la croissance des deux champignons phytopatogènes en l'occurrence, <i>Fusarium sp</i> et <i>F. culmorum</i>. Le taux d'inhibition par ces isolats bactériens sur la croissance des champignons <i>Fusarium sp</i> et <i>F. culmorum</i> a varié respectivement, de 31.25 % à 62.5 et de 25% à 62.5 % selon l'isolat bactériens. Ceci révèle l'importance de certaines souches sélectionnées dans ce travail.</p> <p>Ces résultats n'ont pas élucidé les mécanismes d'antagonismes par lesquels ces isolats ont inhibé le développement des champignons phytopathogènes, cependant, il a été clairement démontré que la cohabitation entre les isolats inhibiteurs et les champignons phytopathogènes n'est pas possible. Cette situation pourrait être exploitée pour des futures luttes biologiques contre ces agents phytopathogènes.</p> <p>La caractérisation morphologique et l'étude des caractéristiques enzymatiques de ces isolats bactériens qu'ont montré une diversité métabolique importante, ont permis de les attribuer au groupe des actinomycètes et de les rapprocher du genre <i>Streptomyces</i>.</p>	
<b>Mots clés :</b> Actinomycètes, Blé, <i>Fusarium</i> , Pied fusarien du blé, Pourriture racinaire, Lutte biologique.	
<b>Laboratoire de recherche :</b> Laboratoire de Mycologie, Biotechnologie et de l'Activité anti Microbienne (LaMyBAM)	
<b>Jury d'évaluation</b>	
<b>Président :</b> Mme. MIHOUBI Ithem	Professeur. Université Constantine 1.
<b>Rapporteur :</b> Mr KACEM – CHAOUICHE Nouredine	Professeur. Université Constantine 1.
<b>Examinatrice</b> Mme. CHERFIA Radia	MAA.Université Constantine 1.