



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
Faculté des Sciences de la Nature et de la
Vie

جامعة الإخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة و الحياة

Département : Microbiologie

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

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

**Spécialité : Microbiologie, Option : Biotechnologie des Mycètes : Fermentation et production
de substances fongiques**

Intitulé :

Isolement et identification des champignons antagonistes des champignons phytopathogènes de l'orge

Présenté et soutenu par :

BOUGHEDID KENZA

FILALI MOUFIDA

Le 25 /06/2015

Président : Mr. DEHIMAT L.

Pr. Univ. des Frères Mentouri Constantine

Rapporteur : Melle BATAICHE Insaf

Dr.Univ. des Frères Mentouri Constantine

Examineur : Melle. BENSERADJ wafa

Dr .Univ. de Mila

*Année universitaire
2014 – 2015*

REMERCIEMENTS

Nous remercions le Tout Puissant de nous avoir aidées à mener à bien ce travail. Nous ne remercierons jamais assez :

Monsieur Dehimet.L, Doyen et Sagesse de notre faculté, qui, malgré ses lourdes responsabilités, nous a fait l'honneur de présider notre jury qu'il trouve l'expression de notre profond respect.

UN grand MERCI à Melle. BENSERADJ wafa qui a daigné octroyer de leur temps pour juger ce travail.

*Nous remercions également Mademoiselle BATAICHE .I
La joviale accueillante pour son soutien moral, son aide précieuse et ses conseils judicieux.*

Nous n'oublierons pas de remercier tous ceux qui nous ont soutenues et encouragées tout au long de la réalisation de ce travail

MERCI à tous

DIDICACE

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents dont le soutien est inestimable

SALAH & SALIMA

A mes sœurs bien aimée : NESSRINE- KHAOULA -RABEB -SIHAM SONDOUSE

A mon cher frère : TAGI ADDINE ABDO MOAIZE

A mes amis : Z.YOUCEF & T.HAMOUDI

A mes familles : BOUGHEDID & RAMECHE

A tous mes ami(e)s

KENZA

DIDICACE

Je dédie ce modeste travail :

À mes très chers parents dont le soutien est inestimable

Houcine & Nadja

A mes sœurs bien aimée : Assia, Samira, Soousou

***A mon cher frère : Hichem, Badis, Ahmed, Boubaker, Djaber, Islam,
Aboud.***

A mon cher mari : F.Samir

A mes familles : Filali, Baghriche, Fattoum.

A tous mes ami(e)s

moufida

SOMMAIRE

| | |
|---|----|
| 1-Introduction..... | 01 |
| 2-Revue bibliographique..... | 02 |
| 2.1- Définition de l'orge..... | 02 |
| 2.2- Classification de l'orge | 02 |
| 2.3 - les groupes de l'orge..... | 03 |
| 2.3.1- le groupe à six rangs..... | 03 |
| 2.3.2- le groupe à deux rangs..... | 03 |
| 2.4-les types de l'orge..... | 03 |
| 2.4.1- L'orge de printemps..... | 03 |
| 2.4.2- L'orge d'hiver..... | 03 |
| 2.5- Cycle biologique de développement de l'orge..... | 04 |
| 2.5.1- La période végétative | 04 |
| 2.5.2- La période reproductrice | 05 |
| 2.5.3- La période de maturation | 05 |
| 2.6- Production mondiale de l'orge | 06 |
| 2.8- Importance de l'orge | 06 |
| 2.8.1- utilisations alimentaires | 06 |
| 2.8.2- Chez les humains..... | 07 |
| 2.10- les maladies de l'orge..... | 07 |
| 2.10.1- Cycle de développement des maladies | 07 |
| 2.10.2- Les maladies fongiques de l'orge | 07 |
| 2.10.3- Les maladies virales..... | 12 |
| 2.10.4- les maladies bactériennes | 13 |
| 2.11- les différentes méthodes de la lutte | 13 |
| 2.11.1- Lutte chimique..... | 13 |
| 2.11.2- Lutte physique..... | 14 |
| 2.11.3- Lutte culturelle..... | 14 |
| 2.11.4- Lutte génétique..... | 14 |
| 2.11.5- Lutte biologique | 14 |

| | |
|---|----|
| 3- Matériel et méthodes | 16 |
| 3.1- Etude du site..... | 16 |
| 3.2 -Echantillonnage..... | 16 |
| 3.3 -Isolement des agents d'antagonismes | 17 |
| 3.3.1- Isolement de l'agent pathogène..... | 17 |
| 3.3.2- Isolement de l'agent antagoniste..... | 19 |
| 3.4- Purification | 19 |
| 3.5- Identification des moisissures | 20 |
| 3.5.1- Identification macroscopiques | 20 |
| 3.5.2- Identification microscopiques..... | 20 |
| 3.6- Test de l'antagonisme..... | 20 |
| 3.6.1- Antagonisme en confrontation directe..... | 21 |
| 3.6.2- Antagonisme en confrontation indirect..... | 21 |
| 3.7- Evaluation de la croissance mycélienne de l'agent pathogène..... | 22 |
| 4- Résultats et discussions..... | 23 |
| 4.1- Isolement et purifications de l'agent pathogène..... | 23 |
| 4.2- Identification de l'agent pathogène..... | 23 |
| 4.3- Isolement de l'agent antagoniste | 27 |
| 4.4- Teste antagonisme..... | 30 |
| 4.4.1- Confrontation directe..... | 30 |
| 4.4.2- confrontation indirecte | 37 |
| 4.5- Observation microscopique de la zone contacte entre les agents antagonisme et les agents pathogènes..... | 45 |
| 5- Conclusion et perspective..... | 48 |

Liste des figures

| | |
|--|----|
| Figure 1 : Orges à deux et six rangs..... | 03 |
| Figure 2: différents stades de développement de l'orge..... | 04 |
| Figure 3 : tache provoquée par <i>Rhynchosporiose socialis</i> | 08 |
| Figure 4 : tache provoquée par <i>Pyrenophra graminea</i> | 08 |
| Figure 5 : taches provoquées par <i>Erysiphe graminis</i> | 09 |
| Figure 6 : taches provoquées par <i>Ramulariacollocygni</i> | 09 |
| Figure 7 : Charbon couvert provoqué par <i>U. hordei</i> sur épi d'orge..... | 10 |
| Figure 8 : Un épi d'orge atteint de charbon nu déterminé par <i>U. nuda</i> | 10 |
| Figure 9 : taches septoriennes provoquées par <i>S.passerinii</i> | 11 |
| Figure 10 : taches provoquées par <i>Fusariumgraminearum</i> | 11 |
| Figure 11 : tache provoquée par (<i>Pyrenophorateres</i>) | 11 |
| Figure 12 : taches provoquées par (<i>puccinia simplex</i>) | 12 |
| Figure 13 : taches provoquées par <i>Helminthosporium gramineum</i> | 12 |
| Figure 14 : JNO de l'orge | 12 |
| Figure 15: situation géographique de la commune de Hamma bouziane | 16 |
| Figure 16: le champ de prélèvement des échantillons(Hamma Bouziane)..... | 17 |
| Figure 17: isolement de l'agent pathogène de l'Epi de l'orge malade..... | 19 |
| Figure 18 : Méthode de Confrontation directe entre l'agent pathogène et l'agent antagoniste sur milieu PDA | 21 |
| Figure 19: Méthode de Confrontation indirecte entre l'agent pathogène et l'agent antagoniste sur milieu PDA..... | 22 |
| Figure 20 : Confrontation directe entre <i>Trichoderma sp.</i> (A) et <i>F.graminearum</i> (B)..... | 31 |
| Figure 21:Inhibition de la croissance de <i>F.graminearum</i> en présence de <i>Trichoderma sp</i> | 31 |
| Figure 22 : Confrontation directe entre <i>P.digitatum</i> (A) et <i>F.graminearum</i> (B)..... | 32 |
| Figure 23: Inhibition de la croissance de <i>F.graminearen</i> présence de <i>P.digitatum</i> | 32 |

| | |
|--|----|
| Figure 24 : Confrontation directe entre <i>Mucor sp.</i> (A) et <i>F.graminearum</i> (B)..... | 33 |
| Figure 25: inhibition de la croissance de <i>F.graminearum</i> en présence de <i>Mucor sp</i> | 34 |
| Figure 26 : confrontation directe entre <i>Absidia</i> (A) et <i>F.graminearum</i> (B)..... | 34 |
| Figure 27: l'activité antagonisme d' <i>Absidia</i> contre <i>Fusarium graminearum</i> | 35 |
| Figure 28 : Effet des <i>Aspergillus</i> sur la croissance mycélienne de <i>F.graminearum</i> (B) ; dont A (<i>A.niger</i>), C(<i>A. flavus</i>), D (<i>A.sp</i>), E(<i>A.fumigatus</i>)..... | 35 |
| Figure 29: l'activité antagonisme d' <i>Aspergillus</i> contre <i>Fusarium graminearum</i> | 37 |
| Figure 30 : confrontation indirecte entre l'agent pathogène (<i>F.graminearum</i>) et l'agent | 38 |
| Figure 31: Effets inhibiteurs de <i>Trichoderma sp.</i> sur la croissance mycélienne (cm) de <i>Fusarium graminearum</i> comparativement au témoin non traité..... | 38 |
| Figure 32 : confrontation indirecte entre l'agent pathogène (<i>F.graminearum</i>) et l'agent antagoniste (<i>P.digitatum</i>)..... | 39 |
| Figure 33: Effets inhibiteurs de <i>Penicillium digitatum</i> sur la croissance mycélienne (cm) de <i>Fusarium</i> <i>graminearum</i> comparativement au témoin non traité..... | 39 |
| Figure 34: confrontation indirecte entre l'agent pathogène(<i>F.graminearum</i>) et l'agent antagoniste (<i>Mucor</i> sp.)..... | 40 |
| Figure 35: Effets inhibiteurs de <i>Mucor sp.</i> sur la croissance mycélienne (cm) de <i>Fusarium graminearum</i> comparativement au témoin non traité..... | 40 |
| Figure 36: confrontation indirecte entre l'agent pathogène (<i>F.graminearum</i>) et l'agent antagoniste (<i>Absidia</i>)..... | 41 |
| Figure 37: Effets inhibiteurs d' <i>Absidia</i> sur la croissance mycélienne (cm) de <i>Fusarium graminearum</i> comparativement au témoin non traité..... | 41 |
| Figure 38: confrontation indirecte entre l'agent pathogène (<i>F.graminearum</i>) et l'agent antagoniste (<i>A.niger</i>)..... | 42 |
| Figure 39: Effets inhibiteurs d' <i>A.niger</i> sur la croissance mycélienne (cm) de <i>Fusarium graminearum</i> comparativement au témoin non traité..... | 42 |
| Figure 40: confrontation indirecte entre l'agent pathogène (<i>F.graminearum</i>) et l'agent antagoniste (<i>A.flavus</i>)..... | 43 |
| Figure 41: Effets inhibiteurs d' <i>A.flavus</i> sur la croissance mycélienne (cm) de <i>Fusarium graminearum</i> , comparativement au témoin non traité..... | 43 |

| | |
|---|----|
| Figure 42: confrontation indirecte entre l'agent pathogène (<i>F.graminearum</i>) et l'agent antagoniste (<i>A.sp.</i>)..... | 44 |
| Figure 43: Effets inhibiteurs d' <i>Aspergillus sp</i> sur la croissance mycélienne (cm) de <i>Fusarium graminearum</i> comparativement au témoin non traité..... | 44 |
| Figure 44: confrontation indirecte entre l'agent pathogène (<i>F.graminearum</i>) et l'agent antagoniste (<i>A.sp.</i>)..... | 44 |
| Figure 45: effet inhibiteur d' <i>A. fimgatus</i> .sur la croissance mycélienne (cm) de <i>Fusarium graminearum</i> comparativement au témoin non traité..... | 45 |

Liste des tableaux

| | |
|---|----|
| Tableau 1 : la classification de l'orge | 02 |
| Tableau 2: isolement de l'agent pathogène des feuilles..... | 18 |
| Tableau 3 : Identification macroscopique des souches purifiées des feuilles de l'orge..... | 24 |
| Tableau 4 : identification microscopique des souches fongique isolées des feuilles de l'orge (objectif x40)..... | 25 |
| Tableau 5 : identification macroscopique de souche fongique de l'épi (objectif x40)..... | 26 |
| Tableau 6 : identification microscopique de souche fongique de l'épi (objectif x40)..... | 27 |
| Tableau 7 : les caractères macroscopique et microscopique des souches fongiques isolées du sol d'orge (Hamma bouziane) (objectif x40)..... | 28 |
| Tableau 8 : Observation microscopique d'enroulement du mycélium du l'agent antagoniste sur celui du <i>F. graminearum</i> (objectif x40)..... | 46 |

Liste des abréviations

OAIC : Office Algérien Interprofessionnel des Céréales.

INRA : Institut National de la Recherche Agronomique.

JNO : jaunisse nanaisant de l'orge.

BYDV : barley yellow dwarf virus.

VMJO : virus de la mosaïque jaune de l'orge.

VMMO : virus de la mosaïque modérée de l'orge.

PDA : Potatos Dextrose Agar.

MEA : Malt Extract Agar.

$I(\%)$: représente inhibition moyenne de la croissance mycélienne

D_n : le diamètre moyen du champignon pathogène

D_o : le diamètre moyen du champignon témoin

2- Revue bibliographique

2.1- Définition de l'orge

L'Orge est le nom commun des plantes du genre *Hordeum*, de la famille des graminées et appartient à l'espèce *Hordeum vulgare* (Difallah et al., 2009). C'est une céréale cultivée par 17% des exploitations agricoles. Au niveau de la production mondiale céréalière, elle se situe au quatrième rang et est cultivée par l'Homme qui l'utilisait notamment pour l'alimentation. Elle comporte de longues barbes hautes de 70 à 120 centimètres et qui s'accommodent qu'une grande variété de sols et de climats (Pierre, 2001).

2.2- Classification de l'orge

Le genre *Hordeum* comprend des espèces diploïdes ($2n=14$) dont les biotypes cultivés comme *Hordeum vulgare*, *Hordeum distichum*, *Hordeum intermedium*, et sauvage comme *Hordeum spontaneum*, *Hordeum agriocrithon* et *Hordeum pusillum* (Rasmusson, 1987).

L'espèce tétraploïde ($2n=28$) est constituée uniquement des biotypes sauvages comme *Hordeum murinum*, *Hordeum bulbosum*, *Hordeum jubatum* et *Hordeum nodosum* (Souilah, 2009). D'après Chadeaud et Emberger (1960), Prats (1960) et Feillet (2000), l'orge appartient à la classification suivante (Tableau 1) (annexe 1).

Tableau 1 : la classification de l'orge (**Anonyme 2**)

| | |
|----------|------------------------|
| Règne | Plante |
| Division | Magnoliophyta |
| Classe | Liliopsida |
| Orde | Cyperales |
| Famille | Graminées |
| Genre | <i>Hordeum</i> |
| Espèce | <i>Hordeum vulgare</i> |

2.3 - les groupes de l'orge

Liné (1755) in Grillot (1959), classent les orges selon le degré de fertilité des épillets et la compacité de l'épi en deux groupes (Figure 1).

2.3.1- le groupe à six rangs : dont les épillets médians et latéraux sont fertiles et qui se subdivise selon le degré de compacité de l'épi en :

- *Hordeum hexastichum*L. (escourgeon) a un épi compact composé sur chaque axe du rachis de 3 épillets fertiles.
- *Hordeum tétrastichum*L. a un épi lâche composé sur chaque axe du rachis de 2 épillets fertiles.

2.3.2- le groupe à deux rangs : dont les épillets médians seuls sont fertiles. Ce groupe se présente par *Hordeum distichum*L. qui a un épi aplati et lâche composé de deux rangées d'épillets fertiles, sur chaque axe du rachis, entouré de 4 épillets stérile (Souilah , 2009).



Figure 1 : Orges à deux et six rangs (GNIS, SD a).

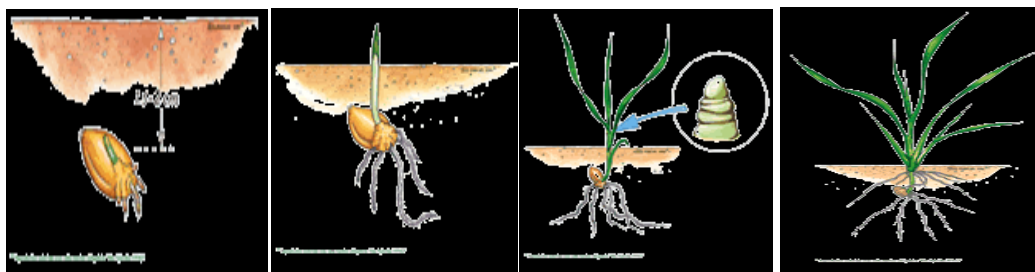
2.4-les types de l'orge

2.4.1- L'orge de printemps: elle est sensible au gel et a un cycle végétatif plus court (environ 120 à 150 jours). Elle s'implante au printemps. Ces orges n'ont aucun besoin de vernalisation pour assurer leur montaison (Souilah, 2009).Elles se sèment en février-mars et la récolte s'effectue en Eté (Difallah et al., 2009).

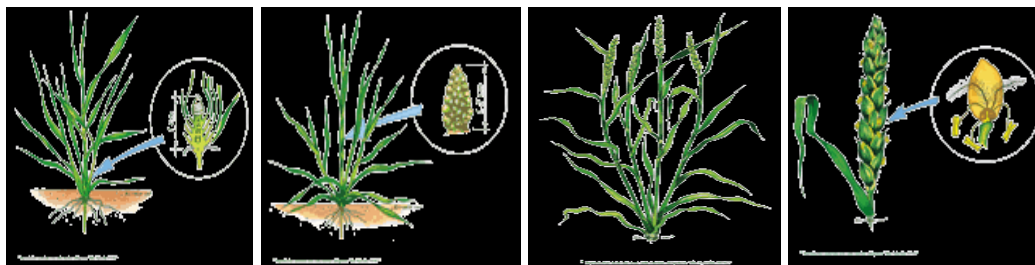
2.4.2- L'orge d'hiver: se sème fin septembre - début octobre, dont le cycle de développement varie de 240 à 265 jours. Elle s'implante en automne. Ces orges ont besoin pour assurer leur montaison, de température vernalisante qui manifeste un degré plus au moins élevé de résistance au froid hivernal (Souilah, 2009).Après avoir passées l'hiver sous terre, elles sont récoltées juste avant les orges de printemps. Elles peuvent supporter des températures allant jusqu'à -15°C.

2.5- Cycle biologique de développement de l'orge

Leur cycle évolutif en trois grandes périodes (période végétative, période reproductrice et période de maturation) (figure 2).



(a) Germination (b) levée (c) feuille (d) début tallage



(E) Epi à 1 cm (f) Un nœud (g) Épiaison (h) Floraison



(n) Grain formé



(m) épi à Maturité

La période reproductrice

La période de maturation

Figure 2: différents stades de développement de l'orge (Soltner, 2005).

2.5.1- La période végétative :

Qui s'étend de la germination au tallage. Cette période elle-même subdivise en trois stades principaux :

- **Phase semis-levée:**

Elle débute par le passage du grain de l'état de vie ralentie à l'état de vie active au cours de la germination qui se traduit par l'émergence de la radicule et des racines séminales et celle du coléoptile (figure 2.a). Dès que la première feuille a percé le coléoptile, ce dernier s'arrête de croître et se dessèche (figure 2.b)(Heller et al., 1982 ; Boufenar, 2006).

- **Phase levée-début tallage:**

La première feuille fonctionnelle s'allonge, puis la deuxième, jusqu'à la quatrième toutes en position alterne (figure 2.c). Celles-ci, imbriquées les unes dans les autres, partant toutes d'une zone située au proche de la

surface du sol appelée plateau de tallage, constituée par l'empilement d'un certain nombre d'entre-noeuds et reliées à la semence par le rhizome (Clément, 1970).

- **Phase début tallage- début montaison:**

Elle se caractérise par l'entrée en croissance des bourgeons différenciés à l'aisselle de la première feuille (figure 2.d), dont le bourgeon donnera le maître brin (Soltner, 1990).

2.5.2- La période reproductrice :

Elle s'étend de la montaison à la fécondation

- **Phase de la montaison :**

Un certain nombre de talles herbacées vont évoluer vers des tiges couronnées d'épis, tandis que d'autres commencent à régresser (figure 2.E). La croissance entaille et en matière sèche est alors active. Cette phase se termine au moment de la différenciation des stigmates. La durée de cette phase est de 29 à 30 jours (Clément et al., 1970).

- **Phase de l'épiaison :**

Cette phase correspond à l'élaboration d'une grande quantité de la matière sèche, à l'organisation détaillée des épillets et à la fécondation (figure 2). La durée de cette phase est d'environ 32 jours. Cette phase est suivie par le grossissement du grain qui devient mou et le dessèchement de presque toutes les feuilles (figure 2.g et h). Sa durée est de 16 à 17 jours (Clément et al., 1970).

2.5.3- La période de maturation :

On observe une augmentation du volume et du poids des grains. La phase se termine par le stade laiteux. Ensuite, le poids frais des grains continue à augmenter alors que celui des tiges et des feuilles diminue. La phase se termine par le stade pâteux. Le grain à ce stade s'écrase en formant une pâte. Enfin, le grain devient dur et de couleur jaunâtre (figure 2.n et m) (Boufenar, 2006).

2.6- Production mondiale de l'orge

La production mondiale d'orge est 4 à 5 fois moindre que celle de blé ou de maïs, pour la campagne 2009/2010, elle est prévue à 149 millions de tonnes en baisse de près de 4 % par rapport à la campagne précédente.

➤ En Algérie

L'orge est la 2^{ème} céréale cultivée après le blé, en Algérie. L'orge occupe avec le blé dur 80% de la surface ensemencée en céréales chaque année. Elle reste un pays importateur de toutes les céréales malgré la place importante qu'occupe ces dernières, de fait qu'elles servent de base à l'alimentation humaine. Selon Catton (2000), ces importations sont passées de 4.9 millions de tonnes (moyenne campagnes 1978/1979/1980) à 15 millions de tonnes (moyenne campagnes 1995/1996;1996/1997;1997/1998) soit plus de 220% (Anonyme 3).

L'Algérie redevienne exportatrice sur le marché international de l'orge (Office Algérien Interprofessionnel des Céréales, OAIC), qui a été chargé de gérer 21,3 millions de quintaux d'orge, sur une production globale de 24 millions de quintaux.

2.8- Importance de l'orge

2.8.1- utilisations alimentaires

- L'orge est une céréale adaptée à l'alimentation des chevaux et des porcins, de volailles, bovines et ovines à cause des contient plus de phosphocalcique, de protéines et aussi sa meilleure rentabilité économique.
- L'orge est aussi cultivée pour l'industrie, particulièrement pour la fabrication d'alcools (bière, whisky).
- La farine d'orge utilisée pour la fabrication du pain quand le blé manquait. Ainsi, pour la préparation des soupes, des crèmes et des décoctions, mais aussi ce qui est le plus surprenant pour du café sans caféine.

2.8.2- Chez les humains

- L'orge peut être également consommée par les nourrissons puisqu'elle a de nombreuses vertus en contenant du phosphore, du calcium, du fer, du potassium, du magnésium, des glucides complexes, des minéraux et de nombreuses vitamines (B1, B2, PP) et de la provitamine A.
- cette céréale réduit le risque d'hypotension, de déminéralisation, d'affections pulmonaires, d'atonie gastrique, d'hépatisme, d'entérites, de diarrhées, d'inflammation des voies urinaires, d'états fébriles (Pierre ,2001).

2.10- les maladies de l'orge

2.10.1- Cycle de développement des maladies

➤ Contamination

Les maladies cryptogamique sont transportés par le vent, la pluie ou par contact, les spores des champignons qui se disséminent et se déposent sur les plantes (Brouillard, 2013). Pour les maladies virales, elles sont transportées par les insectes, les nématodes et des champignons. En ce qui concerne, les maladies bactériennes elles sont disséminées par les insectes, le vent et l'eau. L'agent causale passe par les orifices naturels (stomates, lenticelles) ou pénètre par des blessures (notamment celles provoquées par des insectes), ou encore il est capable de traverser la cuticule (Anonyme 4).

➤ Période de l'incubation

L'agent causale se ramifie et envahit les cellules des tissus ou les espaces intercellulaires (Anonyme 4). Cette période prend de 24h à 72h selon le niveau de la sensibilité de l'hôte et des conditions climatiques

(Ezzahiri, 2011).Après une période d'incubation, ils se développent et les premiers symptômes apparaissent (brouillard, 2013).Accompagnée de la fructification du champignon, la plante attaquée peut dépérir (nécrose des tissus, détournement de la sève obstruction des vaisseaux) (anonyme 4).

2.10.2- Les maladies fongiques de l'orge

Comme toutes les autres plantes cultivées par l'homme l'orge à paille peut être attaquée par grand nombre d'organisme parasites macroscopiques et microscopique.

❖ **Rhynchosporiose** (*Rhynchosporium secalis*)

C'est la maladie majeure de l'orge (figure 3). Elle est favorisée par le temps frais (12 à 14 degrés) et humide. Elle se développe sur les feuilles qui restent mouillées pendant de longues périodes de temps. Le degré d'infection est habituellement le plus élevé tout juste avant et durant l'épiaison (Lacroix, 2008).



Figure 3 : tache provoquée par *Rhynchosporiose secalis* (Bafs, 2008).

❖ **Strie foliaire** (*Pyrenophora graminea*)

Pyrenophora graminea (anamorphe :*Drechslera graminea*) est transmis par les semences. Des stries longitudinales de couleur jaunâtres puis brunes se développent à partir de la base de la feuille (figure 4) (Bouakaz et Oussaid, 2013). L'épiaison est médiocre et les grains sont mal remplis. Elle attaque les cultures d'hiver et de printemps (Difallah et al., 2009).

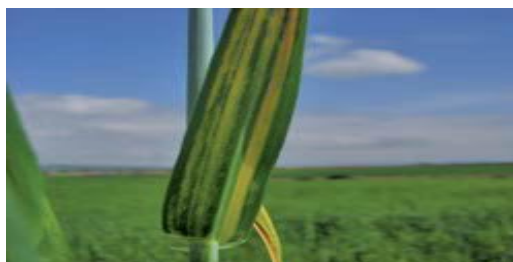


Figure 4 : tache provoquée par *Pyrenophora graminea* (Bouakaz et Oussaid, 2013).

❖ **Oïdium** (*Erysiphe graminis*)

Erysiphe graminis forme des plages de mycélium superficiel blanc puis gris sur les feuilles, les gains et les épis d'orge. Les feuilles restent vertes et actives pendant un certain temps après l'infection, puis les zones

infectées meurent progressivement. Les conidies sont formées en grand nombre et se présentent sous forme de poudre blanche à la surface du mycélium (figure 5) (Difallah et al., 2009).



Figure 5 : taches provoquées par *Erysiphe graminis* (INRA, 2014).

❖ **Ramulariose** (*Ramulariacollocygni*)

Les tâches de la Ramulariose sont visibles sur les deux côtés de la feuille. Les tâches de la ramulariose se présentent comme de « mini-tâches » d'Helminthosporiose, mais elles sont plus claires, marrons, rectangulaires et suivent les nervures (figure 6) (Difallah et al., 2009).



Figure 6 : taches provoquées par *Ramulariacollocygni* (INRA, 2014).

❖ **Charbon couvert** (*Ustilago hordei*)

Le charbon couvert cause des pertes importantes à l'orge (Zillinsky, 1983). Les plantules sont contaminées de manière systémique par des spores portées à l'extérieur des semences ou persistantes dans le sol (figure 7). Les plantes malades sont rabougries et les grains sont remplis d'une masse de spores noires enveloppées par une membrane transparente jusqu'à la récolte (Difallah et al., 2009).



Figure 7 : Charbon couvert provoqué par *U. hordei* sur épi d'orge (Zillinsky, 1983).

❖ **Charbon nu**

La maladie provoquée par l'orge et le blé sont



Ustilago nuda

cette espèce résulte de l'infection florale, et seuls sensibles (Zillinsky, 1983).Après l'épiaison, Des

spores noires sont libérées entre les glumes et les grains, et produisent une poussière noire libre (figure 8) (Difallah et al., 2009).

Figure 8 : Un épi d'orge atteint de charbon nu déterminé par *U. nuda* (Zillinsky, 1983).

❖ **Septoriose** (*Septoria passerinii*)

La tache septorienne déterminée par *S. passerinii*, semble attaquer seulement l'orge cultivée et certaines espèces voisines sauvages (figure 9). La maladie est fréquente dans les régions septentrionales de l'Amérique du Nord, l'Europe et l'Asie, mais elle est la moins nocive des septorioses (Zillinsky, 1983).

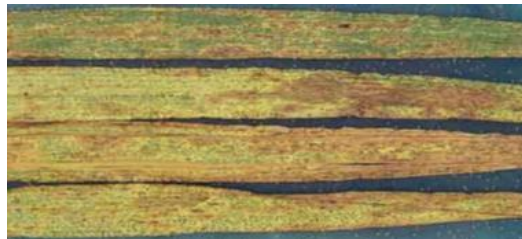


Figure 9 : taches septoriennes provoquées par *S. passerinii* (Zillinsky, 1983).

❖ **Fusariose** (*Fusarium graminearum*)

La fusariose est l'une des maladies provoquée par *Fusarium graminearum* où les symptômes sont décelables peu après la floraison. Le champignon peut s'attaquer à la totalité ou à une partie de l'épi. Le blanchiment des épis où la fusariose apparaît de 3 à 5 jours après l'infection (figure 10) (Difallah et al., 2009).



Figure 10 : taches provoquées par *Fusarium graminearum* (Lauzon et al., 2007).

❖ **Rayures réticulées** (*Pyrenophorateres*)

La rayure réticulée est une maladie très fréquente chez l'orge. Les taches sont elliptiques d'un brun foncé, s'allongeant pour former des stries étroites et longues le long des nervures. De minuscules lignes

horizontales plus foncées sont présentes formant un réseau ayant l'apparence d'un « quadrillé ». Un jaunissement peut se développer autour des stries (figure11) (Lacroix, 2008).

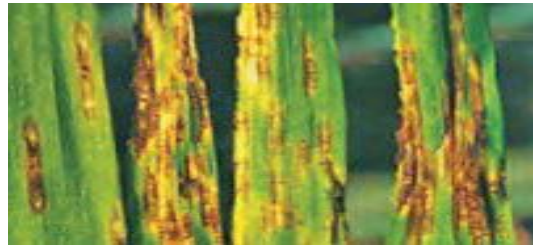


Figure 11 : tache provoquée par (*Pyrenophorateres*) (Bouakaz et Oussaid, 2013).

❖ **Rouille naine** (*puccinia simplex*)

Pour les feuilles de l'orge (figure 12). Elle est très répandue dans plusieurs des régions du monde où on cultive l'orge, cependant les pertes sont en général légères. Le pathogène n'attaque que l'orge cultivée et les espèces voisines (Zillinsky, 1983).

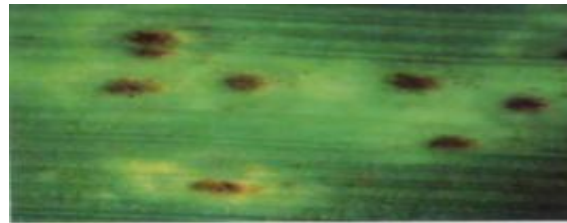


Figure 12 : taches provoquées par (*puccinia simplex*) (Zillinsky, 1983).

❖ **Helminthosporiose** (*Helminthosporium gramineum*)

Cette maladie qui n'affecte que l'orge est caractérisée par l'infection généralisée de l'hôte (Zillinsky, 1983). La Présence de longues stries brunes sur les feuilles. Ces stries sont d'abord de couleur vert pâle, puis deviennent jaunes et enfin brun foncé (figure 13) (Anonyme, 2013).



Figure 13 : taches provoquées par *Helminthosporium gramineum* (Augis et al., 2014).

2.10.3- Les maladies virales

Les maladies les plus importantes en incidence et en sévérité sur l'orge sont :

❖ **La jaunisse nanisant de l'orge**(JNO)

Est une maladie virale transmise par les pucerons bien connue des agriculteurs. En piquant la plante pour se nourrir, le puceron transmet le virus BYDV (Barley Yellow Dwarf Virus) aux plantes. Lorsque l'orge est

attaquée par la JNO, les dernières feuilles prennent une couleur rouge lie de vin et les plantes sont rabougries par foyer (figure 14) (Amandine, 2003).



Figure 14 : JNO de l'orge (Dehimat et al., 2011).

❖ Mosaiques

Sont des maladies virales transmises par un vecteur, non pas par un ravageur aérien cette fois mais par le *Polymixa graminis*, une « plasmodiophorale », parasite des racines des céréales, très voisin des champignons de sol. Deux types de mosaïques s'attaquent à l'orge d'hiver. La mosaïque jaune, VMJO et la mosaïque modérée, VMMO (Amandine, 2003).

2.10.4- les maladies bactériennes

-**Pseudomonas** : est un genre pathogène pour les céréales tel que le blé, l'orge, seigle et triticales. Maladie de pourriture de la base des glumes est provoquée par *Pseudomonas*.

-**Xanthomonas**: ce genre attaque l'orge et le blé et provoque des rayures bactériennes par l'agent causal *xanthomonas campestris*pv. *Translucens* (Soltner, 1995 ; Cavelier, 1992).

- **Clavibacter** : cause la mosaïque bactérienne du blé et de l'orge dont l'agent causal est *Clavibacter michiganensis* sub. espèce *sptesselerius* (Boukhris, 1992).

2.11- les différentes méthodes de la lutte

Pour aboutir à des cultures et des récoltes saines, quelle que soit la région, on doit faire appel à des méthodes de luttés efficaces (champion et al., 1993).

2.11.1- Lutte chimique

La lutte chimique contre les maladies des plantes a commencé en 1865 avec l'utilisation de la bordelaise (fongicide à base de cuivre) contre l'Oidium et le mildiou de la vigne. L'emploi d'insecticides (l'acide benzoïque, le parathion) et d'herbicide (2.4.D :Dichloro-2,4 phénoxyacétique acide, MCPA : Chloro-4 méthyle -2 phénoxyacétique) n'a eu lieu qu'à la fin de la seconde guerre mondiale. Avec ces produits débute une autre nouvelle celle des produits de l'agrochimie, phytosanitaire ou encore appelés pesticides, c'est l'ère de la phytopharmacie (Richard et al., 1985).

➤ **Particularités des fongicide**

La particularité importante est la très haute activité spécifique vis-à-vis de sa cible :

- **préventive** : inhibe la croissance des tubes germinatifs du champignon qui ne peut plus pénétrer dans la feuille.
- **curative** : est l'encapsulation des haustoria par la plante elle-même. Les haustoria perdent leur fonction de nutrition du champignon à la surface de la feuille.

2.11.2- Lutte physique

Il faut empêcher la conservation des agents phytopathogènes dans l'environnement, les débris de plantes malades, sont susceptibles de produire un inoculum capable d'attaquer les plantes cultivées saines placées dans un substrat sain. En vue de limiter ces sources, potentielles de contamination plusieurs méthodes préventives peuvent être utilisées notamment la destruction par le feu des débris végétaux infectés ou leur enfouissement dans le sol (Van der Plank, 1963 in Mechara et Acila, 1999)

2.11.3- Lutte culturale

Elle vise à limiter l'augmentation du taux d'inoculum primaire dans le sol (Rapilly et al., 1971). Pour cela les techniques recommandées pour réduire la sévérité des maladies.

➤ **Technique culturale**

Plusieurs techniques culturales réduisent le risque des maladies avant ou pendant l'implantation de la culture :

- Eviter les semis précoces et trop denses.
- Assurer un désherbage permettant d'éliminer les mauvaises herbes qui entretiennent un microclimat humide qui pourraient être un foyer de germes pathogènes.
- Eliminer les repousses de plantes.
- Respecter les assolements et les rotations (Maufras, 1984 ; Hosford, 1976).
- Une bonne fertilisation azotée peut également réduire les attaques des maladies foliaires.

2.11.4- Lutte génétique

La résistance variétale quand elle existe, reste la méthode de lutte la plus économique et la plus pratique contre les céréales (Ezzahiri, 2001). C'est la solution idéale car elle dispense l'agriculteur des coûts qu'il aurait à engager dans la lutte tout en préservant l'environnement (Krupinsky, 1999 *in* Harrat, 2009).

2.11.5- Lutte biologique

C'est une méthode qui consiste à utiliser les capacités biologique d'un organisme vivant en vue de limiter, arrêter ou bien inhiber le développement d'un autre organisme vivant sans avoir recours aux pesticides. Plusieurs être vivant, bactéries et champignons, ont fait l'objet d'étude ou ont été utilisées dans des applications de lutte biologiques.

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

La lutte biologique est considérée comme une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques qui constituent un danger sur l'environnement et sur l'homme (Cook, 1993; Benbrook et al., 1996).

La lutte biologique a une efficacité relative et demande plus de connaissances et d'observations, mais à long terme, elle est beaucoup plus intéressante sur le plan environnemental et économique (Corbaz, 1990; Toussaint, 1996).

3- Matériel et méthodes

Cette étude porte sur l'isolement et identification des moisissures antagonistes de celles pathogènes de l'orge. Des confrontations directe et indirecte, sur boites de Pétri, ont été établi afin de sélectionner les souches antagonistes (de meilleur résultats d'inhibition de l'agent pathogène). Ce travail a été effectué au niveau de laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM) Chaab Erssas, Université des frères Mentouri, Constantine.

3.1- Etude du site

Hamma Bouziane, appelée aussi verger de la ville de Constantine ; située au nord de cette Dernière, est connue par sa terre fertile, ses fruits, légumes et céréales ainsi que ses sources d'eau. D'une superficie de 71 km², la daïra de Hamma Bouziane tend à former un ensemble homogène dans ses limites territoriales (figure 15) (Djessas et Laouir, 2004).



Figure 15: situation géographique de la commune de Hamma bouziane (Anonyme, 2015)

3.2- Echantillonnage

Les échantillons (sol et plantes) sont prélevés à partir du champ de Hamma Bouziane (figure 16). L'échantillonnage est effectué en mois de mai, sous la température 16c°. Les prélèvements du sol ont été réalisés à l'aide d'une cuillère stérile, dont la couche de 3 premières centimètres (couche supérieure) est écartée (Buhot, 1973 ;Mihail et Alcoren,1987 ; Saadoune et Momani,1997) et la couche de 5 centimètres (couche inférieure) est recueillis dans des sacs stérile. Les plantes ont été prélevées à l'aide des gants stériles, ainsi recueillis dans des sacs stériles.



Figure 16: le champ de prélèvement des échantillons(Hamma Bouziane).

3.3 Isolement des agents d'antagonismes

Afin de faire le test antagonisme des champignons de l'orge, il est nécessaire, d'une part, d'isoler de l'agent pathogène à partir des feuilles et/ou de l'épi de la plante. D'autre part, l'isolement de l'agent antagoniste (champignons) est réalisé à partir du sol du champ.

3.3.1- Isolement de l'agent pathogène

➤ A partir des Feuilles

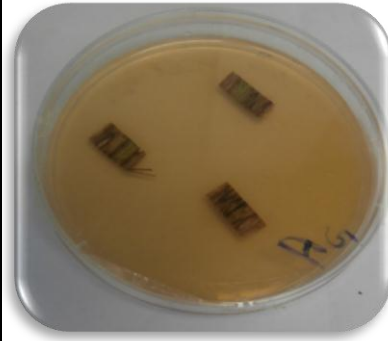
L'isolement est réalisé à partir de fragments des feuilles présentant les symptômes caractéristiques de chaque maladie. Trois feuilles malade présentent les symptômes de Helminthosporiose (Augis et al, 2014). L'oïdium (INRA, 2014) et les Rayures réticulées (Bouakaz et Oussaid, 2013).

La méthode est faite dans des conditions aseptique, les fragments des feuilles malades sont découpées séparément en petits fragments à l'aide d'un scalpel stérile. Par la suite, ils sont désinfectés par trempage dans 5% d'eau javellisée stérile pendant 5 minutes, puis rincés dans l'éthanol, et en fin dans l'eau distillé stérile pendant 5 minutes, puis séché sur papier buvard stérilisé. La désinfection est effectuée pour éliminer les microflore exogènes.

Ces fragments sont déposés dans des boîte de pétri, contenant le milieu MEA (annexe 2). Les boîtes sont mises à incuber sous une température de 28c° pondant 4 à 7 jours (tableau 2).

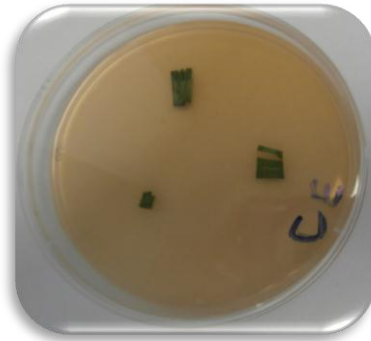
Tableau 2: isolement de l'agent pathogène des feuilles.

| Feuilles infectées | Technique d'isolement |
|---------------------------|------------------------------|
|---------------------------|------------------------------|



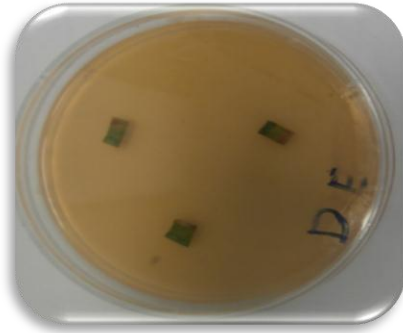
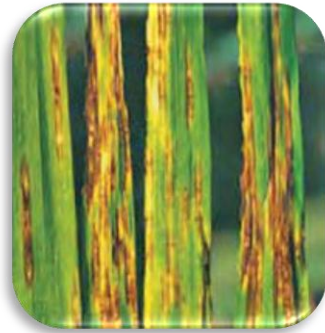
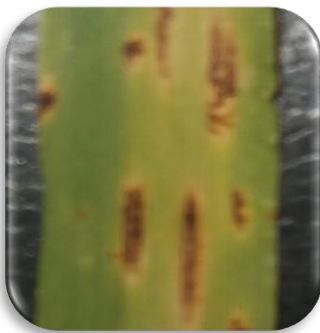
Helminthosporiose

(Augis et al, 2014)



L'oïdium

(INRA, 2014)



Rayures réticulées

(Bouakaz et Oussaid, 2013)

➤ A partir de épi

L'isolement a été réalisé à partir de fragment d'organe atteint les grains de l'orge, présentent les symptômes caractéristiques de la Fusariose (figure 17) (Lauzon et al., 2007).

Les grains de l'orge malade sont désinfectés de la même manière des feuilles. Ils ont été déposés dans des boîtes du Pétri contenant le milieu MEA (Annexe 2) (figure 17). Les boîtes sont incubées à une température de 28 °C, pendant 4 à 7 jours.



Figure 17: isolement de l'agent pathogène de l'Epi de l'orge malade

3.3.2- Isolement de l'agent antagoniste

➤ sol

La préparation des dilutions consiste, tout d'abord, à préparer la solution mère du sol. Un gramme de sol est suspendu dans 9ml d'eau physiologique stérile, puis homogénéisé pendant 10 minutes à l'aide d'un vortex. Cette dilution représente la solution mère à partir de laquelle d'autres dilutions sont préparés jusqu'à 10^{-5} (dilution décimal) (Botton et al., 1990). Seulement 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} sont retenues pour l'ensemencement du milieu solide (MEA) (Annexe 2) pour l'isolement des champignons (Waksman, 1922). L'incubation des boîtes a été à une température 28C°, pendant 4-7 jours.

3.4- Purification

La purification est réalisée par transfert des colonies développées sur des boîtes contenant le milieu de culture PDA (Annexe 3) (chaque colonie récupérée dans une boîte). Ce dernier se considère comme un milieu favorable de développement (rapide) des champignons, ainsi à la production des spores (Botton et al., 1990). L'incubation est réalisée à une température 28C°, pendant à 4 -6 jours. Cette méthode est répétée jusqu'à l'obtention des colonies pures.

3.5- Identification des moisissures

3.5.1- Identification macroscopiques

Pour l'observation macroscopique des moisissures, il est nécessaire de caractériser ces isolats sur milieu PDA par :

- **L'aspect des colonies** : qui représente un critère clef d'identification. Les champignons filamenteux forment des colonies duveteuses, laineuses, cotonneuses, veloutées, poudreuses ou granuleuses.
- **La couleur des colonies** : c'est un élément très important d'identification. Les couleurs les plus fréquentes sont le blanc, crème, jaune, orange, brun allant jusqu'au noir. Les pigments peuvent être localisés au niveau du mycélium (*Aspergillus*, *Penicillium*) ou diffuser dans le milieu de culture (*Fusarium*) (Botton et al., 1990).

3.5.2- Identification microscopiques

L'examen microscopique d'une colonie fongique se fait après réalisation d'un étalement entre lame, scotch et coloration. Généralement, un examen à l'objectif 40 est suffisant pour mettre en évidence la plupart des éléments importants (Chabasse, 2002). L'observation microscopique permet de détecter la présence du thalle, la présence ou l'absence de septum, la nature et la reproduction et les caractéristiques des fructifications et des spores.

3.6- Test de l'antagonisme

L'antagonisme se manifeste généralement soit par une compétition, un hyper parasitisme, une production de sidérophores ou une antibiose (Soufiane, 1998).

Le choix d'un milieu de culture adéquat est indispensable au bon développement du pathogène et de l'antagoniste. Le milieu PDA (Annexe 3) assure de bonnes conditions de cultures. L'activité antagoniste a été étudiée selon deux méthodes :

3.6.1- Antagonisme en confrontation directe

Les confrontations *in vitro* sont effectuées selon la méthode de Patel et Brown (1969). Dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre, contenant 15 ml de milieu PDA (Annexe 3), deux pastilles gélosées (6 mm de diamètre), l'une portant l'agent pathogène pure et l'autre Agent antagoniste pure.

Les deux pastilles sont placées suivant un axe diamétral à 5 cm et à équidistance du centre de la boîte (figure 18). Les repiquages sont effectués, en même temps (Benhamou et Chet, 1996). L'incubation est réalisée à 28°C pendant sept jours. Des notations concernant l'inhibition de la croissance diamétrale des colonies de

l'agent pathogène et leur envahissement par le mycélium de l'Agent antagoniste sont effectuées chaque jour jusqu'à le septième jour. Le témoin est effectué par un repiquage du agent pathogène au centre de la boîte de pétri qui contient le PDA(Annexe 3).

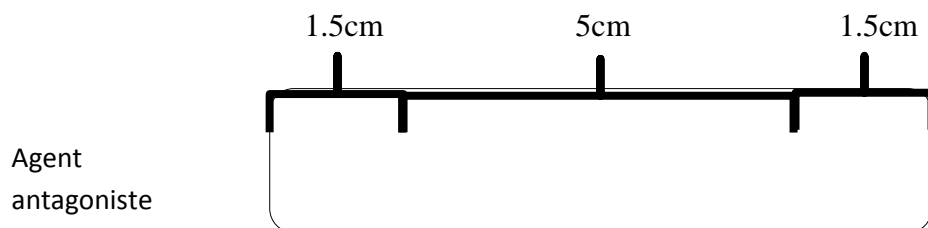


Figure 18 : Méthode de Confrontation directe entre l'agent pathogène et l'agent antagoniste sur milieu PDA (Hibar et al, 2005).

3.6.2- Antagonisme en confrontation indirect

Le principe de cette méthode repose sur la technique déjà utilisée par Camporta (1985). Il consiste à repiquer l'antagoniste et le pathogène dans deux boites séparées. Ensuite, un assemblage est réalisé par la superposition de deux boites, l'agent antagoniste en bas et l'agent pathogène en haut (figure 19).

La jonction entre les deux boites est assurée par des couches de parafilm afin d'éviter toute déperdition des substances volatiles. On expose ainsi l'isolat de l'agent antagoniste à l'influence des substances volatiles émises par la souche de l'agent pathogène.

Le témoin est formé par superposition des deux boites, celle du haut contenant une pastille de l'agent pathogène alors que celle du bas ne contient que le milieu PDA (Annexe 3). Les boites sont soumises pendant 7 jours à une température de $(26\pm 2^{\circ}\text{C})$.

Milieu PDA

F.graminearum

parafilm

Agent pathogène

Figure 19: Méthode de Confrontation indirecte entre l'agent pathogène et l'agent antagoniste sur milieu PDA (Hibar et al., 2005).

3.7- Evaluation de la croissance mycélienne de l'agent pathogène

La notation du diamètre moyen des colonies traitées est réalisée tous les jours pendant sept jours. L'évaluation de l'inhibition est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne selon la formule décrite par (Whipps, 1997) :

$$I(\%) = (1 - D_n/D_o) \times 100$$

I(%) : représente inhibition moyenne de la croissance mycélienne

D_n : le diamètre moyen du champignon pathogène

D_o : le diamètre moyen du champignon témoin

4- Résultats et discussions

L'objectif de cette étude consiste à isoler et identifier des souches antagonistes de celles pathogènes de l'orge.

4.1- Isolement et purifications de l'agent pathogène

L'isolement est réalisé à partir de deux échantillons ; feuilles et épi. Il a abouti à divers aspects, textures et couleurs de colonies. En effet, trois souches de moisissures ont été purifiées à partir de feuilles, tandis qu'une seule souche à partir d'épi. Aouar (2012) a fait un isolement à partir de feuille de l'orge, dont il a trouvé deux isolats du genre *Cladosporium* et *Drechslera*. Ainsi, Lauzon et al. (2007) ont isolés une seule souche à partir d'épi d'orge.

4.2- Identification de l'agent pathogène


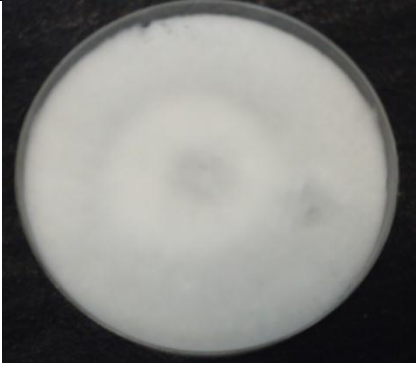
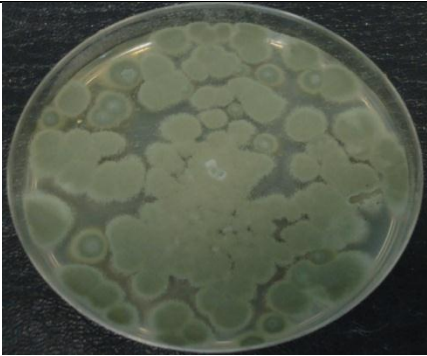
L'identification de ces souches étant basée essentiellement sur les clés de détermination des genres à savoir les caractères cultureux et la morphologie microscopique, établies par Botton *et al.* (1990), Messiaen *et al.* (1991) et Rémi *et al.* (1997).

➤ Feuilles

✓ identification macroscopique

Les caractères macroscopiques des différentes souches sélectionnées ont été étudiés sur Milieu PDA (Annexe 3) (tableau 3) résume l'aspect macroscopique des souches purifiées.

Tableau 3 : Identification macroscopique des souches purifiées des feuilles de l'orge.

| code d'isolats | Aspect macroscopique | |
|---|--|--|
| Feuille AG (Helminthosporiose) |  | Colonies duveteuses à poudreuses, de couleur vert, et une croissance rapide et la forme rond |
| Feuille CE (L'oïdium) |  | une croissance apicale très rapide de caractère envahissant, et qui peut monter jusqu'au couvercle de la boîte de Pétri, Le thalle a une texture laineuse et une couleur blanc |
| Feuille DE (Rayures réticulées) |  | le thalle est caractérisé par une croissance rapide d'aspect velouté, vert-bleu Le revers de la colonie est de couleur jaune à gris |

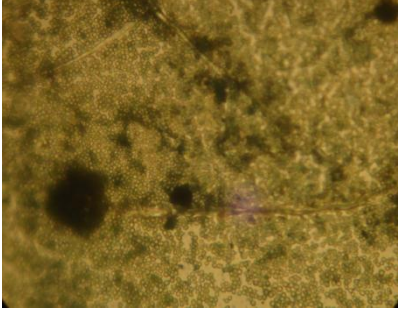


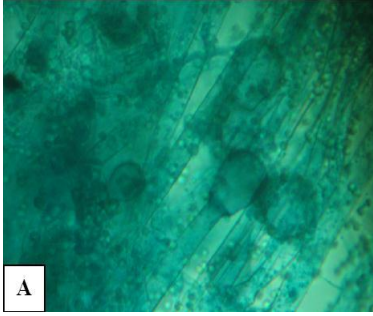

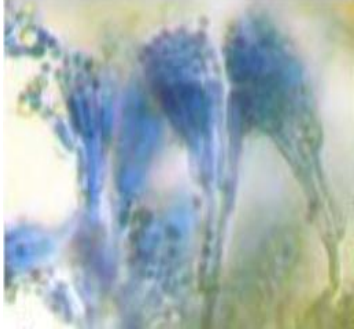
A fin de l'identification macroscopique on trouve trois souches fongiques différentes (divers aspects, texture et couleurs de colonies) à partir des feuilles malades.

✓ **identification microscopique**

L'étude microscopique (tableau 4) porte sur l'observation des structures caractéristiques des différentes souches étudiées.

Tableau 4 : identification microscopique des souches fongiques isolées des feuilles de l'orge (objectif x40).

| code | Aspect microscopique | Les caractères |
|------|----------------------|----------------|
|------|----------------------|----------------|

| d'isolats | | | |
|-----------|---|---|---|
| AG |  |  <p data-bbox="719 526 1013 562">Raper et Fennell, 1977</p> | <p data-bbox="1121 181 1447 600">Conidiophore est rugueux ,et Vésicule est globuleuse , et Phialides formées le plus souvent sur des métules, groupées sur les trois quarts supérieurs de la surface de la vésicule</p> |
| CE |  |  <p data-bbox="719 981 911 1016">Lamrani, 2009</p> | <p data-bbox="1121 622 1453 936">Le mycélium est siphonné. Les filaments sont hyalins L'hyphe porte à son extrémité le sporocyste qui renferme les endospores</p> |
| DE |  |  <p data-bbox="719 1435 847 1471">Pitt, 1985</p> | <p data-bbox="1121 1064 1453 1512">-le mycélium est septé conidiophore est septé et porte des phialides, Les conidies sont ellipsoïdales à sub-globuleuses, lisses, et forment de longues chaînes irrégulières</p> |

A partir des résultats macro et microscopique et leur caractères étudiés ont conclu le genre des trois isolats dont :

- Feuille AG : *Aspergillus flavus*
- Feuille CE : *Rhizomucor sp.*

- Feuille DE : *Penicillium sp.*

Donc ces souches sont responsables de l'infection des feuilles d'orge. Si on compare c'est résultats avec les symptômes des maladies trouvées pour chaque feuille, on trouve que ce n'est pas le même agent pathogène cité dans la littérature. En effet, l'agent pathogène responsable de la maladie d'Helminthosporiose c'est *Helminthosporium gramineum* (Augis et al., 2014), tandis que les responsables de L'oïdium et *Erysiphe graminis* (Difallah et al., 2009), Et la Rayures réticulées c'est *Pyrenophorateres* (Lacroix, 2008).

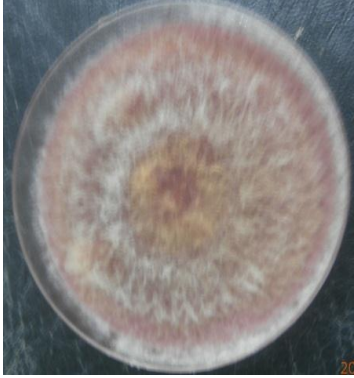
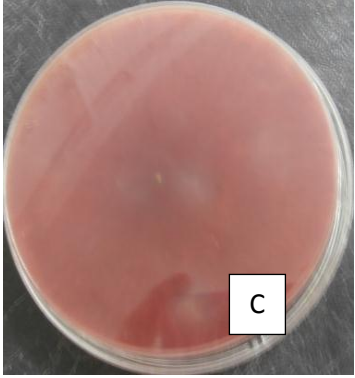
Nos résultats sont similaires avec ceux qui sont obtenu, par Aouar (2012), dont il a isolé le genre *Penicillium* à partir des racines de blé, les genres *Aspergillus* et *Fusarium* à partir des graines de blé. Cependant, il a trouvé le genre *Alternaria* à partir des feuilles de l'orge.

➤ **Epi**

✓ **Etude macroscopique**

Le résultat obtenu au bout de sept jours d'incubation à 28°C a relevé un développement de mycélium dominant et de couleur rose sur milieu PDA (Annexe 3) (tableau 5).

Tableau 5 : identification macroscopique de souche fongique de l'épi (objectif x40)

| Code de l'isolat | verso | Recto | Aspect macroscopique |
|------------------|---|--|--|
| C (fusariose) |  |  | Les colonies floconneuses, sont au début rose et après rouge à pourpres Le revers est rouge à pourpre |

✓ **Etude microscopique**

Selon ces boites et leur développement de mycélium, on a distingués les caractères suivant (tableau 6).

Tableau 6 : identification microscopique de souche fongique de l'épi (objectif x40).

| Code de l'isolat | Aspect microscopique | les caractères |
|------------------|----------------------|----------------|
| | | |

| | | | |
|--------------------|--|--|--|
| C |  |  | <p>Les macroconidies sont fusiformes, La cellule terminale est longue et pointue</p> |
| (Zillinsky, 1983) | | | |

Après l'étude des caractères macro et microscopiques, il a été trouvé que l'agent pathogène responsable de l'infection des épis de l'orge est le champignon phytopatogène du genre *Fusarium*, notamment le espèce *Fusarium graminearum*. Ce résultat est d'accord avec Lauzon et al. (2007) et INRA (2014). D'après, Usleber et al. (1996), les espèces les plus fréquentes dans l'orge et qui trouve dans le blé, sont en général, *F. graminearum*. Cette espèce est aujourd'hui majoritaire sur le blé et l'orge dans la plupart des pays européens et en Amérique du Nord (Parikka et al., 2012).

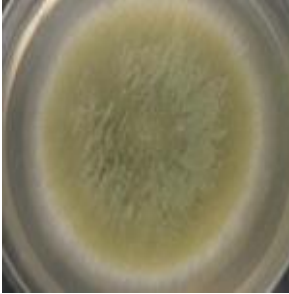
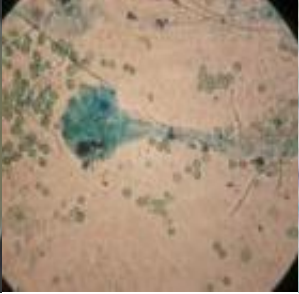


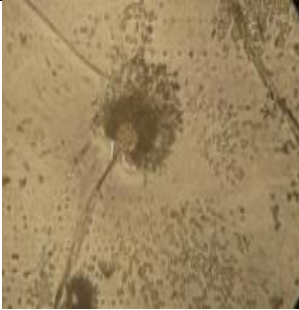
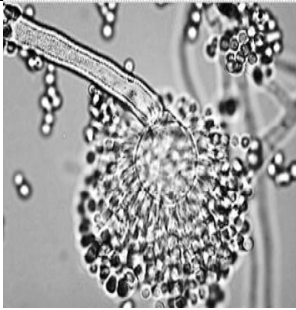
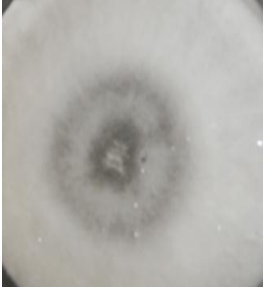

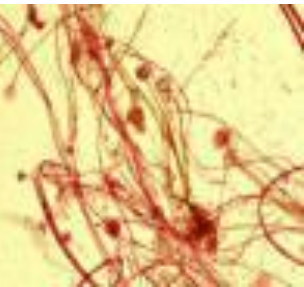
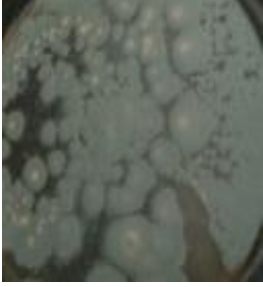

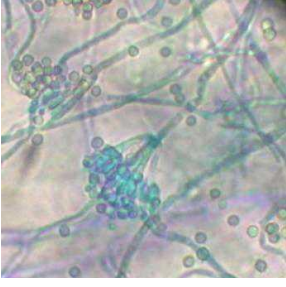
4.3- Isolement de l'agent antagoniste




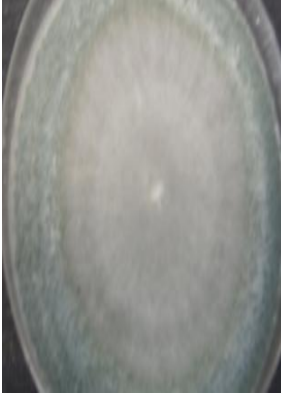
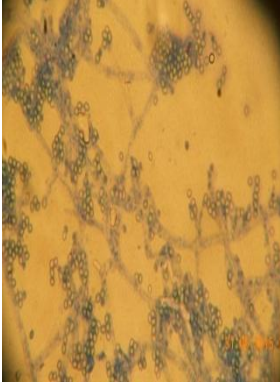


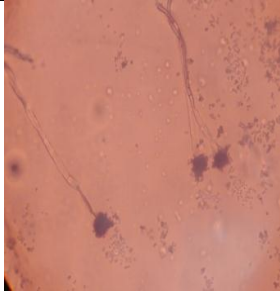
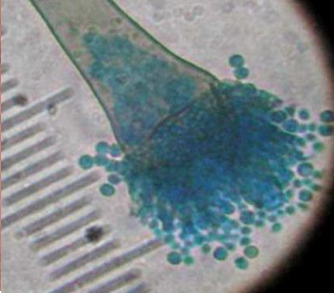
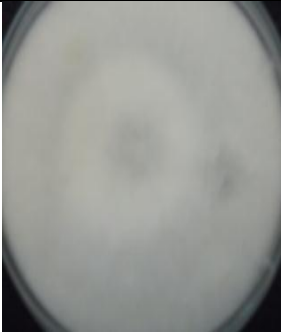
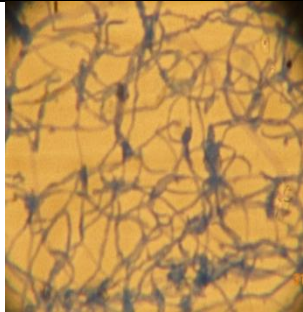

L'isolement et purification sont réalisés à partir du sol (Orge, Hamma bouziane) sur le milieu PDA (Annexe 3). Les colonies bien isolées ont été trouvées dans les dilutions allant de 10^{-2} à 10^{-5} . L'identification macroscopique et microscopique moisissures a mis en évidence 9 souches représentant 5 genres différents : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Absidia*, dont les *Aspergillus* sont le genre le plus dominant.

L'identification des genres fongiques (tableau 7) a été réalisée essentiellement selon les clefs de détermination de Botton (1990) ; Samson et al. (1981) ; Guiraud (1998) ainsi que celles de Collier et al. (1998).

Tableau 7 : les caractères macroscopique et microscopique des souches fongiques isolées du sol d'orge (Hamma bouziane) (objectif x40).

| La dilution | La Forme macroscopique | La Forme microscopique | La souche |
|-------------|------------------------|------------------------|-----------|
|-------------|------------------------|------------------------|-----------|

| | | | | |
|-----------------------------|---|---|--|-------------------------------------|
| <p>10^{-2}</p> |  |  |  | <p><i>Aspergillus fumigatus</i></p> |
| <p>10^{-2}</p> |  |  |  | <p><i>Aspergillus flavus</i></p> |
| |  |  |  | <p>Absidia</p> |
| |  |  |  | <p><i>Penicillium sp</i></p> |
| | | <p>Morin,. 1994</p> | | |
| | | <p>Pitt, 1973</p> | | |
| | | <p>(Anonyme 5)</p> | | |
| | | <p>Biourge (1923)</p> | | |

| | | | |
|-----------------------------|---|--|---|
| |  |   | <p><i>Aspergillus niger</i></p> <p>Saito (1906)</p> |
| <p>10^{-3}</p> |  |   | <p><i>Trichoderma sp</i></p> <p>Rifai (1969)</p> |
| |  |   | <p><i>Aspergillus fumigatus</i></p> <p>Fresen, 1863</p> |
| <p>10^{-4}</p> |  |   | <p>Mucor</p> |

Nos résultats sont en accord avec Hasenekoglu et Azaz (1991), qui ont isolé 127 souches à partir de 50 échantillons du sol. L'identification de ces isolats résulte à 12 espèces. Les plus riches genres en termes de nombre sont *Penicillium*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Acremonium*, *Cladosporium* et *Mortierella*.

Lucarotti (1981) qui a obtenu *Trichoderma*, *Penicillium*, *Mucor* et *Mortierella* dans le sol de la forêt brûlée, au Canada, déclare que ces genres ne montrent pas beaucoup de sensibilité aux exigences écologiques et à des conditions négatives.

4.4- Teste antagonisme :

4.4.1- Confrontation directe

La lutte biologique contre les souches fongiques, fait largement de test l'antagonisme. L'efficacité de la lutte dépend du choix de souche antagoniste performante à partir de critères impliquant une bonne croissance des particularités biologiques du matériel fongique utilisé.

➤ *Fusarium graminearum* et *Trichoderma sp.*

Le repiquage simultané de *Trichoderma sp.* et de l'isolat *Fusarium graminearum* a montré une croissance plus rapide de *Trichoderma sp.* que de l'isolat de *F. graminearum* (figure 20)

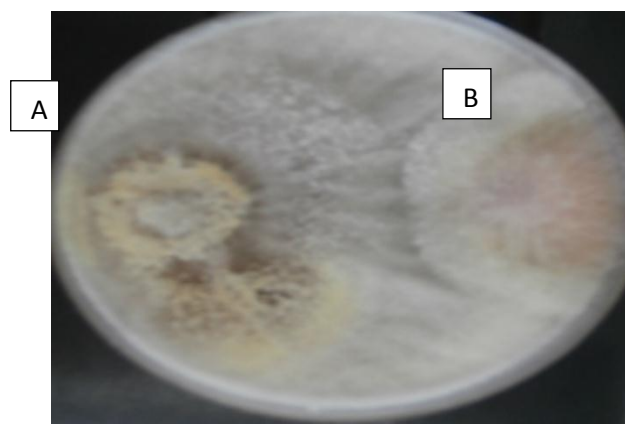


Figure 20 : Confrontation directe entre *Trichoderma sp.*(A) et *F. graminearum* (B)

Au bout de sept jour d'incubation, la boîte est totalement envahie par l'antagoniste, alors que le isolat de *Fusarium graminearum* n'occupent qu'une surface de 3 cm de diamètre (figure 21). Ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 57%. Le témoin *Fusarium graminearum* cultivé seul occupe une surface d'environ 7cm de diamètre

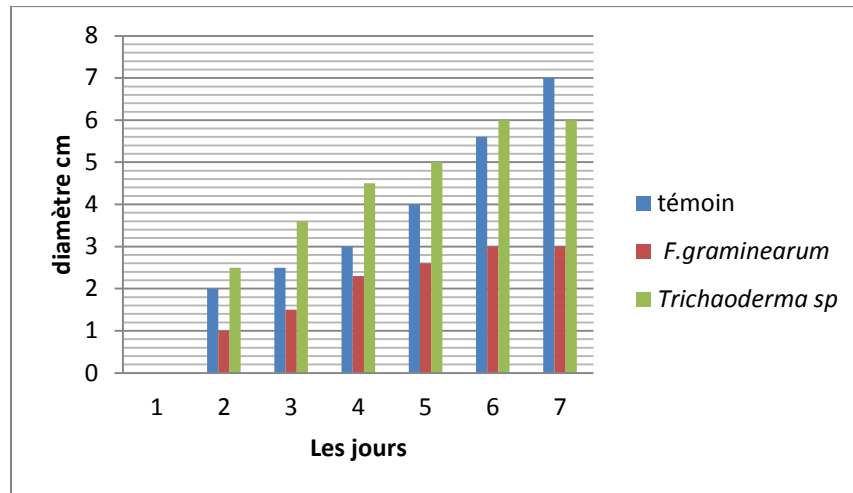


Figure 21: Inhibition de la croissance de *F.graminearum* en présence de *Trichoderma sp.*

Les résultats obtenus montrent que la croissance mycélienne des souches témoins est plus importante par rapport à celle obtenue en confrontation (Pathogène – Antagoniste). Après 7 jours d'incubation, une action inhibitrice exercée par *Trichoderma sp.* vis à vis de la croissance mycélienne de l'isolat de *Fusarium graminearum* a été observée. L'évaluation de l'inhibition exercée par *Trichoderma sp.* est estimée par le calcul du pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne qui est de 57.1% et qui confirme ces résultats.

➤ *Fusarium graminearum* et *Penicilium digitatum*

Le repiquage simultané de *Penicilium digitatum* et *Fusarium graminearum* a montré une croissance plus rapide de *P.digitatum* que le *F.graminearum* (figure 22).

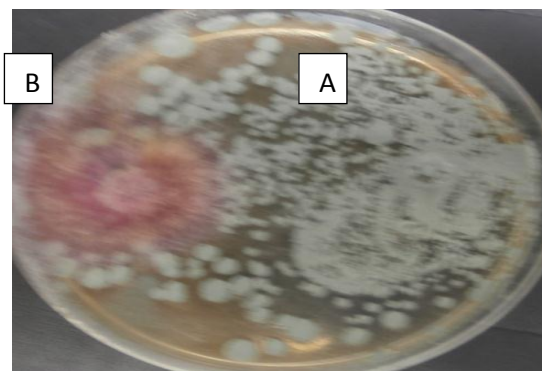


Figure 22 : Confrontation directe entre *P.digitatum* (A) et *F.graminearum* (B)

Au bout de sept jours d'incubation, la boîte est totalement envahie par l'antagoniste, qui est *Penicillium digitatum*, avec une vitesse de croissance remarquable. Alors que *Fusarium graminearum* n'occupe qu'une surface de 3.3 cm de diamètre (figure 23) avec un mycélium plus au moins aérien de couleur rose clair et un taux de croissance faible par rapport à l'antagoniste. Ce qui correspond à un pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 52 %. Le témoin du *Fusarium graminearum* cultivé seul occupe une surface d'environ 7cm de diamètre.

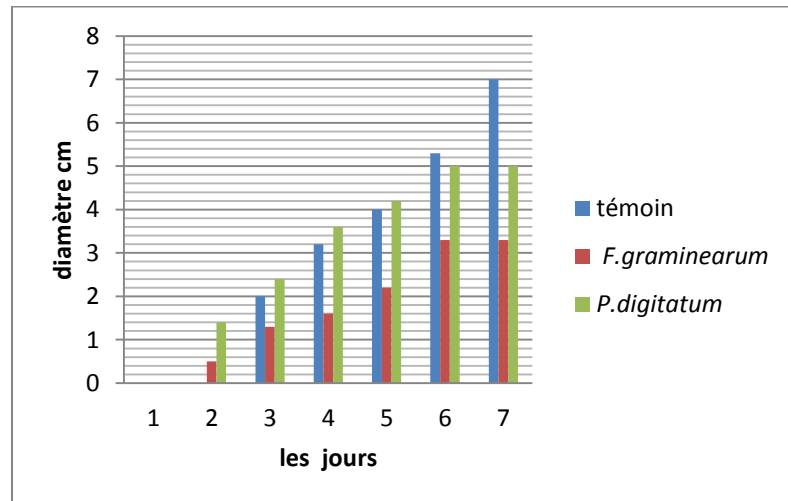


Figure 23: Inhibition de la croissance de *F.graminearum* en présence de *P.digitatum*

➤ *Fusarium graminearum* et *Mucor sp.*

Cette technique nous a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur en direct de *Mucor sp.* Exercé sur *Fusarium graminearum* et grâce à cette technique on a remarqué que la vitesse de croissance du *F.graminearum* est très grande par rapport à l'agent antagoniste (*Mucor sp.*) (figure 24).

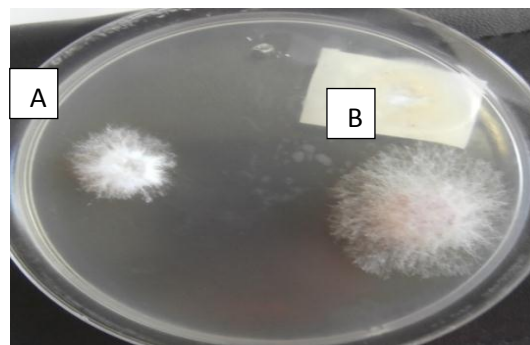


Figure 24 : Confrontation directe entre *Mucor sp.* (A) et *F.graminearum* (B)

Fusarium graminearum n'occupe qu'une surface de 3 cm de diamètre ; avec un mycélium de couleur blanc rose et un taux de croissance remarquable par rapport à l'antagoniste. Ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne à 57.1%.

Le témoin *Fusarium graminearum* cultivé seul occupe une surface d'environ 7 cm de diamètre, au bout de sept jours d'incubation. Donc à l'aide des résultats obtenus du témoin, on peut dire que *Fusarium graminearum* a une vitesse de croissance relativement importante, malgré la présence d'agent antagoniste (figure 25). De plus, il a été remarqué l'absence de contact directe entre les deux agents d'antagonismes, malgré qu'il ait une inhibition.

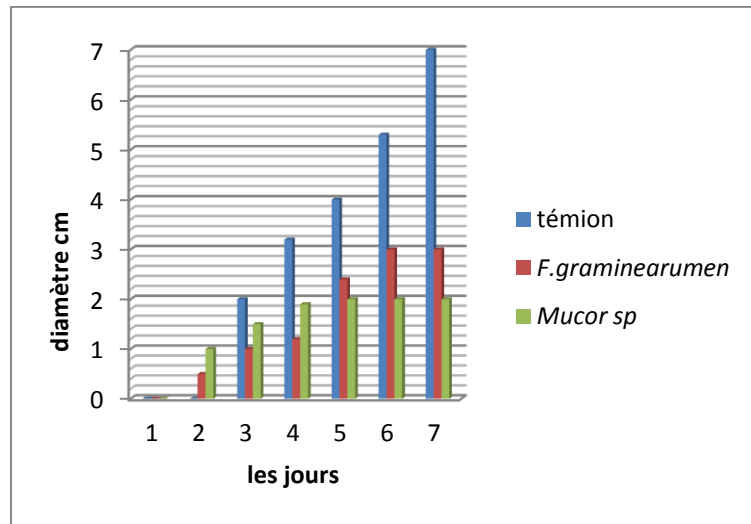


Figure 25: inhibition de la croissance de *F.graminearum* en présence de *Mucor sp.*

➤ *Fusarium graminearum* et Absidia

Le test de l'activité antagonisme d'*Absidia* contre *Fusarium graminearum* par contact directe sur milieu de culture, révèle un recouvrement d'isolat photogène par le mycélium de l'agent antagoniste sur toute la surface de la boîte de Petri avec l'existence de fructification de ce dernier sur l'isolat de *Fusarium graminearum*. on remarque que *Absidia* occupe plus de la moitié de la boîte (figure 26). La croissance mycélienne de *Fusarium graminearum* atteint environ 4 cm de diamètre (figure 27).

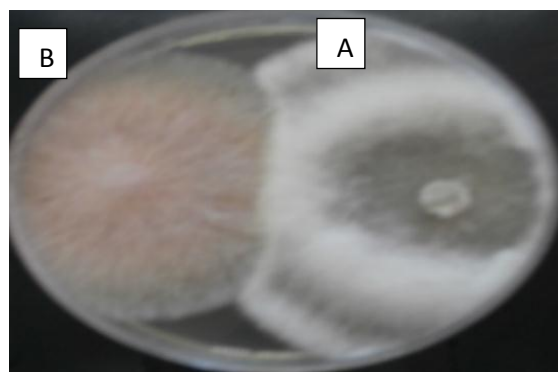


Figure 26 : confrontation directe entre *Absidia*(A) et *F.graminearum*(B).

Le témoin du *Fusarium graminearum* cultivé seul occupe une surface d'environ 7cm de diamètre. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de l'agent pathogène est supérieure à 42%.

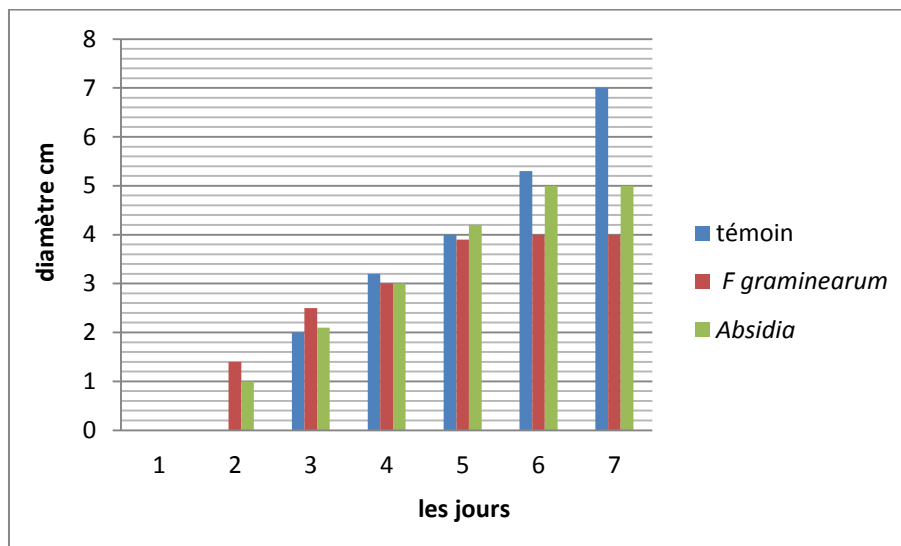


Figure 27: l'activité antagonisme d'*Absidia* contre *Fusarium graminearum*.

➤ *Fusarium graminearum* et les *Aspergillus*

Le test antagonisme de *Fusarium graminearum* contre *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus sp.* Il a été remarqué que la vitesse de croissance des *Aspergillus* est très grande par rapport à l'agent pathogène (figure 28).

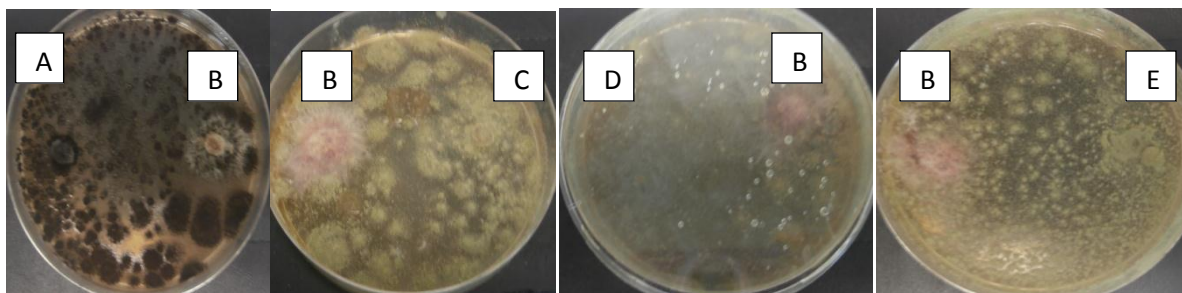
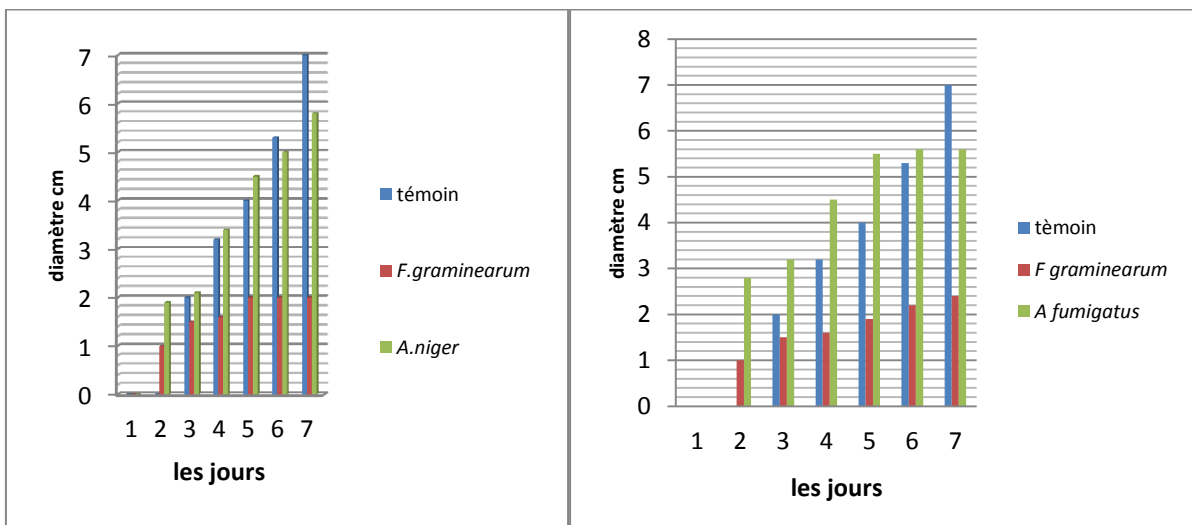


Figure 28 : Effet des *Aspergillus* sur la croissance mycélienne de *F. graminearum* (B) ; dont A (*A. niger*), C (*A. flavus*), D (*A. sp.*), E (*A. fumigatus*).

Taux de croissance de pathogène est faible par rapport à l'antagoniste, Ce qui correspond de mettre en évidence l'effet inhibiteur en direct de *Aspergillus* exercé sur *Fusarium graminearum* (figure 29). Le témoin du *Fusarium graminearum* cultivé seul occupe une surface d'environ 7 cm de diamètre aux bout de 7 jour d'incubation avec une culture sous forme de colonies plus au moins aérien de couleur rose clair. Chaque espèce de l'*Aspergillus* possède un pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de *F. graminearum* différent. En effet, les espèces plus efficace de genre *Aspergillus* qui attaque et réduit le développement de mycélium de *Fusarium graminearum* est *Aspergillus niger* avec un pourcentage d'inhibition 71.4%, puis *A. fumigatus* avec un pourcentage d'inhibition 60% suivie par *A. flavus* avec un pourcentage d'inhibition 54.2%, et en fin *Aspergillus sp.* avec un pourcentage d'inhibition 47.1%.

Pour ce genre de champignons, la chitine est un constituant essentiel de la paroi qui entoure et protège les cellules fongiques vis-à-vis de l'environnement. La paroi cellulaire est donc essentielle pour la croissance

fongique et pour la résistance du champignon aux agressions externes. Son altération liée à la virulence de l'inoculum par exemple, entraînerait une altération du mycélium, filament qui forme de longues chaînes de cellules qui se traduira par une agrégation, une rétraction et une vacuolisation du cytoplasme (Benhamou, 1996) ce qui illustre le pouvoir hautement myco-parasitaire que possède *Aspergillus niger*, Une importante lyse au niveau du mycélium (Daami-Remadi et El Mahjoub 2001) ou une dissolution du cytoplasme (Howell, 2003) pourrait également être la cause de l'inhibition de la croissance mycélienne de *Fusarium*.



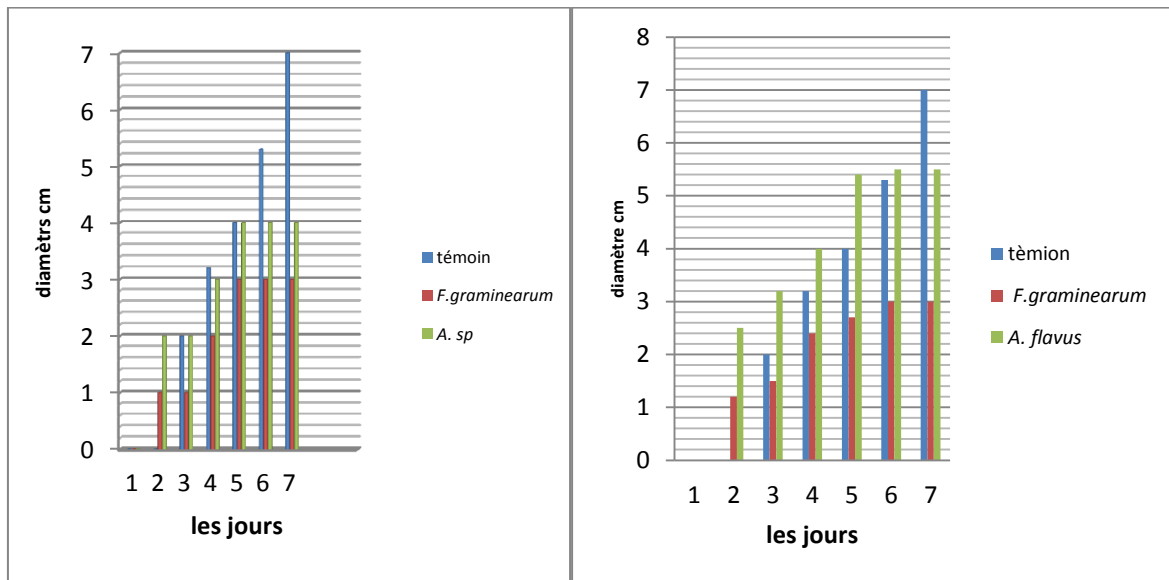


Figure 29: l'activité antagonisme d'Aspergillus contre *Fusarium graminearum*.

Conclusion

On conclut à partir de la méthode de confrontation directe entre l'agent pathogène (*Fusarium graminearum*) testés et les agentes antagonistes (*Trichoderma sp*, *P. digitatum*, *Mucor sp*, *Absidia*, *A. niger*, *A. flavus*, *A. sp*, *A. fimigatus*), que ces derniers ont pu inhiber la croissance mycélienne de l'agent pathogène, notamment pour *A. niger*.

4.4.2- confrontation indirecte

Cette technique nous a permis de mettre en évidence l'effet inhibiteur même à distance des agents antagonistes exercé sur *F. graminearum*; cet effet est évalué par la mesure des diamètres des colonies de ce dernier cultivé en présence et en absence de l'antagoniste.

Les résultats obtenus montrent une nette réduction du diamètre moyen des colonies de *F. graminearum* en présence de l'agent antagoniste par rapport au témoin non traité. Après sept jours d'incubation à 28 °C.

➤ *Fusarium graminearum* et *Trichoderma sp*.

Il e été remarqué que la vitesse de croissance du *Trichodermasp*. est grande par rapport à l'agent pathogène (*F. graminearum*) (figure 30) et vis à vis au témoin.

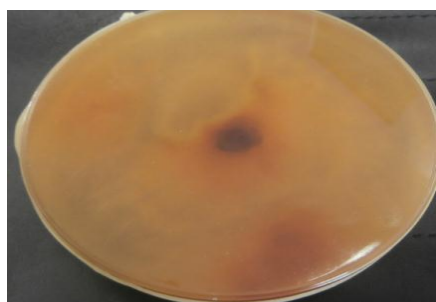


Figure 30 : confrontation indirecte entre l'agent pathogène (*F.graminearum*) et l'agent antagoniste (*Trichoderma sp.*)

L'inhibition de la croissance mycélienne du *F. graminearum* atteint de plus de 25% par rapport au témoin (figure 31) et ce après sept jours d'incubation à 28 °C.

Chérif et Benhamou (1990) ont signalé la présence d'altérations avec une perte cytoplasmique du mycélium de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* suite à l'action du *T. harzianum*, malgré l'absence de contact direct entre les deux champignons.

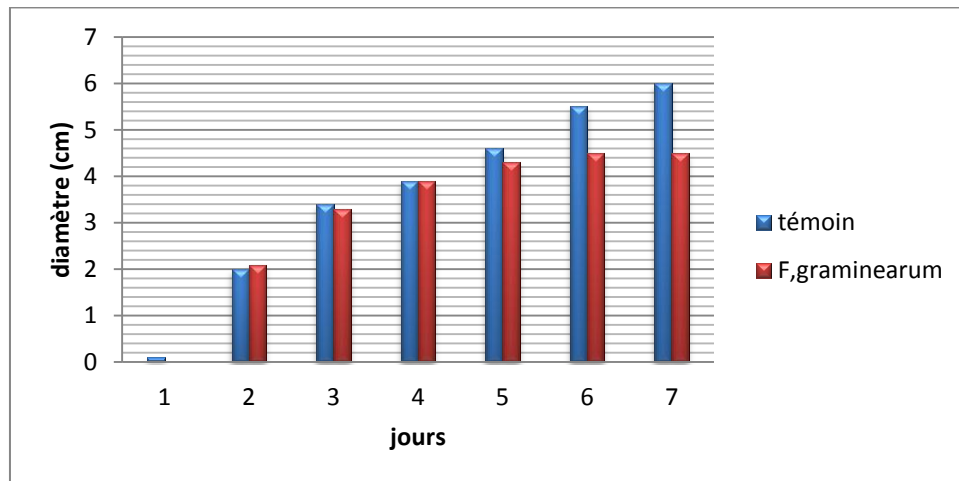


Figure 31: Effets inhibiteurs de *Trichoderma sp.* sur la croissance mycélienne (cm) de *Fusarium graminearum* comparativement au témoin non traité.

➤ *Fusarium graminearum* et *Penicillium digitatum*

On observe une réduction de la croissance de *Fusarium graminearum* par l'agent antagoniste *P. digitatum* (figure 32), comparé à celle du témoin après sept jours d'incubation à 28°C.

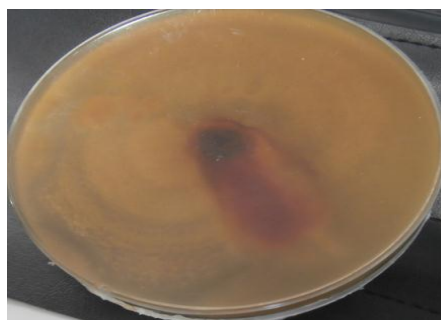


Figure 32 : confrontation indirecte entre l'agent pathogène (*F.graminearum*) et l'agent antagoniste (*P. digitatum*).

Après sept jours d'incubation, la boîte est totalement envahie par l'antagoniste (*P. digitatum*), avec une vitesse de croissance remarquable. Par contre *Fusarium graminearum* n'occupe qu'une surface de 3.9 cm de diamètre (figure 33) vis-à-vis à celle de témoin 6cm par un pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne supérieure à 36.6 %.

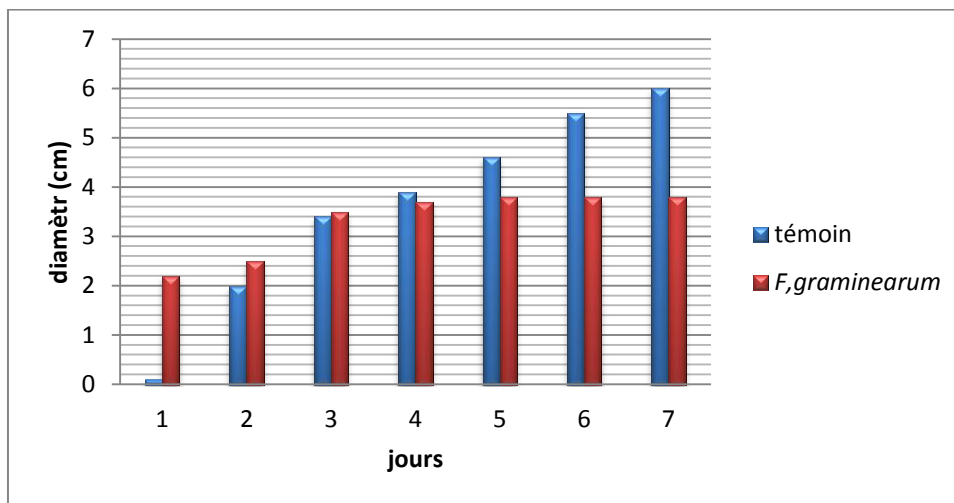


Figure 33: Effets inhibiteurs de *Penicillium digitatum* sur la croissance mycélienne (cm) de *Fusarium graminearum* comparativement au témoin non traité.

➤ *Fusarium graminearum* et *Mucor sp.*

Mucor sp. exercé un effet inhibiteur sur la croissance du *Fusariumgraminearum*.on a remarqué que la vitesse de croissance du *Mucor sp.* est grande par rapport à l'agent pathogène (figure 34)

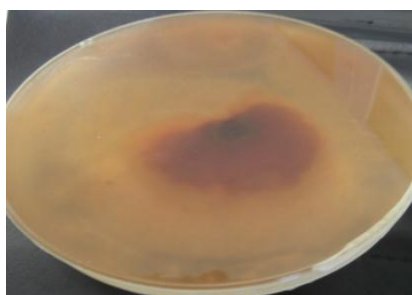


Figure 34: confrontation indirecte entre l'agent pathogène(*F.graminearum*) et l'agent antagoniste (*Mucor sp.*)

À l'aide des résultats obtenus au bout de sept jours, l'agent antagoniste occupe une surface de 8 cm de diamètre, avec une croissance mycélienne 7cm simultanée d'agent pathogène. Le témoin *Fusarium graminearum* cultivé seul occupe une surface d'environ 6 cm de diamètre (figure 35). Ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne à 15%.

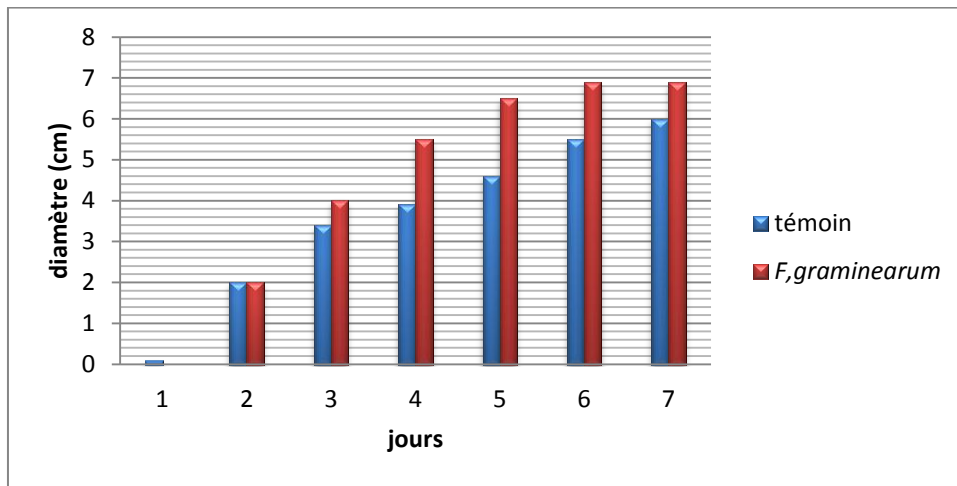


Figure 35: Effets inhibiteurs de *Mucor sp.* sur la croissance mycélienne (cm) de *Fusarium graminearum* comparativement au témoin non traité.

➤ *Fusarium graminearum* et Absidia

Dans ce test, l'Absidia inhibé la croissance mycélienne de *Fusarium graminearum* d'environ 4,6 cm de diamètre (figure 36) Vis-à-vis au témoin.

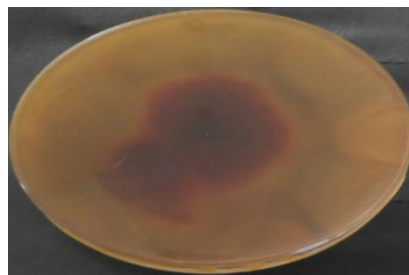


Figure 36: confrontation indirecte entre l'agent pathogène (*F.graminearum*) et l'agent antagoniste (Absidia).

Le témoin du *Fusarium graminearum* cultivé seul occupe une surface d'environ 6cm de diamètre. Le pourcentage d'inhibition de la croissance mycélienne de l'agent pathogène est d'environ 23.3% (figure 37).

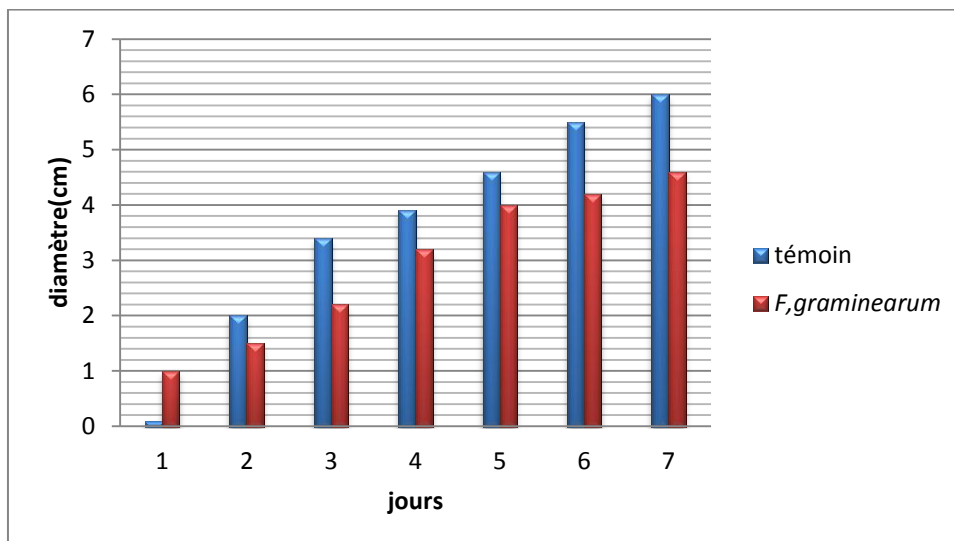


Figure 37: Effets inhibiteurs d’Absidia sur la croissance mycélienne (cm) de *Fusarium graminearum* comparativement au témoin non traité.

➤ *Fusarium graminearum* et *Aspergillus niger*

On a remarqué que la vitesse de croissance d’*Aspergillus niger* (occupe la boîte de petri) est très grande par rapport à l’agent pathogène (1 cm à partir de quatrième à septième jours) (figure 38).



Figure 38: confrontation indirecte entre l’agent pathogène (*F.graminearum*) et l’agent antagoniste (*A.niger*).

Dans le cas d’*A.niger* qui possède une vitesse de croissance plus importante que *Fusarium graminearum*, cette inhibition était bien marquée par comparativement au témoin (figure 39) Ce qui correspond à une inhibition remarquable de la croissance mycélienne jusqu’ à 83.33%.

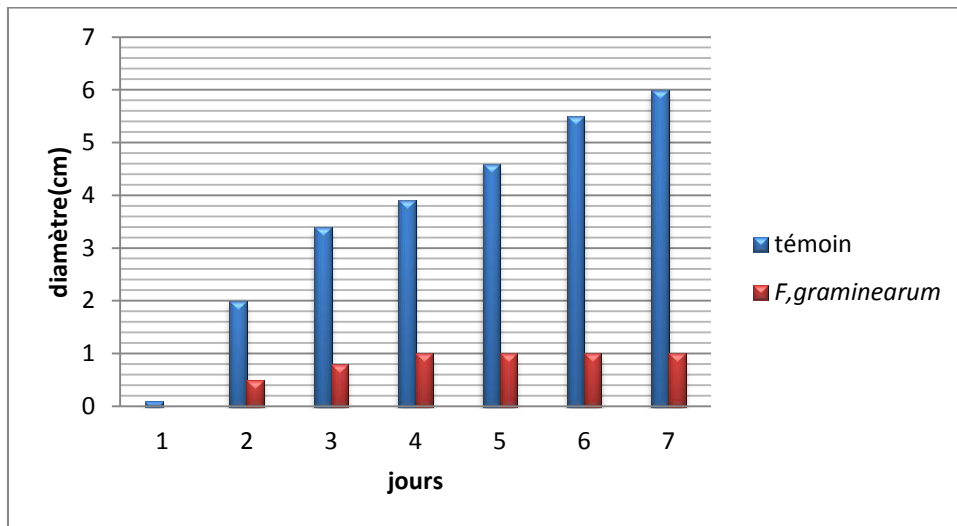


Figure 39: Effets inhibiteurs d'*A.niger* sur la croissance mycélienne (cm) de *Fusarium graminearum* comparativement au témoin non traité

➤ *Fusarium graminearum* et *Aspergillus flavus*

Par comparaison au témoin (6cm à fin septième jours), la vitesse de croissance de l'agent pathogène testé est très faible 2cm (figure 40). Par contre l'agent antagoniste *Aspergillus flavus* occupe tout la surface de la boite.

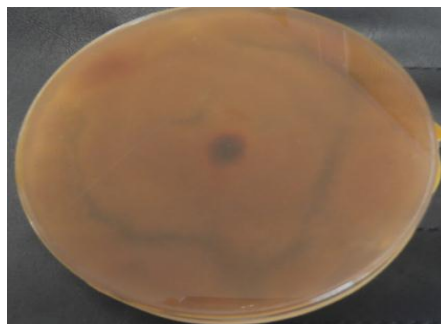


Figure 40: confrontation indirecte entre l'agent pathogène (*F.graminearum*) et l'agent antagoniste (*A.flavus*).

Une grande réduction du diamètre des colonies de *F. graminearum* est observée par rapport au témoin non traité (figure 41), avec une croissance rapide de colonie d'*A.flavus* .cette réduction est traduite par le diamètre moyen d'inhibition de la croissance mycélienne 66.66%.

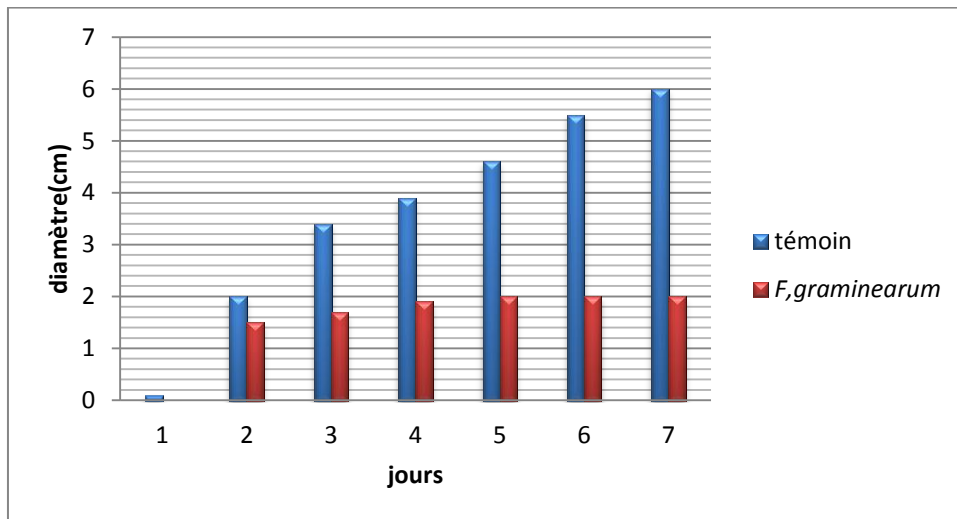


Figure 41: Effets inhibiteurs d'*A.flavus* sur la croissance mycélienne (cm) de *Fusarium graminearum*, comparativement au témoin non traité.

➤ *Fusarium graminearum* et *Aspergillus sp.*

Au bout de quatre jours d'incubation. La boîte est envahie par *A.sp.* Alors que la colonie de *Fusarium graminearum* n'occupe qu'une petite surface (4.1cm) (figure 42). Ce qui correspond à une inhibition de la croissance mycélienne 30% (figure 43).

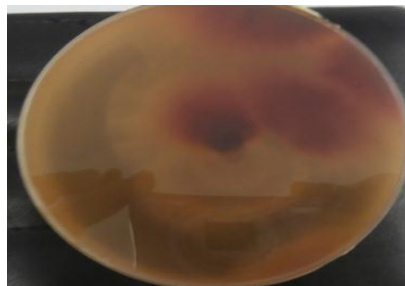


Figure 42: confrontation indirecte entre l'agent pathogène (*F.graminearum*) et l'agent antagoniste (*A.sp.*)

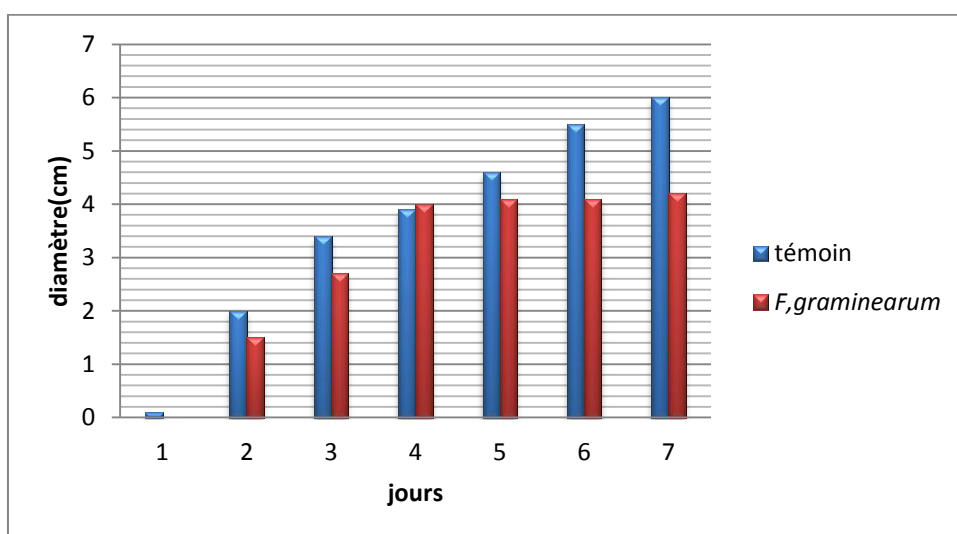


Figure 43: Effets inhibiteurs d'*Aspergillus sp.* sur la croissance mycélienne (cm) de *Fusarium graminearum* comparativement au témoin non traité.

➤ *Fusarium graminearum* et *Aspergillus fimigatus*

La vitesse de croissance de l'agent pathogène testé est très faible 3cm (figure 44). Par contre l'agent antagoniste *Aspergillus fimigatus* occupe tout la surface de la boîte.

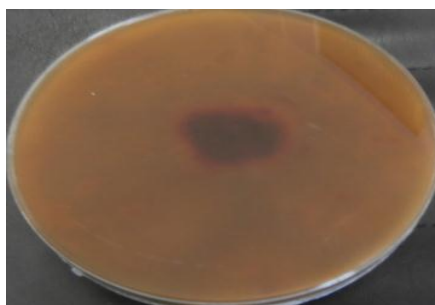


Figure 44: confrontation indirecte entre l'agent pathogène (*F.graminearum*) et l'agent antagoniste (*A.sp.*).

Aspergillus fimigatus attaque et réduit le développement de mycélium de *Fusarium graminearum* avec un pourcentage d'inhibition 50% (figure 45).

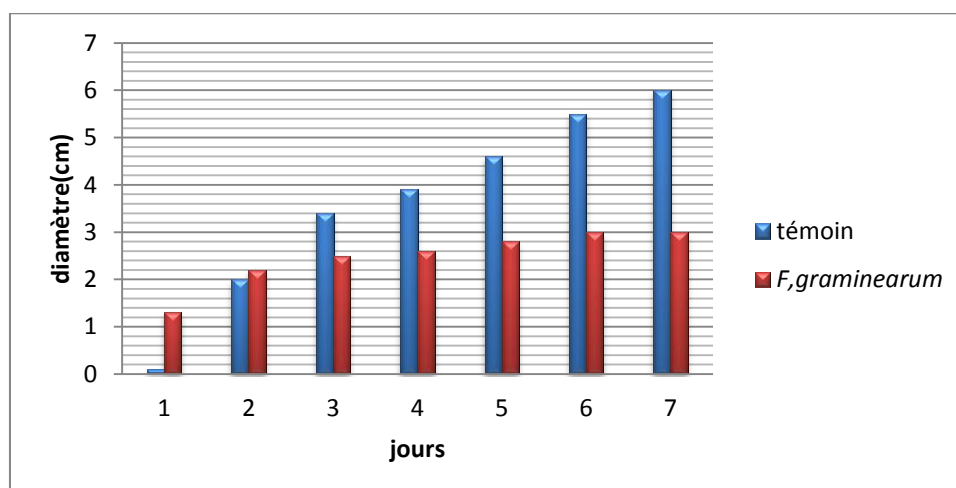


Figure 45: effet inhibiteur d'*A. fimigatus* sur la croissance mycélienne (cm) de *Fusarium graminearum* comparativement au témoin non traité.


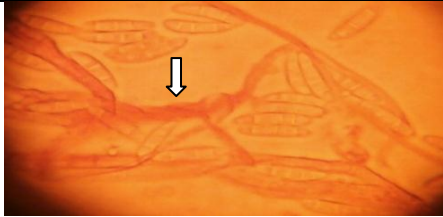



Conclusion

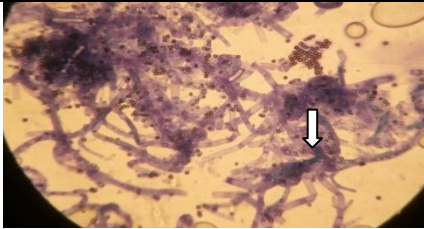
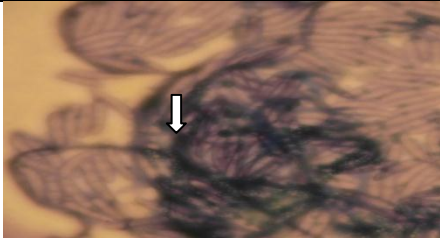
Malgré l'absence d'un contact direct entre l'agent pathogène (*Fusarium graminearum*) testés et les agents antagonistes (*Trichodarmasp*, *P.digitalatum*, *Mucor sp*, *Absidia*, *A.niger*, *A.flavus*, *A.sp*, *A.fimigatus*). Ce dernier a pu exercer une activité inhibitrice sur le développement des colonies de *F. graminearum*. Ceci s'expliquerait par l'aptitude des agents antagonistes à produire des substances volatiles qui provoqueraient la lyse du mycélium et des spores du pathogène et sont capables de limiter et même de stopper le développement de l'agent pathogène.

4.5- Observation microscopique de la zone contacte entre les agents antagonisme et les agents pathogènes

Des observations microscopiques réalisées au niveau de la zone de contact entre les agents antagonistes et l'agent pathogène (*F.graminearum*) montrent une modification profonde au niveau du mycélium du pathogène se marquant par une lyse importante, une transformation en cordons des filaments mycéliens et un enroulement du mycélium d'antagoniste sur celui du *F. graminearum* (tableau 8).

Tableau 8 : Observation microscopique d'enroulement du mycélium de l'agent antagoniste sur celui du *F. graminearum* (objectif x40)

| Les espèces | la zone contacte entre l'agent antagonisme et l'agent pathogène |
|------------------------|--|
| <i>Trichoderma sp.</i> |  |
| <i>Penicillium</i> |  |
| <i>A. flavus</i> |  |
| <i>A. fumigatus</i> |  |
| Absidia |  |

| | |
|---------------------|--|
| <i>A. niger</i> |  |
| <i>A. fumigatus</i> |  |

Dans le même sens, Benhamou et Chet (1996) ont signalé une altération du mycélium de *Sclerotiniumrolfsii* causée par *T. harzianum*, se traduisant par une agrégation, une rétraction et une vacuolisation du cytoplasme qui illustre bien le pouvoir hautement myco-parasitaire que possède *T. harzianum*. L'isolat de *T. harzianum* a été testé par Daami-Remadi (2001) sur *F. solani* var *coerulum*, *F. roseum* var *sambucinum* et *F. roseum* var. *graminearum*, responsables des pourritures sèches sur tubercules de pomme de terre envers lesquels ils induisent également une lyse importante au niveau du mycélium de ces pathogènes.

5- Conclusion générale et perspectives

Le travail présenté de cette étude porte sur l'isolement et l'identification des souches phytopathogènes fongiques à partir des feuilles et grains d'épi de l'orge. Ainsi d'isoler des souches fongiques antagonistes à partir du sol d'orge.

Les résultats de l'examen macroscopique et microscopique des moisissures du sol ont mis en évidence 9 souches fongiques représentant 5 genres différents, qui sont : *Trichoderma sp.*, *Penicillium digitatum*, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*, *Aspergillus sp.*, *Absidia*, *Mucor sp.*

Le résultat de l'examen macroscopique et microscopique de champignon pathogène (suivant la littérature) a mis en évidence de l'espèce *Fusarium graminearum* dans les gains de l'épi de l'orge, qui est responsable de la maladie fusariose.

Les tests de confrontations que ce soit directe ou à distance, ont révélé un effet fongistatique sur la croissance du pathogène. Dans le cas du contact direct entre agent antagonisme du sol et le pathogène (*Fusarium graminearum*), ce premier envahit les colonies du parasite qui met en œuvre une modification profonde au niveau du mycélium du pathogène, une transformation en cordons des filaments mycéliens et un enroulement du mycélium du agent antagoniste sur le mycélium de *F. graminearum*. De même l'antagonisme du sol par confrontation indirecte a permis de mettre en évidence un ralentissement de la croissance mycélienne de *Fusarium graminearum* exercé sous l'effet des substances volatiles émises par l'antagoniste.

A l'instar de ces résultats, nous pensons qu'*Aspergillus niger* possède une aptitude plus efficace pour éliminer la croissance de *Fusarium graminearum* avec un pourcentage d'inhibition 71.4% (directe) et 83.3 (indirecte). Il peut donc avoir des intérêts pratiques en lutte biologique contre la fusariose.

Il nous reste dans la prochaine future de faire :

- Identification moléculaire de la souche pathogène et *A. niger* ;
- Une fermentation d'*A. niger* dans un milieu liquide ;
- Une extraction des métabolites secondaires ;
- Identification des molécules extraites par CCM, HPLC, etc.

Résumé

L'orge se considère comme la deuxième céréale cultivée après le blé, en Algérie. Dans cette étude l'isolement a été effectué à partir des feuilles et épi malade de l'orge sur des milieux MEA et PDA.

La confrontation directe (culture des espèces dans une même boîte de Pétri contenant le milieu PDA) et la confrontation à distance par action de substances volatiles (culture des souches dans 2 boîtes distinctes, superposées et scellées), ont été expérimentées. La croissance et la sporulation de *Botrytis* sp. ont été quantifiées par le calcul des moyennes des mesures du diamètre des colonies et celui des moyennes de comptage des spores, respectivement. Nos résultats ont montré une baisse du diamètre de croissance et du nombre de spores des espèces pathogènes, comparativement aux témoins. Par ailleurs, au 5ème jour de culture, la colonie de l'antagoniste *Trichoderma* sp. a rapidement augmenté de taille et son mycélium a franchement envahi la colonie de *Botrytis*. Ainsi, l'action antagoniste de *Trichoderma* sp. vis à vis des espèces pathogènes, *B.fabae* et *B.cinerea* est démontrée *in vitro*. Il serait intéressant et utile d'en déceler les mécanismes d'action et de l'expérimenter *in vivo* afin de passer à sa large application et sauver les récoltes menacées.

Les confrontations soit directe ou indirecte, sur milieu de culture, entre *F.graminearum* et les champignons des genres *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Absidia*, *Mucor* ont révélé que ces derniers sont pu inhiber la croissance mycélienne du *F.graminearum* après sept jours d'incubation à 28 °C, avec une vitesse importante et un taux d'inhibition élevé.

Mots-clés : maladie de l'orge, *Fusarium gra*, lutte biologique, test d'antagonisme.

Summary

In Algeria, the barley is considered as the second cereal crop after wheat. The aim of this study is to isolate the phytopathogenic fungi of sick leaves and ear of barley. The plants were harvested from the field barley at Hamma bouziane, Constantine. The isolation and the purification of isolates were established on MEA and PDA media. Three isolates of leaves were identified as *Aspergillus flavus*, *Rhizomucor sp.* and *Penicillium sp.*, while a one isolate was identified as *Fusarium graminearum*. In many review, it has been selected as pathogenic strain for further work.

The isolation of the pathogen was carried out (in the same previous conditions) from the soil of the same field. The macroscopic and microscopic identification showed 9 strains representing 5 different genera : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Absidia*, *Aspergillus* which are the most dominant genera.

Direct confrontation (cultivation of species in the same Petri dish containing PDA medium) and confrontation in distance by action of volatile substances (cultivation of strains in two separate boxes, stacked), were tested. The pourcentage of growth inhibition of *Fusarium graminearum* was quantified. The results showed a decrease of growth diameter in the pathogenic strain, compared to controls. Further more, the 7th day of culture, the colony of *Aspergillus niger* antagonist increased rapidly in the size and its mycelium invaded *Fusarium graminearum* colony. The percentage inhibition of this pathogenic strain reached 71.4%, by direct confrontation, also, 83.33% indirect confrontation with *A.niger*. From these results, it would be interesting and useful to identify mechanisms of action and *in vivo* experiment to move to its wide application and save endangered crops.

Keywords: antagonism test, biological control, disease of barley, *Fusarium graminearum*,.

ملخص

يعتبر الشعير ثاني المحاصيل الزراعية بعد القمح في الجزائر. وتهدف هذه الدراسة إلى عزل الفطريات من خلال الأوراق و السنبلة المريضة. النباتات تم انتقاؤها من حقل الشعير المتواجد بحامة بوزيان، قسنطينة. أنشئت عزل وتنقية العزلات في البيئات الوسطية MEA وPDA. وقد تم تحديد ثلاث عزلات من الأوراق مثل *Aspergillus flavus*, *Rhizomucor*, و *Penicillium sp* ، في حين تم تحديد عزلة واحدة من سنبلة الشعير *Fusarium graninearum* ، وقد تم اختيار هذا الأخير على أنها السلالة الممرضة لمواصلة العمل. عزل العامل الممرض تم تحديده (في نفس الظروف السابقة) من تربة نفس الحقل السابق، الملاحظة العينية والمجهرية أظهرت بوضوح 9 سلالات تمثل 5 أجناس مختلفة، *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Absidia*, التي يعتبر فيها الـ *Aspergillus* هو النوع المهيمن.

المواجهة المباشرة (زرع الأنواع في نفس طبق بتري يحتوي على الوسط PDA) والمواجهة عن بعد عن طريق العمل من المواد الطيارة (زراعة السلالات في علبتين منفصلين، مكدسة) تم اختبارها. وقد تم تحديد النسبة المئوية لتثبيط نمو *Fusarium graninearum*. أظهرت النتائج انخفاضاً في قطر نمو العامل المسبب للأمراض، مقارنة بالشاهد. وعلاوة على ذلك، في اليوم 7 من الزرع، المستعمرة العذوة (*Aspergillus niger*) في زيادة سريعة في الحجم حيث تقوم بإحتواء المستعمرة *Fusarium graninearum*. تثبيط نسبة هذه السلالة الممرضة يفوق 71.4% من خلال المواجهة المباشرة، وكذلك 83.33% من خلال المواجهة غير المباشرة مع *A.niger*. من هذه النتائج، سيكون من المثير للاهتمام ومفيدة لتحديد آليات العمل والتجربة في الجسم الحي للانتقال إلى تطبيق على نطاق واسع وحفظ المحاصيل المهددة بالانقراض.

كلمات البحث: مرض الشعير، *Fusarium graninearum*، المكافحة البيولوجية، اختبار العداء.

Références bibliographiques

- Anonyme 1 : site scientifique http://eap.mcgill.ca/CPC_11_F.htm
- Anonyme 2 : site http://fr.wikipedia.org/wiki/Gibberella_avenacea
- Anonyme 3 : Amélioration des céréales pour la tolérance à la sécheresse et la résistance aux maladies, Cas de l'orge : Sélection de nouvelles lignées d'orge résistantes à l'helminthosporiose ; Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA)
- Anonyme 4. (2015) : site <http://www.natural-mystic.fr/conseils-culture/871-les-maladies-cryptogamique.html>
- Anonyme 5 : <http://www.doctorfungus.org/thefungi/absidia.htm>
- Anonyme .(1997). Directive sur la bonne pratique phytosanitaire Bulletin OEPP. N° 24 : p.233-240.
- Anonyme.(2001).Dynamique de propagation de la rhynchosporiose ,orge. The chimicalcompagny.
- Anonyme,(2002) . Extrait du Guide agronomique des grandes cultures.Ontario Canada.
- Anonyme 4.(2014).conseille de culture:les maladie cryptogamique.en ligne). consulté le 20.04.2014..adresse URL<http://www.natural-mystic.fr/conseils-culture/871-les-maladies-cryptogamique.html>
- Bafs.O.(2008).Dynamique de propagation de la rhynchosporiose, the chimicalcompany october2008.p3-4.
- Benbrook C.M., Groth E., Halloran J.M., Hansen M.K. and Marquardt S. (1996). Pest management at the crossroads, Consumers Union, Yonkers. 272.
- Benhamou N. and Chet.L. (1996). Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum* ultrastructural and cytochemical aspects of the interaction. *Phytopathology* 86, p. 405-416.
- Botton B.Breton, A.,Fevre ,M.,Gauthir S.,Guy P.H. Larpent J.P. Reymond P.Sanglier J.J.,Vayssier Y , Veau P .(1990). Moissisures utiles et nuisible importance industrielle.2^{ème} édition .maosson collection biotechnologies . p.34-42.
- Bouakaz K et Oussaid Y. (2013). Reconnaissance et identification des principales maladies cryptogamiques du blé et de l'orge. institut national de la protection des végétaux. ISBN : 978-9961-9523-1-3. P.8.19.23.26.25.27.
- Boukhris L. (1992). Identification des bactéries phytopathogènes transmissibles par la semence du blé en algérie. Mémoire Ing. Agro. Département de botanique, INA El harrach, 73 p.

- Brouillard C.(2013).les maladies cryptogamiques et caractéristiques.(en ligne).P consulté le 31.05.2014 . adresse URL <http://www.rustica.fr/articale-jardin/maladies-et-parasites/maladies-cryptogamique-definition-et-caracteristiques>, 4104. Html
- Burny ph.(2010).livre blanc céréales ULg Gembloux agro-bio tech et CRA-W Gembloux.
- Cahagnier B , Richard-Molard D.(1998). Analyses mycologiques les moisissures des aliments peu hydratés. Coordonnateur CAHAGNIER B., tec et doc . paris .p.152.
- Chabasse, D.(2002). Les moisissures d'intérêt médical. Cahier N°25 de formation de biologie médicale, pp. 25-27.
- champion R , Ray NaIG .(1993). LA carie commune du blé : une revenante.phytona. la défense des végétaux .N450.P.12-20 .
- Chérif M., Benhamou N. (1990). Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusariumoxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. *Phytopathology***80**, p. 1406–1414.
- Cook R.J.(1993). Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31,p. 53–80.
- Corbaz R.(1990). Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. *Presse polytechniques et universitaires romandes*.d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes. Canada, pp56.
- Clement-grandcourt et Prat.(1970) .Les céréales. Collection d'enseignement agricole. 2^{ème} édition. PP.351-360.
- Daami-Remadi, M. el Mahjoub. (2001).Lutte biologique contre la pourriture aqueuse des tubercules de pomme de terre par *Trichoderma harzianum*. Ann. L'INRAT 74,p.167-186.
- Dehimat L .(2011). Contribution a l'étude des maladies foliaires des cereales"approche a l'étude Epi demologique et identification de la jaunisse nanisante de l'orge dans les cereales d'hiver dans les regions de l'est d'Algérie", IINRAA .2, rue des frères Ouaddek. El Harrach . Alger – Algérie. N°33 Juin (2011)
- **Difallah Salim, Rezekallah Fatima et Abbou Assi .(2001).Etude bibliographique de la génétique de la résistance à *drechslerateres*, Le diplôme des études supérieures en biologie (DES) P.6.**

- Difallah.S. (2009). Etudes bibliographique de la génétique de résistance à *drechslerateres*, Université Mohamed Boudiaf de M'sila Algérie. memoire.p.6-7.
- Djessas R et Laouir L, .(2004). « Qualité de l'air et impact sanitaire lié à l'exposition aux métaux lourds au voisinage de la cimenterie de Hamma Bouziane », Mémoire de fin d'étude en écologie et environnement, Université Mentouri Constantine.
- Emmert E.A.B. et Handelsman J, .(1999). Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS. Microbiol. Lett.* P.171, 1-9.
- Ezzahiri B.,(2011) ;production du blé,la septoriose potentiellement dommageable cette année .bulletion de l'agriculture dy maghreb N49.*Fusarium spp. Phytopathology* 89:1152–1161. 1999.
- GNIS, SD a - Identification des variétés d'orge. ASFIS et GNIS. Paris. 56p.
- Guide agronomique des grandes cultures, publication 811F, MAAARO, p.48-49.
- Guiraud J.P.(1998). .microbiologie alimentaire. Dunod, paris : p.310-321. *OEPP/EPPO Bull.* 31 : p.505–507.
- Harrat w,(2009) .effet in vivo et in vitro des éléments fertilisation N et K sur la résistance de blé à la septoriose et à la tache bronzée (tan spot) .mémoire de magister. ENSA.El Harrach –Alger.110p
- Hasenekoglu I ,Sùlùn Y.(1991).Erzurum Askale çimento fabrikasinin kiriiettigi toprakiarin mikrofungus florasi ùzerine bir arastirma.
- Hosford Jr et Morrall R.A.A. (1976) .the eoidemiology of leaf spot disease in a native prairie ; the progression of disease with time .can.J.Bot .53,pp :1040-1050.
- Howell CR. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87, p.4–10.
- INRA, .(2014). Céréales à pailles.Note commune Résistances aux fongicides, .p.3-7.
- Ioos R., Belhadj A., Menez M. « Occurrence and distribution of *Microdochium nivale* and *Fusarium* species isolated from barley, durum and soft wheat grains in France from 2000 to 2002 ». *Mycopathologia.* 2004. Vol. 158, n°3, p. 351-362.

- Khadija lamrani ; .(2009). Etude de la biodiversité des moisissures nuisibles et utiles isolées à partir des Maâsra du Maroc. Rabat .thèse de doctorat d'état. N° d'ordre : 2461.p94.
- Khaled Hibar, Mejda Daami-Remadi, HaifaKhiar eddine etMohamed El Mahjoub,.(2005) .
«Effet inhibiteur *in vitro* et *in vivo* du *Trichodermaharzianum* sur *Fusariumoxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*», *Base* [En ligne], volume 9, numéro 3, 163-171 URL : <http://popups.ulg.ac.be/1780-4507/index.php?id=1442>.
- Lacroix. M.,(2008).Maladies des céréales et de la luzerne, agronome-phytopathologiste.
- Lamara M.(2002).contribution à l'étude des maladies des céréales ,étude d'identification morphologique de la maladie de la tache bronzée causée par pyrenophora tritici-repentis et tentative de caractérisation biochimique (electrophorèse-chromatographie.CCM).mémoire d'ingénieur.ISN.univ.constantine .59p .
- Lauzon M .(2007). Fusariose de l'épi chez le blé et l'orge.cérom.CanadaNo2.01.p5.
- LCPE, (1999).Résumé de l'évaluation des risques effectuée conformément au Règlement sur les renseignements concernant les substances nouvelles (organismes), [RRSN(O)] de la Loi canadienne sur la protection de l'environnement, DSN 16243 :
- Lucarotti C.,(1981).the effect of fire and forest regeneration on mesofauna population and microfungalspecies in ichens .McGill Subarctic Reasearch paper 32 ;7-26.
- Mechara R.Eet Acila S, ,(1999) .Etude de l'efficacité de quelque fongicides sur la carie du blé (*Tilletia caries*). Mémoire d'ingénieur .IST.univ.Tebessa .70p.
- Messiaen C.M., Blancard D., Rouxel F. and Lafon R. (1991). Les maladies des plantes maraîchères. INRAA, Paris.
- Parikka P., Hakala K., Tiilikkala K. (2012). « Expected shifts in *Fusarium*species' composition on cereal grain in Northern Europe due to climatic change ». *Food Additives & Contaminants: Part A*.p. 1-13.
- Pierre Jean.,(2001) .la revue de la filière Orge-Malt-Bière livret « Orge, céréale de tradition »
adresse URL www.universcereales.com
- Pitt J. I.(1973).An appraisal of identification methods for *Penicillium* species. Noveltaxonomic

criteria based on temperature and water relations. *Mycology* 65: 1135-1157.

- Pitt J. I. (1985). The genus *Penicillium*. Edition: Academic Press. 634p.
- Prescott, Harley, Klein. (1995). *Microbiologie*. 2th ed. Dobroëck-wesmael. Bruxelles.
- Ramirez C. (1982). Manual and atlas of the *Penicillium*. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam: 231-236.
- Raper K. B. et Fennel D. I. (1977). The Genus *Aspergillus*. Krieger Malabar, Florida, 686p.
- Rapilly F. (1968). les techniques de mycologie en pathologie végétale. *Ann épiphyt* 19, (n°HS)
- Rapilly F., Lemaire J.M et Cassini R. (1971). les principales maladies cryptogamiques des céréales. Eds. I.N.R.A Paris 310p
- Rasmusson D.C. (1987). Barley crop. An SSA/ASA Monograph series number 56. Madison, Eds ASA. 250p.
- Heller R. (1982). *Physiologie végétale*. Tome 2. Développement. Ed. Masson, Paris, 215 pp.
- Bouzerzour H. et Monneveux Ph. (1990). Analyse des facteurs de stabilité du rendement de l'orge dans les conditions des hauts plateaux de l'Est algérien. In *Tolérance à la sécheresse des céréales en zone méditerranéenne. Diversité génétique et amélioration variétale*. Montpellier (France). INRA Ed (Les colloques n°64).
- Rémi C. (1997). Identifier les champignons transmis par les semences. INRA, Paris.
- Richard C., Dary J.L et Laffont J.M. (1985). *Produit phytosanitaires, recherche, développement, homologation*. (Edition de la nouvelle librairie). Paris. 96pp.
- Samson R. A., Hoekstra E. S., Frisvad J. C. et Filtenborg O. (1996). Introduction to food-borne fungi, Centraalbureau voor Schimmelcultures Baarn Delft, 5^{ème} édition, The Netherlands, 107p
- Samson R.A., Hoekstra E.S and Van Oorschot C.A.N. (1981). Introduction to food-borne fungi. (edn). Centraalbureau voor schimmel culture, Utrecht.

- Soltner D.(1995).Les grandes productions végétales.18^{ème} édition sciences et technique agricoles .471p.
. In benchabane K.D. et Ould-mekhloufi L. 1988. Evaluation phénologique de quelques variétés d'orge (*hordeumvulgare* L.) et leur sensibilité vis-à-vis de *drechsleragraminea* Rab.Mém. Ing Agro.INA.El-harrach.p7.
- Soufiane B.(1998).Isolement à partir de la rhizosphère des conifères de Bactéries et d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes. Canada, pp56.
- Souilah N .(2009) .Diversité de 13 génotypes d'orge (*Hordeum vulgare* L.) et de 13 génotypes de blé tendre (*Triticum aestivum* L.) : Etude des caractères de production et d'adaptation. Thèse de magister En Biologie Végétale :université de mentouri de Constantine,2009,P 25 -26. 34-36.
- Talas f., parzies h., miedaner t. (2011). « Diversity in genetic structure and chemotype composition of *Fusariumgraminearumsensu stricto* populations causingwheatheadblight in individualfields in Germany ». *European Journal of Plant Pathology*.. Vol. 131, n°1, p. 39-48.
- ToussaintV.(1996).caractérisation d'un antibiotique produit par la souche d'actinomycète EF-76 antagoniste à *Phytophthora Fragariae*var. *rubica*causant le pourridié des racines du framboisier. Mémoire de Maitrise ès science. Université de Sherbrooke, Québec, Canada.
- Waksman S.(1922).Amethode of counting the nombre of fungiin the soil.JBac 7 :399-341.
- Whipps,J.K.(1997).developpement in the biologicale control of soil-borne plant pathogens.advances in botanical research 26, p1-134.

Annexe

Annexe1 : la classification d'orge.

| | |
|----------|-----------------------|
| Règne | Plante |
| Division | Magnoliophyta |
| Classe | Liliopsida |
| Orde | Cyperales |
| Famille | Graminées |
| Genre | <i>Hordeum</i> |
| Espèce | <i>Hordeumvulgare</i> |

Annexe 4 : les conditions favorables et les symptômes des maladies de l'orge.

| Les maladies | Les conditions favorables | Les symptômes |
|---|--|--|
| Septoriose (<i>Septoriapasserinii</i>) | <ul style="list-style-type: none"> • Température optimale de développement 20-25°C. • Sporulation favorisée par la pluie et une forte humidité (Bouakaz et Oussaid, 2013). | <ul style="list-style-type: none"> • De petites colonies ovales ou circulaires, et de couleur jaune orangé |
| rouille naine (<i>puccinia simplex</i>) | <ul style="list-style-type: none"> • temp humide le champignon survit aux températures estivales dans les régions montagneuses moins chaudes (Zillinsky, 1983). | <ul style="list-style-type: none"> • Les urédosores de <i>P. hordeisont</i> petits, ovales ou circulaires, et de couleur jaune orangé (Zillinsky, 1983). |
| Oïdium (<i>Erysiphegraminis f. sp. tritici</i>) | <ul style="list-style-type: none"> • Température optimale de développement entre 15°C et 20°C. • Infection possible entre 2°C et 30°C. • Alternance de jours chauds et humides. • Les fortes pluies sont | <ul style="list-style-type: none"> • Feutrage blanc envahissant la surface de la feuille, tige et épis. • Feutrage devenant gris et se parsemant de points noirs, puis |

| | | |
|---|---|---|
| | <p>défavorables à la maladie. Elles empêchent la germination des spores (Bouakaz et Oussaid, 2013).</p> | <p>évoluant en croûtes blanchâtres à grisâtres (Bouakaz et Oussaid, 2013)</p> |
| <p>Fusariose (<i>Fusariumgraminearum</i>)</p> | <ul style="list-style-type: none"> • Température de développement supérieure à 15°C. • Les pluies favorisent la germination et la dispersion des spores au moment de la floraison (Bouakaz et Oussaid, 2013) | <ul style="list-style-type: none"> • Des épillets atteints (glumes et fleurons) semblent avoir mûri (blanche) prématurément par comparaison aux épis sains qui sont verts (DIFALLAH, 2009) |
| <p>La strie foliaire (<i>Pyrenophoragraminea</i>)</p> | <ul style="list-style-type: none"> • Des températures de développement comprises entre 10°C et 33°C favorisent les infections à un stade précoce du développement du grain (Bouakaz et Oussaid, 2013) | <ul style="list-style-type: none"> • Des stries de couleur jaunâtres puis brunes se développent à partir de la base de la feuille (Bouakaz et Oussaid, 2013) |
| <p>Rayure réticulée (<i>Pyrenophorateres</i>)</p> | <ul style="list-style-type: none"> • Température optimale : 15-20°C. • Humidité relative élevée supérieure à 80%.Bouakaz et Oussaid, 2013) | <ul style="list-style-type: none"> • Les taches sont elliptiques, d'un brun foncé, s'allongeant pour former des stries étroites et longues le long des nervures. (Bouakaz et Oussaid, 2013) |
| <p>Rhynchosporiose (<i>Rhynchosporiumsecalis</i>)</p> | <ul style="list-style-type: none"> • Maladie favorisée par des automnes doux et pluvieux et des printemps frais et arrosés (Bouakaz et Oussaid, 2013) | <ul style="list-style-type: none"> • Les taches sont ovales, le centre est grisâtre et la marge brune foncée • des taches similaires |

| | | |
|--|--|---|
| | | sur les glumes et sur les grains (Lacroix.M, 2008) |
| Helminthosporiose (<i>Helminthosporium gramineum</i>) | <ul style="list-style-type: none"> • Temps chaud et humide | <ul style="list-style-type: none"> • Les taches sont elliptiques, d'un brun foncé de former des stries étroites et longues le long des nervures (Lacroix.M, 2008). |
| Charbon (<i>Ustilagonuda ; U. hordei</i>) | <ul style="list-style-type: none"> • Alternance de jours chauds et humides. | <ul style="list-style-type: none"> • L'épi vient à peine de sortir de la gaine et possède encore la délicate membrane gris argenté qui recouvre temporairement l'amas de spores (Zillinsky, 1983) |

Annexe2 :Milieu de culture MEA :

| | |
|-----------------------|-----|
| Extrait de malt | 10g |
| Peptone | 20g |
| Glucose | 20g |
| Agar | 20g |
| Eau distillée | 1L |
| PH | 6.5 |

Annexe3 :Potato dextrose agar (PDA)

| | |
|---------------------------------|------|
| Extrait de pomme de terre | 100L |
| Glucose | 20g |
| Agar | 20g |
| PH | 5 |
| Eau distillée | 1L |

Thème**Isolement et identification des champignons antagonistes des champignons phytopathogènes de l'orge****Résumé**

L'orge se considère comme la deuxième céréale cultivée après le blé, en Algérie. Cette étude a pour objectif d'isoler des moisissures phytopathogènes des feuilles et épi malade de l'orge. Les plantes ont été prélevées du champ d'orge situé à Hammabouziane, Constantine. L'isolement et la purification des isolats ont été établis sur des milieux MEA et PDA. Trois isolats de feuilles ont été identifiés comme *Aspergillus flavus*, *Rhizomucor* sp. Et *Penicillium* sp., tandis qu'un seul isolat de l'épi a été identifié comme *Fusarium graminearum*. Suivant la littérature, ce dernier a été sélectionné comme souche pathogène pour la poursuite du travail.

L'isolement de l'agent pathogène a été réalisé (dans les mêmes conditions précédentes) à partir du sol de même champ. L'identification macroscopique et microscopique a mis en évidence 9 souches représentant 5 genres différents : *Aspergillus*, *Penicillium*, *Trichoderma*, *Mucor*, *Absidia*, dont les *Aspergillus* sont le genre le plus dominant.

La confrontation directe (culture des espèces dans une même boîte de Pétri contenant le milieu PDA) et la confrontation à distance par action de substances volatiles (culture des souches dans 2 boîtes distinctes, superposées), ont été expérimentées. Le pourcentage d'inhibition de croissance de *Fusarium graminearum* a été quantifié. Les résultats montrent une baisse du diamètre de croissance de l'espèce pathogène, comparativement aux témoins. Par ailleurs, au 7ème jour de culture, la colonie de l'antagoniste *Aspergillus niger* a rapidement augmenté de taille et son mycélium a franchement envahi la colonie de *Fusarium graminearum*. Le pourcentage d'inhibition de cette souche pathogène atteint 71.4%, en confrontation directe, ainsi 83.33%, en confrontation indirecte avec *A.niger*. De ces résultats, il serait intéressant et utile d'en déceler les mécanismes d'action et de l'expérimenter *in vivo* afin de passer à sa large application et sauver les récoltes menacées

Mots-clés : maladie de l'orge, *Fusarium graminearum*, lutte biologique, test d'antagonisme.

Laboratoire de recherche : laboratoire de Mycologie, de Biotechnologie et de l'Activité Microbienne (LaMyBAM) ChaabErssas, Université des frères Mentouri, Constantine.

Nombre de juryPrésident : **DEHIMET L.****Pr.Univ. Des frères Mentouri**Encadreur : **Melle BATAICHEI.****Dr.Univ. Des frèresMentouri**Examineur : **Melle BENSERRADJ W.****Dr. Univ.Mila**