



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 en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Biologie Moléculaire des Microorganismes*

Intitulé

***Isolement des souches d'Actinomycètes à partir du sol inondé,
développant une activité antagoniste, in vitro et in vivo, vis-à-vis
des agents responsables de la Fusariose racinaire de blé dur.***

**Présenté par
AIOUNE Hanane**

Soutenu le : 24.06.2018

Jury d'évaluation :

Président : Pr. DEHIMAT, L.

Université des Frères Mentouri. Constantine 1.

Rapporteur : Pr. KACEM CHAOUICHE, N.

Université des Frères Mentouri. Constantine 1.

Examineur : Pr. HAMIDECHI, A.

Université des Frères Mentouri. Constantine 1.

Tutrice : M^{elle}. ALLOUN, W.

Doctorante au LaMyBAM U.F.M.Constantine1.

Année universitaire 2017 - 2018

Remerciements

Éloge et reconnaissance à Dieu tout puissant qui m'a donnée la bravoure, la volonté et la patience pour effectuer ce travail.

Je tiens à exprimer mes profonds remerciements à Monsieur le président du jury, Pr DEHIMAT, Doyen de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Pour m'avoir honorée en présidant le jury de ce mémoire malgré ses nombreuses préoccupations. Il m'est agréable de lui exprimer ma sincère gratitude, et mon profond respect pour sa confiance et son encouragement.

Mes remerciements les plus sincères à Monsieur le Pr. KASSEM CHAOUCHE, Chef de Département de Biologie Appliquée, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, pour son encadrement, sa confiance, sa patience, ses conseils et pour avoir accepté de m'accueillir au sein du laboratoire (LaMyBAM).

Également, je remercie vivement Monsieur le Pr. HAMIDECHI, qui a bien voulu faire partie de cet honorable jury, et pour l'intérêt qu'il a porté à ma recherche, en acceptant d'examiner ce travail et de l'enrichir par ses remarques et ses propositions.

Je remercie du fond du cœur, la tutrice, doctorante M^{lle} ALLOUN, qui a cru en moi pour mener à bien cette recherche, pour son aide, ses encouragements et ses suggestions pour réaliser un travail de valeur.

À Monsieur le Pr FERHATI, chef de Département de Microbiologie, ainsi que toute l'équipe de son département pour leur aide et leur soutien afin que je puisse réaliser ce travail.

J'exprime mes sincères remerciement à M^{me} KARA ALI, Maître de conférences A, pour son aide et son soutien ainsi que sa disponibilité. Également je remercie tout le personnel du Département de Biologie appliquée et tous les membres du laboratoire (LaMyBAM).

Je remercie sincèrement le directeur de la DSA de la Wilaya de Constantine, ainsi que son personnel, notamment M^{me} SAGVOUAT, M^{me} SENAH et M^{me} CHAOUCHI, également le personnel de l'OAIC d'El Khroub, qui ont été tous très serviables, et très généreux en me communiquant des informations et en me donnant les échantillons nécessaires pour la réalisation de ce travail.

Finally, mes remerciements s'adressent à toute personne a participé de loin ou de près à la réalisation de ce travail.

Merci

Dédicace :

*À ceux qui me sont les plus chers
À ceux qui ont toujours cru en moi
À ceux qui m'ont toujours encouragée
Je dédie ce travail*

À Mes chers parents

À mes frères

À mes sœurs

À mon neveu

À mes nièces

À mes amies

À mes collègues

Hanane

Table des matières

- Liste des abréviations	
- Liste des figures	
- Liste des tableaux	
- Introduction	01
Revue bibliographique	
1- Le blé	04
1.1- Historique	04
1.2- Origine et classification des blés cultivés	04
1.3- Valeur et importance nutritionnelle du blé	06
1.4- Production de blé dur	06
1.4.1- Production mondiale de blé dur	06
1.4.2- Production de blé en Algérie	07
1.5- Caractéristiques biologiques de blé dur	08
1.5.1- Morphologie et physiologies de la plante de blé dur	08
1.5.1.1- Appareil aérien	08
1.5.1.2- Appareil racinaire	08
1.5.2- Cycle de développement du blé	09
1.5.2.1- Période végétative	10
1.5.2.2- Période reproductrice	11
1.5.2.3- Période de formation et de maturation du grain	12
1.5.3- Exigences du blé	12
1.5.3.1- Exigences en sols	12
1.5.3.1.1- <i>Texture du sol (matière organique et matière minérale)</i>	12
1.5.3.1.2- <i>Microorganismes de la rhizosphère</i>	13
1.5.3.1.3- <i>Interaction microorganismes et racines de la plante du blé</i>	13
1.5.3.1.4- <i>Relation Système racine - développement de la plante du blé</i>	15
1.5.3.2- Exigences en eau	15

1.5.3.3- Exigences en températures	15
1.5.3.4- Exigences en photopériode	15
1.5.4- Facteurs limitant la production du blé dur	16
1.6- Pathologies de la plante du blé	16
1.7- Caractérisation de la fusariose du pied chez le blé	17
1.7.1- Impact économique de la fusariose	17
1.7.2- Généralité sur la fusariose du pied	17
2- Agent causal de la fusariose racinaire	18
2.1- Morphologie et physiologie du genre <i>Fusarium</i>	18
2.1.1- <i>F. culmorum</i>	19
2.1.2- <i>F. oxysporum</i>	20
2.2- Taxonomie et classification des <i>Fusarium</i>	21
2.3- Identification du genre <i>Fusarium</i>	22
2.3.1- Identification morphologique	22
2.3.2- Identification biochimique	23
2.3.3- Méthodes de biologie moléculaire	23
2.4- Potentiel toxigène	23
2.4.1- Habitats	24
2.4.2- Cycle de la Fusariose	25
2.4.3- Lutte contre la Fusariose	26
3- Actinomycètes, agents de lutte biologique contre la Fusariose racinaire du blé	27
3.1-Taxonomie des Actinomycètes	27
3.2-Écologie et distribution dans la nature	28
3.3-Caractéristiques culturales et morphologiques	29
3.4- Cycle de développement (l'exemple typique <i>Streptomyces spp.</i>)	29
3.5- Exigences écologiques	30
3.5.1-Taux d'humidité	31
3.5.2- Température	31
3.5.3. pH	31

3.5.4- Rapports avec l'oxygène	31
3.5.5- Matière organique	31
3.6- Actinomycètes comme agents de lutte biologique	31
3.7- Génome	32
Partie expérimentale	
Matériel et méthodes	33
Préambule	33
Première partie	33
1- Matériel fongique	33
1.1- Source et origine des agents phytopathogènes	33
1.2- Vérification d'isolats fongiques	33
1.3- Conservation des souches fongiques	34
1.4- Vérification des souches fongiques	34
1.4.1- Étude Macroscopique	34
1.4.2- Étude Microscopique	34
2- Provenance et origine des isolats bactériens	35
2.1-Présentation de la zone d'échantillonnage	36
2.2- Description des échantillons explorés	37
2.3- Mesure du pH des échantillons	37
3- Isolement des Actinomycètes	37
3.1- Isolement par la méthode de suspension-dilution	37
3.2- Réactivation des souches S13, S13'	38
3.3- Purification des isolats bactériens	38
3.4- Conservation des isolats	38
4- Sélection des isolats d'Actinomycètes producteurs de métabolites à activité anti-fusarienne	38
4.1- Technique des cylindres d'Agar	39
4.2- Méthode de confrontation directe en boîtes de Pétri (technique de trait)	40

5- Étude caractéristique des isolats d'Actinomycètes pourvues d'activité anti-fusarienne	41
5.1- Caractérisations morphologiques	41
5.1.1- Caractères macroscopiques	41
5.1.2- Caractères microscopiques	41
5.2- Caractérisations biochimique des isolats d'Actinomycètes	42
5.2.1- Utilisation des glucides comme seule source de carbone	42
5.2.2- Utilisation du citrate comme seule source de carbone	43
5.2.3- La réduction des nitrates	43
5.2.4- Recherche de la production d'indole	43
5.2.5- Recherche de l'uréase	44
5.2.6- Recherche de la catalase	44
5.2.7- Recherche de la gélatinase	44
5.2.8- Recherche de l'activité amylasique	44
5.2.9- Hydrolyse de la caséine	44
5.2.10- Coagulation ou peptonisation du lait écrémé	45
5.2.11- Production des Pigments mélanoïdes	45
5.2.12- Détermination du type respiratoire	45
Deuxième partie	45
6- Étude du pouvoir antagoniste des isolats d'Actinomycètes in vivo (in planta)	45
6.1- Matériel végétal	45
6.1.1- Désinfection des graines du blé	46
6.1.2- Pré-germination des graines du blé	47
6.1.3- Préparation de l'inoculum du <i>Fusarium</i>	47
6.1.4- Préparation de l'inoculum d'Actinomycètes	47
6.1.5- Traitement du sol	47
Résultats et discussion	
Première partie	51
1- Vérification et purification d'isolats fongiques	51

1.1- Identification morphologique des isolats des <i>Fusarium</i>	51
2- Isolats d'Actinomycètes	54
2.1- Mesure du pH des échantillons	54
2.2- Isolement et purification des Actinomycètes	54
3- Sélection des isolats d'Actinomycètes producteurs de métabolites à activité anti-fusarienne <i>in vitro</i>	56
4- Étude caractéristique des isolats d'Actinomycètes pourvues d'activité anti-fusarienne	63
4.1- Caractérisations morphologiques	63
4.2- Caractérisations biochimique des isolats d'Actinomycètes	66
Deuxième partie	69
5. Étude du pouvoir antagoniste des isolats d'Actinomycètes <i>in vivo</i> (in planta)	69
5.1- Pré-germination	69
5.2- Préparation de l'inoculum du <i>Fusarium</i> et des Actinomycètes	69
5.3- Traitement du sol	69
- Conclusion et perspective	74
- Références bibliographiques	75
- Annexes	
- Résumés	

Liste des abréviations

- **CNCC** : Centre national de contrôle et de Certification des semences et des plants.
- **DSA** : Direction des services agricoles
- **Desf** : Desfontaines
- **FAO** : Food and Agriculture Organization of the United Nations
- **ITCF** : Institut Technique des Céréales et des Fourrages
- **ITGC** : Institut Technique des Grandes Cultures
- **LaMyBAM** : Laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne
- **MADRP** : Ministère de l'Agriculture, du Développement Rural et de la Pêche
- **OAIC** : Office Algérien Interprofessionnel des Céréales
- **ONAFAA** : Observatoire National des Filières Agricoles et Agroalimentaires
- **PDA** : Potato Dextrose Agar
- **PNDA** : Plan National de Développement Agricole
- **qx** : Quintaux
- **SAU** : Surface agricole utile

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure1	Schématisation de l'histoire évolutive des blés (Taulemesse, 2015).	05
Figure 2	Le total de la production nationale des céréales pour la campagne 2016/2017 (Source ONAFAA à partir du MADRP).	07
Figure 3	Cycle de développement du blé (Henry et De Buyser, 2000).	12
Figure 4	Interactions entre plante et microorganismes rhizosphérique	14
Figure 5	Les stades de sensibilité aux maladies chez le blé (Agridis <i>et al.</i> , 2015)	17
Figure 6	Terminologie décrivant la morphologie du <i>Fusarium</i> (de Hoog <i>et al.</i> , 2011)	19
Figure 7	Caractéristiques de <i>Fusarium culmorum</i> , (x7500) .1- <i>F. culmorum</i> a- macrophialides et macroconidies ; b- macroconidies ; chlamydospores (Botton <i>et al.</i> , 1985)	20
Figure 8	Caractéristiques de <i>Fusarium oxysporum</i> .2 - <i>Fusarium oxysporum</i> : 2a -macrophialides ; 2b -macroconidies ; 2c -microphialides et microconidies 2d- chlamydospores (Botton <i>et al.</i> , 1985).	20
Figure 9	La contamination (Fusariose des blés © ITCF. Décembre 1999) (ITCF, a été rebaptisé par l'Institut du végétal).	26
Figure 10	Cycle de développement des <i>Streptomyces</i> sur milieu solide (Hopwood <i>et al.</i> , 1985).	30
Figure 11	Technique de culture sur lamelle (Holt <i>et al.</i> , 1994).	35
Figure12	Localisation géographique du Lac Oubeira par satellite (Google earth27/05/2018)	36
Figure13	Site d'échantillonnage, lac Oubeira, ville d'El-Kala, Wilaya d'El-Taref	37
Figure 14	Confrontation à équidistance entre <i>F. oxysporum</i> ou <i>F. culmorum</i> et une souche d'Actinomycète (technique de cylindre d'agar).	40
Figure 15	Boîte témoin négatif <i>F. oxysporum</i> ou <i>F. culmorum</i> , en absence de l'antagoniste.	40
Figure 16	Confrontation directe du <i>F oxysporum</i> ou <i>F. culmorum</i> et une souche d'Actinomycète (technique de trait)	41

Figure17	Lots de pots préparés pour chaque variété de blé dur (Cirta et Gta dur) F1: <i>F. oxysporum</i> , F2: <i>F. culmorum</i> , (SA27, SA28, SA29, 13, 13') isolats d'Actinomycètes	48
Figure18	Potentiel d'activité antifongique des Actinomycètes sélectionnés (Technique de cylindre d'agar)	61
Figure 19	Potentiel d'activité antifongique des Actinomycètes sélectionnés (Technique de trait)	62
Figure20	Développement des graines après 42 jours du semis	70
Figure 21	Racines du blé : A. racine saine, B. racine atteinte de la Fusariose	70
Figure 22	Pourcentage des symptômes chez la variété « Cirta »	71
Figure 23	Pourcentage des symptômes chez la variété « Gta dur »	72

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Classification systématique du blé dur (<i>Triticum durum</i>).	05
Tableau 2	Superficie emblavée et productions obtenues des 06 dernières années, wilaya de Constantine Selon les statistiques de la DSA Constantine.	08
Tableau3	Stades de développement des céréales. Échelles de : Feekes, (1941) et Zadoks, (1974).	10
Tableau 4	Nombre des microorganismes du sol sur une profondeur de 0 à 15 cm (Hoorman et Islam, 2010).	13
Tableau 5	Les principales maladies cryptogamiques du blé (Ezzahiri, 2001).	16
Tableau 6	Différentes sections et espèces des <i>Fusaria</i> selon les principaux systèmes taxonomiques (Jeunot, 2005).	22
Tableau 7	Mycotoxines produites par les <i>Fusarium</i> (Ballois, 2012).	24
Tableau 8	Traitement chimique contre la Fusariose du pied chez le blé (Nasraoui, 2006)	26
Tableau 9	Répartition de quelques genres d'Actinomycètes par type d'habitat (Goodfollow et Williams, 1983).	28
Tableau10	Caractéristiques de deux variétés de blé dur Cirta et Gta dur (CNCC, 2015)	46
Tableau11	Caractères macroscopiques des espèces test de <i>Fusarium</i>	51
Tableau12	Caractères macroscopiques des <i>Fusarium</i> observés aux microscopes	52
Tableau13	Résultats de l'examen microscopique des <i>Fusarium</i>	53
Tableau14	Résultats de l'examen microscopique des isolats d'Actinomycètes	55
Tableau15	Test d'activité antifongique des Actinomycètes, vis-à-vis, <i>F. oxysporum</i>	57
Tableau16	Test d'activité antifongique des Actinomycètes, vis-à-vis, <i>F. culmorum</i> .	59
Tableau17	Pourcentage d'inhibition des isolats d'Actinomycètes sélectionnés vis-à-vis, <i>Fusarium oxysporum</i> . et <i>F. culmorum</i> (Technique de cylindre d'agar).	60
Tableau18	Pourcentage d'inhibition des isolats d'Actinomycètes sélectionnés vis-à-vis <i>Fusarium oxysporum</i> . et <i>F. culmorum</i> (Technique de trait)	61

Tableau19	Caractères culturaux des isolats bactériens	64
Tableau20	Caractères microscopiques des isolas d'Actinomycètes	64
Tableau21	Caractères biochimiques des isolats d'Actinomycètes	66
Tableau22	Pourcentage des symptômes chez la variété « Citrta »	71
Tableau23	Pourcentage des résultats Gta dur	72

Introduction

Introduction

Introduction

Les céréales, sont les principales cultures qui nourrissent les êtres humains, ce sont également les ressources essentielles qui ont conduit à l'émergence de la civilisation humaine telle que nous la connaissons aujourd'hui (Gustafson *et al.*, 2009). Parmi ces céréales, le blé *Triticum spp*, est considéré comme l'une des premières céréales cultivées dans le monde, occupant la première place dans la production mondiale, et la deuxième place après le riz comme étant une source de nourriture pour les humains (Clerget, 2011), avec une production moyenne égale à 700 millions de tonnes durant la campagne 2016-2017 (FAO, 2017).

En Algérie, le blé dur, *Triticum durum* (Desf), représente la première céréale cultivée en Algérie (Hamadache *et al.*, 2002), il occupe 45% des emblavures céréalières divisées en trois régimes d'humidité : humide, semi-humide et aride. À titre indicatif, durant la campagne 2016-2017, le blé dur a représenté 57% de la production céréalière, avec une production égale à 20.03 millions qx (ONAFAA, 2017). À ce propos, le secteur de la céréaliculture en Algérie a connu des réformes fondamentales afin de parvenir à l'organisation et la régulation de la filière céréalière (Anonyme, 2018). Depuis les réformes établies en 2000 par le Ministère de l'Agriculture, du développement rural et de la pêche (M.A.D.R), qui rentrent dans le cadre du Plan National de Développement Agricole, l'objet principal de l'État algérien est d'assurer un développement durable de la sécurité alimentaire du pays, une compétitivité accrue de l'agriculture et une intégration progressive dans l'économie mondiale (Kellou, 2008).

Malgré ces démarches appliquées par l'État, l'Algérie connaît une dépendance chronique à l'importation de produits céréaliers particulièrement le blé dur, ainsi l'encouragement de cette culture en vue de réduire cette dépendance n'a pas vraiment abouti aux résultats escomptés (Bellatreche et Gaouar, 2016). À l'instar de toutes les céréales, la production du blé en Algérie, demeure toujours irrégulière et semble avoir un lien étroit à un certain nombre de facteurs défavorables (Ouffroukh, 2014). La cause principale de la faiblesse de la production du blé est due au faible niveau de rendement (productivité) obtenu, ce rendement est également soumis à des contraintes humaines, abiotiques et biotiques (Hamadache *et al.*, 2002).

Introduction

Le blé est sujet de nombreuses contraintes biotique, notamment les maladies cryptogamiques, qui peuvent occasionner des pertes importantes atteignant le rendement, et la qualité des grains, lorsque les conditions de l'environnement sont favorables pour l'agent pathogène, et quand les variétés utilisées sont sensibles (Eyal *et al.*, 1987). Une des maladies cryptogamiques les plus redoutables, qui attaquent le blé à différents stade de son développement est la pourriture racinaire (Ezzahiri, 2001), c'est une maladie tellurique causée par des champignons habitants le sol (Zahri *et al.*, 2013) et qui constituent un complexe fongique de différentes espèces d'agents pathogènes appartenant au genre *Fusarium* (Nekache-Abdallah, 2013).

Afin de lutter contre la fusariose du pied de blé, différents moyens ont été envisagés ; particulièrement les traitements chimiques, qui ont connu une grande application dans le contrôle de cette maladie. Cependant, il n'existe pas actuellement une possibilité de lutte chimique efficace contre cette maladie fongique (Salama *et al.*, 2016). Les problèmes inhérents à l'utilisation des ces pesticides persistent toujours (Nekache-Abdallah, 2013), également, la plupart de ces produits chimiques utilisés présentent une toxicité pour les utilisateurs qui se trouvent en contact direct avec ces substances de préservation (Lounaci et Athmani-Guemouri, 2014). De telle situation, justifie l'apparition de nouveaux axes de recherches menées dans ce domaine, qui tendent à mettre en application de nouvelles méthodes de lutte moins nuisibles pour l'environnement et la santé humaine (Ghezlaoui, 2016).

Dans un tel contexte, de nouvelles perspectives s'ouvrent dans le domaine de la lutte contre les phytopathogènes des céréalicultures. Elles résident dans l'exploitation dirigées des antagonismes microbiens afin d'enrayer le développement d'agents pathogènes et d'éliminer les dégâts causés par ces derniers (Nekache-Abdallah, 2013). Plusieurs cas d'antagonistes semblent très encourageants et très convaincants dans la voie de lutte contre la fusariose du blé (Colin et Pussemier, 1984). Parmi ceux-ci, le groupe d'Actinomycètes, constitue l'un des groupes bactériens les plus étudiés pour le dépistage de nouvelles molécules bioactives (Boudjella *et al.*, 2014), principalement contre les mycètes phytopathogènes du sol (Djaballah, 2010). A priori, tant que les phytopathogènes responsables de la fusariose du pied sont susceptibles d'être contrôlés et enrayerés par les antagonismes des actinomycètes. Peut-on dès lors envisager que cette forme de lutte biologique ou de biocontrôle se substituera ultérieurement aux traitements phytopharmaceutiques d'origine chimique, notamment les fongicides ?

Introduction

L'objectif principal de ce travail, est la mise en évidence du potentiel d'Actinomycètes provenant d'écosystèmes de l'Est de l'Algérie, à savoir : le sol de la sebkha d'Ain Mlila (lac salé), et du lac Oubeira à El Kalla, à inhiber, *in vitro* et *in vivo*, le développement de deux espèces fongiques : *Fusarium oxysporum* et *Fusarium culmorum* agents phytopathogènes, responsables de la fusariose racinaire du blé ; dans un but de les utiliser ultérieurement comme des agents de biocontrôle en culture de blé dur.

Ce travail se subdivise en deux parties : Une synthèse bibliographique et une partie expérimentale qui a été réalisée au niveau du laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM), au niveau du laboratoire de microbiologie (FSNV) et au niveau de la serre en verre à Chaabet Errassas, université des Frères Mentouri, Constantine1. La démarche suivie passe par deux étapes principales:

➤ La première étape consiste à l'étude et à l'évaluation, *in vitro*, de l'activité antagoniste d'isolats d'Actinomycètes, vis-à-vis, deux mycètes phytopathogènes *Fusarium oxysporum* et *Fusarium culmorum*, responsables de la fusariose racinaire du blé dur.

➤ La deuxième étape repose sur une étude complémentaire réalisée, *in vivo*, chez deux variétés de blé dur « Cirta et GTA dur », afin d'évaluer la persistance du pouvoir antifusarien des d'Actinomycètes isolés dans la première étape du travail. Et enfin, la mise en évidence d'éventuelle potentialité de phytostimulation exercée par ces bactéries sur le développement végétatif des variétés de blé dur étudiées.

Revue bibliographique

1. Le blé

1.1- Historique

De la civilisation « de nomade » jusqu'à la civilisation d' « agriculteurs sédentarisés », le blé dur fut le résultat de la succession de plusieurs étapes de domestication progressive de graminées cultivées: la collecte, la culture et la domestication (Feillet, 2000 ; Bonjean, 2001; Mazoyer, 2011) qui a évolué durant des centaines d'années (Weiss *et al.* 2006 ; Sonnante *et al.*, 2009).

La culture préliminaire du blé se situa entre 8900 et 7000 avant. J-C correspondant au début de la période du Dryas (Bonjean, 2001). L'agriculture est née indépendamment dans des endroits et des moments différents dans le monde (Weiss *et al.*, 2006 ; Sonnante *et al.*, 2009) notamment du Moyen-Orient, le Croissant fertile: le Tigre et l'Euphrate, où l'alimentation des humains se basait sur les céréales, les produits laitiers et carnés (Feillet, 2000; Lev-Yadun *et al.*, 2000 ; Shewry, 2009).

Les premières céréales, dont le blé, originaires du Croissant fertile diffusèrent à la suite vers l'Afrique et l'Asie (Clerget, 2011) qui a connu plusieurs voies de diffusion des blés dont la plus ancienne est celle de l'Égypte ainsi que la Grèce et de la Crète. Les blés provenant du Sud de la péninsule italienne et de la Sicile, arrivèrent en Tunisie, au Maroc et en l'Algérie (Feldman, 2001).

1.2- Origine et classification des blés cultivés

La première classification naturelle des blés a été réalisée, grâce à la découverte des progénitures sauvages de l'en grain et de l'amidonnier (Bonjean, 2001 ; Shultz, 1913), elle a été renforcée par les travaux de cytogénétique de Sakamura et Sax (1918), qui ont mis en évidence le nombre de chromosomes des différentes variétés de blé (Gill et Friebe, 2005). Ils existent plusieurs espèces de *Triticum*, qui se différencient par deux principaux caractères (Salse *et al.*, 2008) :

1- Le degré de ploïdie : il existe les blés diploïdes (génomé AA), blés tétraploïdes (génomés AA et BB) et les blés hexaploïdes (génomés AA, BB et DD).

2- Le nombre de chromosomes (14, 28, ou 42); le blé dur contient deux génomes AA et BB, avec 28 chromosomes, alors que le blé tendre possède trois génomes AA, BB et DD chacun constitué de sept paires de chromosomes homéologues, numérotés de 1 à 7 (A1...A7, B1...B7, D1...D7), dont l'ensemble est égal à 42 chromosomes (figure1).

Revue bibliographique

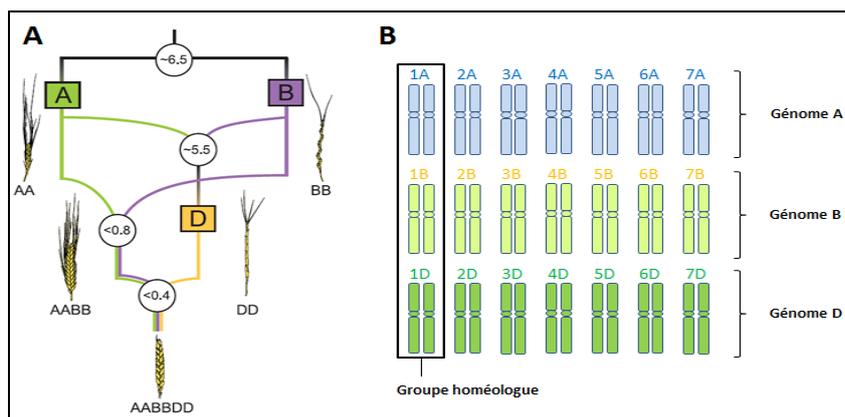


Figure1 Schématisation de l'histoire évolutive des blés (Taulemesse, 2015).

Le génome A provient de *Triticum monococcum*, le génome B provient d'un *Aegilops (bicornis, speltoides, longissima ou searsii)* et le génome D d'*Aegilops squarrosa* (également dénommé *Triticum tauschii*).

Deux espèces de *Triticum* sont les plus cultivées dans le monde:

- Le blé dur *Triticum durum* issu du croisement naturel de *Triticum monococcum* X *Aegilops*, qui a permis l'apparition d'un blé dur sauvage de type AABB (*Triticum turgidum ssp. dicoccoides*), ce dernier a évolué progressivement vers *Triticum turgidum ssp. dicoccum* puis vers *Triticum durum* (blé dur cultivé).
- Le blé tendre *Triticum aestivum* (AA BB DD), serait issu d'un croisement de variétés naturelles, entre *Triticum turgidum ssp. dicoccum* (AABB) et *Aegilops squarrosa* (DD) (Feillet, 2000).

Le blé est une plante herbacée, appartenant à la classe des monocotylédones, au genre *Triticum*, la famille des *Gramineae* (tableau1). Le fruit de cette céréale est un grain sec et indéhiscant appelé caryopse qui est constituée également la graine.

Tableau 1 Classification systématique du blé dur (*Triticum durum*).

Embranchement	Angiospermes
Sous embranchement	Spermaphytes
Classe	Monocotylédones
Ordre	Glumiflorales
Super ordre	Comméliniflorales
Famille	Gramineae
Genre	<i>Triticum</i>
Espèce	<i>Triticum durum</i> Desf

1.3- Valeur et importance nutritionnelle du blé

Le blé constitue l'une des plus grandes ressources en protéines et en hydrates de carbone dans l'alimentation humaine et animale (Bogard, 2012). Son importance dépend de plusieurs facteurs, dont: sa capacité d'adaptation, son rendement potentiellement élevé, et de sa fraction protéique du gluten qui confère les propriétés viscoélastiques, permettant ainsi sa transformation en pain, et en plusieurs autres produits alimentaires. Le blé est riche, également, en acides aminés essentiels, en minéraux, en vitamines, et en fibres alimentaires (Shewry, 2009).

Le blé est une plante annuelle (Bogard, 2012), cultivée en hiver ou en printemps (Clerget, 2011), dont le blé d'hiver est semé de septembre à novembre (jusqu'à décembre), et les grains sont récoltés à partir du mois de juin. Pour le blé de printemps, les semis se font durant le printemps et la récolte s'effectue vers la fin de l'été ou en début d'automne (Clarke *et al.*, 2005).

Le blé dur *Triticum turgidum ssp durum*, riche en amidon et en gluten, cultivé dans des zones les plus chaudes et les plus sèches. Les farines extraites du blé dur servent à la production des pâtes alimentaires et de la semoule (Clerget, 2011). Cependant, les produits du blé peuvent être responsables d'un certain nombre d'effets indésirables chez certaines personnes, y compris les intolérances alimentaires, notamment la maladie cœliaque et les allergies respiratoires et de l'alimentation (Shewry, 2009).

1.4- Production de blé dur

1.4.1- Production mondiale de blé dur

À l'échelle Mondiale, les trois céréales les plus cultivées sont le riz, le maïs, et le blé (Slama *et al.*, 2005). Ce dernier, occupe la première place dans la production mondiale, et la deuxième place après le riz comme étant une source de nourriture pour les humains (Clerget, 2011), avec une production moyenne égale à 700 millions de tonnes par an (FAO, 2017).

Selon les dernières prévisions de la FAO ; La production céréalière mondiale en 2017 avait atteint 2 594 millions de tonnes, soit d'un recul de 14,1 millions de tonnes par rapport à l'année 2016. La production du blé avait atteint environ 743 millions de tonnes, un niveau qui se situe en dessous du record de l'année 2016. Cette situation résulte de la diminution de la production en Amérique du Nord, en Fédération de Russie et en Australie (FAO, 2017).

1.4.2- Production de blé en Algérie

En Algérie, les céréales représentent la principale production végétale (Ouffroukh, 2014), dont la première cultivée est le blé dur *Triticum durum* (Desf) (Hamadache *et al*, 2002), qui occupe une place stratégique au niveau du régime alimentaire ainsi que le système d'économie nationale (Bellatreche et Gaouar, 2016). Cependant, sa production connaît un déficit chronique (Benniou *et al.*, 2014), l'Algérie se trouve ainsi très dépendante du marché international; de telle situation risque de persister de longues années, à cause des rendements insuffisants d'un côté, et des besoins de consommation croissants d'un autre côté. Ainsi pour faire face à ces besoins, l'Algérie se dirige vers l'importation de blé dur (Chellali *et al.*, 2004).

En Algérie, la superficie céréalière emblavée, jachère comprise, représente environ 3,5 millions ha (Anonyme, 2013), soit environ 90% de la superficie agricole utile (SAU) du pays (Belaid, 2017). La culture du blé dur est conduite entièrement en sec, son aire culturale s'étend des zones sub-littorales aux zones des hautes plaines et hauts plateaux (Pluvinage, 1995; Benniou *et al.*, 2014). Ainsi, le blé dur occupe 45%, des emblavures céréalières divisées en trois régimes d'humidité: humide, semi-humide et aride (Anonyme, 2017).

Selon le Ministère de l'Agriculture et du Développement Rural et de la Pêche (MADRP), dans la campagne 2016/2017, le blé dur a représenté 57% de la production céréalière avec 20.03 millions qx (figure2) (ONAFAA, 2017). De ce fait, les importations du blé dur au cours de cette campagne ont atteint 1.07 millions de tonnes contre 1,78 millions de tonnes en 2015/2016, et les exportations du blé dur ont atteint 9 millions de tonnes (Anonyme, 2017).

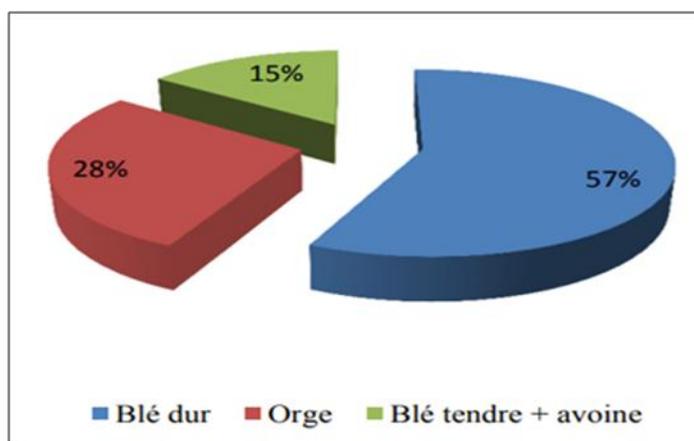


Figure 2 Le total de la production nationale des céréales pour la campagne 2016/2017 (Source ONAFAA à partir du MADRP).

Revue bibliographique

Selon les statistiques de la Direction des Services Agricoles (DSA Constantine), la production céréalière au niveau de la wilaya de Constantine durant la campagne 2016/2017 a atteint 1200000 qx; dont la production du blé dur est estimée à 738200 qx, cette production est en dessous de celle de la campagne 2015/2016 qui a atteint 1207325 qx, soit une baisse de 38.8% (tableau2).

Tableau 2 Superficie emblavée et productions obtenues des 06 dernières années, wilaya de Constantine. Selon les statistiques de la DSA Constantine.

Campagne agricole	Blé dur		Blé tendre		Orge		Avoine		Total		
	Sup.(ha)	Prod.(qx)	Sup.(ha)	Prod.(qx)	Sup.(ha)	Prod.(qx)	Sup.(ha)	Prod.(qx)	Sup.(ha)	Prod.(qx)	Rdt(qx/ha)
2011/2012	43170	1028692	16130	395886	6110	127704	760	12318	66170	1564600	24
2012/2013	43880	1043700	16200	395880	6050	11233	670	11085	66800	1461898	22
2013/2014	45400	1083088	15600	412779	5100	99798	800	11885	66900	1607550	24
2014/2015	46487	824200	14940	283000	4710	73145	674	8800	66811	1189145	18
2015/2016	46290	1207325	16694	464190	4812	114890	724	15595	68520	1802000	26
2016/2017	52380	738200	20460	329000	6680	120000	1070	12800	80590	1200000	15

1.5- Caractéristiques biologiques de blé dur

1.5.1- Morphologie et physiologies de la plante de blé dur

Le *Triticum durum* Desf est une céréale à paille, dont l'appareil végétatif comprend un appareil aérien et un appareil racinaire (Zerafa *et al.*, 2017):

1.5.1.1- Appareil aérien

L'appareil aérien est formé d'un certain nombre de talles partant de la base de la plante, chaque talle est formée d'une tige rectiligne creuse, et cloisonnée par des nœuds appelée le chaume (Moule, 1971). Les feuilles de cette plante sont organisées en deux rangées opposées entourant la tige au niveau des nœuds. L'épi du blé est composé d'épillets ; dont chacun est enveloppé de deux bractées protectrices appelées glumes, il est composé de trois à cinq fleurs, en plus d'une fleur terminale stérile. Ces fleurs constituent l'appareil reproducteur de la plante par autofécondation (Clerget, 2011; Bogard, 2012). Le grain de blé (caryopse) est constitué d'un organe de réserve appelé albumen formé d'amidon et de gluten. La plantule est formée d'un seul cotylédon et comprend la radicule et la gemmule logées dans des étuis (Clerget, 2011).

1.5.1.2- Appareil racinaire

D'après Moule (1971), cet appareil est de type fasciculé, constitué de deux systèmes racinaires:

1- Système primaire (racine séminale ou racine embryonnaire), qui fonctionne de la levée jusqu'au début du tallage. Ce système est constitué d'une racine principale résultant de

Revue bibliographique

l'allongement de la radicule, et de deux paires de racines latérales. Éventuellement, une sixième racine peut se développer à partir de l'épiblaste.

2- Système secondaire (racines adventives, racines de tallage) provient habituellement des nœuds de l'axe principal et de ses ramifications près de la surface du sol. Les racines secondaires apparaissent peu de temps après que les feuilles du premier et du second bourgeon sont sorties. La structure anatomique des racines adventives diffère de celle des racines séminales, en particulier celle de l'exoderme qui est plus persistante.

1.5.2- Cycle de développement du blé

De graine à graine, le cycle de développement du blé dure environ une centaine de jours (Claire *et al.*, 2013) et se caractérise par la succession de trois périodes (figure3). L'observation de ce cycle a conduit à l'identification des stades clés de développement décrits et normalisés par différents auteurs selon des échelles de développement (Bogard, 2012), dont:

A- Échelle de Feekes (1941) : dans laquelle, les principaux stades morphologiques de céréales ont été numérotés de 1 à 11 en ordre ontogénique qui commence dès l'émergence des plantules jusqu'à la maturation du grain, cette échelle a été modifiée par plusieurs chercheurs (Zadoks *et al.*, 1974).

B- Échelle de Zadoks Chang et Konzak: les deux ont développé un code décimal de deux chiffres, qui a été largement utilisé. Cette échelle suit la croissance de la plante, dont les 10 principaux stades de croissance (premier chiffre), sont sous-divisés en stade de croissance secondaire (deuxième chiffre), pour obtenir une échelle à deux chiffre (figure3) (Larsen *et al.*, 2001). Les stades primaires sont décrits dans le tableau 3.

Revue bibliographique

Tableau 3 Stades de développement des céréales. Échelles de : Feekes, (1941) et Zadoks, (1974).

Stade	Feekes	Zadoks	Caractéristiques
Levée	1	7	Sortie du coléoptile
		10	1ère feuille traversant le coléoptile
		11	1ère feuille étalée
		12	2ème feuille étalée
Début tallage	2	13	3ème feuille étalée
		21	Formation de la 1ère talle
Plein tallage	3	22	
Fin tallage	4	23	2 à 3 talles
		24	
		25	
Épi à 1 cm	5	30	Sommet de l'épi distant à 1 cm du plateau du tallage
1-2 nœuds	6	31	1 nœud
	7	32	2 nœuds (élongation de la tige)
Gonflement	8	37	Apparition de la dernière feuille
l'épi gonfle la	9	39	Ligule juste visible (méiose male)
gaine de la	10	45	Gaine de la dernière feuille sortie
Épiaison	10-1	49-51	Gaine éclat
		53	¼ épiaison
		55	½ épiaison
		57	¾ épiaison
		59	Tous les épis sortis
Floraison	10-5-1	61	Début floraison
	10-5-2	65	Demi-floraison
	10-5-3	69	Floraison complète
Formation du grain	10-5-4	71	Grain formé
		75	Grain laiteux
		85	Grain pâteux
		91	Grain jaune
		92	Grain mûre

1.5.2.1- Période végétative

Selon Grignac (1965), la période végétative des variétés de blé dur, dépend de la température et de la photopériode, elle s'étend de la germination aux premières manifestations de l'allongement de la tige principale (début de la montée) (Moule, 1971). À cette période, la plante différencie les feuilles et les racines seulement (Soltner, 2005), elle comprend deux phases:

A- La phase germination - levée

La germination se manifeste par la sortie des racines séminales de la *coléorhize* (Soltner, 2005), et par la croissance d'une pré-feuille *le coléoptile*. Cette phase dépend de la valeur biologique de la semence, de la température et de l'humidité du sol (Moule, 1971).

B- La phase levée - tallage

Aussitôt, que la première feuille fonctionnelle s'allonge, il apparaît trois nouvelles feuilles, dont chacune est imbriquée dans la précédente, et partant toutes d'une zone proche

Revue bibliographique

de la surface du sol, formant ainsi le plateau de tallage (Belaid, 1986; Gate, 1995; Oudjani, 2009). Au stade de 4 feuilles, la première talle apparaît à l'aisselle de la première feuille, par la suite apparaissent les talles de 2^e, 3^e, 4^e feuilles formées à partir des bourgeons ayant pris naissance à l'aisselle des feuilles correspondantes, ces talles constituent les talles primaires qui vont à leur tour émettre des talles secondaires puis tertiaires (Moule, 1971). La fin du tallage représente la fin de la période végétative, et le début de la phase reproductive (Gate, 1995).

1.5.2.2- Période reproductrice

Elle comporte les phases suivantes :

A- *Phase de montaison - gonflement*

La montaison débute par la différenciation et l'élongation des entre-nœuds de la tige principale (Moule, 1971), elle est repérée lorsque l'ébauche de l'épi du brin-mâitre atteint 1 cm de la hauteur à partir de plateau de tallage (Gate, 1995). Durant cette phase la plante pousse rapidement si la température et l'humidité le permettent (Zeithoun, 2011). Cette phase s'achève à la fin de l'émission de la dernière feuille et des manifestations du gonflement que provoquent les épis dans la gaine (stade gonflement) (Cherfia, 2010).

B- *Épiaison – floraison*

Selon Gate (1995), l'épiaison débute par l'apparition des premiers épis jusqu'à la sortie complète de tous les épis (Mekaoussi, 2015), elle est notée en référence au stade 50 % d'épis sortis. L'anthèse et la fécondation suivent l'épiaison après quelques jours (Bahlouli *et al.*, 2005).

1.5.2.3- Période de formation et de maturation du grain

Elle se divise en deux phases successives; (i) la première phase marque la modification du fonctionnement de la plante qui s'oriente vers le remplissage des grains à partir de la biomasse produite (Mustafa, 2015). (ii) la deuxième phase est la maturation physiologique qui marque la fin du remplissage du grain. C'est ainsi que le grain perd son humidité pour atteindre son poids sec final, le grain va durcir et sa coloration devient jaune (Mekaoussi, 2015). La maturation requiert de la chaleur et du temps sec (Zeithoun, 2011).

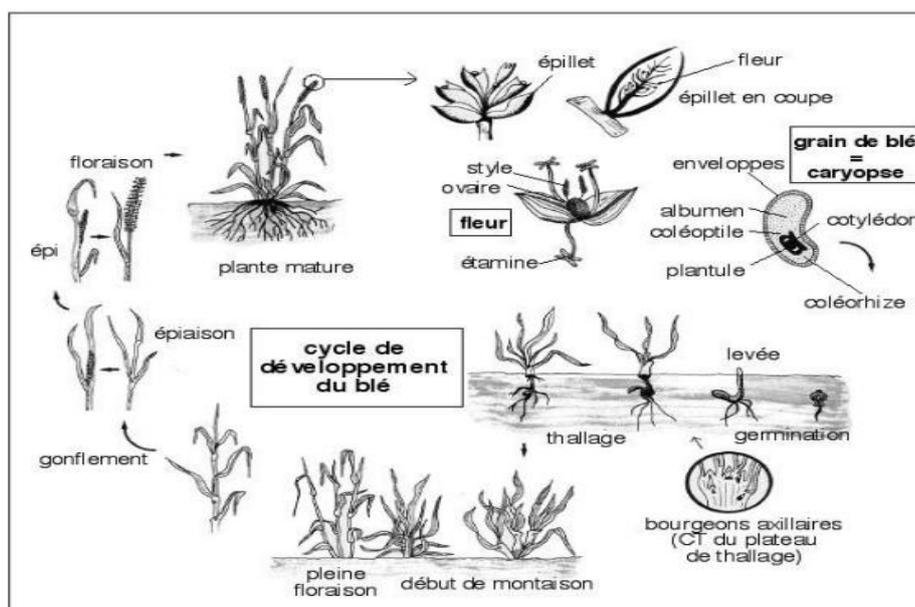


Figure 3 Cycle de développement du blé (Henry et De Buyser, 2000).

1.5.3- Exigences du blé

Pour un bon développement du blé, quelques exigences sont importantes.

1.5.3.1- Exigences en sols

Le rendement le plus élevé du blé est obtenu sur des sols présentant un bon pouvoir absorbant, bien pourvus en chaux telles que les terres argilo-calcaires, et des terres bien rassise à porosité voisine de 10 % (Moule, 1971). Les divers éléments physico-chimiques qui constituent le sol, jouent un rôle considérable dans le développement du système racinaire et le développement végétatif du blé (Zeithoun, 2011).

1.5.3.1.1- Texture du sol (matière organique et matière minérale)

Le sol est un matériau hétérogène (Salama *et al.*, 2016), il dispose d'une structure fragmentaire, constituée de petits grains ou agrégats, eux-mêmes agglomérés en mottes. Le sol est constitué, en outre, de deux fractions : (i) une fraction minérale solide qui représente 93 à 95 % du poids total du sol, composée d'éléments divers qui proviennent de la fragmentation de la roche-mère originelle en cailloux, graviers, sables grossiers, sables fins, limon et les argiles, (ii) une fraction de matière organique inerte provient de l'activité des organismes présents à la surface ou dans le sol (déjection animales, exsudats racinaires, litières végétale et polysaccharides microbiens, le reste est constitué par des débris des végétaux morts, les cadavres d'animaux, les cellules microbiennes lysées), cependant, l'essentiel de la matière organique parvenant dans le sol sont d'origine végétale. Les substances solubles de faibles poids moléculaire, sont rapidement utilisées et/ou

Revue bibliographique

minéralisées, le reste est progressivement transformé en composés très complexe, de poids moléculaire élevé, de couleur foncée, globalement appelés humus (Davet, 1996).

1.5.3.1.2- Microorganismes de la rhizosphère

La microflore du sol renferme de microorganismes très variés: bactéries, champignons, algues et protozoaires. Les bactéries et les champignons sont les organismes les plus dominants (Tableau 4) (Hoorman et Islam, 2010).

Tableau 4 Nombre des microorganismes du sol sur une profondeur de 0 à 15 cm (Hoorman et Islam, 2010).

Microorganismes	Nombre (g/sol)	Biomasse (g/m ²)
Bactéries	10 ⁸ -10 ⁹	40-500
Actinomycètes	10 ⁷ -10 ⁸	40-500
Champignons	10 ⁵ -10 ⁶	100-1500
Algues	10 ⁴ -10 ⁵	1-50
Protozoaires	10 ³ -10 ⁴	Variée

Le premier emploi du terme rhizosphère remonte à 1904 par Hiltner, il désignait la partie du sol sous l'influence directe de la racine des légumineuses (Lynch, 1990). Cependant, ce terme est, actuellement, utilisé pour désigner la zone de contact entre les racines et le sol lui-même (Dommergues, 1979), dans laquelle la microflore du sol est soumise à l'influence des racines (Campbell *et al.*, 1990 ; Westover, 1997). Schématiquement la rhizosphère peut être divisée en trois régions, à savoir : (i) *la rhizosphère* au sens strict, constituée du sol entourant et adhérent aux racines, dans lequel diffusent les exsudats et se déposent les lysats racinaires (ii) *le rhizoplan*, constitué par la surface des racines et le mucigel, (iii) *la rhizosphère interne*, constituée par les cellules du cortex racinaires envahies par les microorganismes (Dommergues, 1979).

1.5.3.1.3- Interaction entre bactéries rhizosphériques et racines de la plante du blé

Les blés cultivés, hébergent dans leur rhizosphère des bactéries qui vivent en interaction avec la plante et influencent sa croissance (figure 4), certaines d'entre elles sont bénéfiques pour la plante du blé telles que: les rhisobactéries stimulatrices de la croissance végétale PGPR (de l'anglais: Plant Growth Promoting Rhizobacteria) (Kloepper *et al.*, 1989). D'autres influencent négativement la croissance de la plante du blé par l'inhibition de la germination des graines, telles que les rhisobactéries délétères saprophytes non pathogènes (Alstriim, 1991).

Dans ce contexte, plusieurs auteurs dont (Jacoud *et al.*, 1999 ; Dobbelaere *et al.*, 2002 ; Khalid *et al.*, 2004.; Shaukat *et al.*, 2006) ont décrit une phytostimulation exercée

Revue bibliographique

1.5.3.1.4- Relation Système racine - développement de la plante du blé

Le développement racinaire est en relation directe avec la croissance du limbe, le potentiel hydrique foliaire et l'adaptation à la sécheresse. En effet, un système racinaire très développé permet à la plante: (i) d'accumuler des quantité importante de proline au niveau des limbe foliaire (Monneveux et Nemmar, 1986), (ii) de réguler plus efficacement leur pression osmotique interne, (iii) maintenir le fonctionnement de l'appareil photochimique de leur chloroplaste, (iv) sauvegarder l'intégrité des processus photosynthétiques, donc conférer à la plante une bonne adaptation aux facteurs climatiques, et une meilleurs croissance (Benlaribi *et al.*, 1990).

1.5.3.2- Exigences en eau

Les besoins en eau du blé dépendent des conditions climatiques, de la nature du sol et aussi des stades critiques de son développement. Ainsi, la pluviométrie nécessaire à la bonne récolte du blé est estimée à environ 580 mm par an (Soltner, 2005). En présence d'un stress hydrique, une bonne gestion de l'irrigation constitue une meilleure solution pour assurer l'amélioration et la stabilité des rendements (Belaid, 1986).

1.5.3.3- Exigences en températures

Les exigences en température sont assez importantes, elles varient selon les variétés du blé, et selon les stades de son développement (Belaid, 1986). Généralement, la température doit être comprise entre -6° C et +20°C (Zeitoun, 2011). L'effet des hautes températures se manifeste par une réduction de la longueur du coléoptile, alors que les températures en dessous de 0°C, peut perturber le développement végétatif de la plante (Nadjem, 2011).

1.5.3.4- Exigences en photopériode

L'intensité lumineuse agit directement sur le bon fonctionnement de la photosynthèse et le développement du blé (Soltner, 2005). Ainsi, pour garantir un bon tallage de la plante du blé, il est recommandé de placer les semis dans les conditions optimales d'éclairement (Zeitoun, 2011). Il s'agit ici, d'une photopériode critique, qui varie selon l'espèce et la variété entre 12h à 14 h. Une durée d'éclairement qui assure un minimum trophique est environ 6h (Vincent, 1959 ; Moule, 1971).

Revue bibliographique

1.5.4- Facteurs limitant la production du blé dur

La culture du blé est fréquemment exposée aux contraintes environnementales, elle est soumise à une multitude de stress abiotique et biotique. Les stress abiotiques qui limitent le rendement du blé sont de nature climatique ou édaphique (Abdi, 2015). Cependant, les stress biotiques sont ceux causés par les organismes pathogènes provoquant des maladies infectieuses (Ezzahiri, 2001), ces maladies infectent tous les types de tissus végétaux (El yacoubi *et al.*, 2012).

1.6- Pathologies de la plante du blé

Plusieurs maladies peuvent attaquer le blé, provoquant une croissance non optimale de la plante suite à une irritation continue par un agent pathogène, ou bien par l'exposition chronique de cette plante à des conditions défavorables pour sa croissance idéale (Ellis *et al.*, 2008; Abdi, 2015). Parmi celles-ci, les maladies cryptogamiques sont les plus graves (Bouزيد, 2008). Elles occasionnent des pertes importantes touchant le rendement et la qualité des grains, lorsque les conditions environnementales sont favorables pour l'agent pathogène, et/ou lorsque les variétés utilisées sont sensibles, ou bien lorsque les méthodes culturales sont inappropriées (Ezzahiri, 2001). Les maladies cryptogamiques sont classées en trois groupes : les maladies telluriques causées par des champignons habitant le sol, les maladies transmises par les semences et les maladies de l'épi et des feuilles (Boulif, 2011). Toutes ces maladies ont un caractère explosif, les plus répandues dans le monde et en Algérie sont regroupées dans le tableau 5 (Ezzahiri, 2001).

Tableau 5 Les principales maladies cryptogamiques du blé (Ezzahiri, 2001).

Maladies	Agents pathogènes	Mode de conservation
Pourritures racinaires	<i>Fusarium culmorum</i> <i>Fusarium graminearum</i> <i>Cochliobolus sativus</i>	Sol
Charbon foliaire	<i>Urocystis agropirii</i>	
Charbon nu	<i>Ustilago nuda</i>	Semence
Carie	<i>Tilletia caries</i>	
Septoriose des épis	<i>Septoria nodorum</i>	
Oïdium	<i>Erysiphe graminis f.sp.tritici</i>	Chaumes
Septoriose des feuilles	<i>Septoria tritici</i>	
Septoriose des épis	<i>Septoria nodorum</i>	
Tache bronzée	<i>Pyrenophora tritici-repentis</i>	
Rouille brune	<i>Puccinia triticina</i>	Chaumes+hôtes alternatifs
Rouille noire	<i>Puccinia graminis f.sp. tritici</i>	Repousses des plantes hôtes
Rouille jaune	<i>Puccinia striiformis</i>	

1.7- Caractérisation de la fusariose du pied chez le blé

1.7.1- Impact économique de la fusariose

La fusariose racinaire est une maladie redoutable du blé (Ezzahiri, 2001). De nombreuses espèces du *Fusarium* sont associées à cette maladie (Devaux, 1995; Neched, 2015), et qui sont responsables de pertes économiques considérables dans le monde (Ballois, 2012), dues à l'avortement des fleurs, à la diminution du nombre et du poids des grains, ainsi qu'à la dégradation de la qualité des grains (Ezzahiri, 2001). En outre, certaines espèces du *Fusarium* peuvent contaminer les grains par une ou plusieurs mycotoxines qu'elles produisent (Ballois, 2010). Cette maladie est répandue dans les zones caractérisées par une pluviométrie faible à moyenne (Gargouri, 2017).

1.7.2- Généralité sur la fusariose du pied

Pourriture racinaire, pourriture du pied, pourriture des racines sèches, ou encore pourriture commune sont tous des termes qui décrivent la même maladie la « fusariose du pied » (Piccinni *et al.*, 2000 ; El yacoubi, 2012). C'est une maladie endémique provoquée par un complexe fongique appelé le « complexe fusarien » qui renferme deux genres: le *Microdochium* et le *Fusarium* (Arseniuk *et al.*, 1999), ceux-ci comptent dix-neuf espèces qui induisent la fusariose (Miedaner, 1996). À l'inverse des espèces du genre *Microdochium*, les espèces du *Fusarium* sont toxigénèses (Leonard et Bushnell, 2003; Siou, 2013).

La gravité de cette maladie est liée à certains facteurs dont: la présence du pathogène, le type de la culture, la nature du champ, les conditions climatiques, le stade de croissance de la plante (figure5) (El hadj Hammiche, 2013). La contamination par les mycotoxines atteint un niveau maximal lorsqu'un cultivar sensible est en présence d'un inoculum abondant du pathogène au stade de la floraison (Richard, 2004).

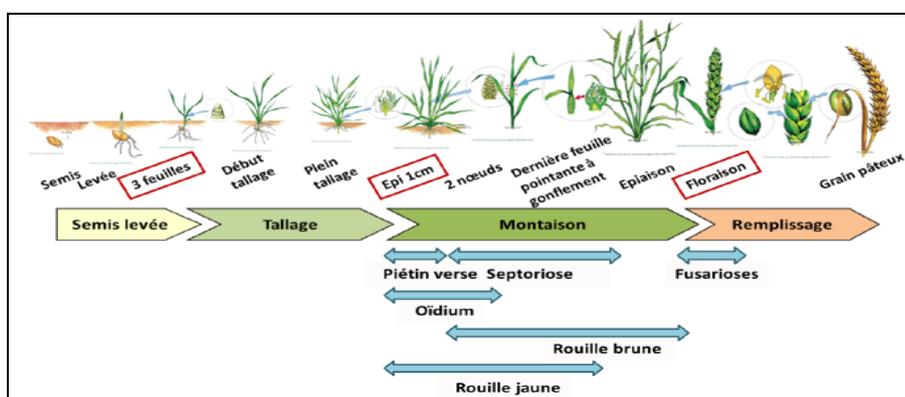


Figure 5 Les stades de sensibilité aux maladies chez le blé (Agridis *et al.*, 2015)

Revue bibliographique

Au champ du blé, les symptômes qui caractérisent la fusariose du pied, particulièrement dans les saisons très sèches, sont des taches brunes sur les racines, le collet, et le sous-collet des plantes (El hadj Hammiche, 2013). Ces plantes malades sont fragiles, présentant une pourriture progressive qui touche le système racinaire et produit des épis blancs ou bien décolorés, contenant des graines chétives (Ballois, 2010). Le champignon infecte également les grains, et peut y produire des substances toxiques appelés mycotoxines capables de causer de graves problèmes d'ordre sanitaire touchant aussi bien l'homme que l'animale. Lorsque l'attaque est précoce, les épis formés du blé sont stériles (Nesraoui, 2006).

Parfois, ces symptômes ne sont repérables sur la plante infectée que lorsque des points blancs apparaissent dans les cultures, ou bien lorsque les grains ridés sont récoltés (Papendick et Cook, 1974 ; Burgess *et al.*, 2001 ; Chekali *et al.*, 2016), ainsi cette plante infectée constituera une source redoutable de contamination. Les grains fusariés sont petits, légers, ridés ou couverts d'un duvet blanc ou rose, si l'infection est plus tardive, la taille des grains peut être normale mais les grains se décolorent en rose. (Mc Mullen *et al.*, 2008).

2- Agent causal de la fusariose racinaire

2.1- Morphologie et physiologie du genre *Fusarium*

Selon Link (1809), les *Fusarium* sont des champignons filamenteux, cosmopolites, qui renferment environ 40 espèces, très répandues dans la nature, certains d'entre eux sont pathogènes et d'autres sont capables de produire des mycotoxines. Les *Fusarium* poussent bien sur le milieu Sabouraud sans cycloheximide, mais leur développement est meilleur sur les géloses au Malt et bien sur le milieu PDA, la température optimale de leur croissance est située entre 22°C et 37 °C, certaines espèces ont la capacité de produire un pigment dans la gélose (Chabasse *et al.*, 2002). Ces mycètes disposent un mycélium septé et incolore, des colonies duveteuses ou cotonneuses, dont la couleur est variables (des nuances roses, jaunes, rouges, violettes, blanches et crèmes) (Booth, 1985; Alves-Santos *et al.*, 1999 ; Katan et Ortoneda *et al.*, 2003 ; Ghorri, 2015).

L'aspect microscopique des *Fusarium* (figure 6) se caractérise par un thalle végétatif qui donne naissance à des conidiophores courts et souvent ramifiés, ils portent des monophialides ou des polyphialides qui peuvent avoir respectivement un ou plusieurs sites de bourgeonnement pour la production des conidies (Chabasse, 2002). Les conidies

Revue bibliographique

sont de trois types: (i) les *microconidies*, sont des conidies uni ou bicellulaire, de 4 à 8 μm de long, elles sont petites, septées ou non, Elles sont fusiformes, ovoïdes, piriforme ou bien en forme de rein. Elles sont formées sur les cellules conidiogènes, et se trouvent seules, ou arrangées en chaîne ou en bouquet (Dufresne et St-Germain, 2018), (ii) les *macroconidies*, sont fusiformes et cloisonnées. Ce sont leur forme, leur taille ainsi que leur extrémités apicales et basales (arrondies, crochetées, effilées, crantées) qui permettent l'identification et distinction des espèces de *Fusarium* (Heit, 1989), (iii) enfin, des chlamydo-spores sont parfois présentes, elles sont hyalines ou pâles, terminales ou intercalaire déformant ainsi une macroconidie (de Hoog *et al.*, 2011).

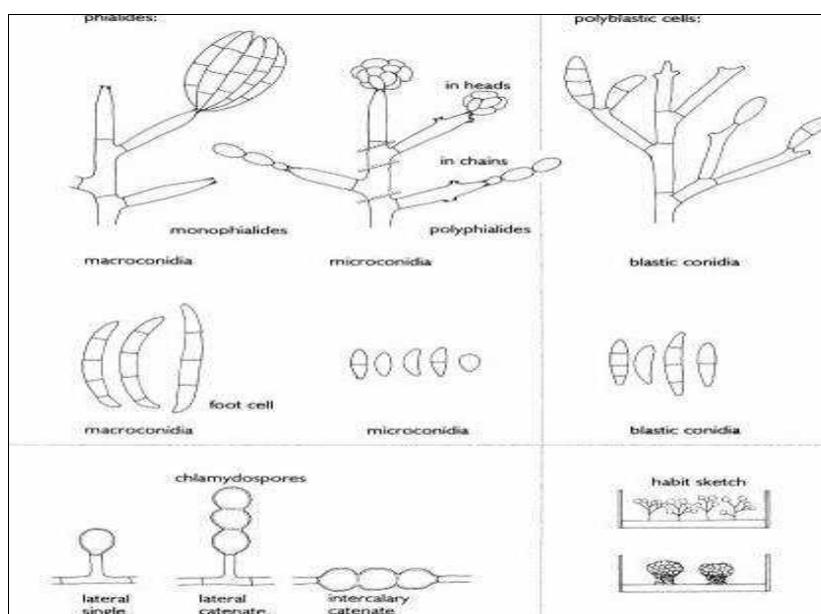


Figure 6 Terminologie décrivant la morphologie du *Fusarium* (de Hoog *et al.*, 2011).

La fusariose du pied peut être causée par plusieurs espèces du genre *Fusarium*, dont les plus importantes sont le *F. culmorum* (Guergouri et Nasraoui, 2016) et *F. oxysporum* qui seront traités plus spécifiquement dans ce travail.

2.1.1- *F. culmorum*

F.culmorum est une espèce dont la forme parfaite n'est pas connue, caractérisée par une croissance rapide de thalle, d'abord blanc à jaunâtre ou rose puis ochracé à rouge brunâtre avec un revers rouge à pourpre. Généralement, les microconidies sont absentes, les phialides sont courtes et larges formées sur le mycélium aérien ou groupées en sporodochies. Les macroconidies sont fusiformes, courbes, septées, à cellule apicale courte

Revue bibliographique

et pointue. Les chlamydospores sont intercalaires ou terminales, formées par le mycélium ou par les conidies, (Botton *et al.*, 1985) (figure7).

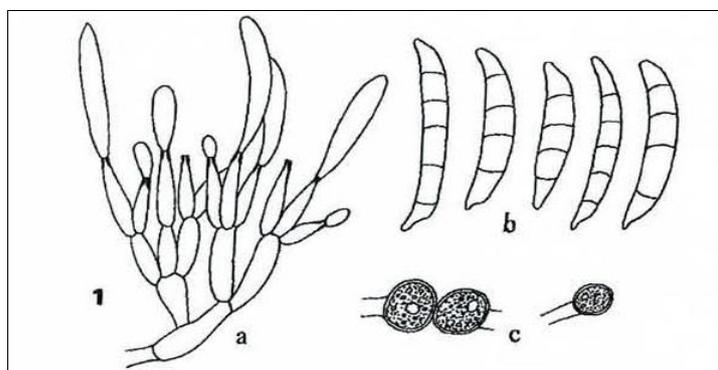


Figure 7 Caractéristiques de *Fusarium culmorum*, (x7500) .1- *F. culmorum* : a- macrophialides et macroconidies ; b- macroconidies ; c- chlamydospores (Botton *et al.*, 1985).

2.1.2- *F. oxysporum*

F. oxysporum est un saprophyte tellurique et pathogène pour de nombreuses plantes cultivées (Jeunot, 2005), de forme parfaite connue, sa croissance modérée sur un milieu solide, ses colonies sont duveteuses à floconneuses (Chabasse, 2002), son thalle est blanc, pêche, rose saumon à violet, le revers est pourpre. Les microphialides sont isolées ou sur de courts conidiophores ramifiés. Les microconidies sont abondantes, variables, ovoïdes. Les macrophialides sont soit éparses, soit groupées en sporodochies. Les macroconidies sont fusoides, plus ou moins courbes, pointues aux deux extrémités, septées. Les chlamydospores sont terminales ou intercalaires, hyalines, et qui sont présentes dans le mycélium et dans les conidies (figure8) (Botton *et al.*, 1985).

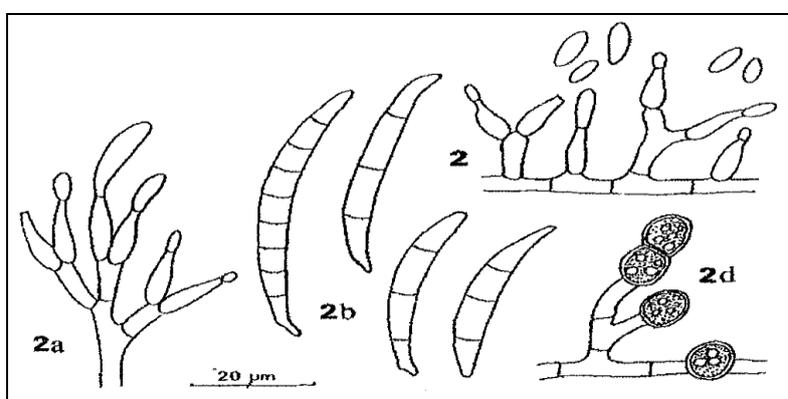


Figure 8 Caractéristiques de *Fusarium oxysporum* 2 -*Fusarium oxysporum* : 2a -macrophialides ; 2b -macroconidies ; 2c -microphialides et microconidies 2d- chlamydospores (Botton *et al.*, 1985).

2.2- Taxonomie et classification des *Fusarium*

Le genre *Fusarium* renferme plusieurs espèces de champignons (tableau 6), il a été décrit pour la première fois par Link en 1809 (Heit, 1989). L'étymologie de son nom vient du latin *fusus* (fuseau) en référence à la forme particulière de ses macroconidies fusiformes et cloisonnées (Siou, 2013). Il appartient au phylum des *Ascomycota*, à la classe des *Sordariomycetes*, à l'ordre des *Hypocreales* et la famille des *Nectriaceae* (Link, 1809).

La taxonomie du *Fusarium* a connu de nombreuses classifications controversées (Nelson *et al.*, 1983). Tout d'abord, la détermination des espèces appartenant à ce genre, a été effectuée en référence à leurs caractères morphologiques, en se basant sur des observations macro- et microscopiques, puis cette classification a été revue plusieurs fois (Heit, 1989). C'est à partir de la seconde moitié du XX^{ème} siècle, qu'une nouvelle approche conceptuelle de classification est rendue possible (Ghorri, 2015). Actuellement, le plus utilisé est le classement dérivé de celui de Nelson *et al.* (1983) qui regroupent les *Fusarium* dans 15 sections. Ce classement a été amendé par Burgess *et al.* (1994), et d'autres chercheurs en s'appuyant sur des techniques de biologie moléculaire (Leslie et Summerell, 2006).

Selon Leslie et Summerell (2006), les *Fusarium* sont classifiés par rapport à leur forme sexuée ou asexuée: (i) Les anamorphes sont les espèces du genre *Fusarium* dont la forme asexuée est connue (forme imparfaite) (Heit, 1989); elles appartiennent aux champignons anamorphiques et au groupe des *Hyphomycètes* (champignons à conidies produites sur des sporodochies). Généralement, les conidies des espèces du *Fusarium* sont pluricellulaires et arquées en forme de croissant. Leurs tailles, formes et nombres varient avec l'espèce (Gargouri *et al.*, 2006), (ii) Les téléomorphes sont les espèces dont la forme sexuée est connue (forme parfaite), cette forme n'est pas identifiée pour toutes les espèces (cas de *F. oxysporum*) (Heit, 1989). Ce sont des espèces qui appartiennent au genre *Gibberella* ou *Nectria*, au phylum des *Ascomycota* (champignons produisant des ascospores) et au groupe des *Pyrénomycètes* (champignons dont les asques sont enveloppés dans des périthèces) (Nesraoui, 2006).

Revue bibliographique

Tableau 6 Différentes sections et espèces des *Fusaria* selon les principaux systèmes taxonomiques (Jeunot, 2005).

Section de Wollenweber Reiking (1935)	Espèces de Snyder et Hansen (1940)	Espèces de Messiaen et Cassini (1968)	Système de Nelson <i>et al.</i> , (1983)		
			Sections	Espèces	
<i>Submicrocera</i>					
<i>Pseudomicrocera</i>					
<i>Macroconia</i>	<i>F. epispaeria</i>	<i>F. epispaeria</i>			
<i>Eupionnotes</i>		<i>F. epispaeria</i> <i>F. epispaeria</i> <i>vardimerum</i>	<i>Eupionnotes</i>	<i>F. aquaeductuum</i> <i>F. merismoides</i> / <i>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. tricinatum</i>	<i>F. tricinatum</i>	<i>Sporotrichiella</i>	<i>F. tricinatum</i> / <i>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> <i>var gibbosum</i>		<i>Gibbosum</i>	<i>F. equiseti</i> / <i>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>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>		

2.3- Identification du genre *Fusarium*

2.3.1- Identification morphologique

Le regroupement des espèces est basé sur les caractéristiques culturales et morphologiques des espèces (croissance, morphologie culturale pigmentations) (Nelson *et*

Revue bibliographique

al., 1983). Les caractères macroscopiques étaient les premiers utilisés pour décrire et classer les *Fusarium* (Jeunot, 2005), renforcés plus particulièrement par la morphologie microscopique, qui se base sur l'analyse de: (i) la présence ou l'absence des microconidies, (ii) la forme de microconidies, (iii) la présence ou l'absence de chlamydospores, (iv) l'emplacement de chlamydospores intercalaires ou terminal, (v) la forme de macroconidies, et (vi) la forme du pied ou basale cellules sur les macroconidies. Par ailleurs, des caractères secondaires pouvant être pris en considération, afin de discriminer des espèces entre elles, notamment, la production des pigments durant la croissance sur boîte de Pétri, la vitesse de croissance, et les métabolites secondaires (Heit, 2015).

2.3.2- Identification biochimique

Les analyses biochimiques permettant l'identification des *Fusarium*, sont: la détermination du contenu en acide gras, la composition de la paroi cellulaire, la composition en protéines ou encore des métabolites secondaires (Alves-Santos *et al.*, 1999; Baayen, 2000 ; Haan *et al.*, 2000).

2.3.3- Méthodes de biologie moléculaire

Le développement des techniques de biologie moléculaire ont permis de déterminer des liens phylogéniques entre les sections et les espèces du *Fusarium* qui étaient inconnues jusqu'alors (Leslie *et al.*, 2001). Ces techniques très fiables sont majoritairement basées sur l'ADN (Hsu *et al.*, 2003). Elles reposent sur la disponibilité des séquences cibles spécifiques utilisées pour les identifications, entre autres, l'ADN ribosomique (ADNr), l'ADN mitochondrial et parfois des séquences répétées de type microsatellites, qui sont actuellement disponibles dans Genbank, (Guarro *et al.*, 1999).

2.4- Potentiel toxigène

De nombreuses espèces du *Fusarium* ont montré leur capacité de produire une large gamme de métabolites secondaires biologiquement actifs « les mycotoxines » (Nelson *et al.*, 1983). Ces mycotoxines sont nuisibles pour les plantes (Moretti, 2009), et peuvent également avoir des effets néfastes sur les animaux. La quantité des mycotoxines présentes chez la plante infectée varie selon le moment de l'infection initiale, les conditions environnementales, les espèces de céréales et enfin de la résistance des cultivars (Richard, 2004).

Revue bibliographique

Chez le blé, les fusariotoxines les plus rencontrées sont: les trichothécènes, les fumonisines et la zéaralénone (tableau7) (Ballois, 2012), la gravité de la maladie et de la contamination par ces mycotoxines est évaluée, en observant le degré d'expression des symptômes d'infection, mais tout de même, une analyse chimique est recommandée pour confirmer le niveau de contamination. Les symptômes et les concentrations des mycotoxines peuvent varier d'un champ à l'autre, dans un même lot de grains ou dans un même champ (Richard, 2004). Les mycotoxines diffusent dans le substrat qu'elles contaminent même après la destruction du champignon responsable de leur production, elles sont peu labiles, souvent actives à très faibles doses, thermostables, résistantes aux traitements biologiques et aux processus de transformation. Ce qui favorise leur persistance tout au long de la chaîne alimentaire (Siou, 2013).

Tableau 7 Mycotoxines produites par les *Fusarium* (Ballois, 2012).

Blé	
Espèce	Toxine
<i>F. graminearum</i>	Trichothécène B, Zéaralénone
<i>F. avenaceum</i>	Beauvericine, Moniliformine, Enniantine
<i>f. poae</i>	Trichothécène B (NIV)
<i>F. culmorum</i>	Trichothécène B, Zéaralénone
<i>F. tricinctum</i>	Trichothécène A, Beauvericine, Moniliformine
<i>F. sambicum</i>	Trichothécène A, Zéaralénone, Beauvericine
<i>F. sporotrichioides</i>	Trichothécène A
<i>F. equiseti</i>	Trichothécène A et B, Zéaralénone
<i>F. acuminatum</i>	Trichothécène A
<i>F. crookwellense</i>	Trichothécène B, Zéaralénone
<i>F. pseudograminearum</i>	Trichothécène B
<i>F. heterosporum</i>	Zéaralénone
<i>F. oxysporum</i>	Fumonisine
<i>F. verticillioides</i>	Fumonisine

2.4.1- Habitat

Les *Fusarium* sont répandus dans tous les écosystèmes dans le monde (Leslie et Summerell, 2006), ils peuvent être isolés de la plupart des sols, des insectes, de l'eau courante, des racines, des graines et d'autres tissus de plantes herbacées et ligneuses sauvages ou cultivées. Ils sont également retrouvés, dans les climats tempérés et les climats sub-tropicaux. (Jeunot, 2005). Certaines espèces du *Fusarium* ne sont pas influencées et/ou limitées par les facteurs climatiques (Trabelsi *et al.*, 2017). Les *Fusarium* en général, sont divers en termes de nombre d'espèces, distribution, gamme d'hôtes et de la virulence (Gordon, 1960; Summerell *et al.* 2003; Leslie et Summerell, 2006).

Revue bibliographique

2.4.2- Cycle de la Fusariose

Les *Fusarium* sont des agents vasculaires, certains sont transmis par les semences, mais dans l'ensemble ils sont conservés dans le sol sous forme de mycélium et de périthèces dans les débris infectés et sous forme de chlamydo-spores qui peuvent subsister jusqu'à quatre ans (Caron, 1993), ils infectent les plantes via les racines qu'elles pénètrent directement ou par des blessures d'origine mécanique ou biologique (Ghorri, 2015).

L'infection commence à partir du sol ou des chaumes infectés (Jeunot, 2005), elle touche les racines et/ou le collet, et peut par la suite, remonter jusqu'aux tiges, le champignon forme son mycélium sur les plantes infectées et libère ses conidies qui seront, transportées par le vent et la pluie jusqu'aux épis dont l'infection peut avoir lieu dès l'épiaison (figure 09). Il est probable que le champignon se développe systématiquement à partir du pied de la plante jusqu'à atteindre l'épi intérieurement, mais cette voie d'infection des épis semble être rare (Nasraoui, 2008).

Les épis atteints donnent des semences infectées capables de transmettre la maladie aux jeunes plantules. Les attaques à partir du 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). Les conditions optimales pour le développement des fusarioses dépendent des espèces du *Fusarium*, mais souvent les humidités faibles et les températures autour de 20°C sont des conditions favorables pour ces maladies (Nasraoui, 2008). Les petites céréales sont sensibles à l'infection à partir de la floraison jusqu'au stade mi-pâteux. Des périodes plus longues d'humidité élevée combinées à des températures fraîches peuvent aussi provoquer l'infection (Laib, 2011).

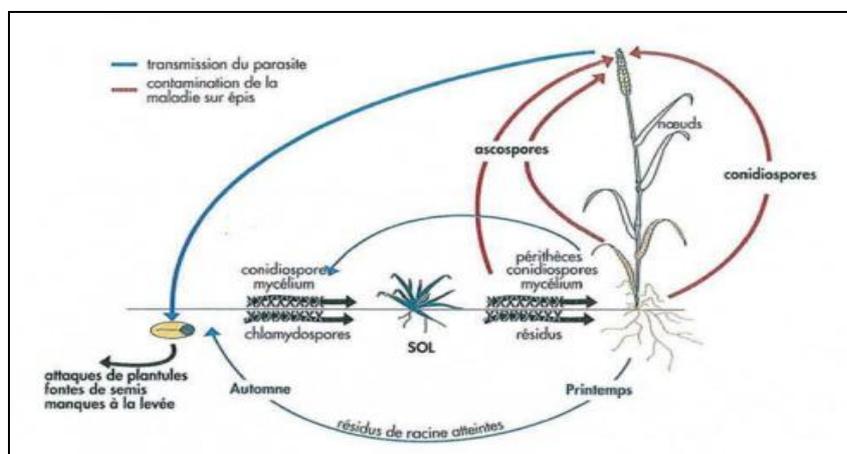


Figure 9 La contamination (Fusariose des blés © ITCF. Décembre 1999)
(ITCF, a été rebaptisé par Institut du végétal).

Revue bibliographique

2.4.3- Lutte contre la Fusariose

En vue d'atteindre une production stable des blés, il est nécessaire de résoudre le problème des pourritures racinaires (Salama *et al.*, 2016), différentes méthodes sont appliquées, et sont orientées pour protéger les plantes saines des maladies plutôt que de guérir les plantes malades (Nasroai, 2006). Le contrôle de cette maladie commence tout d'abord par les moyens prophylactiques qui se basent principalement sur l'utilisation des variétés saines et peu sensibles (Caron, 2003), bien adaptées aux conditions climatiques locales (Jeunot, 2005), le labour soigné avant l'implantation du blé surtout après une culture contaminée qui représente une source importante d'inoculum (Moreau, 2008), la réalisation des rotations d'au moins deux ans en dehors des céréales (les légumineuses), cela réduit la densité de l'inoculum (Gilbert et Tekauz, 2000).

Dans un même contexte, la lutte contre ces maladies fongiques constitue une étape inévitable pour la protection des grandes cultures et pour ce faire, plusieurs méthodes sont utilisées:

- Lutte chimique basée sur l'utilisation des traitements d'origine chimique contre les agents de cette maladie (tableau 8) (Nasraoui, 2006). Généralement, ces traitements présentent des inconvénients, la plupart d'entre eux sont toxiques pour les utilisateurs qui entrent en contact avec ces substances de préservation (Ouffroukh, 2014).

Tableau 8 Traitement chimique contre la Fusariose du pied chez le blé (Nasraoui, 2006)

Lutte chimique	Fongicides
Traitement des semences	Difénoconazole - fludioxonil - thirame - mancozèbe prochloraze - thiabendazole - triticonazole.
Traitement foliaire	Azoxystrobine - époxiconazole - fluquinconazole, metconazole - picoxystrobine - prochloraze, propiconazole - pyraclostrobine - tébuconazole trifloxystrobine.

- Lutte génétique est basée sur l'utilisation de variétés résistantes ou tolérantes obtenues par hybridations (Rapilly *et al.*, 1971 ; Clement et Prats, 1971 ; Goodman et Novacky, 1994), et / ou par mutation (Belabid, 1993) ou bien l'utilisation des variétés à multilignées (Zillinsky, 1983). Cette méthode de lutte est la solution la plus simple, la moins coûteuse et la moins polluante (Semal, 1989). Malheureusement, le caractère de résistance est un caractère régressif, difficile à préserver dans la descendance des croisements (Clement et Prat, 1970).

- La lutte biologique est considérée comme une voie alternative à la lutte chimique dans le domaine d'agriculture, qui tend à appliquer de nouvelles méthodes de lutte moins nuisibles pour l'environnement (Ouffroukh, 2014). Elle est basée sur utilisation d'organismes vivants, ou des produits de leurs gènes, pour limiter ou supprimer les activités et les populations des pathogènes (Simon *et al.*, 1994 ; Paulitz et Bélanger, 2001 ; Fravel, 2005), en s'appuyant sur une stratégie de défense écologiques et durables. Les agents de lutte utilisés peuvent être des parasites (une hôte constitue une base nutritive pour l'autre), des prédateurs (insectes, nématodes) ou bien des pathogènes (virus, bactéries, champignons) (Derdj, 2017).

Dans ce contexte, la plupart des espèces d'Actinomycètes vivant dans le sol peuvent agir par différents mécanismes d'action (Emmert et Handelsman, 1999). Cette action antagoniste dans la lutte biologique a été démontrée contre plusieurs espèces du *Fusarium* (Guergouri et Nasraoui, 2016).

3- Actinomycètes, agents de lutte biologique contre la Fusariose racinaire du blé

Les Actinomycètes sont des bactéries à Gram positif, filamenteuses, septées, ramifiées, de morphologie variable (Nanjwad *et al.*, 2010 ; Smaoui, 2010). Longtemps ont été confondus avec les champignons (Larpen, 1989), du fait de l'aspect mycosique des maladies qu'ils provoquent, de leur morphologie fongicoïde et de la fructification par sporanges qui libère des spores (Hasley et Leclerc, 1993 ; Horinouchi, 2002). Cependant, leur parasitisme par des bactériophages, leur sensibilité aux antibiotiques antibactériens et leur matériel génétique dépourvu de noyau, classent les Actinomycètes parmi les bactéries (Larpen, 1989 ; Le Minor, 1989; Hasley et Leclerc, 1993).

3.1-Taxonomie des Actinomycètes

L'ordre des Actinomycétales comprend des genres d'une grande variabilité morphologique (Oskay *et al.*, 2004 ; Srivibool et Sukchotiratana, 2006). Dans le Bergey's manual (2004), la famille *Streptomycetaceae* comprend 10 genres: *Streptoverticillium*, *Streptacidiphilus*, *Microellobosporia*, *Kitasatospora*, *Kitasatoa*, *Elytrosporangium*, *Chainia*, *Actinosporangium*, *Actinopycnidium* et *Streptomyces* et plus d'une centaine d'espèces. Cependant, les genres *Actinosporangium*, *Actinopycnidium*, *Elytrosporangium*, *Chainia*, *Microellobosporia* et *Kitasatoa*, suite à l'utilisation de méthodes de biologie

Revue bibliographique

moléculaire, notamment, le séquençage de l'ADNr 16S, ont été assimilés au genre *Streptomyces*.

3.2-Écologie et distribution dans la nature

Les Actinomycètes sont des bactéries ubiquitaires, colonisant différentes niches écologiques grâce à leur équipement enzymatique très diversifié (tableau 9). Ce sont les habitants habituels des sols de différentes natures, de la surface jusqu'à environ deux mètres de profondeur (Boudmagh, 2007). D'après Waksman (1967), le rapport Microorganisme totaux/Actinomycètes dans le sol, diminue au fur et à mesure que la profondeur augmente et leur nombre peut atteindre 10^6 germes par gramme de sol séché (Goodfellow et Williams, 1983). La géosmine et le MIB (2-méthyl isobornéol) produits par ces bactéries contribuent considérablement à l'odeur caractéristique du sol (Zaitlin et Watson, 2006). Dans la rhizosphère, les Actinomycètes appartenant au genre *Frankia* sont capables de noduler les racines des plantes et de fixer l'azote atmosphérique. Cette association est dite actinorhizienne et qui contribue largement à la protection des plantes contre les pathogènes. (Larpent et Larpent-Gourgaud, 1985 ; Prescott *et al.*, 2007).

Tableau 9 Répartition de quelques genres d'Actinomycètes par type d'habitat (Goodfellow et Williams, 1983).

Genre	Habitat
<i>Actinomadura</i>	Sol.
<i>Actinoplane</i>	Sol, eau, litière.
<i>Frankia</i>	Nodules des racines.
<i>Microbiospora</i>	Sol.
<i>Micromonospora</i>	Sol et eau.
<i>Rhodococcus</i>	Sol, eau, fumier, litière, matière en décomposition.
<i>Sacharomonospora</i>	Sol, eau, litière.
<i>Streptomyces</i>	Sol et eau.
<i>Streptosporangium</i>	Matière en décomposition et en fermentation.

Les Actinomycètes ont été également isolés dans de nombreux écosystèmes aquatiques, tels que: les eaux de mer et les sédiments marins (Jensen *et al.*, 1991; Ghanem *et al.*, 2000; Ayari *et al.*, 2012), l'eau douce (Kitouni *et al.*, 2005) les eaux usées traitées par aération (Leclerc *et al.*, 1977) et dans les marécages salés (Al-Zarban *et al.*, 2002 ; Boughachiche *et al.*, 2005). Ils se trouvent sur les débris des végétaux (Wang *et al.*, 2006), les cavernes naturelles (Lee, 2006), les glaciers, le désert, les sols pollués et les lacs alcalins (Lechevalier et Lechevalier, 1981 ; Goodfellow et Williams, 1983 ; Lacey, 1997). Beaucoup ont la capacité de sporuler, ce qui leur permette de survivre en conditions extrêmes (Zaitlin et Watson, 2006).

3.3- Caractéristiques culturales et morphologiques

Les Actinomycètes sont dotés d'une grande diversité morphologique durant leur cycle de vie, en réponse à des conditions environnementales défavorables (Smaoui, 2010). Ils se caractérisent par des formes multiples depuis la forme peu évoluée (simple cellule), jusqu'à la forme très évoluée caractérisée par la présence d'un mycélium typique, complexe, générateur de spores enveloppées dans un sporange (Hasley et Leclerc, 1993 ; Horinouchi, 2002). Chez les *Streptomyces* le mycélium est développé et caractérisé par sa persistance, à l'inverse des autres genres dont le mycélium est rapidement transformé en une masse de formes irrégulières (Agrawal, 2002). Chez les genres *Actinomyces* et *Mycobacterium*, le mycélium est rudimentaire et transitoire (Leclerc *et al.*, 1977).

Les colonies d'Actinomycètes formées sur milieux solides résultent de l'accumulation des hyphes ramifiés et non pas des cellules, ces hyphes sont soit dispersés soit en forme de pellets (Perry *et al.*, 2004), et qui sont habituellement divisés par des septums en longues cellules polynucléées ($\geq 20\mu\text{m}$) (Prescott *et al.*, 2003). Le diamètre des colonies est de 1 à 4mm, elles ont un aspect compact, sec, lisse ou rugueux en chou-fleur à contour lisse ou échancré. Très souvent elles sont pigmentées en blanc, crème, jaune, violet, rose, gris...etc. (Perry *et al.*, 2004).

Les spores se forment par la septation des extrémités des filaments. Elles sont soit isolées, soit groupées en chaînes, soit enfermées dans un sporange (sporangiospores) ou bien des conidies (conidiospores). La plupart sont immobiles et lorsqu'il y a mobilité, elle est limitée aux spores flagellés (Prescott *et al.*, 2003).

3.4- Cycle de développement (l'exemple typique *Streptomyces spp.*)

Le cycle de développement de *Streptomyces* débute par la germination d'une spore qui donne naissance à un mycélium primaire aérobic facultatif, formé d'hyphes non septés, plurinucléés, ramifiés et ancrés dans le milieu solide, permettant ainsi l'utilisation de la matière organique insoluble grâce à leurs enzymes extracellulaires (Locci, 1976; Theilleux, 1993 ; Miguez *et al.*, 2000; Boudemagh, 2007).

Sur ce mycélium primaire, se développera ensuite un mycélium aérien aérobic strict plus épais, beaucoup moins ramifiés que les hyphes du substrat, donnant un aspect poudreux, compact, poilu ou en chou-fleur. Il est en général pigmenté et enfermé dans une enveloppe externe hydrophobe (Silvey et Roach, 1975; Prescott *et al.*, 2003). Les

Revue bibliographique

extrémités des hyphes aériens se cloisonnent pour former des chaînes de spores uninucléées (figure 10) (Flärdh et Bruttner, 2009). L'ensemble de la colonie se développe de manière radiale, et c'est à cette étape que se déclenche la production de métabolites secondaires (Viollier *et al.*, 2001). Sur milieu liquide, il n'y a pas de formation de mycélium aérien et la différenciation est généralement d'ordre physiologique (Smaoui, 2010).

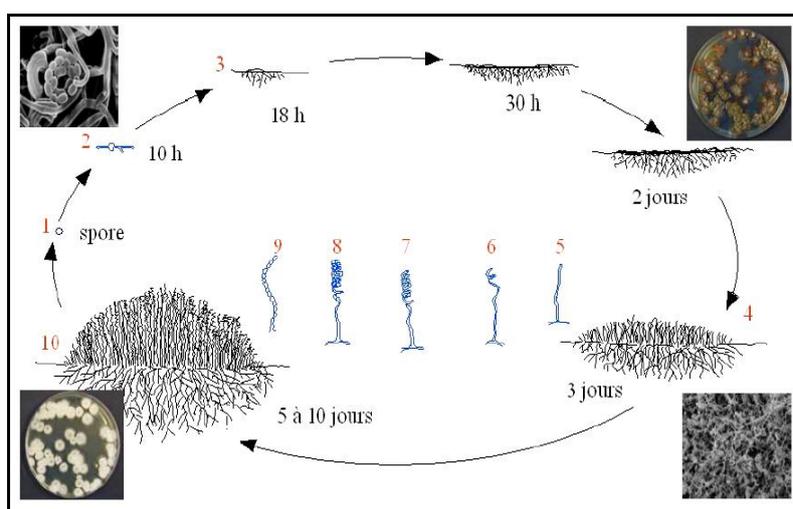


Figure 10 Cycle de développement des *Streptomyces* sur milieu solide (Hopwood *et al.*, 1985).

La germination est influencée par le degré hygrométrique (Boudemagh, 2007). Les exospores des Actinomycètes, ayant des formes très variables, se développent sur le mycélium aérien par séparation des extrémités du filament suite à une privation en éléments nutritifs (Prescott *et al.*, 2007) permettant ainsi la propagation de l'espèce (Boudemagh, 2007). Elle résistent plus à la dessiccation à la chaleur (Prescott *et al.*, 2007), cas des *Streptomyces* qui ne résistent pas à des températures supérieures à 50°C en chaleur humide et à 70°C en température sèche (Larpent *et al.*, 1989). Par contre, l'espèce *Actinomyces invulnerabilis*, et *Thermoactinomyces* que les spores ne se détruisent qu'à une température de 130°C, le traitement à 120°C inhibe seulement leur germination (Boudemagh, 2007).

Les endospores sont produites par des Actinomycètes thermophiles et sont issues d'une réorganisation du cytoplasme avec formation d'une nouvelle paroi épaisse (Leveau et Bouix, 1993).

3.5- Exigences écologiques

Les Actinomycètes représentent l'une des principales communautés microbiennes dans le sol. Leur présence est significativement influencée par les conditions environnantes

Revue bibliographique

: l'humidité, la nature et l'abondance de la matière organique et la végétation du sol (Sykes et Skinner, 1973 ; Basilio, 2003).

3.5.1- Taux d'humidité

Les Actinomycètes ne sont pas beaucoup influencés par les conditions semi-arides car ils ont pu être isolés à partir des sols à taux faibles jusqu'à modérés d'humidité (Oskay *et al.*, 2004 ; Perscott *et al.*, 2007).

3.5.2- Température

Les Actinomycètes sont mésophiles. Cependant, il existe des espèces thermophiles, principalement dans le genre *Thermoactinomyces* dont la température optimale est entre 50 et 60°C. Leurs spores résistent à une température de 90°C pendant 30min (Holt *et al.*, 1994). Le genre *Streptomyces* comporte aussi des espèces thermophiles comme *Streptomyces thermocophilus* (Kim *et al.*, 2000).

3.5.3- pH

La majorité des Actinomycètes du sol sont neutrophiles et croissent dans un intervalle de pH compris entre 5 et 9 avec une croissance optimale à pH neutre ou légèrement alcalin (Lee et Hwang, 2002). Certains Actinomycètes sont acidophiles, morphologiquement et physiologiquement différent des espèces neutrophiles (Basilio, 2003; Huang *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2006).

3.5.4- Rapports avec l'oxygène

Les Actinomycètes isolés du sol sont généralement aérobies mais certains genres peuvent être anaérobies facultatifs voir même anaérobies stricts comme c'est le cas du genre *Actinomyces* (Lee et Hwang, 2002).

3.5.5- Matière organique

En 1986, Henis a montré que le nombre des Actinomycètes est corrélé positivement avec le taux de matière organique et que de larges populations d'Actinomycètes coïncidaient avec des taux relativement élevés de matière organique, quelque soit le taux de la salinité du sol (Lee et Hwang, 2002).

3.6- Actinomycètes comme agents de lutte biologique

L'évaluation de l'efficacité des isolats bactériens dans le domaine de la lutte biologique est basée sur son potentiel à coloniser efficacement le système racinaire et la rhizosphère (persistance), sa dominance par rapport aux autres populations microbiennes,

Revue bibliographique

ainsi que ses exigences nutritionnelles réduites (Van Den Broek *et al.*, 2003 ; Bloemberg *et al.*, 2001).

Les Actinomycètes sont généralement chimio-hétérotrophes possédant un équipement enzymatique très diversifié leur permettant de s'adapter et de coloniser différents milieux rhizosphériques. En effet, ils contribuent efficacement à la minéralisation de la matière organique et la fixation de l'azote atmosphérique (le genre *Frankia*) ce qui améliore les récoltes par la fertilisation du sol. Leurs variétés, leurs exigences réduites et leur importance quantitative, dépendent de nombreux facteurs comme le pH, la matière organique, les saisons, traitement agricole (Leclerc *et al.*, 1977; Baker, 1988; Lee et Hwang, 2002 ; Perscott *et al.*, 2007; Kitouni, 2007).

De nombreuses espèces sont fortement protéolytiques et agarolytiques (Hsu et Lockwood, 1975). Certaines sont pectinolytiques, cellulolytiques (Leclerc *et al.*, 1977) et chitinolytiques (De Boer *et al.*, 1998). D'autres sont capables de dégrader l'amidon (Kuo et Hartman, 1996) et le xylane (Petrosyan *et al.*, 2003). Ils sont fréquemment bactériolytiques dégradant la paroi des cellules fongiques (Mahadevan et Crawford, 1997; Leclerc *et al.*, 1977).

Plusieurs travaux ont souligné le parasitisme des mycéliums de champignons par les Actinomycètes (El-Tarabily et Sivasithampar, 2006 ; Errakhi *et al.*, 2007 ; Jain et Jain, 2007). Ainsi, ils constituent les meilleurs candidats pour la lutte biologique contre les champignons pathogènes du blé du fait de leur pouvoir antagoniste qui se traduit par différents mécanismes, tel que: l'antibiose, la compétition nutritionnelle ou spatiale ou encore le parasitisme (Errakhi, 2008).

3.7- Génome

Le génome de *Streptomyces* se compose d'un chromosome linéaire de grande taille (8,7Mb pour *S. coelicolor*, 10,1Mb pour *S. scabies*) avec un pourcentage très élevé en bases G+C (71% à 73%). De plus, certaines espèces peuvent posséder des plasmides linéaires et/ou circulaires. La durée de répllication de l'ADN est de 50 à 65min (Larpent et Sanglier, 1989).

Matériel et Méthodes

Matériel et méthodes

Préambule

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM).

L'objectif principal du présent travail est d'étudier la potentialité d'antagonisme, *in vitro* et *in vivo*, des bactéries appartenant au groupe d'Actinomycètes, isolées de divers environnements de l'Est Algérien (Ain Mlila et El Kalla), et de mettre en évidence leur capacité de phytostimulation.

- La première partie consiste en l'isolement et la sélection des bactéries appartenant aux Actinomycètes développant une activité antagoniste, *in vitro*, vis -à- vis deux agents responsables de la pourriture racinaire du blé dur. Ces agents ont été réactivés comme expliquée ultérieurement.

- La seconde partie a pour objectifs (i) d'étudier chez deux variétés du blé dur *Triticum durum* cultivées dans un sol contaminé par les agents de la Fusariose du pied, la persistance *in vivo* du pouvoir anti-fusarien d'isolats bactériens criblés dans la première partie de ce travail, (ii) d'évaluer la capacité de ces isolats de promouvoir la croissance de la plante étudiée (agent de phytostimulation).

Première partie

1- Matériel fongique

1.1- Source et origine des agents phytopathogènes

Les deux espèces étudiées appartiennent au genre *Fusarium*, agent phytopathogène responsable de la pourriture racinaire. Elles ont été aimablement fournies par le laboratoire lieu de stage, il s'agit de *Fusarium oxysporum* et *Fusarium culmorum*, isolées, d'après leur historique, à partir d'une culture de blé dur présentant des symptômes de la fusariose.

1.2- Vérification d'isolats fongiques

La vérification, et la réactivation, des isolats fongiques étudiés, sont réalisées suite à une série de repiquages. La technique adoptée est celle de l'ensemencement par piqûre à la surface du milieu PDA (Annexe1), coulé et solidifié dans des boîtes de Petri. Cette technique est favorable pour le développement rapide des champignons, ainsi que pour la production des spores (Davet et Rouxel, 1997).

Matériel et Méthodes

La méthodologie consiste à prélever, aseptiquement, le mycélium d'une seule colonie fongique bien isolée, à l'aide d'une anse de platine, puis l'ensemencer à la surface du milieu de culture précédemment cité. L'incubation des milieux ensemencés à l'étuve à 30°C pendant 5 jours (Girard et Rougieux, 1967; Salama *et al.*, 2016). Un examen et un suivi quotidien des boîtes ensemencées sont effectués, pour étudier le développement des colonies (Guiraud, 1998). Cette méthode est répétée jusqu'à l'obtention de colonies pures.

Après incubation, les colonies fongiques ont été observées ; à l'œil nu puis à la loupe binoculaire et au microscope, au faible grossissement, pour l'étude macroscopique (Salama *et al.*, 2016). Les champignons passent, ensuite sur lames pour l'identification microscopique qui se fait, généralement, en comparant les formes observées avec celles de la littérature (Dufresne et St-Germain, 2018).

1.3- Conservation des souches fongiques

Après purification, les isolats ont été directement ensemencés dans des tubes de conservation contenant le milieu PDA incliné, après incubation de 48h à 30°C, les tubes sont stockés à 4°C (Davet et Rouxel, 1997).

1.4- Vérification des souches fongiques

La ré-identification des souches fongiques obtenues, a été réalisée suite à l'étude de leurs caractères macroscopiques et microscopiques en se basant sur les clés de détermination disponibles dans la littérature (Chabasse *et al.*, 2002).

1.4.1- Étude Macroscopique

L'observation et la caractérisation macroscopique des colonies fongiques développées sur milieu PDA sont effectuées à l'œil nu, au microscope optique et au microscope binoculaire; elles portent sur l'analyse de plusieurs critères dont : l'aspect des colonies (filamenteux, collant ...), leur couleur recto et verso (la couleur au fil du temps), la vitesse de croissance, la transparence des colonies (opaque, ou translucide), l'allure des contours et la production de pigments (Toffa, 2015).

1.4.2- Étude Microscopique

L'identification microscopique repose sur l'observation au microscope optique (Motic), et au binoculaire (Motic), en considérant les caractères morphologiques des hyphes (présence ou non de cloisons, structures particulières) ; les structures de

Matériel et Méthodes

reproduction (disposition des spores, couleur, forme, cloisons et taille). L'observation a été réalisée selon trois techniques, à savoir:

1- La technique de drapeau (scotch test), qui consiste à prélever un peu de la culture fongique à l'aide du ruban adhésif mis en contact direct avec la souche, et le déposer sur une lame contenant une goutte de Lactophénol bleu coton. Après 5 minutes, l'observation est réalisée au microscope optique, objectif x40 (Chabasse, 2002).

2- L'observation entre lame et lamelle, qui consiste à prélever à l'aide d'une anse de platine, un petit fragment de la culture fongique suffisamment développée, contenant des spores et des hyphes mycéliens, le déposer sur une lame contenant une goutte de Lactophénol bleu coton. Recouvrir avec une lamelle, Après 5 minutes, l'observation est réalisée au microscope optique, objectif x40 (Chabasse, 2002).

3- Technique de la lamelle oblique ; appelée également technique de culture sur lamelle, elle permet l'observation du mycélium aérien et du mycélium du substrat ainsi que la morphologie des chaînes de spores du *Fusarium*, cette technique consiste à insérer, délicatement, une lamelle stérile dans un milieu gélosé PDA, en formant un angle de 45° avec la surface de celui-ci (figure 11). L'inoculum fongique est déposé contre la lamelle en contact avec le milieu de culture. Après 07 jours d'incubation à 30 °C, la lamelle est retirée soigneusement de la gélose afin d'éviter l'altération du mycélium, elle va entraîner avec elle des fragments des mycéliums aérien et du substrat non-dénaturés, elle sera déposée ensuite sur une lame et observée au microscope optique au grossissement x 40 (Williams et Cross, 1971). Les mycéliums, et les structures fongiques sont photographiés et comparés avec ceux déterminés dans la littérature (Chabasse, 2002).

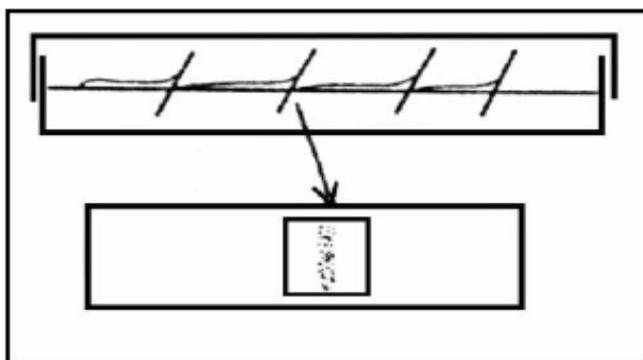


Figure 11 Technique de culture sur lamelle (Holt *et al.*, 1994).

2- Provenance et origine des isolats bactériens

Les isolats étudiés dans ce travail, ont été obtenus de deux provenances :

Matériel et Méthodes

- Lot N°1 : constitué de deux isolats d'Actinomycètes (souches 13 et 13'), qui ont été, aimablement, fournis par le laboratoire lieu de stage (laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne). D'après leur historique, ces souches ont été isolées à partir d'un sol semi-aride environnant de chotte d'Ezzemoul localisé dans la région d'Ain M'Lila (Wilaya d'Oum El Bouaghi), située dans le Nord-Est de l'Algérie (006° 34'E, 036°02'N), le sol utilisé a été prélevé à partir de la Rhizosphère des plantes près du lac salé.
- Lot N° 2 : renferme les autres isolats bactériens, obtenus à partir des échantillons telluriques qui ont été prélevés au niveau du lac Oubeira (zone d'échantillonnage).

2.1-Présentation de la zone d'échantillonnage

Lac Oubeira est situé dans l'extrême Nord-Est Algérien, à 700 mètres au sud de la Méditerranée et à 4 Km à l'Ouest de la ville d'El-Kala dans la Wilaya d'El-Taref, entre le Lac Mellah et le Lac Tonga (figure12). Il fait partie des importantes zones humides de la région d'Annaba et celle du Parc national d'El-Kala, possédant le titre de « principal centre de la biodiversité en Méditerranée » (Boumezber, 2001). Ses coordonnées géographiques sont N 36.909° - E 8.338°.

Lac Oubeira (Lac bleu) est confronté uniquement à son bassin versant et à l'oued Messida dans le marais au nord d'El Taref (figure13). C'est un site riche en matière organique et précieux sur le plan de la diversité biologique et de la productivité naturelle, raison pour laquelle ce site a été choisi.



Figure12 Localisation géographique du Lac Oubeira par satellite (Google earth27/05/2018).



Figure13 Site d'échantillonnage, lac Oubeira, ville d'El-Kala, Wilaya d'El-Taref.

2.2- Description des échantillons explorés

Notre étude a été menée sur deux échantillons de 50g, qui ont été aimablement fournis par la doctorante M^{me} Alloun (tutrice). Ces échantillons telluriques ont été prélevés selon la méthode de Pochon et Tradieux (1962), à partir des sédiments du lac Oubeira, dans des conditions d'asepsie les plus rigoureuses. Les échantillons ont été placés ensuite dans des flacons stériles et transportés rapidement dans une glacière à 4°C au laboratoire d'analyse, une fois arrivés au laboratoire, les échantillons ont été immédiatement conservés au réfrigérateur à 4°C jusqu'à utilisation.

2.3- Mesure du pH des échantillons

L'acidité de l'échantillon du sol est mesurée dès l'arrivée au laboratoire selon la technique de Pochon et Tradieux (1962), qui consiste à déterminer la valeur du pH d'une suspension du sol en eau distillée, en mettant 5g de sol dans 12,5 ml d'eau distillée stérile.

3- Isolement des Actinomycètes

3.1- Isolement par la méthode de suspension-dilution

Un gramme du sol est introduit dans un tube contenant 9ml d'eau physiologique (NaCl 9 ‰) stérile constituant ainsi la solution mère. À partir de laquelle une série de dilutions décimales a été effectuée jusqu'à la dilution 10^{-6} . Et chaque fois, le tube est agité vigoureusement au Vortex pendant 3 minutes pour permettre une bonne dispersion des microorganismes.

Un volume de 0.1ml (100µl) de chaque dilution a étéensemencé sur milieu gélosé GLM (Glucose extrait de malt et de levure), GN (Gélose nutritive ordinaire) (Annexe1) recommandé par Kim *et al.*, (2013), et ISP2 (International *Streptomyces* Project)

Matériel et Méthodes

(Annexe1) recommandé par Shirling et Gottlieb, (1966). L'étalement a été effectué sur gélose à raison de 3 boîtes par milieu et par dilution. Les boîtes ont été incubées à 30°C et observées régulièrement chaque semaine, pendant 21 jours. Tous les milieux en surfusion ont été additionnés, aseptiquement de 100µg/l d'antifongique « Fluconazole » pour éviter la prolifération des moisissures.

3.2- Réactivation des souches S13, S13'

Les souches d'Actinomycètes S13, S13' conservées sur milieu ISP2 ont été réactivées sur les milieux gélosés : GLM, GN recommandés par Kim *et al.*, 2013 et ISP2 recommandé par Shirling et Gottlieb (1966), en appliquant la méthode des stries. Chaque souche a été réactivée sur trois boîtes de chaque milieu de culture et incubées à 30°C pendant 21 jours.

3.3- Purification des isolats bactériens

Les colonies présentant un aspect macroscopique et cultural similaire à celui des Actinomycètes sont repiquées, par la méthode des stries sur des boîtes de Pétri contenant le milieu d'isolement ISP2. Cette dernière opération est répétée jusqu'à l'obtention de souches pures (Boughachiche *et al.*, 2005).

3.4- Conservation des isolats

Après purification des isolats, celles-ci sont conservés selon deux méthodes:

- 1- Les isolats repiqués sur gélose inclinée ISP2, incubés à 30°C pendant 14 jours et stockés à 4°C, pour une durée de deux mois environ. Un repiquage est réalisé tous les deux mois.
- 2- Une colonie bien isolée d'Actinomycète a étéensemencée dans un ependorff contenant le milieu ISP 2 additionné de glycérol stérile (20 %, v/v), utilisé comme cryoprotecteur, puis conservé au congélateur à -20°C, pour une durée de conservation plus longue (Boudmagh, 2007).

4- Sélection des isolats d'Actinomycètes producteurs de métabolites à activité anti-fusarienne

L'emploi des isolats d'Actinomycètes comme des agents de lutte contre les agents de la fusariose du pied chez le blé dur *Triticum durum* constitue l'objectif principal de ce travail, et afin de mettre en évidence leur capacité à inhiber ou irradiier la croissance des deux *Fusarium*, deux étapes sont réalisées:

Matériel et Méthodes

1- Première étape consiste en la mise en évidence *in vivo* de l'activité antifongique des Actinomycètes isolés. Ce test a été réalisé par l'application de deux méthodes sur le milieu PDA, à savoir, la méthode de disque d'agar (Boughachiche *et al.*, 2005), et la méthode de confrontation directe (technique de trait) (Badji *et al.*, 2005). Les champignons test utilisés sont : *F. oxysporum* et *F. culmorum*.

2- Deuxième étape, s'intéresse à l'analyse de la persistance de cette activité anti-fusarienne *in vivo*, test réalisé sur deux variétés de blé dur Cirta et Gta dur, est qui sera bien élucidé dans la deuxième partie de ce travail.

4.1- Technique des cylindres d'Agar

Cette méthode consiste à prélever un cylindre d'agar de 8mm de diamètre à partir d'une culture d'Actinomycètes de 14jours, puis le déposer à l'aide d'un emporte-pièce stérile à l'extrémité d'une boîte de Pétri contenant le milieu PDA. Un autre cylindre de 08 mm de diamètre prélevé à partir d'un clone de *Fusarium* de 14 jours est déposé sur l'autre extrémité à une équidistance de 5cm (figure14) (Benhamou et Chet, 1996 ; Nekkache-Abdallah, 2013). Un témoin est utilisé, en mettant un cylindre de chaque souche de *Fusarium* dans une boîte de Pétri contenant le milieu PDA (figure15). L'incubation des boîtes se fait à 30°C pendant 7 jours (Tortorano *et al.*, 1979; Boughachiche *et al.*, 2005). Une lecture quotidienne s'effectue par rapport aux cultures témoin et le pourcentage d'inhibition de croissance mycélienne est calculé selon la formule suivante (Wang *et al.*, 2002).

$$PI = [(M_o - M_i) / (M_o)] \times 100$$

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

M_o (mm) : Mesure de la croissance mycélienne normale représentant le rayon opposé à la colonie d'Actinomycètes testée.

M_i (mm) : Mesure de la croissance mycélienne du champignon phytopathogène Influencé.

Matériel et Méthodes

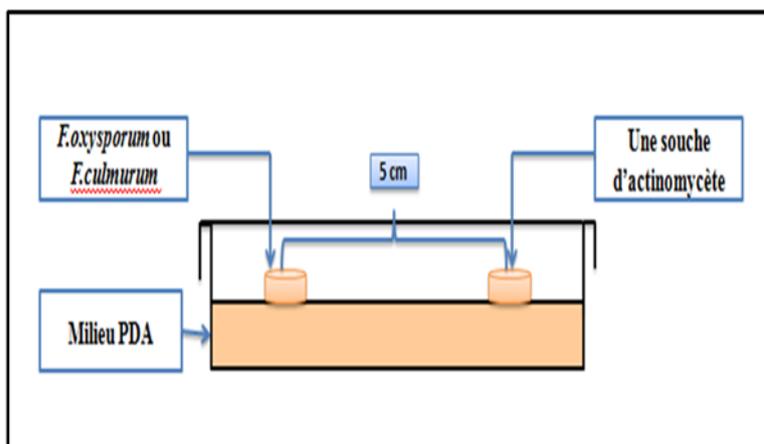


Figure 14 Confrontation à équidistance entre *F. oxysporum* ou *F. culmorum* et une souche d'Actinomycète (technique de cylindre d'agar).

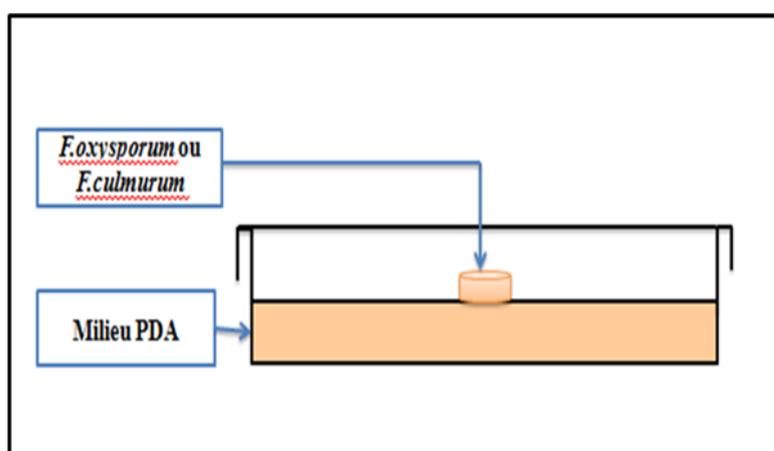


Figure 15 Boîte témoin négatif *F. oxysporum* ou *F. culmorum*, en absence de l'antagoniste.

4.2- Méthode de confrontation directe en boîtes de Pétri (technique de trait)

Le principe de la technique de confrontation direct consiste à prélever un cylindre de 8mm de diamètre à partir d'une culture de 14 jours du *F.oxysporum* ou *F.culmorum*, le déposer à l'aide d'un emporte-pièce stérile à l'extrémité d'une boîte de Pétri contenant le milieu PDA. À 3cm de la pastille du champignon, un isolat d'Actinomycète est ensemencé en trait (figure16). Dans le témoin négatif l'inoculum bactérien a été remplacé par de l'eau distillé stérile (Dennis et Webster, 1971; Inam-ul-Haq *et al.*, 2003). L'incubation des boîtes est faite à 30°C pendant 7 jours. Des mesures diamétrales des colonies du *Fusarium* ont été effectuées selon deux directions perpendiculaires à la fin du test, lorsque le mycélium du *Fusarium* témoin négatif atteint le bord de la boîte de Pétri. L'antagonisme de l'Actinomycète a été évalué par le taux d'inhibition de la croissance mycélienne du *Fusarium* selon l'équation suivante:

Matériel et Méthodes

$$PI = [(Mo - Mi) / (Mo)] \times 100$$

PI(%) : Pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne du *Fusarium*

Mo (mm) : Mesure de la croissance mycélienne normale du *Fusarium* représentant le rayon opposé à la colonie d'Actinomycète.

Mi (mm) : Mesure de la croissance mycélienne du *Fusarium* influencée par la croissance d'Actinomycète (Rakotoarimanga *et al.*, 2004).

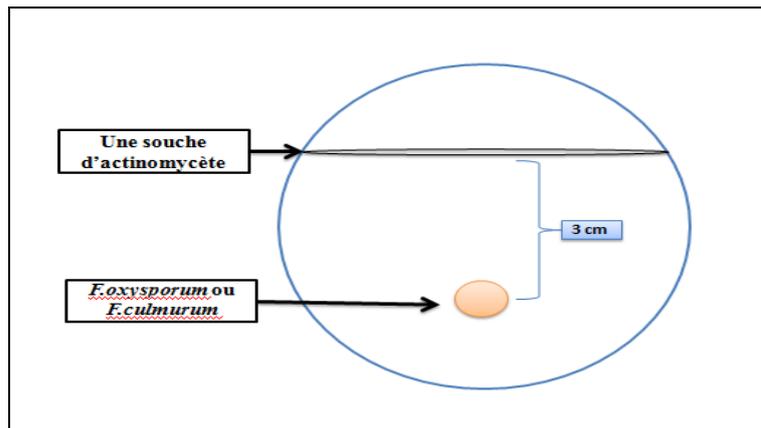


Figure 16 Confrontation directe du *F. oxysporum* ou *F. culmorum* et une souche d'Actinomycète (technique de trait).

5- Étude caractéristique des isolats d'Actinomycètes pourvues d'activité anti-fusarienne

5.1- Caractérisations morphologiques

5.1.1- Caractères macroscopiques

Selon Shirling et Gottlieb (1966), les caractéristiques culturelles des colonies purifiées sont déterminées par une observation des colonies à l'œil nu, développées sur les différents milieux de culture, ISP2, ISP4, ISP5 (annex1), après l'incubation des boîtes de 7 à 14 jours à 30 °C, elles concernent:

- L'aspect et la couleur du mycélium aérien ;
- La couleur du mycélium du substrat ;
- L'aspect, couleur et la forme des colonies.

L'aspect morphologique des colonies développées sur milieu ISP2, est observé au microscope binoculaire (Kalyani *et al.*, 2012).

5.1.2- Caractères microscopiques

- Observation à l'état frais

Elle permet l'observation des bactéries vivantes et la détermination de leur

Matériel et Méthodes

morphologie et de leur mobilité. Cette méthode consiste à déposer une petite goutte d'eau distillée stérile sur une lame, d'y déposer une fraction de colonie d'Actinomycète, et l'incorporer délicatement jusqu'à l'obtention d'une suspension homogène. Ensuite recouvrir 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 (x10 puis x40).

- Technique de la coloration de Gram

Afin de mieux déterminer la morphologie de la cellule, l'aspect filamenteux caractéristique des Actinomycètes, la présence ou l'absence du peptidoglycane et de la morphologie de la chaîne des spores, toutes les colonies suspectes, présentant un aspect compact, dur et incrusté dans la gélose sont observées après coloration de Gram (Annexe 2). L'observation au microscope optique (Motic) a été effectuée avec des grossissements (x10, x100) (Kalyani *et al.*, 2012).

- Technique de la lamelle oblique

Elle permet l'observation du mycélium aérien, du mycélium du substrat et de la morphologie des chaînes de spores. Selon la technique précédemment citée (figure 9). Le milieu utilisé est la gélosé ISP2, et la période d'incubation est de 14 jours à 30°C (Williams et Cross, 1971). Par la suite les mycéliums ont été photographiés

5.2- Caractérisations biochimique des isolats d'Actinomycètes

5.2.1- Utilisation des glucides comme seule source de carbone

Deux milieux ont été utilisés pour mettre en évidence l'utilisation des substrats carbonés comme seule source de carbone:

- Le milieu de base utilisé est l'ISP9, qui a été préalablement additionné de glucides à raison de 1 %. Les glucides utilisés comme étant une seule source de carbone, sont: Glucose, Fructose, Arabinose, Lactose, Inositol, Maltose, Xylose. Les lectures ont été faites par comparaison de la croissance des Actinomycètes en présence d'un glucide donné ou à son absence (témoin négatif). Le milieu contenant le glucose sert de témoin positif (Goodfellow, 1971).

- Le deuxième milieu utilisé est la gélose semi-inclinée TSI (gélose au Glucose, Lactose, Saccharose et H₂S) (Annexe 1), l'inoculum d'Actinomycète est ensemencé sur la pente par la technique de strie, et le culot par la piqûre centrale. Après incubation à 30°C pendant 7 à 14 jours, la lecture est réalisée au niveau du culot et au niveau de la pente:

Matériel et Méthodes

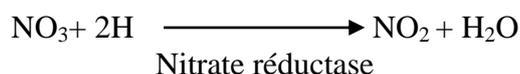
- Pente qui vire vers le jaune indique que la bactérie est lactose-saccharose positif ;
- Culot qui vire vers le jaune indique que la bactérie est glucose positif ;
- Noircissement est observé dans la zone joignant la pente si la bactérie dégage le H₂S (H₂S positif) ;
- Production de gaz est confirmée par la fragmentation de la gélose (Guiraud., 2003).

5.2.2- Utilisation du citrate comme seule source de carbone

Le milieu de citrate de Simmons (Annexe 1) estensemencé avec une colonie bien isolées d'Actinomycètes, au niveau de la pente en appliquant la technique de la strie longitudinale, puis incubé à 30°C pendant 7 jours. L'observation de la croissance de ces bactéries est effectuée quotidiennement durant cette période (Camille, 2007).

5.2.3- La réduction des nitrates

Selon **Gordon et Smith (1953)**, le milieu utilisé est le bouillon nutritif ISP2, additionné à 0,1% de nitrate de potassium, un tube de 10 ml de ce milieu estensemencé avec l'inoculum bactérien, est incubé à 30°C. La lecture est effectuée au 5^{ème}, 10^{ème} et 14^{ème} jours d'incubation, en ajoutant 3 gouttes du réactif de Griess I, puis Griess II à 1 ml de la culture. L'apparition d'une couleur rouge indique la réduction des nitrates en nitrites par la bactérie.



En absence de cette coloration, il est recommandé d'ajouter quelques milligrammes de poudre de zinc au milieu, ainsi :

- L'apparition de la coloration rouge indique que les nitrates du milieu ne sont pas réduits par la souche (résultat négatif).
- Absence de coloration indique que les nitrates sont réduits au-delà du stade des nitrites (résultat positif) (Marchal *et al.*, 1991).

5.2.4- Recherche de la production d'indole

Le milieu utilisé est l'eau peptonée exempte d'indole, qui ont étéensemencé par 0.5ml de chaque souche, la lecture est effectuée après incubation à 30 °C pendant 7 jours. À la suite 2 à 3 gouttes du réactif de Kovacs ont été ajoutées à 1 ml de la culture. Une réaction positive se traduit par l'apparition d'un anneau rouge vermillon à la surface (Joffin et Leyral, 2006).

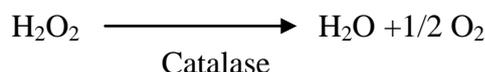
Matériel et Méthodes

5.2.5- Recherche de l'uréase

Ce test est réalisé dans un tube contenant 4.5 ml d'eau physiologique additionné de 4 gouttes du milieu urée-indole, il estensemencé par 0.5 ml de chaque souche d'Actinomycètes et incubé à 30 °C. Une lecture est effectuée après 24 heures : La couleur rouge du milieu indique que la bactérie est uréase positive. Par contre, la couleur jaune du milieu indique que la bactérie est uréase négative (Camille, 2007).

5.2.6- Recherche de la catalase

Afin de rechercher l'enzyme de catalase, une goutte d'H₂O₂ à 10 volumes a été déposée sur une lame, et incorporée avec un petit fragment de colonie. Le dégagement du gaz abondant sous forme de mousse ou de bulles indique la production d'O₂ provenant de la dégradation d'H₂O₂ (produit toxique pour les bactéries anaérobies) selon la réaction ci-dessous (Guiraud, 2003).



5.2.7- Recherche de la gélatinase

La gélatinase est une enzyme qui hydrolyse la gélatine en acides aminés et en peptides, la recherche de cette enzyme peut être effectuée par différentes techniques, celle utilisée dans ce travail est la technique de Williams et Cross (1971). Une gélose nutritive contenant 0.4% de gélatine estensemencées par les souches d'Actinomycètes, puis incubée 14 jours à 30 °C. Une solution de chlorure mercurique à 15% est reversée sur la gélose, les zones où la gélatine n'est pas dégradée s'opacifient en contact de cette solution. Alors que les zones d'hydrolyse de la gélatine restent claires.

5.2.8- Recherche de l'activité amyliasique

Ce test est réalisé selon la méthode de Gordon et Smith (1953), sur un milieu nutritif gélosé contenant 1% d'amidon solubleensemencé par les souches d'Actinomycètes. Après 14 jours d'incubation à 30°C, la gélose est recouverte d'une solution de lugol. La présence d'une activité amyliasique (hydrolyse de l'amidon) est confirmée par l'absence de coloration autour des colonies. À l'inverse, les zones contenant de l'amidon se colorent en brun.

5.2.9- Hydrolyse de la caséine

L'hydrolyse de la caséine est mise en évidence par la méthode de Williams et Cross (1971), et de Gordon et Smith (1953), l'ensemencement est effectué sur un milieu gélosé

Matériel et Méthodes

contenant 20% de lait écrémé incubé à 30 °C. Des observations régulières sont effectuées pendant 14 jours. L'apparition d'une zone claire autour des colonies affirme l'hydrolyse de la caséine.

5.2.10- Coagulation ou peptonisation du lait écrémé

Selon la méthode de Williams et Cross (1971), le test de coagulation du lait écrémé est réalisé dans des tubes contenant une solution à 10% de lait écrémé en poudre dissout dans de l'eau distillée stérile, qui sont ensuiteensemencés et incubés à 30 °C, pendant 14 jours, permettant ainsi de noter la coagulation ou peptonisation (digestion totale) du lait provoquée par les souches (El yacoubi, 2012).

5.2.11- Production des Pigments mélanoides

Les pigments mélanoides sont des pigments bruns diffusibles, leur production est mise en évidence par l'ensemencement des Actinomycètes sur milieu ISP7, incubés à 30°C, L'appréciation de la présence ou de l'absence de la couleur brune noire caractéristique des pigments mélanoides se fait au 2^{ème} jour et au 4^{ème} jour d'incubation (Shirling et Gottlieb, 1966; Margalith, 1992 ; Mocheva *et al.* 2002 ; El yacoubi, 2012).

5.2.12- 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.

Deuxième partie

6- Étude du pouvoir antagoniste des isolats d'Actinomycètes *in vivo* (*in planta*)

L'objectif principal de cette partie d'étude, est d'examiner la persistance du potentiel antagoniste des isolats d'Actinomycètes sur la croissance du mycélium des deux pathogènes ; *F.oxysporum* et *F.culmorum in vivo*, d'une part, et d'évaluer l'efficacité des inoculations actinomycétales sur la croissance de deux variétés de blé dur, d'autre part.

6.1- Matériel végétal

L'étude a porté sur deux variétés du blé dur *Triticum durum* qui représentent deux ressources génétiques du blé dur, habituellement cultivées au niveau de la wilaya de Constantine, celles-ci étaient fournies par L'OAIC El-Khroub, wilaya de Constantine,

Matériel et Méthodes

Algérie. Il s'agit de la variété Cirta et de la variété GTA dur, catégorie R1, les caractéristiques de ces deux variétés sont présentées dans le tableau 10.

Dans le cadre du progrès national de lutte contre les maladies des céréales, le rôle de l'OAIC consiste à effectuer un tri mécanique des semences, suivi d'un traitement chimique contre les attaques d'insectes et de champignons microscopiques, afin de protéger la plantule. Certes, le choix de ces variétés est lié à deux raisons, à savoir : (i) leur forte demande par les agriculteurs au niveau de la wilaya de Constantine, ainsi que leur adaptation aux conditions climatiques locales (Anonyme, 2015). (ii) le manque d'informations concernant la résistance ou la sensibilité de ces deux variété vis-à-vis des agents de la fusariose. Raison pour laquelle les semences choisies pour cette étude n'ayant subi aucun traitement chimique ou autre.

Tableau 10 Caractéristiques de deux variétés de blé dur Cirta et Gta dur (Anonyme, 2015)

Variétés	Cirta	GTA dur
Origine	Algérie	Mexique
Pédigrée	KB214-OKB-20KB-0KB-0KB-1KB-1KB	Gaviota x Durum
Obtenteur	ITGC –Elkhroub	*
Demandeur	ITGC	ITGC
Année d'inscription	2004	1998
Type de développement	Hiver	Hiver
Forme de grain	Demi- allongée	Allongée
Hauteur de plante (tige, épi et barbe)	Moyenne	Moyenne
Rendement	Élevé	Élevé
Qualité semoulière	Bonne	*
Teneur en protéine	15.19%	*
Résistances aux maladies :		
- Oïdium sur feuille	Faiblement sensible	Résistante
- Oïdium sur épi	Résistante	Résistante
-Rouille brune	Moyennement sensible	Résistante
-Charbon	*	*
-Fusariose	*	*
-Septoriose	Moyennement sensible	Résistante

* pas d'information

6.1.1- Désinfection des graines du blé

Les graines du blé (les deux variétés) sont désinfectées dans une solution d'hypochlorite de sodium à 5%, elles y sont immergées pendant 30min, pour éliminer toute trace préexistante d'agents contaminants de la couche superficielle de la graine. Ensuite, les graines désinfectées subissent trois rinçages successifs par l'eau distillée stérile (Nekkache-Abdalah, 2013).

Matériel et Méthodes

6.1.2- Pré-germination des graines du blé

La faculté germinative de ces graines désinfectées est testée avant le semis dans les pots, elles sont transférées dans une boîte de Pétri contenant le papier watman (ou bien le coton) stérile humecté à l'eau distillée stérile, à raison de 20 graines par boîte, incubées à l'obscurité pendant 3 jours à 25°C. Les graines ayant germées, vont subir des traitements ultérieurs (Derdj, 2017).

6.1.3- Préparation de l'inoculum du *Fusarium*

Des colonies de *F. oxysporum* et *F. culmorum*, de 7 jours développées sur le milieu PDA (Leslie *et al.*, 2001), ont été immergées avec 10 ml d'eau distillée et raclées avec un râteau stérile. La solution obtenue est filtrée à l'aide des compresses médicales très fines et stériles (Salama *et al.*, 2016). La concentration des conidies de la solution mère a été déterminée par un comptage des conidies à l'aide d'un hémacytomètre (cellule de Malassez), suite à la réalisation d'une série de dilutions décimales de l'ordre de 10^{-5} , afin de faciliter le comptage (Guiraud, 2003).

6.1.4- Préparation de l'inoculum d'Actinomycètes

Des cultures d'Actinomycètes de 14 jours, ensemencées sur milieu ISP2 par la technique de stries serrés, sont inondées avec 10ml d'eau distillée stérile puis raclées avec un râteau stérile, la suspension obtenue est homogénéisée par agitation au vortex. La concentration des spores est estimée grâce à une cellule de Malassez, la concentration recherchée est 10^7 (Barkate *et al.*, 2002).

6.1.5-Traitement du sol

Le sol utilisé est un sol prélevé de Chaabet Errsas, université frères Mentouri, Constantine 1. Ce sol est mélangé avec le terreau, il subit une série de 3 stérilisations répétées pendant 30 min à 180°C, à 24 heures d'intervalle, ensuite le sol est stocké dans des pots et recouvert d'aluminium stérile, et laissé à température ambiante durant une journée (Snissi *et al.*, 2006). Pour chacune des deux variétés, plusieurs lots sont préparés, à savoir :

- Le 1^{er} lot: cinq pots qui contiennent le sol stérile et les graines traitées par les Actinomycètes, ce traitement permet d'étudier l'interaction directe et unique de la souche bactérienne avec la plante, et son influence sur le développement végétatif de cette dernière.
- Le 2^{ème} lot et 3^{ème} lot: chacun est constitué de cinq pots, qui contiennent le sol contaminé respectivement par *F. oxysporum* et *F. culmorum*, et les graines traitées par les

Matériel et Méthodes

Actinomycètes, ce test permet d'étudier la persistance ou non de l'antagonisme qu'exerce l'Actinomycète sur la souche fongique *in vivo*. Il permet également d'étudier l'infection des racines par la Fusariose, et son influence sur le développement de la plante du blé.

- Le 4^{ème} lot: cinq pots qui contiennent des graines traitées et du sol contaminé par un complexe fongique (*F. oxysporum* et *F. culmorum*). Outre les paramètres déjà étudiés dans le 2^{ème} et le 3^{ème} lot, ce test permet d'étudier la résistance ou la sensibilité des graines traitées par les Actinomycètes, à ce complexe fusarien, qui représente généralement une des caractéristiques de cette maladie.

- Le 5^{ème} lot: contient 3 pots, dont chacun renferme un sol contaminé par un seul champignon, ce test représente un témoin positif de la Fusariose racinaire, permettant ainsi de constater les symptômes de la maladie.

- Le 6^{ème} lot contient un seul pot, dont le sol et les graines sont stériles, c'est un témoin négatif qui sera utilisé dans la comparaison des résultats (Figure 17).

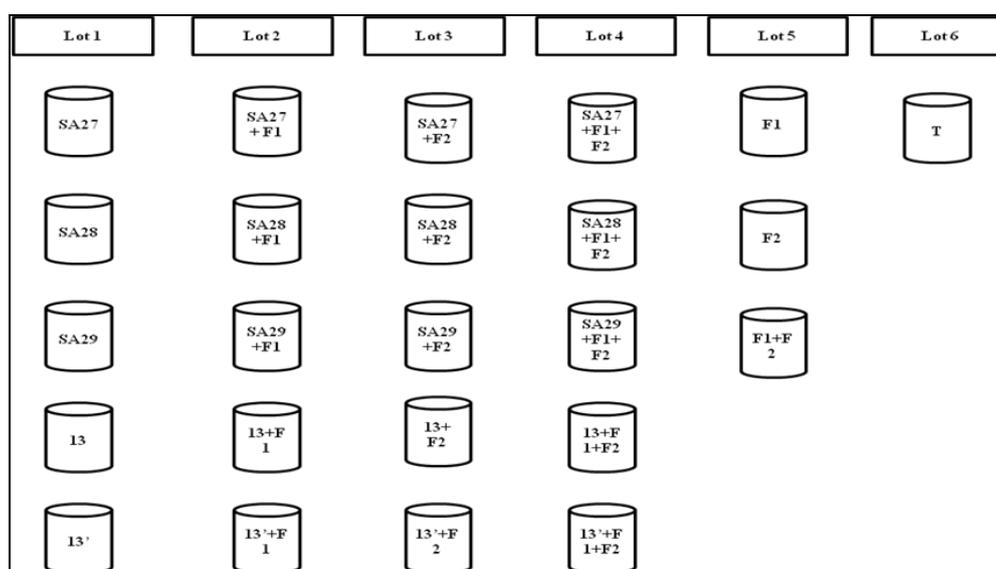


Figure 17 Lots de pots préparés pour chaque variété de blé dur (Cirta et Gta dur)
F1: *F. oxysporum*, F2: *F. culmorum*, (SA27, SA28, SA29, 13, 13') isolats d'Actinomycètes.

Les graines traitées, sont les graines du blé dur (Cirta et Gta dur) qui ont subi une pré-germination, suivie ultérieurement d'un traitement avec 10 ml d'une suspension bactérienne (une souche d'Actinomycète), dont la concentration sporale est égale à 10⁷spores/ml. Puis elles sont semées dans des puits traités par la même suspension, à la surface du sol non contaminé, ou du sol contaminé par un ou deux *Fusarium* à raison de 3 graines par pot. Pour les témoins, les graines sont trempées dans l'eau distillée stérile avant

Matériel et Méthodes

d'être semées dans le sol non infecté. Cette expérience est effectuée selon la méthode de Karimi *et al.* (2012) avec quelques modifications.

Le sol contaminé, est préparé en arrosant le sol stérile avec l'inoculum du *Fusarium* à raison de 30ml par pot de volume de 500ml, la suspension fongique de concentration égale à 5.10^5 spore/ml. Le sol est mélangé soigneusement afin de bien diffuser le champignon. La même opération est effectuée dans les pots contenant un sol infecté par *F. oxysporum* et *F. culmorum* (Rakotoarimanga *et al.*, 2014).

Les bacs semés le 02 mai 2018 sont placés sur une table dans un endroit moyennement éclairé et arrosés régulièrement selon les besoins de la croissance végétative des lignées (Salama *et al.*, 2016).

Les données concernant la résistance des plantes inoculées par l'antagoniste vis-à-vis de la Fusariose. Ainsi que le pouvoir phytostimulant de ces isolats sur le développement des plantes sont observés après 42 jours de semis, à savoir :

- Croissance foliaire qui s'exprime par le suivie de l'élongation foliaire chaque semaine. Cette mesure est réalisée de la base du limbe à la pointe de la plus longue feuille à l'aide d'une règle graduée (Simmons *et al.*, 1995).
- Comptage des feuilles de chaque plantule permet de déterminer le stade de développement (Derji, 2017).
- Résistance ou sensibilité au stress thermique qui se traduit par le flétrissement de la plante face aux températures élevées.
- Longueur maximale de racines séminales a été déterminée comme étant la longueur de la racine la plus longue (Simmons *et al.*, 1995).
- Observation des symptômes sur les racines qui se traduisent par l'apparition de taches brunes et un noircissement des racines et sous collet, la réduction de la taille des racines ainsi qu'une pourriture racinaire progressive.

Résultats et discussion

Résultats et discussion

En Algérie, la première céréale cultivée est le blé dur, *Triticum durum* (Desf) (Hamadache *et al.*, 2002), qui occupe une place stratégique au niveau du régime alimentaire et de l'économie nationale (Bellatreche et Gaouar, 2016). Cependant, sa production enregistre un déficit chronique (Benniou *et al.*, 2014). Malgré les réformes établies depuis 2000 par le Ministère de l'Agriculture, du développement rural et de la pêche (M.A.D.R)(Kellou, 2008), l'Algérie connaît une dépendance chronique à l'importation de produits céréaliers particulièrement le blé dur (Bellatreche et Gaouar, 2016).

La production du blé en Algérie, demeure toujours irrégulière et semble avoir un lien étroit à un certain nombre de facteurs défavorables (Ouffroukh, 2014), notamment les contraintes humaines, abiotiques et biotiques (Hamadache *et al.*, 2002).

Parmi les contraintes biotiques, la pourriture racinaire est l'une des maladies les plus redoutables du blé, infectant rapidement les variétés sensibles, lorsque les conditions climatiques leur sont favorables (Ezzahiri, 2001). De nombreuses espèces du *Fusarium* sont associées à cette maladie (Devaux, 1995 ; Nched, 2015), malgré les différents moyens envisagés pour son contrôle notamment les traitements chimiques efficaces (Salama *et al.*, 2016).

De nouvelles perspectives s'ouvrent dans le domaine de la lutte contre les phytopathogènes des céréalicultures, elles résident dans l'exploitation dirigées des antagonismes microbiens afin d'entraver le développement d'agents pathogènes et d'éliminer les dégâts causés par ces derniers (Nekkache-Abdallah, 2013).

Dans ce contexte, l'objectif principal du présent travail consiste en l'isolement et la sélection des isolats d'Actinomycètes, présentant une potentialité antifongique *in vitro* et *in vivo*, vis-à-vis, deux agents phytopathogènes, à savoir: *F. oxysporum* et *F. culmorum*, responsables de la Fusariose de pied du blé dur. Dans un but d'exploiter un moyen de lutte biologique alternatif aux moyens de lutte chimique traditionnellement utilisés contre cette maladie, et qui présentent des inconvénients, et des toxicités pour les utilisateurs (Lounaci , et Athmani-Guemouri, 2014).

Première partie

1- Vérification et purification d'isolats fongiques

Le repiquage des *Fusarium* effectué sur le milieu PDA à permis l'obtention d'un isolat pur provenant de la croissance d'un seul clone. Généralement, pour purifier un isolat fongique le repiquage est réalisé par la technique de stries serrées ou bien par piqûre centrale sur milieu PDA, considéré comme un milieu favorable pour le développement des *Fusarium* et surtout le développement de leur spores (Botton *et al.*, 1990).

1.1- Identification morphologique des isolats des *Fusarium*

L'identification morphologique, est basée sur l'observation des caractères macroscopiques et microscopiques des colonies des *Fusarium*, développées après 7 jours de culture à 30 °C, sur milieu PDA (Davet et Rouxel, 1997).

L'examen macroscopique des *Fusarium*, effectué en se basant sur l'observation des colonies à l'œil nu et aux microscopes optique et au binoculaire a abouti aux résultats rassemblés dans les tableaux 11 et 12.

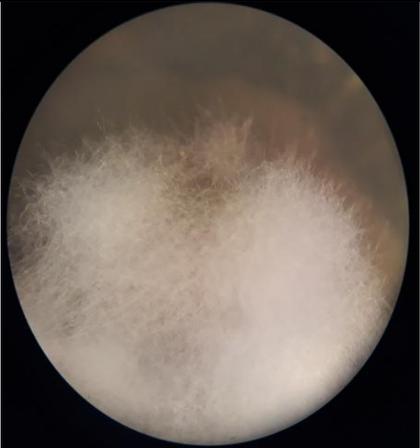
Tableau 11 Caractères macroscopiques des espèces test de *Fusarium*

Caractères étudiés	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. culmorum</i>
Vitesse de croissance	Croissance modérée	Croissance rapide
Aspect des colonies	Duveteuse	Cotonneuse
Couleur mycélium aérien	Blanc	Blanc, jaunâtre, rose claire
Couleur mycélium du substrat	orange à rouge	Crème, brique à rouge
Transparence des colonies	Opaque	Opaque
Production de pigment	Pigment rouge	Pigment rose

Les résultats obtenus correspondent effectivement aux caractéristiques morphologiques typiques des *F. oxysporum* et *F. culmorum*, communément établies par la littérature à savoir Nelson *et al.*, (1983); Botton *et al.*, (1985) ; Chabasse, (2002); Jeunot, (2005) ; Dufresne et Germain, (2018). Il est à signaler que le but de cette étape était d'obtenir des souches jeunes et exemptes de toute contamination à partir d'isolats fongiques déjà identifiés dans le laboratoire (LaMyBAM), dans un objectif principal de les utiliser ultérieurement comme agents phytopathogènes.

Résultats et discussion

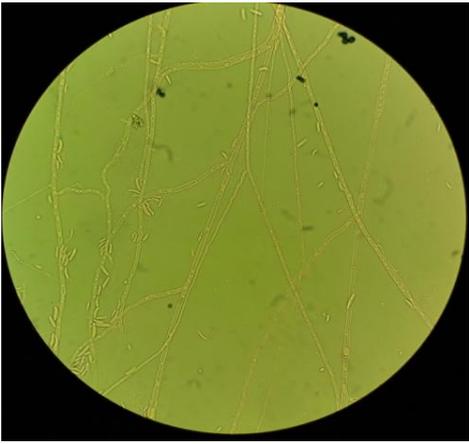
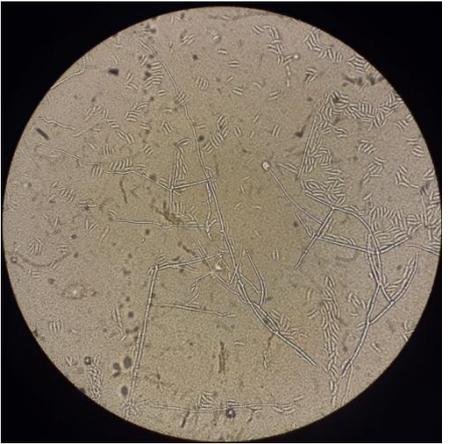
Tableau12 Caractères macroscopiques des *Fusarium* observés aux microscopes

Caractère étudié	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. culmorum</i>
Aspect de la colonie, sur milieu PDA (Recto de la boîte)		
Aspect de la colonie sur milieu PDA (Revers de la boîte)		
Aspect de la colonie au microscopique optique (Gx10)		
Aspect de la colonie au microscopique binoculaire		

Résultats et discussion

L'examen microscopique des *Fusarium* a été effectué selon trois techniques les plus utilisées dans ce genre d'analyses, afin d'identifier une espèce fongique, les résultats obtenus ont été récapitulés dans le tableau 13.

Tableau13 Résultats de l'examen microscopique des *Fusarium*

Technique	<i>F. oxysporum</i>	<i>F. culmorum</i>
Technique de drapeau		
L'observation entre lame et lamelle (grossissement x40)		
Technique de la lamelle oblique (grossissement x40)		

Résultats et discussion

L'observation microscopique du *F. oxysporum* a montré des filaments septés, ramifiés. Les macroconidies présentes sont fusiformes de taille petite à moyenne, elles sont soit isolées, soit attachées en deux, soit rassemblées en amas, elles sont allongées et légèrement incurvées, cloisonnées et pluriseptées (de 2 à 5 septums) avec l'absence de microconidies et de chlamydo-spores (tableau13).

Cependant, *F. culmorum* présente des filaments septés, ramifiés et enchevêtrés. Les macroconidies présentes sont fusiformes, courbées, septées (de 2 à 5 septums), à cellule apicale courte et pointue, de taille plus grande que celle de *F. oxysporum*, les microconidies sont absentes, les chlamydo-spores, si présentes, sont intercalaires, sont formées par le mycélium (tableau 13).

2- Isolats d'Actinomycètes

2.1- Mesure du pH des échantillons

Le pH des échantillons telluriques a été mesuré selon la technique de Pochon et Tradieux (1962), il est égal à 7.78 ; valeur incluse dans l'intervalle du pH optimal, cité dans la bibliographie des Actinomycètes (de 5 à 9), pour la croissance des Actinomycètes neutrophiles qui exigent un pH neutre ou légèrement alcalin (Lee et Hwang, 2002).

2.2- Isolement et purification des Actinomycètes

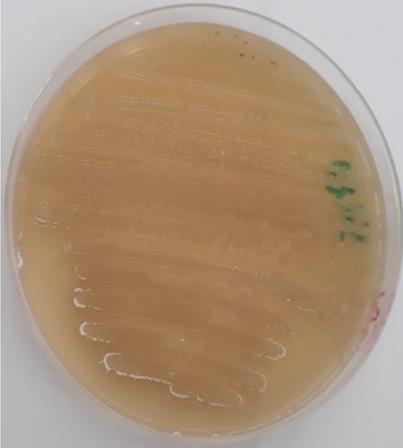
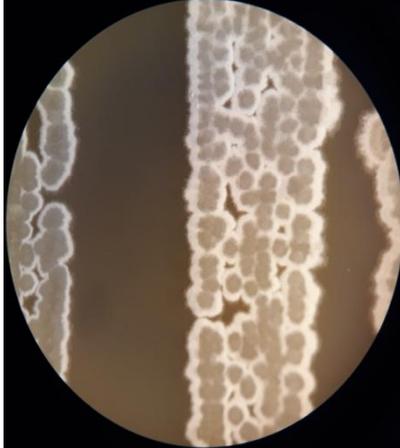
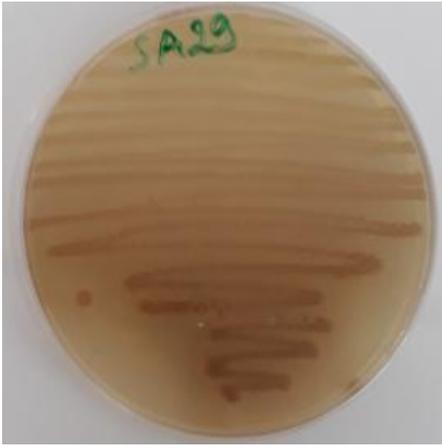
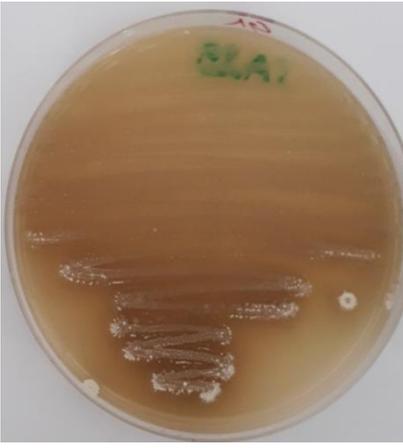
L'isolement des Actinomycètes par l'exploration des échantillons telluriques provenant du lac Oubeira, a été réalisé sur trois milieux de culture à savoir : GLM, GN recommandés par Kim *et al.*, (2013), ISP2 recommandé par Shirling et Gottlieb, 1966, additionnés d'un antifongique (Zerizer, 2006). Le développement des Actinomycètes est lent, par rapport aux autres bactéries, ils apparaissent au bout de 7 jours d'incubation à 30°C.

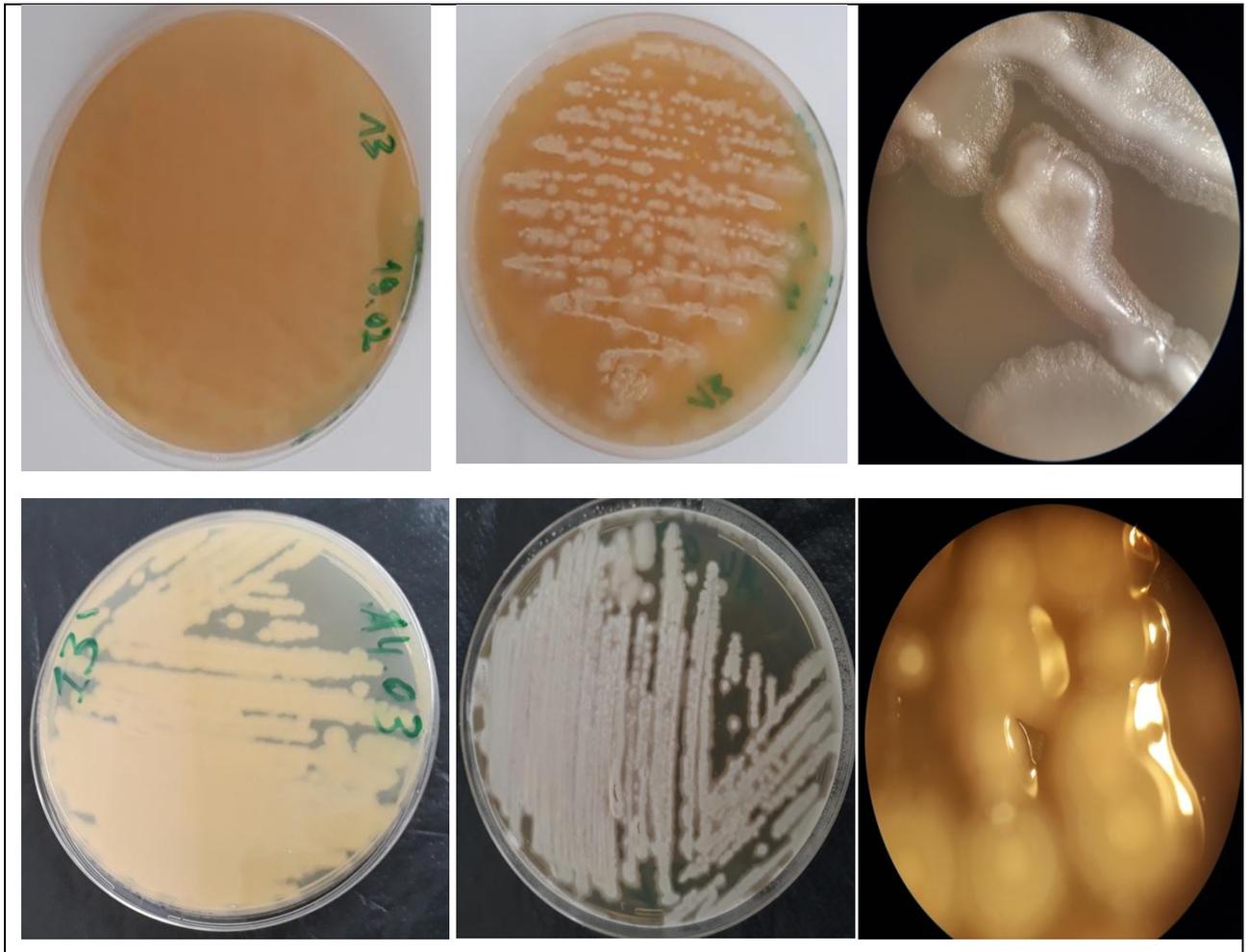
Sept isolats (SA1, SA2, SA27, SA28, SA29, SA31, SA41), ont été repérés d'après leur aspect macroscopique caractéristique des Actinomycètes, ils apparaissent sous forme de colonies d'aspect poudreux, dur et incrustés dans la gélose. Et de leur aspect microscopique (aspect filamenteux à coloration de Gram positive).

Les isolats obtenus, ainsi que deux autres 13, 13', ont été purifiés sur milieu ISP2 (International *Streptomyces* Project), un milieu d'isolement spécifique pour les Streptomycètes. Leurs caractères morphologiques ont été récapitulés dans les tableaux 14 et dans le tableau I l'Annexe 3.

Résultats et discussion

Tableau 14 Résultats de l'examen macroscopique des isolats d'Actinomycètes

Revers des colonies	Rectos des colonies	Observation au binoculaire
		
		
		



3- Sélection des isolats d'Actinomycètes producteurs de métabolites à activité anti-fusarienne *in vitro*

Parmi les 9 isolats d'Actinomycètes testés *in vitro*, pour la mise en évidence de leur activité antifongique, vis-à-vis les deux *Fusarium*, réalisée selon deux méthodes (i) la méthode de disque d'agar (Boughachiche *et al.*, 2005), (ii) et la méthode de confrontation directe (technique de trait) (Badji *et al.*, 2005) par l'application de deux méthodes sur le milieu PDA.

En testant l'antagonisme, *in vitro*, des 9 isolats bactériens sur milieu PDA, les résultats ont révélés la présence d'une inhibition de la croissance fongique. Cette dernière est variable selon l'isolat bactérien, l'espèce fusarienne testées et la technique employée.

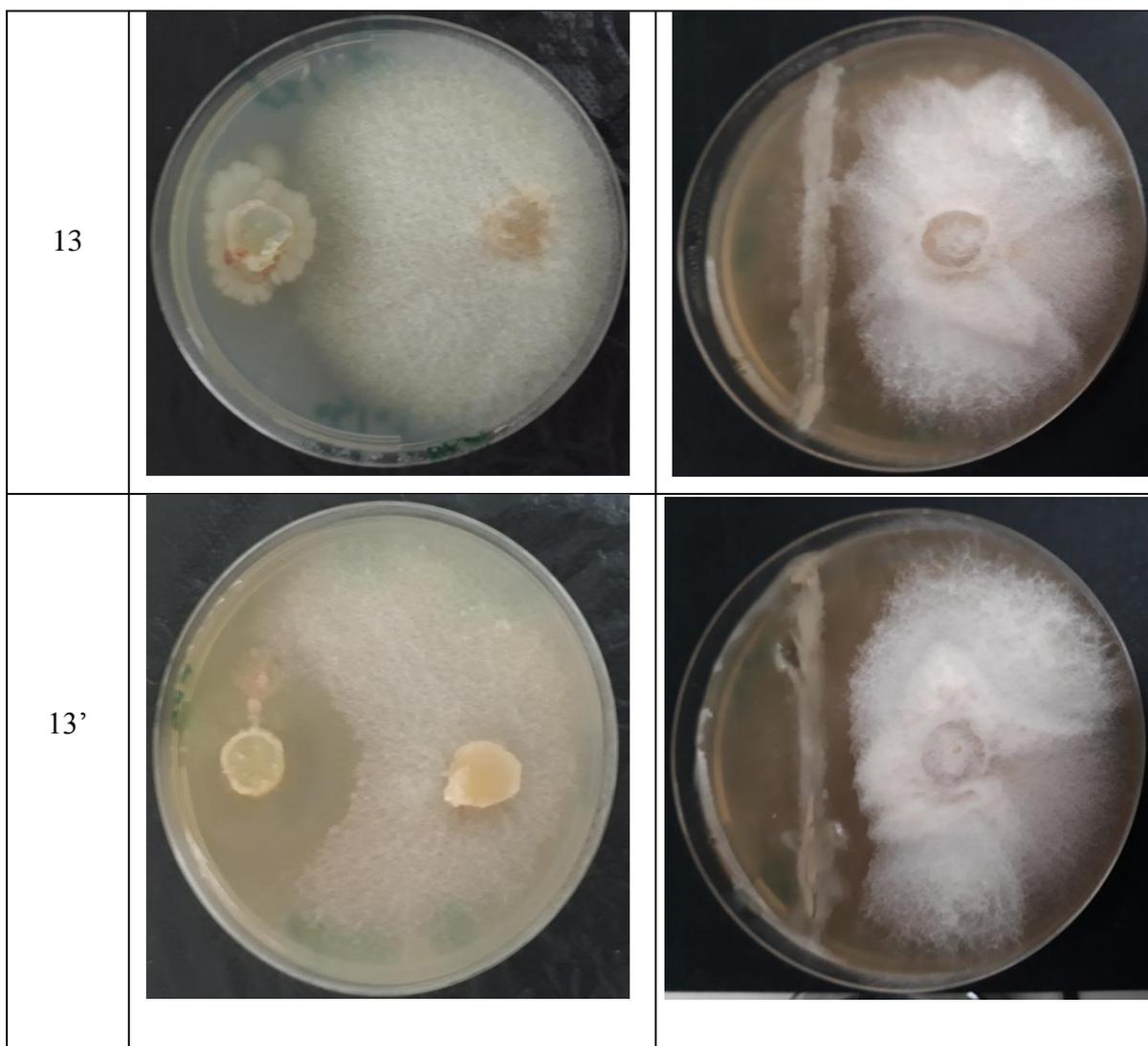
Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau 15.

Résultats et discussion

Tableau 15 Test d'activité antifongique des Actinomycètes, vis-à-vis, *F. oxysporum*

	<i>F. oxysporum</i>	
	Technique disque d'agar	Technique de trait
SA27		
SA28		
SA29		

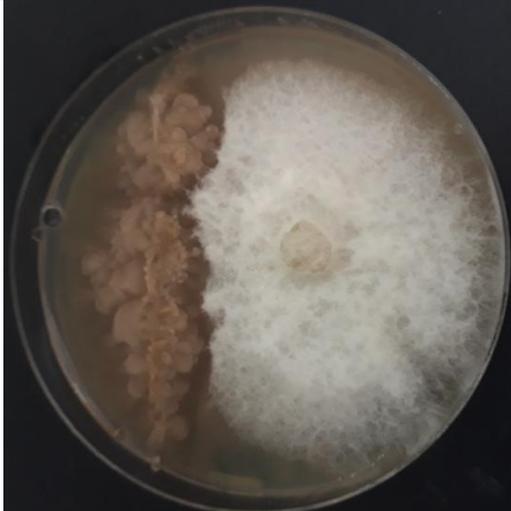
Résultats et discussion



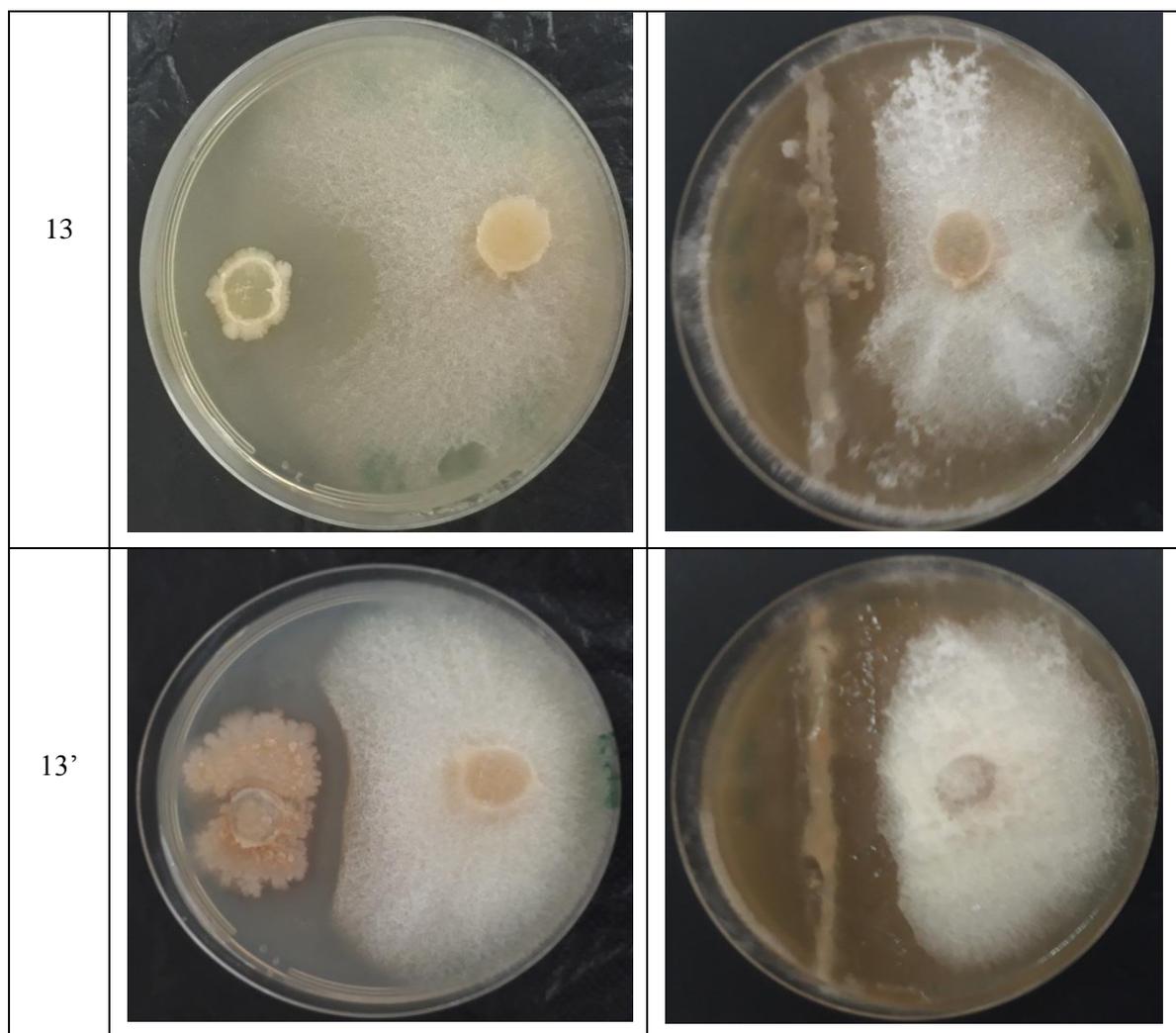
Les résultats de l'activité antagoniste des Actinomycètes vis-à-vis *F.culmorum* sont rassemblés dans le tableau 16.

Résultats et discussion

Tableau 16 Test d'activité antifongique des Actinomycètes, vis-à-vis, *F. culmorum*.

		<i>F. culmorum</i>	
		Technique disque d'agar	Technique de trait
SA27			
SA28			
SA29			

Résultats et discussion



Le pourcentage d'inhibition PI% (pour les deux techniques) est calculé selon les formules déjà cités dans le chapitre Matériel et méthodes :

- Les pourcentages d'inhibition des isolats d'Actinomycètes sélectionnés, vis-à-vis, *Fusarium oxysporum* et *F. culmorum* obtenus à partir de la Technique de cylindre d'agar, sont récapitulés dans le tableau 17.

Tableau 17 Pourcentage d'inhibition des isolats d'Actinomycètes sélectionnés vis-à-vis, *F. oxysporum*. et *F. culmorum* (Technique de cylindre d'agar).

Isolats d'Actinomycètes	PI (%) <i>F. oxysporum</i>	PI (%) <i>F. culmorum</i>
SA27	34%	68%
SA28	56%	60%
SA29	50%	54%
13	40%	48%
13'	50%	56%

Résultats et discussion

- Les pourcentages d'inhibition des isolats d'Actinomycètes sélectionnés, vis-à-vis, *F. oxysporum* et *F. culmorum* obtenus à partir de la Technique de trait, sont récapitulés dans le tableau 18.

Tableau 18 Pourcentage d'inhibition des isolats d'Actinomycètes sélectionnés vis-à-vis *F. oxysporum* et *F. culmorum* (Technique de trait)

Isolats d'Actinomycètes	PI (%) <i>F. oxysporum</i>	PI (%) <i>F. culmorum</i>
SA27	33%	33%
SA28	36%	60%
SA29	50%	63%
13	33%	56%
13'	40%	53%

Le potentiel de l'activité antifongique des Actinomycètes sélectionnés, vis-à-vis, les deux *Fusarium* est représenté dans les figures 18 et 19.

A- Technique de cylindre d'agar :

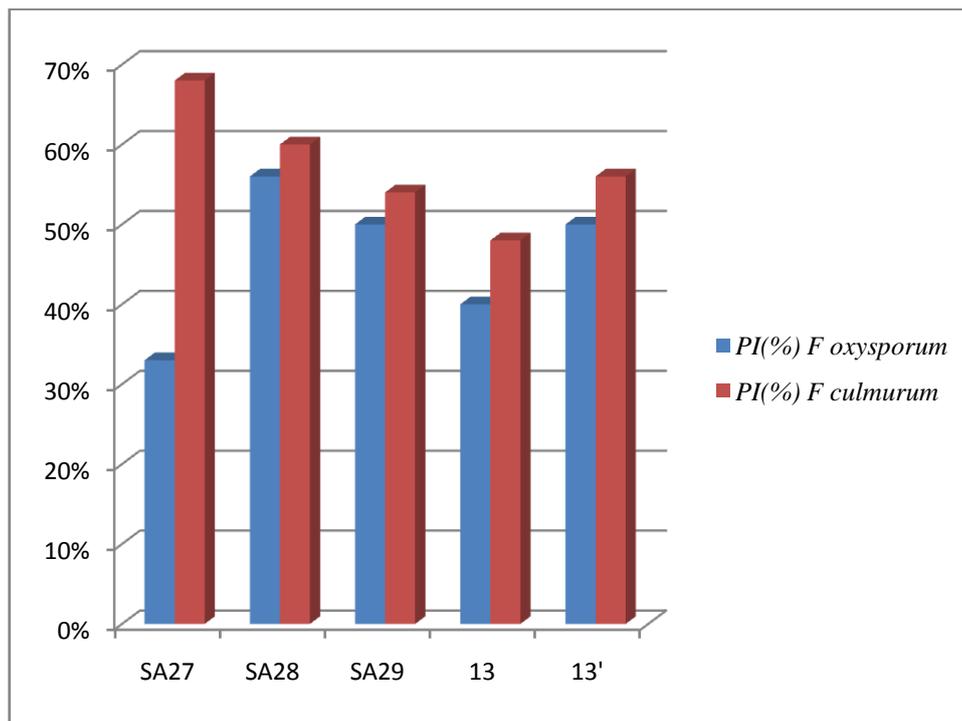


Figure18 Potentiel d'activité antifongique des Actinomycètes sélectionnés (Technique de cylindre d'agar)

Résultats et discussion

B- Technique de trait

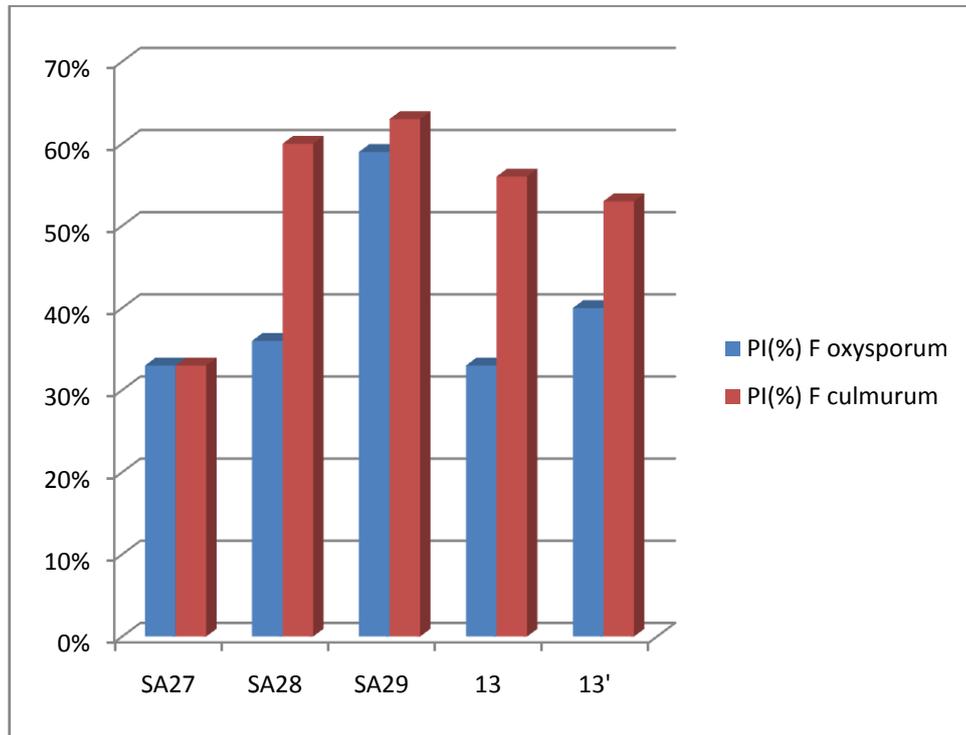


Figure 19 Potentiel d'activité antifongique des Actinomycètes sélectionnés (Technique de trait)

D'après les résultats obtenus, 55,55 % des isolats testés, à savoir cinq (5) isolats, ont montré une activité antagoniste positive se manifestant par une inhibition de la croissance des *Fusarium*, correspondant aux isolats: SA27, SA28, SA29, 13 et 13'. Avec un pourcentage d'inhibition allant de 33% à 56%, et de 33% à 68%, respectivement pour *F. oxysporum*, et *F. culmorum*.

Pour la technique des disques d'agar, les meilleurs taux d'inhibition ont été obtenus par la souche SA28 (PI=56%) vis-à-vis *F. oxysporum*, et la souche SA27 (PI=68%) vis-à-vis *F. culmorum*. Quand à la technique de trait, les meilleurs taux d'inhibition ont été marqués par la souche SA29, vis-à-vis *F. oxysporum* et *F. culmorum*, avec des taux d'inhibition respectifs de 50% et 63% (tableau 17 et 18).

Les autres souches sont également dotées d'une activité antifongique variable. Ces résultats montrent que le pouvoir inhibiteur de la croissance fongique ne dépend pas uniquement de l'isolat bactérien mais également du champignon test et de la technique

appliquée. Mais dans l'ensemble, les 5 isolats bactériens présentent une activité anti-fusarienne vis-vis les deux isolats fongiques.

Ce test n'est pas exhaustif pour élucider les mécanismes de lutte qu'utilisent ces bactéries pour inhiber ou réduire la croissance fongique, s'il s'agit d'une antibiose (production de biomolécules actives extracellulaires qui diffusent sur la gélose, provoquant ainsi la lyse des cellules fongiques), ou d'une compétitivité nutritionnelle ou spatiale.

D'après la littérature, le potentiel antifongique des Actinomycètes est généralement liée à l'antibiose (Fguira et *al.*, 2005 ; Atta, 2009) et/ou à la production d'enzymes extracellulaires hydrolytiques de la paroi fongique (Mukherjee et Sen, 2006; Prapagdee et *al.*, 2008).

4- Étude caractéristique des isolats d'Actinomycètes pourvues d'activité anti-fusarienne

Dans le même contexte, et afin d'extraire plus de données caractéristiques, les isolats, qui ont présenté une activité antifongique vis-à-vis les deux espèces *F. oxysporum* et *F. culmorum* ont été étudiés en se basant sur leurs aspects morphologiques (microscopiques et macroscopiques) biochimiques, physiologiques.

4.1- Caractérisations morphologiques

- Caractères cultureux et macroscopiques

Le tableau 19 montre que la totalité des isolats d'Actinomycètes se développent dans le milieu gélosé ISP2 possédant une source de carbone simple, le glucose et une source d'azote qui est l'extrait de Malt. Ils peuvent aussi croître sur le milieu ISP4 et ISP5 mais lentement en comparaison avec le milieu ISP2. Leurs caractères cultureux ont été étudiés sur des milieux spécifiques ISP4 et ISP5, préconisés par Shirling et Gottlieb (1966). Les colonies apparues sont de tailles moyennes, sèches, ridées incrustées dans la gélose avec ou sans pigmentation (Boudmagh, 2007). Concernant l'isolat 13', il présente un aspect visqueux, non incrusté, non poudreux facilement détachable de la gélose (tableau15).

Résultats et discussion

Tableau 19 Caractères cultureux des isolats bactériens

Isolat	Milieu	Croissance	Couleur du MA*	Couleur du MS**	Pig. mélanoïde
S27	ISP2	(+)(+)(+)	Blanc, beige à marron	Marron foncé	(+)
	ISP4	(+)	Beige à verdâtre	Marron	(-)
	ISP5	(+)	Beige à marron	Marron	(+)
S28	ISP2	(+)(+)(+)	Blanche/Grise	Beige	(-)
	ISP4	(+)	Blanche	Blanc	(-)
	ISP5	(+)(+)(+)	Blanc/Beige	Blanc	(-)
S29	ISP2	(+)(+)	Blanc à crème	Marron foncé	(+)
	ISP4	(+)(+)	Beige rosé	Beige	(-)
	ISP5	(+)	Beige rosé	Beige	(-)
13	ISP2	(+)(+)(+)	Blanc	Beige	(-)
	ISP4	(+)	Transparent	Transparent	(-)
	ISP5	(+)	Transparent	Transparent	(-)
13'	ISP2	(+)(+)(+)	Blanchâtre à Beige	Beige	(-)
	ISP4	(+)	Crème	Beige	(-)
	ISP5	(+)	Blanc	Blanc	(-)

* : Mycélium aérien

** : Mycélium du substrat

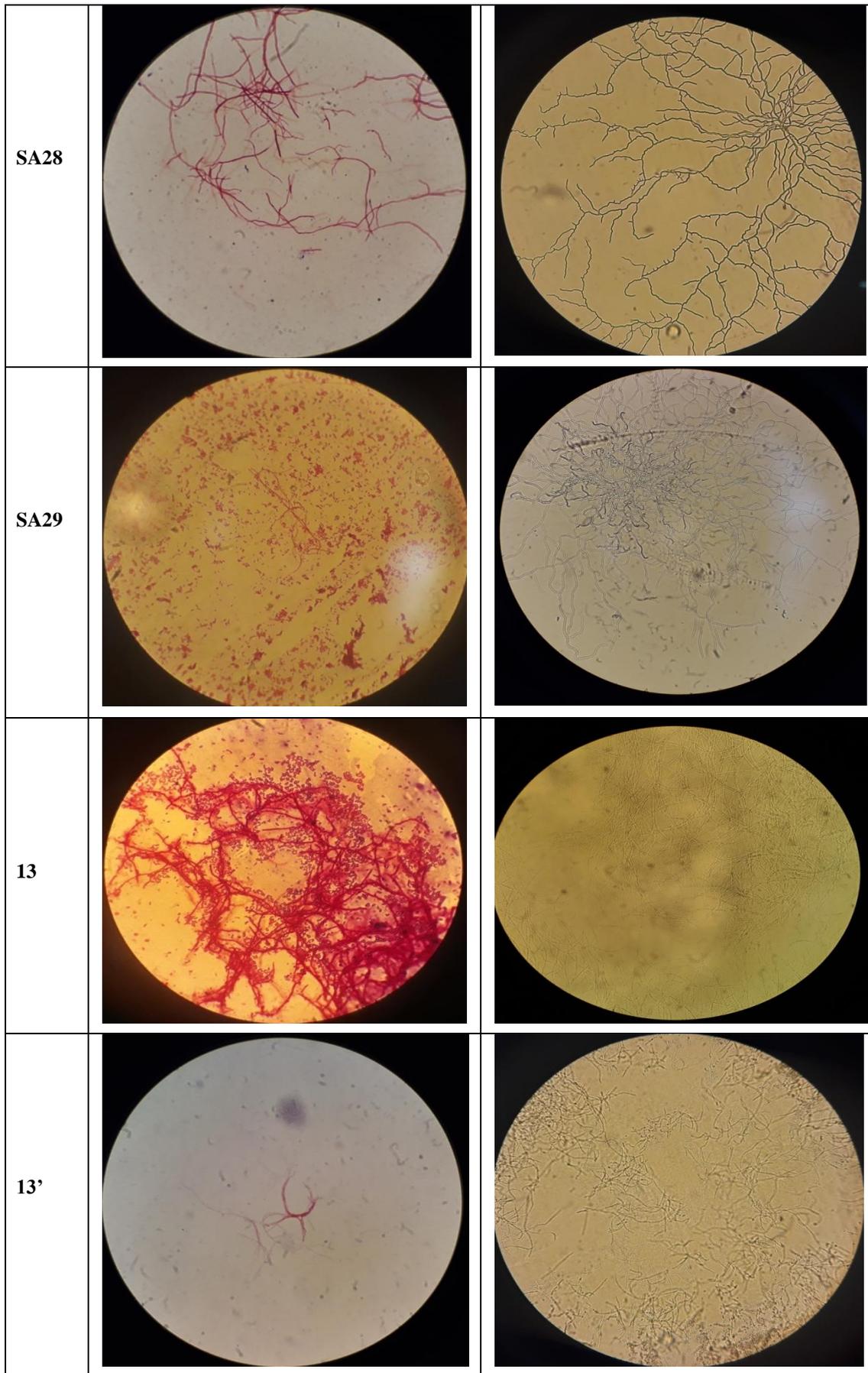
- Caractères microscopiques

L'observation microscopique après coloration de Gram, et par la technique de culture sur la lamelle, a révélé l'appartenance de ces espèces aux bactéries Gram +. Elles présentent un aspect filamenteux. Chez certains isolats le filament est constitué de spores qui forment des chaînettes plus ou moins longues, ayant également de spores dispersées ou rassemblées en amas (tableau 20), ce qui les rapprochent de manière générale aux Actinomycètes filamenteux (Flärdh et Bruttner, 2009).

Tableau 20 Caractères microscopiques des isolas d'Actinomycètes

	Coloration de Gram (Gx100)	Technique de la lamelle oblique (Gx40)
SA27		

Résultats et discussion



Résultats et discussion

4.2- Caractérisations biochimique des isolats d'Actinomycètes

Les résultats des différents tests physiologiques et biochimiques appliqués sur les cinq isolats actifs sont résumés dans le tableau 21 (voir Annexe3).

Tableau 21 Caractères biochimiques des isolats d'Actinomycètes

Caractères	Souches				
	SA27	SA28	SA29	13	13'
Utilisation des glucides (source de carbone)					
Glucose	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Fructose	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Arabinose	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Lactose	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Inositol	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
Maltose	(-)	(+)	(+)	(+)	(+)
Xylose	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Saccharose	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Utilisation du Citrate	(+)	(+)	(-)	(-)	(+)
Production de Gaz	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Production de H ₂ S	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Réduction des nitrates	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Production d'indole	(-)	(-)	(+)	(-)	(-)
Recherche de l'uréase	(-)	(-)	(-)	(-)	(-)
Recherche de la catalase	(-)	(-)	(+)	(+)	(+)
Recherche de la gélatinase	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
de l'activité amylasique	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Hydrolyse de la caséine	(+)	(+)	(+)	(+)	(+)
Action sur le lait écrémé					
Coagulation	(-)	(+)	(-)	(-)	(-)
Peptonisation	(+)	(-)	(+)	(-)	(-)
Production des Pigments mélanoides	(+)	(+)	(-)	(+)	(+)
Type respiratoire	A*	A*	A*	A*	A*

*A: aérobic

(-): Absence, (+): Présence

Les 5 isolats cultivés sur le milieu ISP9, se développent en présence des différentes sources de carbone étudiées, excepté les isolats SA27, SA29 qui ne se développent pas,

Résultats et discussion

respectivement, en présence du Maltose et de l'inositol, comme seule source de carbone. En outre le citrate n'est pas utilisé par les isolats SA29 et 13.

L'étude de l'utilisation des sources azotées, a montré que l'ensemble des isolats disposent une nitrate réductase qui leur permet de réduire le nitrate en nitrite, Mais ils ne possèdent pas l'uréase pour transformer l'urée en carbonate d'ammonium. La production de l'indole n'est possible que par l'isolat SA29. Enfin, tous les isolats ne produisent ni le gaz, ni le H₂S.

Les isolats disposent des enzymes qui leur permettent de dégrader l'amidon et la caséine, cependant, seuls les isolats SA27 et SA29 possèdent une gélatinase pour la dégradation de la gélatine. Le lait écrémé n'est coagulé qu'en présence de la bactérie SA28, et sa peptonisation est faite sous l'action des isolats SA27 et SA29.

Les cinq isolats poussent à la surface et dans la partie sous-jacente. La dégradation du peroxyde d'oxygène n'est possible que par les isolats SA29, 13, 13' qui disposent une catalase.

La production des pigments mélanoïdes diffusibles est observée sur le milieu ISP7 pour l'ensemble des isolats excepté le SA29 (annexe3).

La croissance des isolats a été examinée selon leur capacité à assimiler les différentes sources de carbones et il s'est révélé que la majorité de ces isolats utilisent l'amidon, le glucose, et les sucres déjà cités, ce qui explique leur grande répartition dans la rhizosphère surtout en présence d'un taux élevé de matière organique.

De plus ces souches possèdent un arsenal enzymatique très diversifié telles que : la nitrate réductase, la gélatinase, l'amylase...etc., ce qui leur confère une diversité métabolique importante. Ces résultats sont compatibles aux informations communément retrouvées dans la littérature. En fait, plusieurs auteurs ont déjà décrit la diversité métabolique de ces microorganismes chimio-hétérotrophes, notamment leur enzymes protéolytiques et agarolytiques (Hsu et Lockwood, 1975). Certaines sont pectinolytiques, cellulolytiques (Leclerc *et al.*, 1977) et chitinolytiques (De Boer *et al.*, 1998). D'autres disposent une activité amylasique (Kuo et Hartman, 1996) et le xylane (Petrosyan *et al.*, 2003). Ils sont fréquemment bactériolytiques et dégradent aussi la paroi des cellules fongiques (Mahadevan et Crawford, 1997; Leclerc *et al.*, 1977).

Résultats et discussion

Toutes ces caractéristique permettent aux Actinomycetes de coloniser différents écosystèmes surtout les plus riches en matière organique et leur permettent également de jouer un rôle important dans la fertilisation des sols.

Les critères des isolats obtenus après cette étude permet de les classer parmi les Actinomycètes chimio-hétérotrophes, qui possèdent un équipement enzymatique très diversifié, leur permettant ainsi de s'adapter et de coloniser différents milieux rhizosphériques. Les actinomycètes contribuent efficacement dans la minéralisation de la matière organique et même la fixation de l'azote atmosphérique (le genre *Frankia*) ce qui améliore les récoltes par la fertilisation du sol. Leurs variétés, leurs exigences réduites et leur importance quantitative, dépendent de nombreux facteurs, dont le pH, la matière organique, les saisons, les traitements agricoles (Leclerc *et al.*, 1977; Baker, 1988; Lee et Hwang, 2002 ; Perscott *et al.*, 2007; Kitouni, 2007).

Les informations obtenues pourront être exploitées, en premier lieu, dans les recherches qui visent l'étude des mécanismes d'action de ces souches vis-à-vis les champignons phytopathogènes, et en second lieu, en biotechnologie industrielle. En effet, plusieurs travaux ont souligné le parasitisme des mycéliums de champignons par les Actinomycètes (El-Tarabily et Sivasithampar, 2006 ; Errakhi *et al.*, 2007 ; Jain et Jain, 2007). Ainsi, ils constituent les meilleurs candidats pour la lutte biologique contre les champignons pathogènes du blé du fait de leur pouvoir antagoniste qui se traduit par différents mécanismes, tel que: l'antibiose, la compétition nutritionnelle ou spatiale ou encore le parasitisme (Errakhi, 2008).

Les informations obtenues par cette étude ne sont pas suffisantes pour l'identification au niveau de genre mais, ils permettent d'attribuer ces souches au groupe des Actinomycètes et de les rapprocher du genre *Streptomyces*. L'identification des isolats sera confirmée par une identification moléculaire pour des usages ultérieurs. En effet, l'ARN ribosomique (ARNr) représente une des méthodes les plus rapides et les plus fiables pour la détermination de l'espèce et c'est le meilleur moyen pour la réalisation des études phylogénétiques par rapport aux techniques classiques de la taxonomie (Gurtler et Stanisich, 1996).

Deuxième partie

5. Étude du pouvoir antagoniste des isolats d'Actinomycètes *in vivo* (*in planta*)

De très importantes interactions entre plantes et microorganismes se situent dans les racines et la partie du sol adjacente, en l'occurrence, la rhizosphère. Dans ce cadre, une étude de la persistance de la capacité antagoniste des isolats d'Actinomycètes actifs, criblés dans la première partie, vis-à-vis de la croissance de *F. oxysporum* et de *F. culmorum*, *in vivo* chez deux variétés de blé dur : Cirta et Gta dur est l'objectif de cette partie du travail.

5.1- Pré-germination

Une pré-germination des graines après désinfection a été réalisée en boîte de Pétri, afin de s'assurer de la faculté germinative, et du bon état de ces graines avant le semis dans les pots.

5.2- Préparation de l'inoculum du *Fusarium* et des Actinomycètes

Des inocula de chaque *Fusarium* (*F. oxysporum* et *F. culmorum*), sous forme d'une suspension sporale de concentration égale à 5.10^5 spore/ml, ont été préparés selon la technique de Guiraud (2003), en utilisant le comptage sur cellule de Malassez (Annexe3). Cette suspension a été utilisée pour contaminer le sol.

Par ailleurs, des inocula bactériens ont été préparés sous forme de suspensions sporales de concentration égale à 10^7 (Barkate *et al.*, 2002). Cette suspension a été utilisée pour traiter les graines avant leur semis.

5.3- Traitement du sol

Après sa stérilisation par la chaleur, le sol a été stocké dans des pots et recouvert d'aluminium stérile, et laissé à température ambiante durant une journée, puis directement utilisé pour l'examen *in vivo*. Six lots ont été préparés pour chaque variété. Cette expérience a été effectuée selon la méthode de Karimi *et al.*, (2012), Rakotoarimanga *et al.*, (2014).

Après 42 jours de semis, le développement des graines inoculées a été plus ou moins différents (figure 20)

Résultats et discussion



Figure 20 Développement des graines après 42 jours du semis

Les plantes ont été retirées des pots soigneusement afin d'éviter l'altération des racines, elles ont subi ensuite une série de mesure et d'observation, à savoir : la longueur de la racine, longueur des feuilles, nombre des feuilles, la présence des symptômes de la pourriture sur les racines [Symp.R (+)] ou son absence [Symp.R (-)] et enfin, la sensibilité ou la résistance à la température saisonnière. Les résultats obtenus sont rassemblés dans le tableau A et B (Annexe 4).

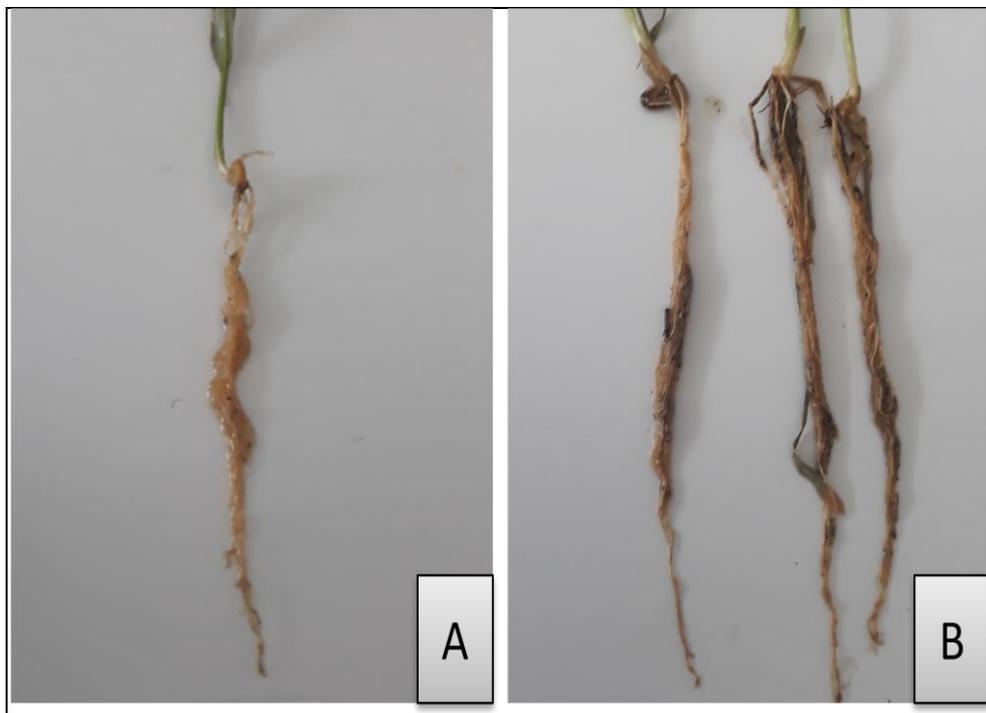


Figure 21 Racines du blé : A. racine saine, B. racine atteinte de la Fusariose.

Résultats et discussion

À partir des résultats récapitulés dans le tableau A et B (Annexe 4), nous avons calculé les pourcentages des symptômes pour chaque variété et pour chaque lot, en comparant les symptômes de chaque plante test avec ceux de la plante témoin (négatif) les résultats sont récapitulés dans les tableaux 22 et 23.

Tableau 22 Pourcentage des symptômes chez la variété « Cirta »

	Cirta / Actinomycètes	Cirta / <i>F.oxysporum</i>	Cirta / <i>F.culmorum</i>	Cirta/ Deux <i>Fusarium</i>
Longueur racine	40%	40%	40%	20%
Longueur feuille	100%	40%	40%	40%
N° feuilles	80%	20%	40%	20%
Racine saine [Sym.R (-)]	100%	60%	40%	20%
Résistance à la température	100%	20%	60%	40%

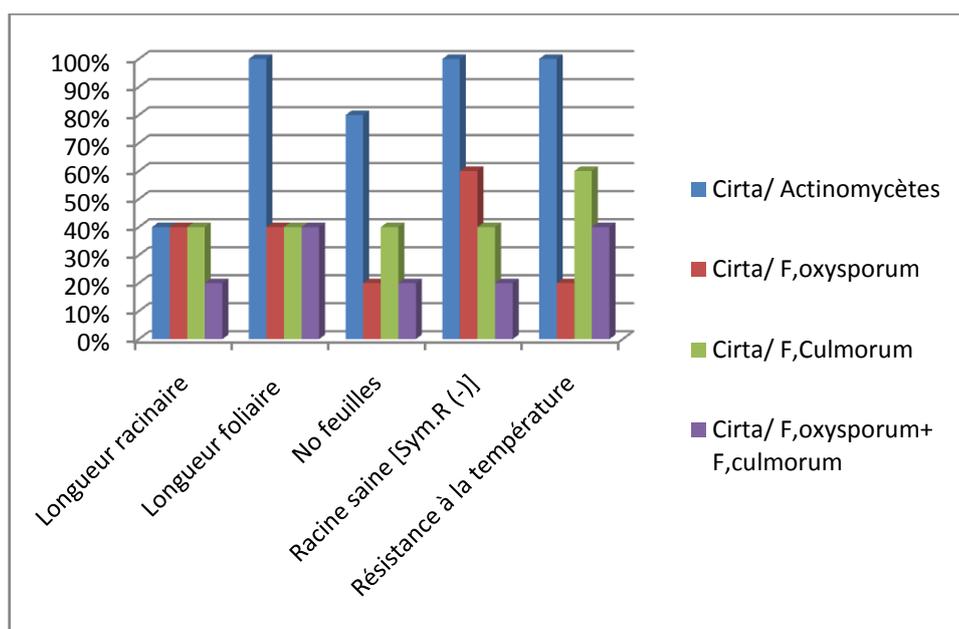


Figure 22 Pourcentages des symptômes chez la variété « Cirta ».

D'après le tableau 22 nous constatons que le lot traité par les Actinomycètes donne les meilleurs résultats ; dont 40 à 100% des plantes présentent un développement meilleur que celui de la plante témoin. 100 % des plantes ont présenté une résistance à la Fusariose racinaire et à la température, et elles ont des feuilles plus longues.

- 60% des graines traitées par les Actinomycètes et semées dans le sol contaminé par *F. oxysporum*, ont donné des plantes avec des racines saines. Cependant, seulement 40% des

Résultats et discussion

plantes ont pu résister à *F. culmorum*. Le taux de la résistance diminue en présence du complexe fusarien jusqu'à 20%. Donc la variété Cirta inoculée par les Actinomycètes résiste mieux au *F. oxysporum*.

Tableau 23 Pourcentage des résultats Gta dur

	Gta dur / Actinomycètes	Gta dur / <i>F.oxysporum</i>	Gta dur / <i>F.culmorum</i>	Gta dur/ Deux <i>Fusarium</i>
Longueur racine	20%	20%	0%	0%
Longueur feuille	60%	40%	20%	0%
N° feuilles	20%	20%	0%	0%
Racine saine [Sym.R (-)]	100%	20%	80%	20%
Résistance à la température	100%	20%	80%	0%

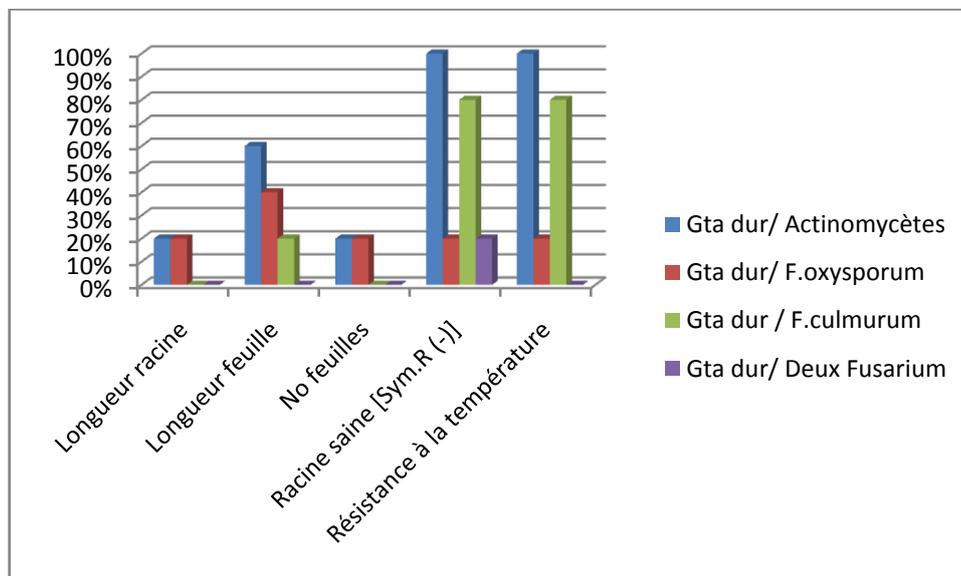


Figure 23 Pourcentage des symptômes chez la variété « Gta dur »

À l'instar de la variété « Cirta », la variété « Gta dur » inoculée par les Actinomycètes a présenté des plantes mieux développées, dont 100% de racines sont saines, et 100% des plantes sont résistantes à la chaleur (tableau 23).

La résistance racinaire à la Fusariose atteint 80% chez des plantes inoculées par les Actinomycètes, et en présence de *F. culmorum*, mais cette résistance atteint des pourcentages très réduits en présence de *F. oxysporum* et en présence du complexe fusarien. Donc, la variété Gta dur inoculée par les Actinomycètes a résisté mieux au *F. culmorum*.

Résultats et discussion

Les résultats obtenus ont montré que la variété Cirta résiste à 100% en présence des *Fusarium* tests (un ou deux), lorsqu'elle est inoculée avec l'isolat de l'Actinomycète 13. Cependant, la variété Gta dur inoculée par l'isolat d'Actinomycète SA27 résiste à *F.oxysporum*, ou à *F.culmorum*, mais ne résiste pas au complexe fongique constitué de deux *Fusarium*.

L'antagonisme des Actinomycètes vis-à-vis les *Fusarium* se manifeste par la diminution ou l'absence totale des symptômes de la Fusariose dans les racines de la plante lorsqu'ils sont inoculés ensembles dans un même pot. En fait, nos résultats montrent que les deux isolats d'Actinomycètes 13 et SA27 ont un effet inhibiteur contre les deux agents pathogènes du *Fusarium*. Cette inhibition se traduit par l'amélioration des paramètres de croissance tels que : la longueur des racines et des feuilles, le nombre des feuilles et la résistance à la chaleur. Ce qui nous permet de les classer parmi les PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*) (Colin et Pussemier, 1984), qui peuvent être promotrices de la croissance des plantes du blé (PGPR) et peuvent aussi protéger les plantes contre les infections des phytopathogènes (Gamalero *et al.*, 2005)

Dans le cadre de la révolution du processus de biocontrôle, de tels résultats encouragent les chercheurs à exploiter les Actinomycètes comme étant des agents biologiques dans la lutte anti-fusarienne dans les cultures du blé dur (Kleopper *et al.*, 1980). Ces résultats sont renforcés par les résultats de nombreux travaux antérieurs dans le même domaine, qui confirment le rôle des microorganismes dans la lutte biologique contre les maladies de plante. À titre d'exemple les travaux de Yekkour *et al.*, (2012) qui ont exploité les Actinomycètes sahariens dans la lutte biologique contre les maladies de «Fonte de semis». Également, les chercheurs Meredith et Pohland, (1970) ont montré que, d'un part, les Actinomycètes sont des producteurs d'antibiotiques qui empêchent la croissance des agents phytopathogènes et d'autre part, ils permettent l'amélioration du rendement des plantes.

*Conclusion et
perspective*

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives

Le genre *Fusarium* regroupe, entre autres, des champignons phytopathogène causant la fusariose racinaire du blé. La contamination des céréales par ce champignon induit une double réduction du rendement et de la qualité des graines par la présence de mycotoxines fusariennes. Ceci pose un problème majeur pour les agriculteurs surtout que les traitements chimiques disponibles sur le marché sont pas ou peu efficaces d'une part, et présentent un danger imminent pour l'environnement et pour la santé humaine d'autre part.

Dans une approche de lutte biologique contre ce groupe de moisissures, l'utilisation des bactéries actinomycétales, principalement du genre *Streptomyces* semble être un moyen de lutte alternatif moins couteux, moins dangereux pour l'environnement et la santé de l'homme. En effet, ces bactéries ont inhibé *in vitro* la croissance de deux espèces du *Fusarium* test en l'occurrence ; *Fusarium oxysporum* et *F. culmorum* étudiées dans ce travail. Les résultats du test de la double culture *in vitro* laisse conclure que les métabolites antifongiques produits par ces bactéries sont à l'origine de l'inhibition de la croissance et la lyse des hyphes de *Fusarium*. Cette aptitude à réduire la croissance de champignon *in vitro* corréle avec la capacité des bactéries antagonistes à réduire la maladie sur les racines des plantules de blé. Le taux de croissance des plantules a été également significativement stimulé quand les bactéries antagonistes sont appliquées seules ou en présence des deux champignons.

Ce travail a permis aussi d'explorer *in vivo* la capacité phytostimulante et préventives des bactéries du genre *Streptomyces* vis-à-vis la fusariose racinaire. Ainsi, il est intéressant de se fixer comme perspective de caractériser le mécanisme d'action à l'origine de l'antagonisme bactérien (Compétition sur les substrats carbonés ou antibiose par synthèse de biomolécules qui sont à l'origine de l'inhibition de la croissance fongique). En outre, la détermination des conditions optimales de production à l'échelle industrielle et la formulation d'un biopesticide efficace exploitable sur le champ semble former également une voie intéressant pour les travaux ultérieurs.

Références
bibliographiques

Références Bibliographiques

A

- Abdi Y. (2015). Distribution spatiale des maladies fongiques du blé dur (*Triticum durum* Desf.) et effet de la fusariose sur le rendement en zones semi-arides de Sétif. Mémoire de Magister en Agronomie. Université Ferhat Abbas, Sétif 1.
- Abeledo L.G., Savin R., Gustavo A., Slafer. (2008). Wheat productivity in the Mediterranean Ebro Valley: Analyzing the gap between attainable and potential yield with a simulation model. *European Journal of Agronomy*. 28. 541-550.
- Agrawal V.P. (2002). Biodiversity of region population study of Actinomycetes Éd. Submitted to royal Nepal academy for science and technology. *Algerian journal of arid environment*. Vol. (6). N°2: 32-42.
- Alves-Santos F.M., Benito E.P., Elsave A.P., Díaz-Mínguez J.M. (1999). Genetic diversity of *Fusarium oxysporum* strains from common bean fields in Spain. *Appl. Environ. Microbiol.* 65:3335-3340.
- Al-Zarban S.S., Abbas I., Al-Musallam A.A., Steiner U., Stackebrandt E., Kroppenstedt R. M. (2002). *Nocardiosis halotolerans* sp. nov, isolated from salt march soil in Kuwait. *Int J Syst Evol Microbiol* 52 : 525-529.
- Anonyme. (2013). Institut technique des grandes cultures. Bulletin des grandes cultures.
- Anonyme. (2015). Centre national de contrôle et de certification des semences et des plants. Bulletin des variétés de Céréales autogames. Source : <http://CNCC.dz.org/> céréalières en milieu semi-aride de l'est algérien. *Revue Agriculture*. 08 (2014) 26 – 37.
- Anonyme. (2017). Pré-bilan de la campagne céréalière 2016/2017. N°2.
- Anonyme. (2018). Algérie presse service. Source : [www.aps.dz/economie /65570-agriculture-plus-de-70- de l'alimentation-assurée par la production –nationale](http://www.aps.dz/economie/65570-agriculture-plus-de-70-de-l'alimentation-assuree-par-la-production-nationale).
- Arseniuk E., Foremska E., Goral T., Chelkowski J. (1999). Fusarium head blight reactions and accumulation of deoxynivalenol (DON) and some of its derivatives in kernels of wheat, triticale and rye. *Journal of Phytopathology*. 147: 577-590.

Références Bibliographiques

- Ayari A., Morakchi H., Kirane Gacemi D.J. (2012). Identification and antifungal activity of *Streptomyces sp. S72* isolated from Lake Oubeira sediments in North-East of Algeria. Afr. J. Biotechnol. 11(2): 305-11.

B

- Baayen R.P. (2000). Diagnosis and detection of host-specific forms of *Fusarium oxysporum*. EPPO Bull. 30:489-491

- Backer B., Lechevalier M.P., Lechevalier. (1965). Chemical composition of cell-wall preparation from strains of various form-genera of aerobic actinomycetes. Appl. Microbiol., 13. 236-243.

- Bahlouli F., Bouzerzour H., Benmahammed A. (2005). Selection of stable and high yielding cultivar of durum wheat under semi – arid conditions. Pakistan Journal of Agronomy. 360-365.

- Bajji M. (1999). Étude des mécanismes de résistance au stress hydrique chez le blé dur : caractérisation de cultivars différant par leurs niveaux de résistance à la sécheresse et de variants soma clonaux sélectionnés *in vitro*. Thèse de doctorat. Université catholique de Louvain.

- Baldy C. (1984). Utilisation efficace de l'eau par la végétation en climats méditerranéens. Bull .Soc. Boton .Fr 131 (2, 3, 4) (Actuel Boton). 491- 499.

- Ballois N. (2012). Caractérisation de la diversité des espèces de *fusarium* et de leur potentiel mycotoxinogène sur céréales françaises. Master en Biologie et Écologie pour la Forêt, l'Agronomie et l'Environnement. Spécialité. BIPE. 36p.

- Barakate M., Ouhdouch Y., Oufdou K., Beaulieu C. (2002) Characterization of rhizospheric soil streptomycetes from Moroccan habitats and their antimicrobial activities. World Journal of Microbiology and Biotechnology. 18 : 49-54.

- Basilio A., Gonzalez I., Vicente M.F., Gorrochategui J., Cabello A., Gonzalez A., Genilloud O. (2003). Patterns of antimicrobial activities from soil actinomycetes isolated under different conditions of pH and salinity. J. Appl. Microbiol. 95 : 814-31.

Références Bibliographiques

- Behamou N. et Chet I. (1993). Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani* : Ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process. *Phytopathology* 83 : 1062-1071.
- Belaid D. (1986). Aspects de la céréaliculture Algérienne. Éd .OPU, Alger, 207p.
- Belabid D. (1993). Étude de la rouille brune (*Puccinia recondita Rob ex Desm f.sp tritici*) du blé tendre (*Triticum aestivum*) dans l'Ouest Algérien. Mémoire de magister en phytopathologie. Université de Tizi-Ouzou. 105p.
- Belaid D. (2017). Agriculture, l'Algérie des possibles. Réflexions pour une agriculture durable et assurant plus d'autosuffisance alimentaire. Collection dossiers agronomiques.
- Bellatreche A. et Gaouar S. (2016). Livre Diversité et comportement de variétés de blé dans la région de Tlemcen. Éd. Universitaires Européennes, Allemagne. 133p.
- Benbelkacem A., Sadli F., Brinis L. (1995). La recherche pour la qualité des blés durs en Algérie .CIHEAM. Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens. 22 : p. 61 -65.
- Benimeli C.S., Amoroso M.J., Chaile A.P., Castro G.R. (2003). Isolation of four aquatic Streptomycetes isolated strains capable of growth on organochlorine pesticides. *Bioresource Technology*. 89: 133-8.
- Benlaribi M., Monneveux P., Grignac P. (1990). Étude des caractères d'enracinement et de leur rôle dans l'adaptation au déficit hydrique chez le blé dur (*Triticum durum Desf*). *Agronomie*. EDP. 10 (10) : p.305-322.
- Benman S. (2017). La carte mondiale du blé pour 2017-2018: Le Maroc 11^{ème} plus gros importateur avec 4,9 millions de tonnes. Aujourd'hui le Maroc. Source : <http://aujourd'hui.ma/economie/la-carte-mondiale-du-ble-pour-2017-2018-le-maroc-11eme-plus-gros-importateur-avec-49-millions-de-tonnes>.
- Benniou R., Aubry C., ABBES K. (2014). Analyse des itinéraires techniques dans les exploitations agricoles céréalières en milieu semi-aride de l'Est algérien. *Revue Agriculture*. 08 : 26-37. Source : <http://www.revues-agro.univ-setif.dz/>.

Références Bibliographiques

- Bernard T. (1988). Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement. *Agronomic*, 8(3) : p211-222.
- Bessaoud O. et Tounsi M. (1995). Les stratégies agricoles et agro-alimentaires en Algérie et les défis de l'an 2000. *Options méditerranéennes, Série B. N° 14*: 101-118.
- Birch A., Häusler A., Hütter R. (1990). Genome rearrangement and genetic instability in *Streptomyces spp.* *J. Bacteriol.* 172: 4138-42.
- Bogard M. (2012). Analyse génétique et écophysiological de l'écart à la relation teneur en protéines - rendement en grains chez le blé tendre (*Triticum aestivum L.*). Thèse de doctorat. Université Blaise Pascal, Clermont-Ferrand II. 166 p.
- Bonjean A. (2001). Histoire de la culture des céréales et en particulier de celle du blé tendre (*Triticum aestivum L.*). *Agriculture et biodiversité des plantes. Dossier de l'environnement de l'INRA, academia.edu. N°21*, p29-37. Source : <https://www.7.inra.fr>.
- Booth C. (1985). *The genus Fusarium*. Éd. Commonwealth Mycological Institute. p237.
- Botton R., Breton A., Fevre M., Guy P.H., Larpent J.P., Veau P. (1985). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. *Biotechnologies. Masson*, p139 à 145.
- Boudemagh A. (2007). Isolement, à partir des sols Sahariens, de bactéries actinomycétales productrices de molécules antifongiques, identification moléculaire de souches actives. Thèse de doctorat en microbiologie appliquée : Université des Frères Mentouri, Constantine. p 144.
- Boudjella H., Lamari L., Bouti K., Sabaou N. (2014). Activite antilevurienne d'une souche d'actinobactérie appartenant au genre *streptosporangium* et isolée d'un sol saharien. *Algerian journal of arid environment. Vol. (4), N° 2* : 3-18.
- Boughachiche F., Reghioua S., Oulmi L., Zerizer H., Kitouni M., Boudemagh A., Boularhouf A. (2005). Isolement d'actinomycetales productrices de substances antimicrobienne à partir de la sebkha d' Ain M'Lila. *Sciences et Technologies. C-N° 23*. p5.
- Boumezbeur A. (2001). Atlas des zones humides algériennes d'importance

Références Bibliographiques

internationales. Direction Générale des Forêts, Ben Aknoun Alger, 65 p.

C

- Camille D. (2007). Microbiologie pratique pour laboratoire : d'analyse ou de contrôle sanitaire. Éd Tech & Doc. Lavoisier. Paris. 476p.
- Campbell R. et Greaves M.P. (1990). Anatomy and community structure of the CIMMYT. 141p.
- Caron D. (1993). Les fusarioses. *In*: Maladies des blés et orges. Éd. ITCF. p30- 39.
- Chabasse D., Bouchara J.P, De Gentile L., Brun S., Cimmon B., Penn P. (2002). Les moisissures d'intérêt médical. Cahier de formation biologie médicale. Éd. Bioforma. N° 25. Paris.160p.
- Champion R. (1997). Identifier les champignons transmis par les semences. Techniques et Pratiques. Paris, FRA : Éd. INRA, 398p.
- Chang P. C. et Cohen S. N. (1994). Bidirectional replication from an internal origin in linear *Streptomyces* plasmid. *Science* 265: 952-954.
- Charter U.F. et Merrick M.J. (1979). Streptomycètes *in*: Developmental Biology of Prokaryotes. PARISH J.H. University of California Press, Berkeley and Los Angeles. p93-114.
- Chellali B. (2007). Marché mondial des céréales : L'Algérie assure sa sécurité alimentaire. <http://www.lemaghrebdz.com/admin/folder01/une.pdf>.
- Cherfia R. (2010). Étude de la variabilité morpho-physiologique et moléculaire d'une collection de blé dur algérien (*Triticum durum Desf.*). Mémoire de Magister en Biotechnologies végétales. Université Mentouri, Constantine. 118 p.
- Claire C., Madre J.F., Levesque H. (2013). Le Blé, une plante modèle pour étudier la biologie végétale au lycée. L'Ifé-ENS de Lyon. 47 p.
- Clarke J., Mc Caig T., De Pauw R., Knox R., Ames N., Clarke F., Fernandez M., Marchylo B., Dexter J. (2005). « Commander *Durum Wheat*» *Can. J. Plant Sci. Revue canadienne de phytotechnie* 85: 901-904.

Références Bibliographiques

- Clément M.G. et Prats J. (1971). Les céréales. Collection d'enseignement Agricoles. 351p.
- Clerget Y. (2011). La biodiversité des céréales et leur utilisation par l'homme. Le bulletin de la Société d'Histoire Naturelle du Pays de Montbéliard.
- Colin J. et Pussemier L. (1984). Emploi des antagonismes bactériens en phytopathologie, cas des *Pseudomonas Fluorescents*. Institut Agronomique et Vétérinaire Hassan II.
- Corbaz R. (1990). Principes de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. Éd. Presses polytechniques et universitaires romandes. Lausanne imprimé en Suisse.

D

- Davet P. (1996). Vie microbienne du sol et production végétale, Éd. INRA. Paris. 379p.
- Davet P. et Rouxel F. (1997). Détection et isolement des champignons du sol. Éd. INRA. Paris. 250p.
- Davies F.L. et Williams S.T. (1970). Studies on the ecology of actinomycetes in soil. 1/ The occurrence and distribution of actinomycetes in a pine forest soil. *Soil. Biol. Biochem.* 2: 227-38.
- Debiton C. (2010). Identification des critères du grain de blé (*Triticum aestivum L.*) favorables à la production de bioéthanol par l'étude d'un ensemble de cultivars et par l'analyse protéomique de lignées isogéniques waxy. Thèse de Doctorat. Université Blaise Pasca. Source : https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00625530l.HAL_archive-ouvert.fr.
- 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(2): 193-203.
- Delseny R. M. et Feuillet C. (2008). Identification and characterization of shared duplications between rice and wheat provide new insight into grass genome evolution. *The Plant Cell Online.* 20(1):11.

Références Bibliographiques

- Demain A.L. et Dykhuizen L. (2006). Ecology and industrial microbiology. Éditorial Overview. *Current Opinion in Microbiology*. 9: 237-9.
- Dennis C. et Webster J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of non-volatile antibiotics. *Transactions of the British Mycological Society*. 57, 25-39
- Derdj D. (2017). Effet des actinomycètes sur l'agent phytopathogène (*Fusarium ssp.*) chez le blé dur (*Triticum durum Desf.*). Mémoire de Master en Biotechnologies végétales et métagénomique .Université Mohamed Boudiaf, M'sila.
- Devaux A. (1995). Rapport N°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, Saint- Hyacinthe. 25p.
- Djaballah A. (2009). Biodiversité des actinomycètes halophiles et halotolérants isolés de sebka d'Ain-Mlila. Mémoire de magister en Écologie microbienne. Algérie : Université Mentouri-Constantine, Faculté des Sciences de la nature et de la vie.
- Djermoun A. (2009). La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. *Revue Nature et Technologie*. N° 01. p 45- 53.
- Dommergues Y. (1979). La fixation d'azote dans la rhizosphère des céréales à paille. B.T.I.336-1979.
- Dufresne P. et St-Germain G. (2018). Identification des champignons d'importance médicale. Stage de laboratoire. Institut national de santé publique, laboratoire de santé publique du Québec. 61p.

E

- Ellis S.D., Boehm M.J. (2008). *Plants Get Sick Too. An introduction to Plant Diseases*. Department of Plant Pathology. The Ohio State University.
- El-Nakeeb M.A. et Lechevalier H.A. (1963). Selective isolation of aerobic actinomycetes. *Appl. Microbiol.* p.75-77.

Références Bibliographiques

- El-Nakeeb M.A., Lechevalier H.A., Flardh K., Bruttner M.J. (2009). *Streptomyces* morphogenetics: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. *Nature. Rev. 7*: 36-49.
- EL Yacoubi H., Hassikou R., Badoc A., Rochdi A., Douira A. (2012). Complexe fongique de la pourriture racinaire du blé tendre au nord-ouest du Maroc. *Bull. Soc. Pharm. Bordeaux. 151(1-4)*, 35-48.
- Errakhi R. (2008). Contribution d'actinomycètes (Actinobactéries) à la lutte biologique contre *Sclerotium rolfsii* et rôle de l'acide oxalique dans l'induction des mécanismes de défense. Thèse de Doctorat. Université Cadi Ayyad, Marrakech Maroc.
- Errakhi R., Bouteau F., Lebrihi A., Barakate M. (2007). Evidences of biological control capacities of *Streptomyces* spp.against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-of disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.).*World J. Microbiol.Biotechnol.23*. p.1503-1509.
- Eyal Z., Sharen A.L., Prescott J.M., Van Ginkel M. (1987). The Septoria diseases of wheat: concepts and methods of disease management. Mexico. D. F: CIMMYT. 52 p.
- Ezzahiri B. (2001). Les maladies du blé : Identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. Bulletin mensuel d'information et de liaison du programme National de Transfert en Agriculture. N° 77.4p.

F

- FAO. (2017). Perspectives de l'alimentation- les marchés en bref. Source : www.fao.org/3/a/i7794f.
- Feillet P. (2000). Le grain de blé : composition et utilisation. Paris : Éd. INRA. 308p.
- Flårdh K. et Bruttner M.J. (2009). *Streptomyces morphogenetics*: dissecting differentiation in a filamentous bacterium. *Nature. Rev. 7*: 36-49.

G

- Gamalero E., Lingua G., Tombolini R., Avidano L., Pivato B., Berta G. (2005). Colonization of tomato root seedling by *Pseudomonas fluorescens* 92rkG5: spatio-

Références Bibliographiques

temporal dynamics, localization, organization, viability, and culturability. *Microbial. Ecol.* 50, 289-297.

- 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): 307p.

- Gargouri S., Kammoun L., Guermech A., Hajlaoui M.R. (2007). Évaluation de l'incidence, de la sévérité et des pertes de rendement dues à la pourriture du pied du blé en Tunisie. *Annales de l'INRAT*, 80: 7–20.

- Gargouri S. et Nasraoui B. (2016). Impacts of previous crops on *Fusarium* foot and root rot, and on yields of *durum wheat* in North West Tunisia. *Phytopathologia Mediterranea*. 55, 2 : 253–261. Source : www.fupress.com/pm ISSN (print): 0031-9465

- Gate P. (1995). *Ecophysiologie du blé : De la plante à la culture*. Lavoisier, Paris. 429 p.

- Ghanem N.B., Sabry S.A., El-Sherif Z.M., Abu El-Elal G.A. (2000). Isolation and enumeration of marine actinomycetes from seawater and sediments in Alexandria. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 46 : 105-11.

- Ghezlaoui S. M. (2016). Séminaire national sur la Problématique et les enjeux de l'agriculture Algérienne. INRA Algérie. Université Abou Bakr Belkaid-Tlemcen - 11 Avril 2016.

- Ghorri S. (2015). Isolement des microorganismes possédant une activité anti-*Fusarium*. Thèse de doctorat en Bioprocédés et Biotechnologies, Applications Mycologiques. Université des Frères Mentouri, Constantine1.

- 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.

- Gill B.S. et Friebe B. (2005). Cytogenetics, phylogeny and evolution of cultivated wheats. Source : <http://www.fao.org/docrep/006/y4011e/y4011e07.htm>.

- Girard H. et Rougieux R. (1967). *Techniques de microbiologie agricole: à l'usage des étudiants en agriculture et des techniciens des industries agricoles*. Éd. Dunod. 216p.

Références Bibliographiques

- Goodfellow M. et Williams S.T. (1983). Ecology of actinomycetes. Ann. Rev. Microbiol. 37: 189-216.
- Goodman R. N. et Novacky A.J. (1994). The Hypersensitive Reaction in Plants to Pathogens, a Resistance Phenomenon. St.Paul, MN: APS Press.
- Goshi K., Uchida T., Lezhava A., Yamasaki M., Hiratsu K., Shinkawa H., Kinashi H. (2002). Cloning and analysis of the telomere and terminal inverted repeat of the linear chromosome of *Streptomyces griseus*. J Bacteriol 184: 3411–3415.
- Guiraud J.P. (1998). Microbiologie alimentaire, Éd. Dunod. Paris. p: 8, 98-99, 157, 321-329.
- Guiraud JP. (2003). Microbiologie Alimentaire, Éd. Dunod, Paris, 652p.
- Gustafson P., Raskina O., Ma X., Nevo E. (2009). Wheat Evolution, Domestication, and Improvement. In book: Wheat Science and Trade, pp.3-30. Source: https://www.researchgate.net/publication/228033998_Wheat_Evolution_Domestication_and_Improvement.

H

- Haan L.A.M., Numansen A., Roebroek E.J.A., Van Doorn J. (2000). PCR detection of *Fusarium oxysporum f.sp. gladioli* race 1, causal agent of Gladiolus yellows disease, from infected corms. Plant Pathol. 49:89- 100.
- Hamadache A., Abdellaoui Z., Aknine M. (2002). Facteurs agrotechniques d'amélioration de la productivité du blé dur en Algérie. Cas de la zone sub-humide. Revue semestrielle, Institut National de la recherche agronomique d'Algérie. 10. p5-18.
- Haslay C. et Leclerc H. (1993). Microbiologie des eaux d'alimentation. Technologie et documentation. Éd. Lavoisier, France.
- Heit S. (2015). Identification de *fusarium* et détection des mycotoxines associées par maldi-tof. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Lorraine.
- Henry Y. et De Buyser J. (2000). Wheat anther culture ; agronomic performance of doubled haploid lines and the release of a new variety 'Florin'. In: Y.P.S. Bajaj (Éd), Biotechnology in agriculture and forestry.13 springer-verlag. Berlin. p.285-352.

Références Bibliographiques

- Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H.A., Staley J., Williams S.T. (1994). Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Éd. Williams and Wilkins, USA. p.611-703.
- Hoorman J.J. et Islam R. (2010). Understanding soil microbes and nutrient recycling. FACT SHEET. Agriculture and Natural Resources. The Ohio State University. p1-5.
- Hopwood D.A., Bibb M.J., Chater K.F., Kieser T., Bruton C.J., Kieser H.M., Lydiate D.J., Smith C.P., Ward J.M., Schrempf H. (1985). Genetic Manipulation of *Streptomyces*: A Laboratory Manual. John Innes Foundation, Norwich, United Kingdom.
- Horinouchi S. (2002). Antimicrobial hormone, A-factor, as a master switch for morphological differentiation and secondary metabolism in *Streptomyces griseus*. Éd. Frontiers in Biosciences. 7: 2045-57.
- Hsu M.C., Chen K.W., Lo H.J., Chen Y.C., Liao M.H., Lin Y.H., Li S.Y. (2003). Species identification of medically important fungi by use of real-time Light CyclerPCR. Journal of Medical Microbiology. 52: 1071-1076.
- <http://www.fao.org/worldfoodsituation/csdb/fr/>
- [https:// www.researchgate.net/publication/225685895](https://www.researchgate.net/publication/225685895).
- Huang Y., Cui Q., Wang L., Rodriguez C., Quintana E., Goodfellow M., Liu Z. (2004). *Streptacidiphilus jiangxiensis* sp. nov, a novel actinomycete isolated from acidic rhizosphere soil in China. éd. Antonie van Leeuwenhoek. 86 : 159-65.

J

- Jensen P.R., Dwight R., Fenical W. (1991). Distribution of actinomycetes in bear-shore tropical marine sediments. Appl. Environ. Microbiol. p:1102-8.
- Jeunot B. (2005). Les fusariotoxines sur céréales: détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse d'exercice. Université de Nancy I. UFR Sciences pharmaceutiques et biologiques.
- Joffin J.N. et Leyral G. (2006). Microbiologie technique- dictionnaire des techniques. CRDP d'Aquitaine. Paris.368p.

K

Références Bibliographiques

- Kalyani A.L.T., RamyaSravani K.M., Annapurna J.B. (2012). Isolation and characterization of antibiotic producing actinomycetes from marine soil samples. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 4. N°: 2. p109-112.
- Karimi K., Amini J., Harighi B., Bahramnejad B. (2012). Evaluation of biocontrol potential of *Pseudomonas* and *Bacillus spp.* against Fusarium wilt of chickpea. *AJCS*. 6: 695-703.
- Kellou R. (2008). Analyse du marché algérien du blé dur et les opportunités d'exportation pour les céréaliers français dans le cadre du pôle de compétitivité Qualité-Méditerranée. Le cas des coopératif Sud Céréales, Groupe coopératif Occitan et Audecoop. Master of Science. N° 93. Institut Agronomique Méditerranéen de Montpellier CIHEAM.
- Kim B., Al-Tai A.M., Kim S.B., Somasundaram P., Goodfellow M. (2000). *Streptomyces thermocoprophilus sp. nov.*, a cellulase-free endo-xylanase-producing streptomycete. *Int. J. Sys. Evnviron. Microbiol.* 50: 505-9.
- Kitouni M. (2007). Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes externes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de Doctorat en Microbiologie Appliquée. Université Mentouri, Constantine.
- Kitouni M., Boudemagh A., Oulmi L., Reghioua S., Boughachiche F., Zerizer H., Hamdiken H., Couble A., Mouniee D., Boulahrouf A., Boiron P. (2005). Isolation of actinomycetes producing bioactive substances from water, soil and tree bark samples of the north-east of Algeria. *J. Med. Mycology*. 15: 45-51.
- Kuo M.J. et Hartman P.A. (1966). Isolation of amyolytic strains of *Thermoactinomyces vulgaris* and production of thermophilic actinomycete amylases, *J. Bacteriol.* Vol.(92), N°3.

L

- Labad R. et Hartani T. (2016). Analyse des performances de quelques exploitations agricoles céréalières en semis direct dans la wilaya de Sétif. *Revue Agriculture*. Numéro spécial 1. p.78-81.

Références Bibliographiques

- Lacey J. (1997). Actinomycetes in composts. *Ann. Agric. Environ. Med.* 4: 113-21.
- Laib S. (2011). Contribution à l'étude de l'influence des types et doses d'engrais phosphatés sur le prélèvement du potassium par une culture de blé dur dans la région d'El Goléa. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en Agronomie saharienne. Université Kasdi Merbah, Ouargla.
- Larpent J.P. et Larpent-Gourgau M. (1985). *Éléments de microbiologie*. Éd. Herman, Paris.
- Larpent J.P. et Larpent-Gourgau M. (1997). *Mémento technique*. Paris, Tec et Doc Lavoisier. 3^{ème} Éd. ISBN-2-7430-0163-1.
- Larpent J.P. et Sanglier J.J. (1989). *Biotechnologie des antibiotiques*. Éd. Masson, Paris. 481p.
- Lechevalier H.A. et Lechevalier M.P. (1981). Introduction to the order Actinomycetales. In: Starr M.P., Stolp H., Truper H.G., Ballows A., Schlegel H.G. *The prokaryote*. Éd. Springer Verlag, Berlin. 2: 1915-22.
- Lechevalier M.P. et Lechevalier H.A. (1970). Chemical composition as a criterion in the classification of aerobic actinomycetes. *Int. J. Sys. Bacteriol.* 20(4): 435-43.
- Leclerc H. (1969). *Microbiologie générale*. Éd. Doin. p384-6.
- Leclerc H., Buttiaux R., Guillaume J., Watre P. (1977). *Microbiologie appliquée*. Éd. Doin, Paris. p.68-69.
- Lee J.Y. et Hut wang B.K. (2002). Diversity of antifungal actinomycetes in various vegetative soils of Korea. *Can. J. Microbiol.* 48: 407-17.
- Lee S.D. (2006). *Amycolatopsis jejuensis* sp. nov. and *Amycolatopsis halotolerans* sp. nov., novel actinomycetes isolated from a natural cave. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56: 549
- Le Minor L. et Veron M. (1989). *Bactériologie médicale*. 2^{ème} Éd. p335-49.
- Leonard K.J et Bushnell W.R. (2003). *Fusarium* head blight of wheat and barley. St. Paul, U.S.A.: APS Press.

Références Bibliographiques

- Leslie J.F et Summerell B.A. (2006). The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishing, Ames USA.
- Leslie J. F., Zeller K. A., Summerell B.A. (2001). Icebergs and species in populations of *Fusarium*. *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 59: 107-117.
- Leveau J.Y. et Bouix M. (1993). Microbiologie industrielle. Les microorganismes d'intérêt industriel. Technologie et documentation. Éd. Lavoisier. p.246, 424-81.
- Levy A.A. et Feldman M. (1987). Increase in grain protein percentage in high-yielding common wheat breeding lines by genes from wild tetraploid wheat. *Euphytica* 36:353-359.
- Lev-Yadun S., Gopher A., Abbo S. (2000). The cradle of agriculture. *Science*, 288, 1602-1603.
- Link H.F. (1809). Observationes in ordines plantarum naturalis, Dissetatio 1. Mag. Ges. Naturf. Freunde, Berlin 3 : 3-42.
- Locci R. (1976). Developmental micromorphology of actinomycetes. *In: Actinomycetes, the boundary microorganisms*. Arai T. Tokyo. p170-180.
- Loucif K. (2011). Recherche de substances antibactérienne à partir d'une collection de souches d'actinomycètes. Caractérisation préliminaire de molécules bioactives. Mémoire de magister en microbiologie, option microbiologie appliquée et biotechnologie microbienne, Université Mentouri Constantine, Algérie. 117p.
- Lounaci L. et Athmani-Guemouri S. (2014). Action e *Paenibacillus polymyxa* SGK2 sur quelques champignons de la fusariose du blé dur (*Triticum durum*) en Algérie. *Algerian J. Nat. Prods.* Vol. (2). N° 2 : 35-42.

M

- MADREF/DERD. (2001). Les maladies du blé: Identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA. N° 77.
- Mariat F. et Sebald M. (1990). Les actinomycètes, dans : Le Minor L. Bactériologie médicale. Méd. Science. Ed. Flammarion France. p54-62.
- Margalith P.Z. (1992). Pigment microbiology. Shapman and Hall. London: 5-114.

Références Bibliographiques

- Masle-Meynard J. (1980). L'élaboration du nombre d'épis chez le blé d'hiver. Influence de différentes caractéristiques de la structure du peuplement sur l'utilisation de l'azote et de la lumière. Thèse de Docteur-Ingénieur. INA-PG. Paris. 274p.
- Mazoyer M. (2011). Une brève histoire des agricultures du monde. Source : <http://terrethique.org/petits-dejeuners/marcel-mazoyer-une-breve-histoire-desagricultures>.
- Mekaoussi R. (2015). Étude de comportement variétal du blé dur (*Triticum durum Desf.*) vis-à-vis de *Rhopalosiphum maidis* (Homoptera : Aphididae) dans la région de Batna en vue de l'amélioration de la plante. Mémoire de magister. Sciences agronomiques. Université EL-Hadj Lakhdar Batna.
- Mellouli L., Ben Ameer-Mehdi R., Sioud S., Salem M., Bejar S. (2003). Isolation, purification and partial characterization of antibacterial activities produced by a newly isolated *Streptomyces sp.* US24 strain. Res. Microbiol. 154(5): 345-52.
- Meredith J. C. et Pohland.F.G. (1970). Some observation of purple sulfur bacteria association. With waste stabilization ponds. Purdue Eng. Ext. Series 137 (2): 699-707.
- Miao L., Kwong T.F.N., Qian P.Y. (2006). Effect of culture conditions on mycelial growth, antibacterial activity, and metabolite profiles of the marine-derived fungus *Arthrinium saccharicola*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 72: 1063-73.
- Miège É. (1950). Les principales espèces et variétés de Blé cultivées en Afrique du Nord. In: Revue internationale de botanique appliquée et d'agriculture tropicale, 30^e année, bulletin N°327-328, Janvier-février 1950. p.16-38.
- Miguelez E.M., Hardisson C., Manzanal M.B. (2000). *Streptomycete* : a new model to study cell death. Int. Microbiol. 3: 153-8.
- Ministère du commerce. (2017). La production céréalière 2017. (Consulté le 07.04.2018) <https://www.commerce.gov.dz/statistiques/la-production-cerealiere-en-2017>.
- Monneveux. P et Nemmar M. (1986) Contribution à l'étude de la résistance à la sécheresse chez le blé tendre (*Triticum aestivum L*) et chez le blé dur (*Triticum durum Desf*) : étude de l'accumulation de la proline au cours du cycle de développement. Agronomie 6, 583-590.

Références Bibliographiques

- Moretti A.N (2009). Taxonomy of *Fusarium* genus, a continuous fight between lumpers and splitters. Proc. Nat. Sci, Matica Srpska Novi Sad, 117, 7-13.
- Moule C. (1971). Céréales 2. Phytotechnie spéciale. Éd. La maison rustique. Paris. 236p.
- Mustafa G. (2015). Protection du blé contre l'oïdium par des champignons mycorhiziens -a arbuscules : mécanismes et optimisation. Thèse de doctorat en Phytopathologie et phytopharmacie. Université du Littoral Côte d'Opale. Source : <https://fr.scribd.com/document/132343210/Le-ble-dur-ecologie>.

N

- Nadjem K. (2011). Contribution à l'étude des effets du semis direct sur l'efficacité d'utilisation de l'eau et le comportement variétal de la culture de blé en région semi-aride. Thèse de Magister. Production Végétale et Agriculture de Conservation. Université Ferhat Abbas Sétif 1.
- Nanjwad B., Chandrashehara S., Goudanavar P.S., Shamarez A.M., Manvi F. (2010). Production of antibiotics from soil isolated actinomycetes and evaluation of their antimicrobial activities. Trop. J. Pharm. Res. 9: 373-7.
- Nasraoui B. (2006). Les champignons parasites des plantes cultivées. Collection M/Science de l'ingénieur. Centre de publication universitaire Tunisie, p 456.
- Nasraoui B. (2008). Principales Maladies Fongiques des Céréales et des Légumineuses en Tunisie. Collection M/Science de l'ingénieur. Centre de publication universitaire Tunisie, p 121.
- Neched H. (2015). Étude comparative des traitements de semences sans fongicide chez les céréales à l'aide de l'ozone et de l'oxygène pur. Mémoire de Maîtrise en microbiologie agroalimentaire. Université Laval. 157p.
- Nekach-Abdallah N. (2013). Complexe fongique de la pourriture racinaire et fusariose de l'épi, étude pathologique et lutte biologique avec *Trichoderma atroviride* P Karsten. Mémoire de Magister. École nationale supérieure. 125p.
- Nelson P.E. et Toussoun T.A. (1983). *Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification*. Pennsylvania State Univ Pr. 226 p.

Références Bibliographiques

O

- ONFAA. (2017). Pré-Bilan de la campagne céréalière 2016/2017.
- Ortoneda M., Guarro J., Madrid M., Caracuel Z., Roncero MI., Mayayo E., Di Pietro A. (2003). *Fusarium oxysporum* as a Multihost Model for the Genetic Dissection of Fungal Virulence in Plants and Mammals. *Infect. Immun.* 72:1760–1766.
- Oskay M., Tamer A., Azeri C. (2004). Antibacterial activity of some actinomycetes isolated from farming soils of Turkey. *Afr J Biotechnol.*, 3(9) : 441-446.
- Oudjani W. (2009). Diversité de 25 génotypes de blé dur (*Triticum durum Desf.*) : étude des caractères de production et d'adaptation. Mémoire de magister. Université Mentouri de Constantine. p113.
- Ouffroukh A. (2014). Contribution à la connaissance des stress biotiques affectant les céréales d'hiver:« Identification et approche à l'étude épidémiologique du virus de la jaunisse nanisante de L'Orge (VJNO) ou (BYDV) sévissant dans les cultures des céréales dans les zones Est de l'Algérie ». Thèse de doctorat Phytopathologie et Amélioration des plantes. Université Mentouri - Constantine1. 111p.
- Ouhdouche Y. (2003). Actinomycètes, Laboratoire de Microbiologie, Faculté des sciences Selmania, Marrakech. Premier atelier national du réseau NAFRINET-MAROC. Institut scientifique. p: 67-77.

P

- Perry J.J., Staley J.T., Lory S. (2004). *Microbiologie*. Éd. Dunod.
- Petrosyan P., Garcia-Varela M., Luz-Madriral A., Huitron C., Flores M.E. (2003). *Streptomyces mexicanus* sp. nov. a xylanolytic micro-organism isolated from soil. *Int. J. Sys. Evnviron. Microbiol.* 53: 269-73.
- Piccinni G., Rush C.M., Vaughn K.M., Lazar M.D. (2000). Lack of relationship between susceptibility to common root rot and drought tolerance among several closely related wheat lines. - *Plant Dis.* 84(1), 25-28.

Références Bibliographiques

- Pluvinage J. (1995). Les systèmes de production céréales-élevage. La gestion du risque dans les zones sèches méditerranéennes. Thèse de doctorat en sciences agronomiques. Ensam, INRA-AE2-AUZ, The 225 SAD : 1-445.
- Pochon J. et Tradieux P. (1962). Techniques d'analyse en microbiologie du sol. Éd. Tourelle. 111p.
- Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A. (2003). Microbiologie. Éd. De Boeck etLarcier. France. p:507-13.
- Prescott L.M., Harley J.P., Klein D.A. (2007). Microbiologie. Éd. De Boek et Larcier, Bruxelles. p:805-25.
- Prevot H. (1990). Les bases de l'agriculture moderne Éd. Lavoisier. 262p.

R

- Rakotoarimanga N., Zananirina J., Ramamonjisoa D., Ramanankierana H. (2014). Lutte biologique antifongique : actinomycètes du sol rhizosphérique antagonistes de *Fusarium* isolé du fruit de tomate (*Solanumlycopersicum L.*, 1753) pourri. Laboratoire de Biotechnologie et de Microbiologie, Faculté des sciences, Université d'Antananarivo, Madagascar.
- Rapilly F. (1991). Epidémiologie en pathologie végétale: mycoses aériennes. L. T. Doc. Paris. Institut National de la Recherche Agronomique INRA. ISBN 2-7380-0297-8. 317. 240-261.
- Richard M. 2004. La Fusariose chez les céréales dans le Canada atlantique. Agriculture et Agroalimentaire Canada, Centre de recherches sur les cultures et les bestiaux, University Charlottetown. P3.

S

- Salama Y., Chennaoui M., El Amraoui M. (2016). Étude de la gestion raisonnée de la fertilisation et des pourritures racinaires sur le rendement d'une collection marocaine du blé. Algerian journal of arid environment. Vol. (60). N°2 : 32-42.

Références Bibliographiques

- Salse J., Bolot S., Throude M., Jouffe V., Piegu B., Quraishi U., Calcagno T., Cooke R., Delseny M., Feuillet C. (2008). Identification and characterization of shared duplications between rice and wheat provide new insight into grass genome evolution. *The Plant Cell Online*, 20(1):11.
- Shewry P. R. (2009). *Wheat Journal of Experimental Botany*, Vol. 60, No. 6, p. 1537–155.
- Shirling E.B. et Gottlieb D. (1966). Methods for characterization of *Streptomyces* species. *Int. J. Syst. Bacteriol.*, 16: 3313-3340.
- Shulz A. (1913). *Die Geschichte der kultivierten Getreide*. Nebert, Halle, 31, 231-238.
- Silvey J.K.G. et Roach A.N. (1975). The taste and odor producing aquatic actinomycete. *Crit. Rev. Environ. Control*. 5: 233-73.
- Siou D. (2013). Développement épidémique de la fusariose des épis de blé et conséquences des interactions entre espèces du complexe fusarien. Thèse de doctorat en sciences du végétal: du gène à l'écosystème. Université Paris-sud XI, p182.
- Slama A., Ben Salem M., Ben Naceur M., Zid E. D. (2005). Les céréales en Tunisie : production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. Vol. (16) 3 :225-9.
- Slimani A., Mebarkia A., Houd K. (2014) Mise en évidence de la caractérisation variétale la distinction inter variétale et contrôle de l'homogénéité de quatre variétés de blé dans la région de Guelma (Algérie). *Revue Agriculture*. N° 07. p30-36.
- Smaoui S. (2010). Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement. Université de Toulouse, France. 251p.
- Snissi A., Ezzouhri L., Rossi B.D., Lairini H.K. (2006). Contrôle biologique de la fusariose de la tomate causée par *Fusarium oxysporum f.sp. Lycopersici* et *Fusarium oxysporum f.sp. radicleslycopersici*. Congrès international de Biochimie, p.352-356.
- Soltner (2003). Les basses des productions végétales. T1 : le sol et son amélioration. 23^{ème} Éd. Collection science et technique agricole. 464p.

Références Bibliographiques

- Soltner D. (2005). La base de la production végétale. T1. Le sol et son amélioration. 24^{ème} Éd. Collection science et technique agricole. 472p.
- Sonnante G., Hammer K., Pignone D. (2009). From the cradle of agriculture a handful of lentils: History of domestication, Rendiconti Lincei. Scienze Fisiche e Naturali , 21(33), 23.
- Strub C. (2008). Modélisation et optimisation de la production de thiolutine chez *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat en Génie des Procédés et de l'Environnement. Université de Toulouse, France. 202p.
- Sykes G. et Skinner F.A. (1973). Actinomycetales : Characteristics and practical importance. Academic press. London. New York.

T

- Taulemesse, F. (2015). Analyse écophysiological et génétique de l'absorption d'azote post floraison chez le blé tendre (*Triticum aestivum L.*) en relation avec la concentration en protéines des grains.
- Theilleux J. (1993). In : Leveau J.Y. et Bouix M. Microbiologie industrielle. Les micro-organismes d'intérêt industriel. Technique et documentation. Éd. Lavoisier, Paris. Ch. 6 : 425 81.
- Tivoli B. (1988). Guide d'identification des différentes espèces ou variétés de *Fusarium* rencontrées en France sur la pomme de terre et dans son environnement. I.N.R.A., Station de Phytopathologie, Centre de Recherche de Rennes, B-P. 29, F 35650, Agronomie, Le Rheu. 8(3), p 211-222.
- Toffa D.D. (2015). Étude de la contamination de certains aliments d'origine végétale de la république du Niger les moisissures toxigènes. Thèse de doctorat .discipline : biologie spécialité : mycologie-environnement. Université mohammed V, Faculté des sciences Rabat.
- Tortorano A.M., Cabrini E., Viviani M.A. (1979). Sensibilité *in vitro* des levures à cinq antibiotiques. Comparaison de deux méthodes C.M.I. en gélose et méthode des disques, *Bull. Soc. Fr. Myc. Med.* Vol(8). p69-74.

Références Bibliographiques

- Trabelsi R., Sellami H., Gharbi Y., Krid S., Cheffi M., Kammoun S., Dammak M., Mseddi A., Gdoura R., Ali Triki M. (2017). Morphological and molecular characterization of *Fusarium* spp. associated with olive trees dieback in Tunisia. *3 Biotech* 7:28. DOI 10.1007/s13205-016-0587-3.

V

- Viollier P., Minas W., Dele G., Folcher M., Thompson C. (2001). Role of acid metabolism in *Streptomyces coelicolor*: Morphological differentiation and antibiotic biosynthesis. *J. Bacteriol.* 183(10): 3184-192.

- Vincent A. (1965). Actions physiologiques du froid sur le blé. *Bull. Anc. Élèves Ec. Fr. Meun.* p205.

W

- Waksman S.A. (1967). *The Actinomycetes, a Summary of Current Knowledge.* New York, N.Y., U.S.A. : Ronald Press.

- Wang J., Soisson S.M. (2006). Platensimycine is a selective Fab F inhibitor with potent antibiotic properties. *Nature.* 441: 358-61.

- Weiss E., Kislev M.E., Hartmann A. (2006). Autonomous cultivation before domestication. *Science* 312: 1608-1610.

- Williams S.T. et Cross T. (1971). Actinomycetes in «Methods in microbiology» Academic Press, Éd. London. Vol. (4) : p295-334.

Y

- Yu J., Liu Q., Liu Q., Liu X., Sun Q., Yan J., Qi X., Fan S. (2008). Effect of liquid culture requirements on antifungal antibiotic production by *Streptomyces rimosus* MY02. *Biores. Technol.* 99: 2087-91.

Z

- Zadoks J.C., Chang T.T., Konzak C.F. (1974). A Decimal Code for the Growth Stages of Cereals. *Weed Research* 14, p415-421.

Références Bibliographiques

- Zahri S., Farih A., Badoc A., Douira A. (2014). Statut des principales maladies cryptogamiques foliaires du blé au Maroc en 2013. *Journal of Applied Biosciences* 77: 6543-6549.
- Zaitlin B. et Watson S. (2006). Actinomycetes and taste and odor in drinking water: myths, tenets and truths. *Wat. Res.* 40: 1741-53.
- Zeithoun R. (2011). Procédés de fractionnement de la matière végétale- Application à la production des polysaccharides du son et de la paille de blé. Thèse de doctorat en Science des Agro-ressources. Université de Toulouse.
- Zerafa., Ghenai A., Benlaribi M. (2017). Comportement Phénologique et Morpho-Physiologique de Quelques Géotypes d'orge et de blé. *European Scientific Journal*, vol(13), No.6 ISSN: 1857-7881 (Print) e-ISSN 1857- 7431.
- Zerizer H., Oulmi L., Boughachiche F., Reghioua S., Boudemagh A., Kitouni M., Boulahrouf A. (2006). Identification d'une actinomycetale, productrice d'antibactériens, isolée de sols arides de la région de Biskra. *Sciences & Technologie C* -N°24. p.17-22
- Zillinsky F. J. (1983). Common diseases of small grain cereals. A guide to identification. Mexico, DF (Mexico): International maize and wheat improvement center (CIMMYT), 141 p.

Annexes

Annexes

Annexe 1 Milieux de culture et solutions

Gélose nutritive

- 23g Gélose nutritive déshydratée.
- 1L Eau distillée.
- pH 7.2, autoclaver le milieu pendant 20 minutes à 120°C.

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
- 13g Agar.

Milieu GLM

- 3g Extrait de levure
- 3g Extrait de malt
- 5g Peptone
- 10g Glucose
- 1000ml Eau distillée
- 20g Agar

pH = 7,2

Milieu ISP 2

- 4g Extrait de levure
- 10g Extrait de malt
- 4g Glucose
- 1000ml Eau distillée
- 20g Agar

pH = 7,3

Milieu ISP4

- 10g Amidon soluble
- 1g K_2HPO_4

Annexes

- 1g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
 - 1g NaCl
 - 2g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
 - 2g CaCO_3
 - 1ml Solution d'oligo-éléments
 - 1000ml Eau distillée
 - 20g Agar
- pH = 7,0 - 7,4

Milieu ISP 5

- 10g Glycérol
 - 1g L-Asparagine
 - 1ml Solution d'oligo-éléments
 - 1000ml Eau distillée
 - 20g Agar
- pH = 7,0 - 7,4

ISP7

- 15g Glycérol
 - 1g L-Asparagine
 - 0,5g K_2HPO_4
 - 0,5g NaCl
 - 0,01g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
 - 1000 ml Eau distillée
 - 20g Agar
- pH = 7,2-7,4

Milieu ISP9

- 2,64g $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$
- 2,38g KH_2PO_4
- 5,65g $\text{K}_2\text{HPO}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
- 1g $\text{MgSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
- 1 ml Solution saline2
- 1000ml Eau distillée

Annexes

pH = 6,8 - 7,0

Milieu PDA (Potato-Dextrose-Agar)

- Laver et couper en tranches fines 200g de pommes de terre non pelées.
- Les mettre dans un litre d'eau distillée et porter à l'ébullition pendant une heure.
- Écraser, filtrer, puis ajouter au liquide restant :
 - 20g Glucose
 - 15 à 20 g Agar
- Compléter à 1 L, si nécessaire
- Autoclave 15 minutes à 121° C (Davet *et al*, 1997).

Milieu TSI (Triple Sugar Iron)

- 3g Extrait de viande
- 3g Extrait de levure
- 20g Peptone
- 5g Chlorure de sodium
- 10g Lactose
- 10g Saccharose
- 1g Glucose
- 300mg Sulfate ferreux ammoniacal
- 24mg Rouge de phénol
- 300mg Thiosulfate sodium anhydre
- 11g Agar
- 1000ml Eau distillée

PH=7,4

Milieu urée- indole

- 3g L-Tryptophane
- 1g Phosphate monopotassique
- 5g Chlorure de sodium
- 20g Urée
- 0.025ml Rouge de phénol
- 0.01ml Alcool à 95°
- 1000 ml Eau distillée

Annexes

PH=6,7

Solution d'oligo – éléments.

- 0,1g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 0,1g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- 0,1g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 100ml Eau distillée

Solution saline 2

- 0,64g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$
- 0,11 g $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 0,79 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$
- 0,15g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$
- 100ml Eau distillée

Annexe 2 Technique

- Technique de la coloration de Gram

Afin de mieux déterminer la morphologie de la cellule, l'aspect filamenteux caractéristique des Actinomycètes, la présence ou l'absence du peptidoglycane et de la morphologie de la chaîne des spores, toutes les colonies suspectes, présentant un aspect compact, dur et incrusté dans la gélose sont observées après coloration de Gram(Annexe2). L'observation au microscope optique (Motic) est effectuée avec des grossissements (x10, x100) (Kalyani *et al.*, 2012). Cette technique se déroule en trois principaux temps :

-Le frottis, séché et fixé à la chaleur, est recouvert de violet de Gentiane (cristal violet) phénolé, durant environ 1 min, ensuite ce colorant est éliminé par un lavage à l'eau distillée, suivi par l'ajout de lugol pendant 30 sec, un deuxième lavage est effectué.

-Faire agir l'éthanol à 0.95% durant 10 secondes ou faire couler l'éthanol sur la lame jusqu'à décoloration, puis laver à l'eau distillée.

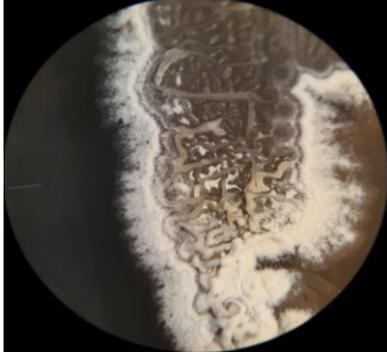
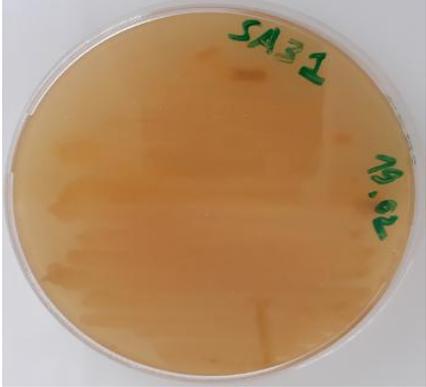
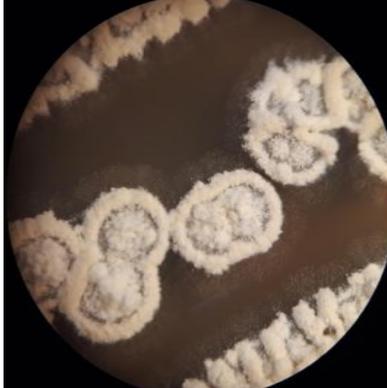
- Une Coloration à la Fuchsine phénolée est faite de quelques secondes à 1 min selon sa concentration, puis un autre lavage à l'eau distillée.

- L'observation à l'immersion est réalisée après séchage de la lame, à l'objectif x100. La couleur violette due au violet de Gentiane est l'aspect caractéristique des bactéries à Gram positif, alors que les bactéries Gram négatif se colorent en rose par la Fuchsine (Joffin *et al.*, 2006).

Annexes

Annexe 3 Photos

Tableau I Résultats de l'examen microscopique des isolats d'Actinomycètes

RECTO des colonies	VERSO des colonies	Observation au binoculaire
		
		
		
		

Annexes

Caractérisations biochimiques des isolats d'Actinomycètes

Tableau II Utilisation du Milieu ISP9 + sucres

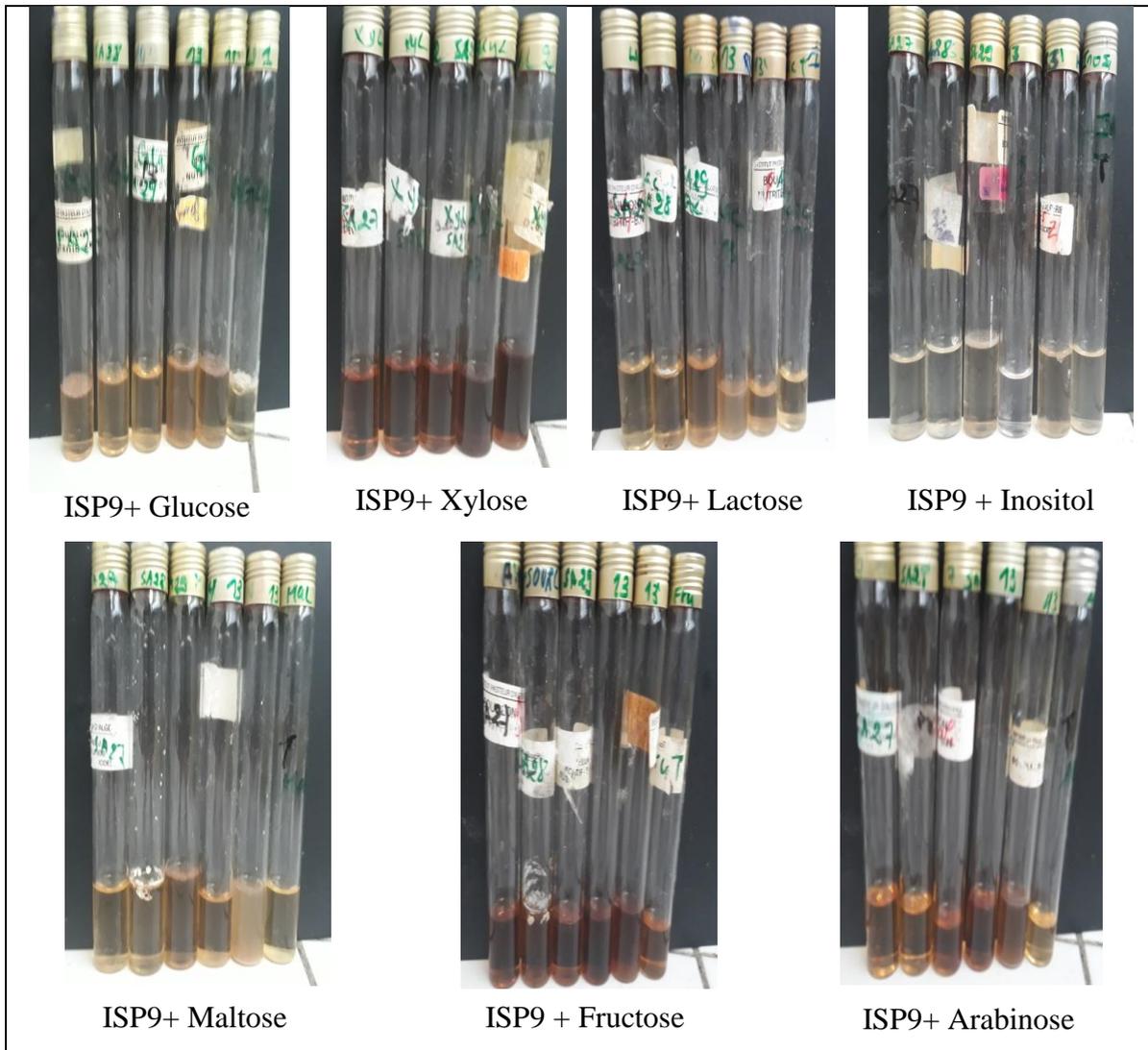


Figure I Utilisation de la gélose semi-inclinée TSI

Annexes



Figure II Utilisation du citrate comme seule source de carbone

Tableau III Réduction de nitrate



Figure III Recherche de la production d'indole

Annexes

Tableau IV Recherche de la catalase



Tableau V Recherche de la gélatinase

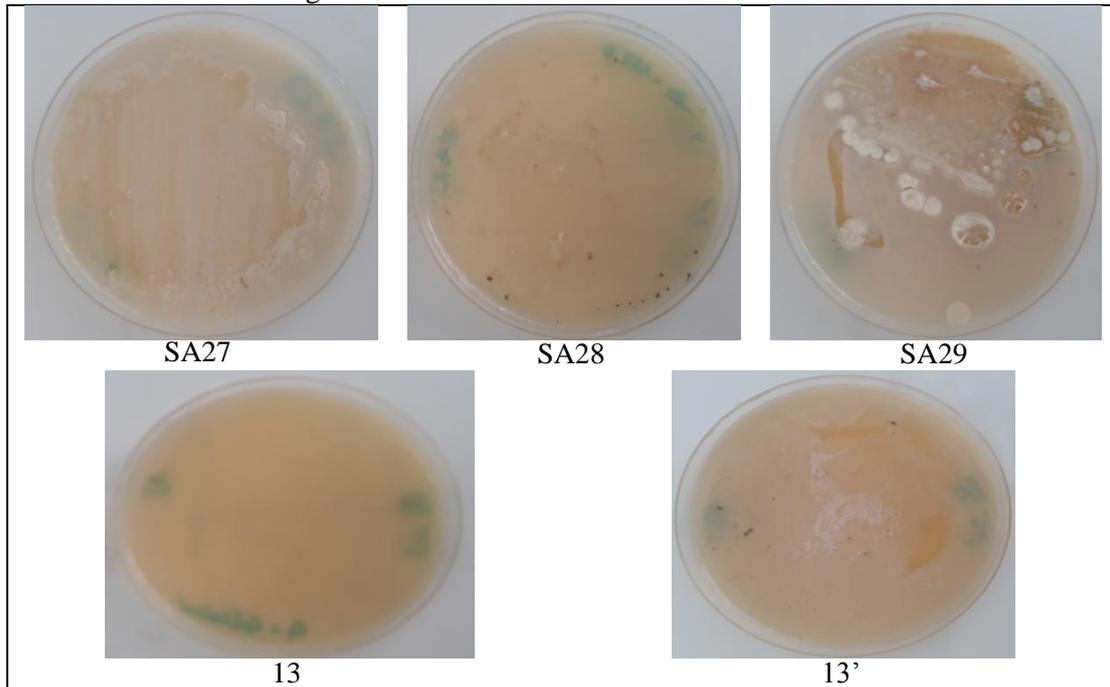
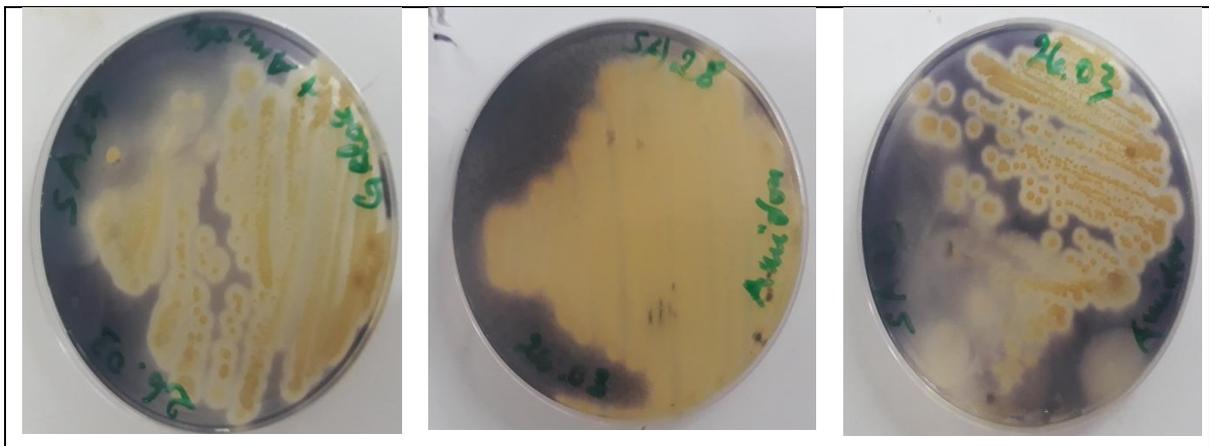


Tableau VI Recherche de l'activité amylasique



Annexes

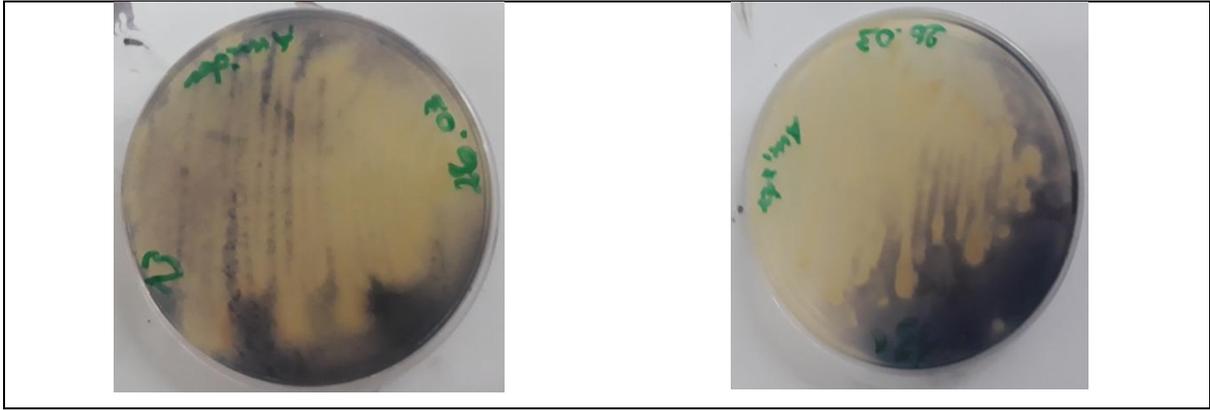


Tableau VII Hydrolyse de la caséine

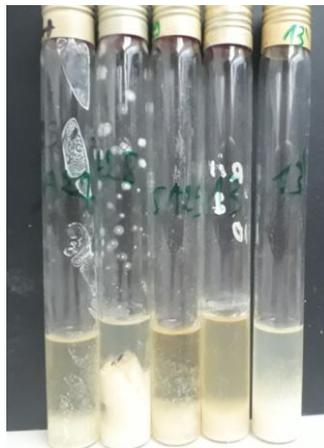
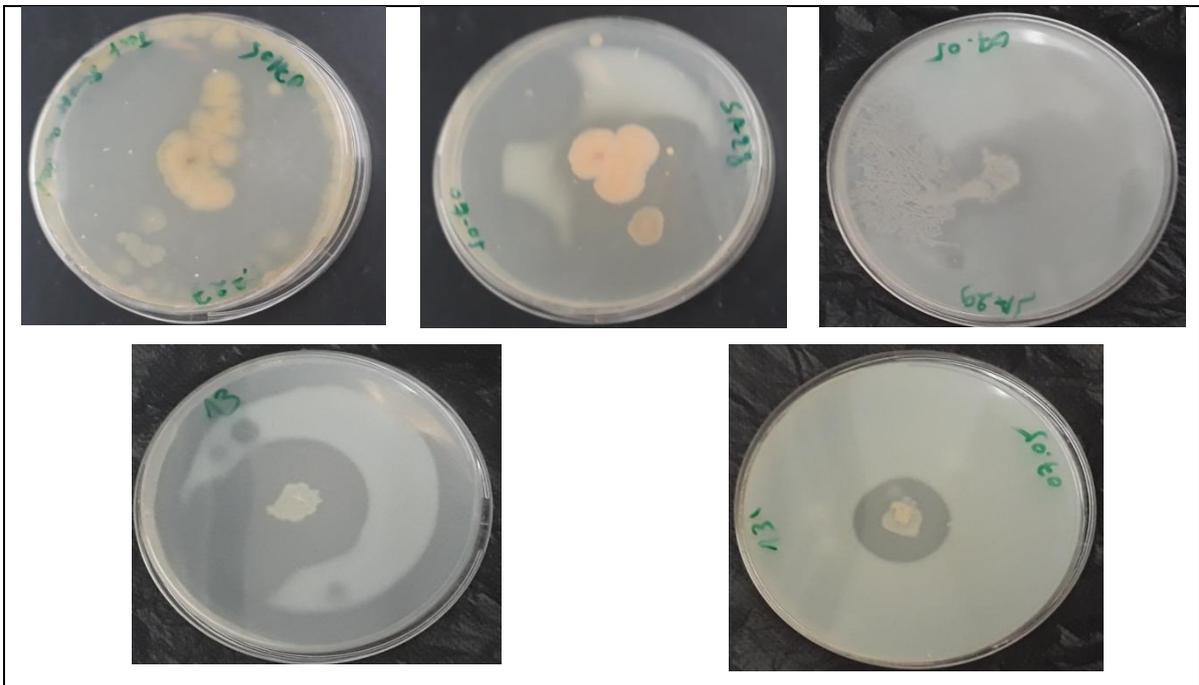


Figure IV Coagulation ou peptonisation du lait écrémé

Annexes

Tableau VIII Production des Pigments mélanoides

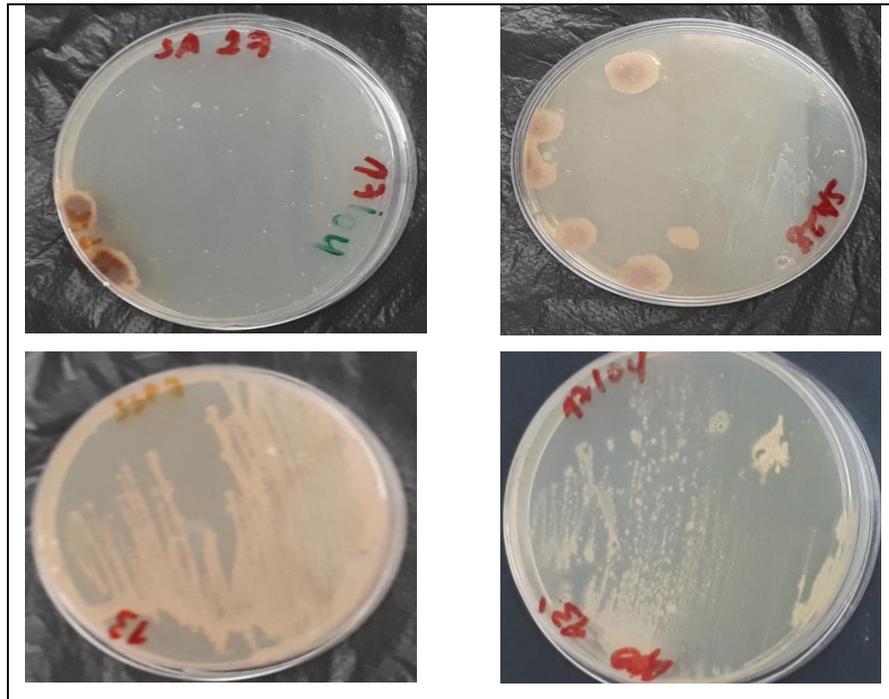
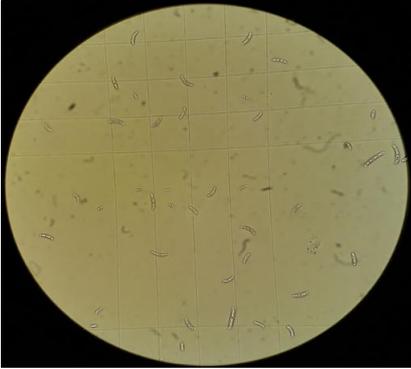


Figure V Détermination du type respiratoire

Tableau IX Comptage sur cellule de Malassez

	<i>F.oxysporum</i>	<i>F.culmorum</i>
Comptage sur cellule de Malassez		

Annexes

Annexe 4 Tableaux

Tableau A Développement de blé dur « Cirta » après inoculation (après 42 jours)

	Cirta traité / Sol stérile	Cirta traité / Sol + F1	Cirta traité/ Sol + F2	Cirta traité/ Sol+F1+F2	Témoin positif			Témoin négatif (graine et sol non traités)
					Cirta non traité : Sol +F1	Cirta non traité /Sol +F2	Cirta non traité /Sol +F1+F2	
SA27	L.R :12cm L.F :23.83cm N°: 5f Sym. R : (-) T : résistante	L.R :12.33cm L.F :17.16 N°: 3f Sym.R : (-) T : sensible	L.R :6 cm L.F :15cm N°: 3f Sym .R : (+) T : sensible	L.R :5 cm L.F :12 cm N°: 3f Sym. R : (+) T : sensible	L.R : 7.66cm L.F :11cm N°: 3f Sym .R : (+) T : sensible	L.R :12cm L.F :17cm N°: 4f Sym. R : (+) T : sensible	L.R:4.16cm L.F :11cm N°: 5f Sym.R :(+) T : sensible	L.R :13cm L.F:17 cm N°: 4f Sym.R: (-) T : sensible
SA28	L.R :11cm L.F :30.5cm N°: 6f Sym .R: (-) T : résistante	L.R :15 cm L.F :16cm N°: 3f Sym. R: (+) T : sensible	L.R :8 cm L.F :27 cm N°: 5f Sym.R : (-) T : résistante	L.R :7cm L.F :14cm N°: 5f Sym.R :(+) T : résistante				
SA29	L.R :14.16 cm L.F :19 cm N°: 5f Sym. R : (-) T : résistante	L.R :14.2cm L.F :22.33cm N°: 5f Sym .R :(+) T : résistante	L.R :15 cm L.F :10cm N°: 3f Sym .R : (+) T : sensible	L.R :17.83cm L.F :24.66cm N°: 3f Sym.R :(+) T : sensible				
13	L.R :12 cm L.F :25.5cm N°: 6f Sym .R : (-) T : résistance	L. R : 9.5cm L.F :15.33cm N°: 4 Sym.R : (-) T : sensible	L.R :14.6cm L.F :28.5cm N°: 5f Sym.R : (-) T : résistante	L.R :8 cm L.F :15.83cm N°: 4f Sym .R : (-) T : résistante				
13'	L.R :16.16 cm L.F :20.83cm N°: 4f Sym.R : (-) T : résistante	L.R :10cm L.F :11cm N°: 4f Sym.R :(-) T : sensible	L.R :12cm L.F :13cm N°: 4f Sym.R : (+) T : résistante	L.R :11.33cm L.F :38.83cm N°: 4f Sym.R : (+) T : sensible				

F1 : *F.oxysporum*, F2 : *F. culmorum*, L.R : longueur racine, L.F : longueur feuille, N° : nombre de feuille, Sym.R : symptômes de la pourriture sur la racine, T : température élevée.

Annexes

Tableau B Développement du blé dur « Gta dur » après inoculation (après 42 jours)

	Gta dur traité / Sol stérile	Gta dur traité/ Sol +F1	Gta dur traité/ SOol+F2	Gta dur traité/ Sol+F1+F2	Témoin positif			Témoin négatif (graine et sol non traités)
					Gta dur non traité /Sol +F1	Gta dur non traité /Sol +F2	Gta dur non traité /Sol +F1+F2	
SA27	L.R :18.16cm L.F :23.83cm N° : 5f Sym. R : (-) T : résistante	L.R :19.33cm L.F :17.66 N° : 3f Sym.R : (-) T : sensible	L.R :14cm L.F :18cm N° : 4f Sym.R : (-) T : résistante	L.R :11.5cm L.F :16.66cm N° : 3f Sym.R :(+) T : sensible	L.R :5.33cm L.F :8.5cm N° : 4f Sym.R :(+) T : sensible	L.R :4.16cm L.F :9.16cm N° : 3f Sym .R : (+) T : sensible	L.R :8.66cm L.F :19cm N° : 3f Sym.R : (+) T : sensible	L.R :17.75cm L.F :17.5cm N° : 4f Sym.R : (-) T : résistante
SA28	L.R :07 cm L.F :17cm N° : 2f Sym .R:(-) T : résistante	L.R :6.5cm L.F :9cm N° : 3f Sym .R : (+) T : sensible	L.R :10 cm L.F :14.66cm N° : 4f Sym .R : (+) T : résistante	L.R :5cm L.F :8.5cm N° : 3f Sym.R : (+) T : sensible				
SA29	L.R :9.16 cm L.F :19.66 cm N° : 3 f Sym. R :(-) T : résistante	L.R :9cm L.F :27cm N° : 5f Sym.R : (+) T : résistante	L.R :7.5 cm L.F :10 cm N° : 3f Sym.R : (-) T : sensible	L.R :8.33cm L.F : 9 cm N° : 3f Sym.R : (+) T : sensible				
13	L.R :14 cm L.F :16 cm N° : 4f Sym .R : (-) T : résistante	L. R : 4.5cm L.F :15.33cm N° : 4f Sym.R : (+) T : sensible	L.R :10cm L.F :14cm N° : 4f Sym .R : (-) T : résistante	L.R :8.33cm L.F :14.16 cm N° : 4f Sym. R : (+) T : sensible				
13'	L.R :16.16 cm L.F :20.83cm N° : 4f Sym. R : (-) T: résistante	L.R :8.5cm L.F :16.5cm N° : 4f Sym .R :(+) T : sensible	L.R :9 cm L.F :14.5cm N° : 4f Sym .R : (-) T : résistante	L.R : 7.33cm L.F :12cm N° :3f Sym.R :(+) T : sensible				

F1 : *F.oxysporum*, F2 : *F. culmorum*, L.R : longueur racine, L.F : longueur feuille, N° : nombre de feuille, Sym.R : symptômes de la pourriture sur la racine, T : température élevée.

Résumé

Dans une approche de lutte biologique contre les espèces du genre *Fusarium*, agents phytopathogènes de la fusariose racinaire du blé, l'exploitation des souches Actinomycétales, principalement du genre *Streptomyces* semble être un moyen de lutte alternatif moins coûteux et moins dangereux pour l'environnement et pour l'homme. En effet, 55.55 % des neuf isolats d'Actinomycètes obtenus à partir du sol provenant du lac salé d'AIN Mlila et du lac Oubeira ont exprimé *in vitro* un pouvoir inhibiteur de la croissance des *F. oxysporum* et de *F. culmorum* étudiés dans ce travail. Ces résultats laissent suggérer que les métabolites antifongiques produits par ces bactéries sont à l'origine de l'inhibition de la croissance et de la lyse des *Fusarium*. Cette aptitude corrèle avec la capacité de ces bactéries à réduire la maladie sur les racines des plantules du blé (40% des isolats). Ce travail a permis également d'explorer *in vivo* sur le blé dur, la capacité phytostimulante et préventive de ces bactéries vis-à-vis la Fusariose racinaire. Ainsi, il serait intéressant de caractériser le mécanisme d'action à l'origine de l'antagonisme de ces Actinomycètes.

Mots clés : Pourriture racinaire, actinomycètes, *F. oxysporum*, *F. culmorum*, phytostimulation.

Summary

In an approach of the biologic fight against *Fusarium*, phytopathogens agents of the root fusariose of wheat. Exploitation of Actinomycetals stem, mainly the *Streptomyces* gender which seems to be a mean of an alternative fight less expensive and less dangerous for the environment and the Human. In fact, 55.55 % of nine isolates of isolated Actinomycetes start from the soil originating from the salt lake of Ain Mila and the Oubeira lake have expressed *in vitro* and inhibitor force of the growth of *F. oxysporum* and *F. culmorum* studied in this work. These results suggest the antifungal metabolites produced by these bacteria are the origin of the inhibition of the growth and the lysis of *Fusarium*. This aptitude correlate with the capacity of these bacteria to reduce the disease on the roots of seedling oh wheat (40% of isolates). This work has allowed also to explore *in vivo* the phytostimulants capacity and preventives of these bacteria towards the root fusariose. Hence, it will be interesting to characterize the action mechanism at the origin of the antagonism of these Actinomycetes.

Key words: Root rot, actinomycètes, *F. oxysporum*, *F. culmorum*, phytostimulation.

ملخص

في إطار مكافحة البيولوجية ضد الفوزاريوم، فصيلة الفطريات المجهرية المسببة لتعفن جذر القمح، يبدو ان استغلال سلالات أكتينوميستال، خصوصا من فصيلة ستريبتوميس سيكون حلا بديلا أرخص و أقل خطورة على البيئة و الإنسان لمحاربة هذه الفطريات . في الواقع، 55.55% من بين 9 عزلات الأكتينوميسيت المأخوذة من التربة المعزولة من بحيرة عين مليلة المالحة و بحيرة أوبيرة تمنع نمو ف. كولموروم و ف. أوكسيبوروم في اطار التجارب المخبرية . هذه النتائج تشير إلى أن الأيض المضادة للفطريات التي تنتجها هذه البكتيريا هي المسؤولة عن تنشيط النمو وتحلل فيوزاريوم. وتترابط هذه القدرة مع قدرة هذه البكتيريا على تقليل المرض على جذور شتلات القمح (40% من العزلات). هذا العمل أيضا جعل من الممكن استكشاف القدرة عند هذه البكتيريا على تنشيط النمو و محاربة تعفن الجذور عند نبات القمح . و بالتالي سيكون من المثير للاهتمام أن نميز آلية العمل عند هذه الأكتينوميستات لمحاربة هذه الفطريات.

الكلمات المفتاحية: ، تعفن الجذور ، الأكتينوميستات، الفيزاريوم او كزيسبوروم، الفيزاريوم كولموغوم، تنشيط النبات.

Nom et prénom : AIOUNE Hanane	Date de la soutenance : 24/06/2018
Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master en Microbiologie Spécialité : <i>Biologie moléculaire des Microorganismes</i>	
Thème : <i>Isolement des souches d'Actinomycètes à partir du sol inondé, développant une activité antagoniste, in vitro et in vivo, vis-à-vis des agents responsables de la Fusariose racinaire de blé dur.</i>	
<p>Résumé</p> <p>Dans une approche de lutte biologique contre les <i>Fusarium</i>, agents phytopathogènes de la fusariose racinaire du blé. L'exploitation des souches Actinomycétales, principalement du genre <i>Streptomyces</i> semble être un moyen de lutte alternatif moins couteux et moins dangereux pour l'environnement et l'homme. En effet, 55.55 % des neuf isolats d'Actinomycètes isolées à partir du sol provenant du lac salé d'AIN Mlila et du lac Oubeira ont exprimé <i>in vitro</i> un pouvoir inhibiteur de la croissance de <i>F. oxysporum</i> et <i>F. culmorum</i> étudiées dans ce travail. Ces résultats suggèrent que les métabolites antifongiques produits par ces bactéries sont à l'origine de l'inhibition de la croissance et la lyse des <i>Fusarium</i>. Cette aptitude corrèle avec la capacité de ces bactéries à réduire la maladie sur les racines des plantules du blé (40% des isolats). Le taux de croissance des plantules a été également significativement stimulé quand les bactéries antagonistes sont appliquées seules ou en présence des deux <i>Fusarium</i>. Ce travail a permis également d'explorer <i>in vivo</i> la capacité phytostimulante et préventives de ces bactéries vis-à-vis la Fusariose racinaire. Ainsi il serait intéressant de caractériser le mécanisme d'action à l'origine de l'antagonisme des Actinomycètes.</p>	
Mots clés : Pourriture racinaire, actinomycètes, <i>F. oxysporum</i> , <i>F. culmorum</i> , phytostimulation.	
Laboratoire de recherche : Laboratoire de Mycologie, Biotechnologie et de l'Activité anti-Microbienne (LaMyBAM).	
<p>Jury d'évaluation</p> <p>Président : Pr DEHIMAT U.F.M Constantine 1.</p> <p>Rapporteur : Pr KACEM CHAOUICHE U.F.M. Constantine 1.</p> <p>Examineur Pr HAMIDECHI U.F.M. Constantine 1.</p> <p>Tutrice : M^{elle}. ALLOUN (Doctorante au LaMyBAM) U.F.M. Constantine1</p>	