

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي/
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE
جامعة عمار تليجي بالأغواط
UNIVERSITE AMAR TELIDJI LAGHOUAT

كلية العلوم
FACULTE DES SCIENCES
قسم البيولوجيا
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire

En vue de l'obtention du diplôme de Master

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie appliquée

THEME

**Etude In vivo de l'activité antifongique et insecticide
des extraits bruts issus d'une souche bactérienne du genre
Streptomyces.**

Présenté par :

Soutenu publiquement le : 03/07/2022

- AISSAOUI Loubna
- BENSALAH Reguia

Devant le jury composé de :

Mr. Krantar Kamel	MAA (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Président
Mr. Zerrouki Mohamed Houcine	MAA (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Examineur
Mr. GACEM Mouhamed Amine	MCB (Université Amar Téliidji, Laghouat)	Rapporteur
Mr. Boudjemaa Baderddine	(Université Amar Téliidji, Laghouat)	Co-Rapporteur

Année universitaire : 2021-2022

Résumé

Etude de l'activité biologique de quelques extraits brutes d'origines microbiens

Les métabolites secondaires issus des actinobactéries et leurs dérivés ont une longue histoire comme agents antimicrobiens. Cependant, leur utilisation comme préservateurs contre les phytopathogènes a été rarement rapportée. Ce travail porte sur l'étude de l'activité antifongique et insecticide des extraits brutes d'un isolat d'actinomycète obtenu de la collection microbienne du Dr Gacem MA.

L'étude de l'activité antifongique *in vitro* a montré une bonne activité inhibitrice contre *Aspergillus flavus*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus ochraceus* et *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*. Une excellente activité antifongique est enregistrée contre *Fusarium oxysporu* avec un pourcentage d'inhibition de 33.16% et de 17.04 % à 30µl et 20µl d'extrait, respectivement. L'analyse de l'activité insecticide des extraits brutes de l'isolat KX2 a montré une extinction totale des pucerons noirs après 36h de traitement à 25µl d'extrait.

L'activité antifongique testé *in vivo* a affirmé que l'isolat KX2 possède un pouvoir stimulant la germination des graines de tomates, il est également capable de protéger les graines germées contre les infections fongiques provoquées. Les résultats de cette étude montrent que l'isolat KX2 pourrait avoir un potentiel important pour le contrôle biologique des champignons dans les cultures agricoles.

Mots clés : Actinobactéries, Métabolites Secondaires, Phytopathogènes, Activité Antifongique, Activité Insecticide, Cultures Agricoles,

Abstract

Study of the biological activity of some raw extracts of microbial origin

Secondary metabolites from actinobacteria agents and their derivatives have a long history as antimicrobial agents. However, their use as preservatives against plant pathogens has been rarely reported. This work focuses on the study of the antifungal and insecticide activity of raw extracts of an actinomycete isolate obtained from the microbial collection of Dr Gacem MA.

The in vitro study of antifungal activity showed good inhibitory activity against *Aspergillus flavus*, *Penicillium citrinum*, *Aspergillus ochraceus* and *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*. Excellent antifungal activity is recorded against *Fusarium oxysporum* with an inhibition percentage of 33.16% and 17.04% at 30µl and 20µl extract, respectively. The analysis of the insecticide activity of the raw extracts of the KX2 isolate showed a total extinction of black aphids after 36h of treatment at 25µl of extract.

The antifungal activity tested in vivo asserted that the KX2 isolate has a power stimulating the germination of tomato seeds, it is also able to protect sprouted seeds from caused fungal infections. The results of this study show that KX2 may have significant potential for biological control of fungi in agricultural crops.

Key words: Actinobacteria, Secondary Metabolites, Plant Pathogens, Insecticide Activity, Agricultural Crops.

ملخص

دراسة النشاط البيولوجي لبعض المستخلصات الخام ذات الاصل البكتيري

النواتج الايضية الثانوية من البكتيريا الشعاعية ومشتقاتها لها تاريخ طويل كعوامل مضادة للميكروبات. ولكن، نادرًا ما تم استخدامها كمواد حافظة ضد مسببات الأمراض النباتية. يركز هذا العمل على دراسة الفعالية المضادة للفطريات والمبيدات الحشرية للمستخلصات الخام لعزلة الاكتينوميسات التي تم الحصول عليها من المجموعة الميكروبية للدكتور قاسم.

أظهرت دراسة النشاط المضاد للفطريات في المختبر نشاطا مثبتا جيدا ضد *Aspergillus flavus*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus ochraceus* et *Fusarium oxysporum* f. sp. *Lycopersici* للفطريات ممتاز ضد بنسبة تثبيط 33.16% و 17.04% عند تركيز 30 مل و 20 مل من المستخلص على التوالي. أظهر تحليل نشاط المبيدات الحشرية للمستخلصات الخام لعزلة KX2 الانقراض التام لحشرات المن الأسود بعد 36 ساعة من العلاج باستخدام 25 مل من المستخلص.

أكد النشاط المضاد للفطريات الذي تم اختباره في الجسم الحي أن عزلة KX2 لها قدرة تحفيز لإنبات بذور الطماطم، كما أنها قادرة على حماية البذور النابتة من الالتهابات الفطرية التي تسببها. أظهرت نتائج هذه الدراسة أن العزلة KX2 يمكن أن يكون لها إمكانات كبيرة في مكافحة البيولوجية للفطريات في المحاصيل الزراعية.

الكلمات المفتاحية: البكتيريا الشعاعية، النواتج الايضية الثانوية، الامراض النباتية، النشاط المضاد للفطريات، النشاط المضاد للحشرات، المحاصيل الزراعية

Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

A l'homme de ma vie, mon soutien moral que dieu le garde, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir, à toi mon père **Aissaoui Abderrahmane**.

A la lumière de mes jours, la source de mes efforts que dieu la préserve, maman que j'adore

Ghezal Fatima

A mes belle sœurs **Kaouther, Abir, Hadjer, Nafissa**, à mes cher frère **mano** et **bahi**, qui ont toujours été à mes cotés

A tous les membres de ma famille et toute personne qui porte le nom Aissaoui, Ghezal

A tous mes amis **chaima, wahiba, amira, soumia, samah, imane...**

A tous les membres de ma promotion de Microbiologie appliqué, Master II

A tous ceux qui m'ont soutenu de près ou de lion

Loubna

Dédicace

Je dédie ce mémoire :

A mes parents :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il, l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et pour m'aider à avancer dans la vie. Puisse Dieu faire en sorte que ce travail porte son fruit ; Merci pour les valeurs nobles, l'éducation et le soutien permanent venu de toi.

A mes sœurs

A mes frères

A toute ma famille pour son soutien de tous les instants.

A tous mes collègues et mes amies en témoignage de l'amitié qui nous unit et des souvenirs de tous les moments que nous avons passés ensemble, je vous dédie ce travail et je vous souhaite une vie pleine de santé et de bonheur.

Rokia

Remerciement

Avant tous, nous remercions Allah, le tout puissant de nous avoir donné la santé et la volonté d'entamer et de terminer ce mémoire.

Tous d'abord, notre profonde gratitude et nos sincères remerciements à notre encadreur Mr. Gacem Mouhamed Amine de nous avoir encadré et d'accepter de diriger ce travail, pour ses conseils et ses précieuses orientations.

Nous sincères remerciements s'adressent également à Mt. Boudjemaa Baderedine pour son aide durant la réalisation de ce travail

Un grand merci à Melle. Rouari Linda pour sa gentillesse et pour son aide durant la réalisation de ce travail

Nous tenons à remercier les membres de jury d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos sincères remerciements aux ingénieurs de laboratoire

Grands et respectueux remerciements s'adressent à tous les enseignants du Département de Biologie pour leurs aides et leurs dévouements à leurs missions académiques

Un grand merci à toutes personnes qui nous ont aidé de proche ou loin lors de la réalisation de ce travail.

Table des matières

Liste des Abréviations	I
Liste des Figures	11
Liste des Tableaux	III
Résumé	IV
Abstract	V
ملخص	VI
Introduction	01
Partie I : synthèse bibliographique	
I. Généralité sur des actinomycètes	02
I.1. Historique	02
I.2. Définition	02
I.3. Caractère phénotypique des actinomycètes	02
I.4. Taxonomie des actinomycètes	04
I.5. Habitat et Distribution des actinomycètes dans la nature	05
I.5.1. Les habitats terrestres	05
I.5.2. Les habitats aquatiques	05
I.6. Les actinomycètes pathogène	06
II Potentiel Biotechnologique des actinomycètes	06
II.1. Activité antibactérienne	07
II.2. Activité antifongique	08
II.3. Activité insecticide	09
II.4. Activité antivirale	10
II.5. Application des actinomycètes dans l'agriculture	10
Partie II : Etude Expérimentale	
I. Matériels et méthode	12
I.1 Matériel biologique	12
I.2. Confirmation de la pureté des souches fongiques par la technique de micro-culture	12
I.3. Evaluation du pouvoir antifongique des actinomycètes par la méthode des cylindres	13
I.4. Evaluation de pouvoir antifongique des extraits par la méthode des puits	13
I.5. Evaluation de l'activité insecticide des extraits brutes	15
I.6. Evaluation in vivo de l'activité antifongique de la souche KX2	16
II. Résultats et discussion	19
II.1. Résultats obtenus par la méthode de micro-culture	19
II.2. Résultat de l'activité antifongique obtenus par la méthode directe (test par cylindre)	21
II.3. Résultats de l'activité antifongique évaluée par la technique des puits	23
II.4. Résultats de l'activité insecticides	23
II.5. Résultats in vivo de l'activité antifongique de la souche KX2	24
Conclusion et perspective	31
Liste des références	32
Annexe	36

Liste des abréviations

- G+C** : Coefficient de Chargaff
- PDA** : Potato Dextrose Agar
- CSA** : Milieu Starch Casein Agar
- GYM** : Glucose Yeast Extract Malt Extract
- °C** : Degré Celsius
- UFC** : Unité Formant colonie
- F** : Fusarium
- A** : Aspergillus
- P** : Pénicillium

Liste des figures

Figure 01.	Morphologie des spores et des mycéliums de quelque espèces d'actinomycètes	03
Figure 02.	Applications biotechnologiques des actinobactéries	07
Figure 03.	Association bénéfique entre une plante et une actinobactérie	11
Figure 04.	Technique d'identification des genres fongiques par micro-culture.	13
Figure 05.	Evaluation de l'activité antifongique des extraits par la méthode des puits.	14
Figure 06.	Photo de l'évaluation de l'activité insecticide de l'extrait de la souche KX2	16
Figure 07.	Aspect de la souche KX2 sur différents milieux de culture	19
Figure 08.	Aspect microscopique des souches fongiques	21
Figure 09.	Résultat de l'activité insecticide de l'extrait brute KX2 contre les pucerons obtenus à partir des culture d'haricot.	25
Figure 10.	Photo du résultat de germination des graines des tomates traité par souches d'actinomycète KX2 dans le sol stérile	26
Figure 11.	Photo du résultat de germination des graines des tomates traité par souches d'actinomycète KX2 dans le sol non stérile	26
Figure 12.	Photo du résultat de germination des graines des tomates infecté par les champignons dans le sol non stérile	27

Liste des tableaux

Tableau 01.	Quelques caractéristiques phénotypiques et génotypiques relatif à quelques genre d'actinobactéries	03
Tableau 02.	Classes, ordres, et familles du phylum <i>Actinobacteria</i>	04
Tableau 03.	Distribution de quelques genres d'actinomycètes dans le nature	05
Tableau 04.	Quelques maladies causées par les Actinomycètes pathogène	06
Tableau 05.	Quelques exemples de substances antimicrobiennes produites par des actinomycètes	08
Tableau 06.	Quelques exemples des substances antifongiques produites par les actinomycètes destinés contre les phytopathogènes	08
Tableau 07.	Quelques exemples des substances bioactif produites par les actinomycètes et utilisées comme agent de contrôle contre les insectes nuisibles des plantes.	09
Tableau 08.	Quelques molécules antivirales produites par quelques souches d'actinomycètes utilisées contre les virus phytopathogènes	10
Tableau 09.	Souches fongiques utilisées pour tester l'activité antifongique de KX2	12
Tableau 10.	Activité antifongique enregistrée pour la souche KX2 contre les souches fongiques sélectionnées.	22
Tableau 11.	Résultats de l'activité antifongique des extraits KX2.	23
Tableau 12.	Résultats de l'activité antifongique in vivo de l'isolat KX2	28

Introduction

Introduction

La sécurité alimentaire et le développement économique des pays reposent sur une agriculture durable et efficace. Aujourd'hui, l'agriculture est menacée par divers phytopathogènes dont les champignons, les bactéries, les virus phytopathogènes et les insectes ravageurs sont les plus frappants. Les pertes causées par les phytopathogènes ne se concentrent pas uniquement sur les récoltes ; néanmoins la santé du consommateur et l'économie des pays sont aussi touchées (**Zahir et al., 2018**).

La lutte chimique appliquée actuellement repose fortement sur l'utilisation des insecticides, des fongicides et des herbicides. Malgré leurs avantages en particulier, leur disponibilité, leur action rapide et leur fiabilité, les pesticides chimiques ont des effets secondaires néfastes sur la santé de l'Homme, sans négliger la pollution de l'environnement (**Sharma et al., 2018**). L'évolution des techniques moléculaires ont démontré que les phytopathogènes développent continuellement des mécanismes de résistances aux agents chimiques utilisés (**Sharma et al., 2017**). Les effets secondaires causés par les pesticides ont poussé les chercheurs à développer de nouvelles méthodes de protection durable et efficace.

La lutte biologique contre les phytopathogènes est l'une des méthodes prometteuses, elle consiste à utiliser des microorganismes antagonistes (**Suty, 2010**). Les actinobactéries sont parmi les microorganismes utilisés, ils sont connus par leurs capacités à produire des métabolites secondaires, ils peuvent être utilisés comme une alternative prometteuse pour les méthodes de protection (**Chaurasia et al., 2018**). Certaines actinobactéries possèdent une bonne capacité à coloniser les racines des plantes, ils sont appelés les actinobactéries endophytes. Cette capacité leur permet de contrôler la croissance de la plante et sa protection. (**Javed et al., 2020 ; Aouar et al., 2019 ; Aouar, 2012**).

L'objectif de cette étude est d'évaluer l'activité antifongique d'une souche bactérienne du genre *Streptomyces* contre plusieurs moisissures toxigènes. L'activité insecticide contre les pucerons noirs obtenus des cultures d'haricot est aussi mise en évidence.

Pour se faire, une synthèse bibliographique représentant la première partie de notre étude a été réalisée afin de regrouper les informations essentielles sur les principaux caractères des actinobactéries, leur taxonomie, leur distribution dans la nature et leur potentiel biotechnologique.

Dans la seconde partie de notre étude, la méthodologie est représentée par les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail suivie des principaux résultats et leurs discussions.

L'étude est achevée par une conclusion générale et des perspectives

Partie I :
Synthèse
bibliographique

*Généralités sur les
Actinomycètes*

I. Généralité sur les Actinomycètes

I. 1. Historique

La découverte et l'évolution des recherches sur les actinobactéries s'est passé par quatre périodes. La première période a commencé en 1875. Durant cette période ; les travaux initiaux ont débuté après l'isolement de la première souche d'actinobactéries, l'isolement est effectué à partir d'un Homme. La deuxième période consiste à la mise en évidence et l'étude des actinomycètes. Durant cette période, la totalité des travaux était réalisé par l'équipe de Kraisky et Waksman entre l'année 1900 à 1919. Au cours de la troisième période située entre 1919 à 1940, une meilleure connaissance des germes était acquise grâce aux travaux recherches de Waksman, Lieske, et Krassilinkov. La découverte des antibiotiques produites par les actinomycètes est la période la plus importante pour toute l'humanité. Cette dernière période a commencé en 1940 et continue jusqu'à l'heure actuelle avec plusieurs nouvelles découvertes (**Harir, 2018**).

I. 2. Définition des Actinomycètes

En Grec, le nom actinomycètes est dérivé de deux mots : (Aktis) qui désigne rayon et (Mykes) qui signifie champignon. Ils possèdent des caractéristiques similaires à ceux des bactéries et des champignons (**Azman et al., 2015**).

Les actinobactérie sont des procaryotes à Gram-positives avec une structure filamenteuse (**Dholakiya et al., 2017**). Ce sont des saprophytes et participent dans la décomposition de la matière organique en particulier les biopolymères comme la lignocellulose et la chitine (**Doumbou et al., 2001**).

Ils possèdent une forte teneur en guanine et cytosine (plus de 55% de G+C). Ils sont considérés comme une source potentiel de plusieurs métabolites secondaires (**Chaudhary et al., 2013**).

I. 3. Les Caractères phénotypiques des actinomycètes

Les actinobactéries comprend un groupe de micro-organismes unicellulaires ramifiés (**Dhanasekaran et Jiang, 2016**), la plupart sont aérobies, et chimio-hétérotrophes (**Gacem et al., 2021**). Sur les milieux solides, ils forment deux types de mycéliums à savoir : un mycélium aérien et celui du substrat (**Selim et al., 2021**). Ils se reproduisent par fission binaire ou par production de spores (**Figure 1**). La sporulation des actinobactéries se fait par fragmentation du mycélium mature (**Dhanasekaran et Jiang, 2016**). Le **tableau 1** présente quelques caractéristiques phénotypiques et génotypiques relatif à quelques genre d'actinobactéries.

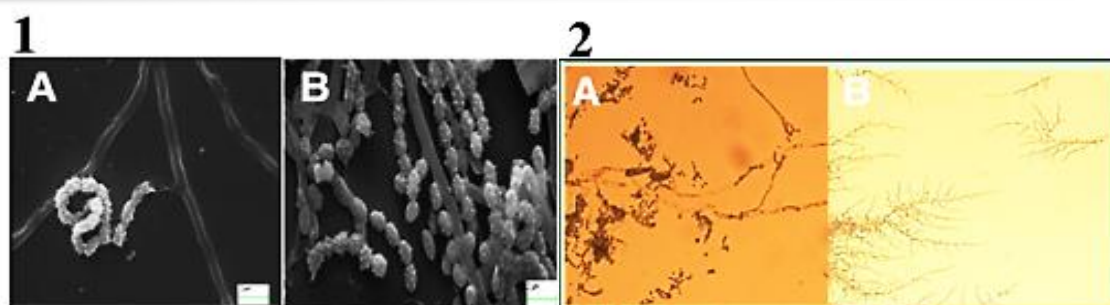


Figure 01. Morphologie des spores et des mycéliums de quelques espèces d'actinomycètes (Sengupta et al., 2015).

1- Morphologie des sporophores des actinomycètes étudiés par microscopie électronique à balayage [(a) *Streptomyces variabilis*, (b) *Streptomyces tendae*]. 2- Arrangement du mycélium étudié par microscopie à contraste de phase. (a) *Streptomyces variabilis* (b) *Streptomyces tendae*

Tableau 01. Quelques caractéristiques phénotypiques et génotypiques relatif à quelques genre d'actinobactéries (Prescott et al., 2013).

Genre	Morphologie et structure	Contenu en GC (mol. %)	Exigence en oxygène
<i>Actinoplanes</i>	Mycélium ramifié. Croissance aérienne faible. Formation de sporanges avec des spores mobiles.	72--73	Aérobies
<i>Frankia</i>	0,5-2 µm de diamètre. Hyphes végétatifs avec des ramifications limitées. Absence de mycélium aérien. Formation de sporanges avec des spores immobiles.	66--71	Aérobies ou micro-aérophiles
<i>Nocardia</i>	0,5-1,2 µm de diamètre Hyphes végétatifs rudimentaires ou étendus et peuvent se fragmenter en bâtonnets ou en formes coccoides. Présence d'hyphes aériens.	64--72	Aérobies
<i>Micrococcus</i>	0,5-2 µm de diamètre. Colonies habituellement jaunes ou rouges. Catalase positive. Présence de spores immobiles.	64--75	Aérobies
<i>Streptomyces</i>	0,5-2 µm de diamètre. Mycélium végétatif abondamment ramifié. Mycélium aérien formé par des chaînes de spores avec un nombre variable. Les colonies sont distinctes.	69--78	Aérobies

I. 4. Taxonomie des Actinomycètes

Selon le de Bergey's, ces bactéries sont classées sur la base de leurs critères morphologiques, physiologiques, et génomique (Goodfellow et al., 2012). Les Actinobactéries appartiennent au phylum des Actinobacteria, ce dernier comprend 6 classes à savoir : Actinobacteria, Acidimicrobiia, Coriobacteriia, Nitrospirae, Rubrobacteriia, et Thermoleophilia (Ludwig et al., 2015).

La classification des Actinobactéries est résumé dans le **tableau 2**.

Tableau 02. Classes, ordres, et familles du phylum *Actinobacteria*. (Ludwig et al., 2015).

Phylum Actinobacteria			
<i>Actinobacteria</i>		<i>Acidimicrobiia</i>	<i>Nitrospirae</i>
Ordres :	Familles :	Ordres :	Ordre 1 :
<i>Actinomycetales</i>	<i>Actinomycetaceae</i>	<i>Acidimicrobiales</i>	<i>Nitrospirales</i>
<i>Frankiales</i>	/		Famille 1 :
<i>Corynebacteriales</i>	/	Famille :	<i>Nitrospiraceae</i>
<i>Streptomycetales</i>	<i>Streptomycetaceae</i>	<i>Acidimicrobiaceae</i>	Ordre 2 :
<i>Streptosporangiales</i>	<i>Streptosporangiaceae</i>		<i>Euzebyales</i>
	<i>Nocardiothricaceae</i>		Famille 2 :
	<i>Catenulisporaceae</i>		<i>Euzebyaceae</i>
<i>Catenulisporales</i>	<i>Actinosporaceae</i>		
<i>Micromonosporales</i>	<i>Micromonosporaceae</i>		
<i>Propionibacteriales</i>	<i>Propionibacteriaceae</i> , <i>Nocardiodaceae</i> ,		
<i>Bifidobacteriales</i>	<i>Bifidobacteriaceae</i>		
<i>Kineosporales</i>	<i>Kineosporaceae</i>		
<i>Jiangellales</i>	<i>Jiangellaceae</i>		
<i>Actinopolysporales</i>	/		
<i>Glycomycetales</i>	<i>Glycomycetaceae</i>		
<i>Micrococcales</i>	<i>Micrococcaceae</i> , <i>Beutenbergiaceae</i> , <i>Micobacteriaceae</i>		
<i>Pseudonocardiales</i>	<i>Pseudonocardiaceae</i>		
<i>Rubrobacteriia</i>		<i>Thermophila</i>	<i>Coriobacteriia</i>
Ordre 1 :		Ordre 1 :	Ordre 1 :
<i>Rubrobacteriales</i>		<i>Thermoleophilales</i>	<i>Coriobacteriales</i>
Famille 1 :		<i>Solirubrobacterales</i>	Famille 1 :
<i>Rubrobacteraceae</i>		<i>Rubrobacterales</i>	<i>Coriobacteriaceae</i>
<i>Conexibacteraceae</i>		Familles 1 :	
<i>Solirubrobacteraceae</i>		<i>Thermoleophilaceae</i>	
<i>Thermoleophilaceae</i>		<i>Solirubrobacteraceae</i>	
		<i>Conexibacteraceae</i>	
		<i>Patulibacteraceae</i>	

I. 5. Habitat et Distribution des Actinomycètes dans la nature

I. 5.1. Les habitats terrestres

Les Actinomycètes sont des Microorganismes ubiquitaires, ils sont largement distribués dans la nature (Errakhi et al., 2007)

○ Le sol

Le sol est l'écosystème le plus abondamment colonisé par les actinomycètes (Kitouni, 2007), les sols sableux, les sols alcalins, les sols des forêts et les sols sahariens peuvent renfermer des espèces rares (Rachniyom et al., 2018). Il est à noter que les actinobactéries terrestres ont un potentiel antimicrobien très intéressants en raison de leur capacité à produire des antibiotiques. La littérature affirme aussi que les sols salins renferment de nombreux actinomycètes (Dhanasekaran et Jian, 2016).

○ Rhizosphère

Plusieurs groupes d'actinomycètes est mis en évidence dans la rhizosphère des plantes, en particulier les streptomycètes, ces derniers sont capables de former des associations symbiotiques et protéger les racines des plantes contre les agents phytopathogènes (Selim et al., 2021). Les espèces appartenant au genre Frankia est l'exemple le plus connu dans l'établissement des associations symbiotiques entre les actinobactéries et les plantes (Dhanasekaran et Jian, 2016).

I. 5.2. Les habitats aquatiques

Les actinomycètes sont également abondants dans les lacs d'eau douce citant comme exemple les genres Actinoplanes, Micromonospora, Rhodococcus, Streptomyces et les thermoactinomycètes (Bhatti et al., 2017). D'autre part, les eaux de mer, les sédiments marins et les lacs salés sont considérées comme de bonnes sources pour l'isolement de nouveaux actinomycètes halophiles (Dhanasekaran et Jian, 2016). Le tableau 03 montre la distribution de quelques genres des d'actinomycètes dans la nature (Kitouni, 2007).

Tableau 03. Distribution de quelques genres d'actinomycètes dans la nature (Kitouni,2007).

Genre	Habitats
- <i>Actinomadura</i>	- Sol
- <i>Actinoplanes</i>	- Sol, eau, litière
- <i>Frankia</i>	- Nodule de racines
- <i>Microbispora</i>	- Sol
- <i>Micromonospora</i>	- Sol, eau
- <i>Nocardia</i>	- Sol, eau
- <i>Rhodococcus</i>	- Sol, eau, fumier, litière
- <i>Saccharomonospora</i>	- Matière en décomposition

- <i>Streptomyces</i>	- Sol, eau, litière
- <i>Streptosporangium</i>	- Sol
- <i>Thermomonospora</i>	- Sol, matière en décomposition et fermentation

I. 6. Les Actinomycètes pathogène

Certaines espèces actinomycètes sont signalées comme des pathogènes pour l'Homme et le règne animal. Pour d'autres, elles sont classées comme des phytopathogènes pour le règne végétal (Mariat, 1962). Le tableau 4 présente quelques espèces pathogènes pour l'Homme, l'animal et les plantes.

Tableau 04. Quelques maladies causées par les Actinomycètes pathogène

Cible	Agent pathogène	Maladie	Référence
Phytopathogène	<i>Streptomyces scabies</i>	Endommagement des cultures de la pomme de terre.	(Dawn et al., 2010)
	<i>Corynebacterium betae</i>	Endommagement des feuilles de la betterave rouge (Beta vulgaris)	(Dhanasekaran et Jian, 2016).
	<i>Strptomyces ipomoeae</i>	Induit la gale chez la pomme de terre douce.	(Dhanasekaran et Jia, 2016).
Humaine	<i>Nocardia asteroides</i>	Cause une infection respiratoire.	(Eschapasse et al., 2017)
	<i>Actinmyces israelii</i>	Cause une infection respiratoire	(Eschapasse et al., 2017)
Zoonose	<i>Rhodococcus sp</i>	Cause des pneumopathies alvéolaires et des ostéomyélites	(Eschapasse et al., 2017)

II. Potentiel Biotechnologique des Actinomycètes

Les Actinobactéries sont des microorganismes qui possèdent un grand intérêt dans divers domaines grâce à leur capacité de produire des métabolites primaires et secondaires. A l'échelle industriel, ils sont capables de produire des antibiotiques, ils possèdent un énorme potentiel dans la bioconversion des déchets agricoles et urbaines. Dans le domaine agricole, ils renferment une importante activité antagoniste contre les pathogènes des végétaux (Dhanasekaran et Jiang, 2016). La figure 2 démontre l'application des métabolites secondaires des actinomycètes dans quelques domaines.

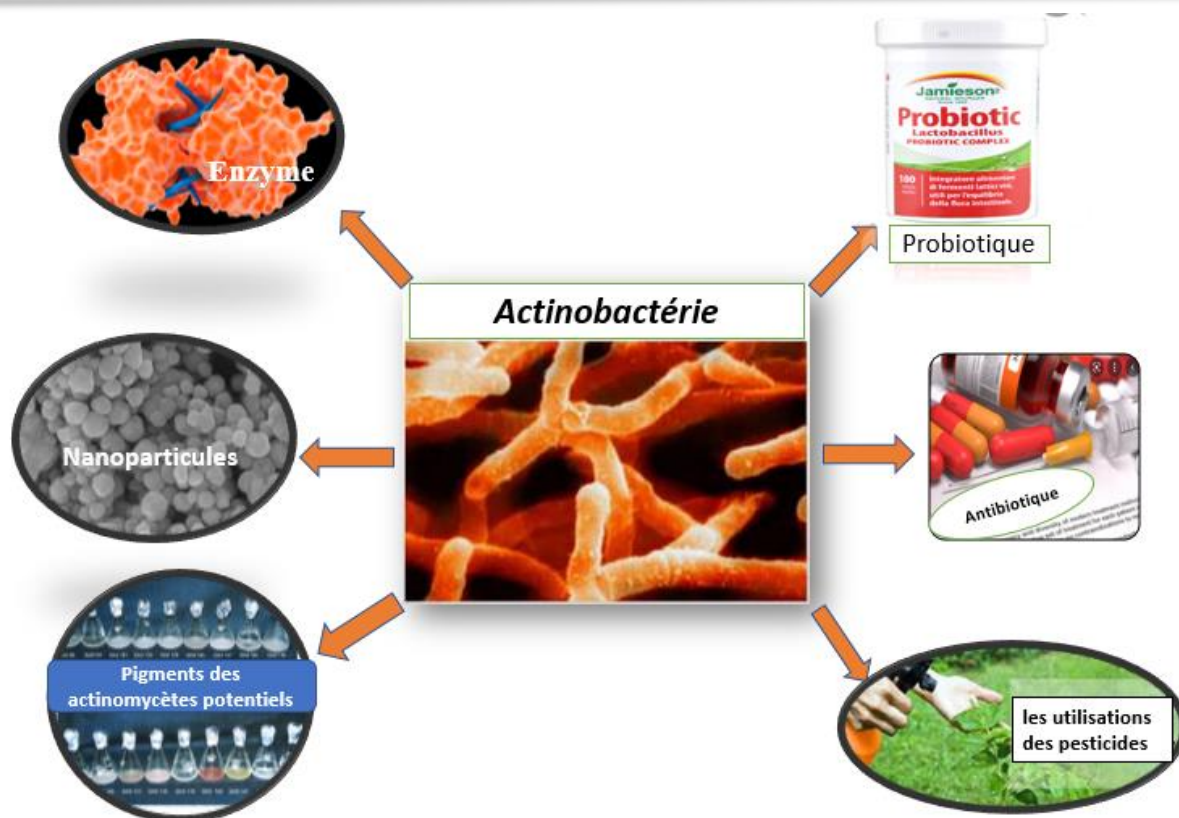


Figure 02. Applications biotechnologiques des actinobactéries (Dhanasekaran et Jiang, 2016).

Les actinomycètes sont capables de produire des molécules bioactives ces composés synthétisés possèdent des activités antibactériens, antifongiques, antivirales et insecticides (Kekuda et al., 2010 ; Chitraselvi, 2018). Chez les bactéries, les métabolites secondaires ciblent :

- La synthèse des métabolites essentiels
- La membrane plasmique
- Les acides nucléiques
- La synthèse protéique
- La synthèse de la paroi (rakotomalala, 2017).

II. 1. Activité antibactérienne contre les bactéries phytopathogènes

Plusieurs substances issues des actinobactéries sont utilisées pour inhiber la croissance des bactéries phytopathogènes tel que *Xanthomonas*, *Pseudomonas*, *Erwinia*, etc. (Promnuan et al., 2020).

Le **tableau 5** présente quelques activités antibactériennes des molécules bioactives provenant des actinomycètes contre certaines bactéries phytopathogènes.

Tableau 05. Quelques exemples de substances antimicrobiennes produites par des actinomycètes

Substance bioactif	Actinobactérie	Applications	Références
Streptomycine	<i>Streptomyces griseus</i>	<i>Xanthomonas Oryzae</i> <i>Xanthomonas citri</i> <i>Pseudomonas tabaci steven</i> <i>Pseudomonas lachrymans</i> Appliqué contre les maladies bactériennes des fruites et les légumes	(Carvalhis, Dennis.,2021), (AOUAR, 2012)
Glucopiercidine A	<i>Streptomyces sp</i>	<i>Erwinia carotovora</i>	
Oxazolomycine	<i>Streptomyces albus</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	
Cyclo (D-Pro-L-Tyr) et Cyclo (L-pro-L-Tyr)	<i>Streptomyces sp</i>	<i>Xanthomonas axonopodis</i> <i>Pv. Citri</i>	(Amorn et al.,2016)
Rapamycin	<i>Streptomyces rapamycinicum</i> <i>Streptomyces iranensis</i> <i>Actinoplanes sp</i>	Appliqué contre plusieurs bactéries phytopathogènes	(Yoo et al., 2017)
dihydrostreptomycin	<i>Streptomyces griseus</i>	Appliqué contre les maladies bactériennes des fruites et les légumes	(Carvalhis, Dennis.,2021)
Oxytetreacyclin	<i>Streptomyces rimosus</i>	Appliqué contre les maladies bactériennes des fruites et les légumes	(Carvalhis, Dennis.,2021)

II. 2. Activité antifongique

Les métabolites secondaires issues d'actinomycètes sont très recommandés dans la lutte contre les champignons, ils sont considérés comme des agents de biocontrôle (Krzysiak et al., 2018). Le tableau 6 présente quelques exemples des substances antifongiques produites par les actinomycètes et destinés pour la lutte contre les champignons phytopathogènes

Tableau 06. Quelques exemples des substances antifongiques produites par les actinomycètes destinés contre les phytopathogènes.

Substance bioactif	Actinobactérie	Maladie/agent antagoniste	Références
Cyclo(4-hydroxy-L-Pro-L-Trp)	<i>Streptomyces glauciniger</i>	<i>Aspergillus niger</i>	(Amorn et al., 2016)
Validamycine	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	(AOUAR, 2012)
Polyoxine	<i>Streptomyces Cacaoi var asoensis</i>	<i>Alternaria spp.</i> <i>Botrytis cinerea</i> <i>Rhizoctonia solani</i>	
Nitrosopyrimidines (6-amino-5-nitrosopyrimidine-2,4-diol)	<i>Streptomyces amrtisarensis</i>	<i>Candida albicans</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Aspergillus fumigatus</i>	(Shahid et al., 2021)

tert-butyl 4-carbamimidoylpiperidine-1-carboxylate	<i>Streptomyces amrtisarensis</i>	<i>Alternaria alternata</i> <i>Penicillium notatum</i>	
Natamycine	<i>Streptomyces natalensis</i>	<i>Fusarium oxysporum</i>	(AOUAR, 2012)
/	<i>Streptomyces griseovirides</i>	<i>Phytophthora</i>	(Suty, 2010)

II. 3. Activité insecticide

Parmi les agents de lutte biologique dérivés des microorganismes, les composés chimiques dérivés des actinobactéries et en particulier les espèces appartenant au genre *Streptomyces* dominent la situation, en effet plus de 60% des agents insecticides sont dérivés des actinobactéries. (Copping et Menn, 2000). Le tableau 7 présente quelques exemples de molécule utilisées contre les insectes phytopathogènes.

Tableau 07. Quelques exemples des substances bioactif produites par les actinomycètes et utilisées comme agent de contrôle contre les insectes nuisibles des plantes.

Substance bioactif	Actinobactérie	Maladie/agent antagoniste	Références
Spinosynes A et D	<i>Saccharopolyspora spinosa</i>	Activité larvicide contre les moustiques	(Gomes et al., 2018)
Spinosad	<i>Saccharopolyspora spinosa</i>	Active contre les chenilles, les mineuses, les thrips et les insectes foliaires.	(Copping et Menn, 2000)
Chitinase	<i>Streptomyces coelicolor</i> <i>Streptomyces griseus</i>	Actives contre les insectes	(Gadelhak et al., 2005)
Chitinase	<i>Actinoplanes sp</i>	Active contre <i>Culex quinquefasciatus</i>	(Gadelhak et al., 2005)
Streptoverticillium	<i>Streptomyces sp</i>	Active contre le troisième stade larvaire de la mouche domestique <i>Musca domestica</i>	(Kekuda et al., 2010)
Macrotetrolide de l'extrait acétonique	<i>Streptomyces aureus</i>	Active contre <i>Callosobruchus chinensis</i>	(Kekuda et al., 2010)
/	<i>Streptomyces aureus</i>	Active contre <i>Tetranychus cinnabarinus</i> (Araignée rouge)	(Suty, 2010)
(quinomycine A)	<i>Streptomyces sp</i>	Active contre <i>Spodoptera exigua</i> <i>Dendrolimus punctatus</i> <i>Plutella xylostella</i> <i>Aphis glycines</i> et <i>Culex pipiens</i>	(Kekuda et al., 2010)
Avermectine B1	<i>Streptomyces sp</i>	Active contre <i>Helicoverpa armigera</i>	(Kekuda et al., 2010)

Polyactins	<i>Streptomyces aureus</i>	Active contre les acriens des arbres fruitiers et des théiers	Carvalhis et Dennis., 2021)
Milbemectins	<i>Streptomyces hygroscopicus</i>	Active contre les acriens des arbres fruitiers et des théiers	Carvalhis et Dennis., 2021)

II. 5. Activité antivirale

Chaque année et dans le monde entier, les maladies virales des plantes entraînent des pertes économiques considérables dans les cultures et les récoltes (Chen et al., 2019). Le tableau 8 présente quelques molécules issues d'actinomycètes utilisées dans la lutte contre les virus phytopathogènes

Tableau 08. Quelques molécules antivirales produites par quelques souches d'actinomycètes utilisées contre les virus phytopathogènes (Chen et al., 2019).

Antivirus	Actinobactérie	Virus agent antagonistes
Cytosinpeptidemycin (CYTPM)	<i>Streptomyces ahygroscopicus</i>	- Tobacco mosaic virus (TMV) -Rice stripe virus (RSV) -Southern rice black-streaked dwarf shock virus (SRBSDV)
Glycoprotéine (GP-1)	<i>Streptomyces kanasensis</i>	TMV
ε - poly-L-lysine (ε-pl)	<i>Streptomyces sp.</i>	TMV

III. Autre applications des actinobactéries dans l'agriculture.

En plus les substances antibactériennes, antifongiques, et antivirales, les actinomycètes sont capables de produire des composés organiques et des enzymes bénéfiques pour les plantes. Ils sont aussi capables de décomposer les matières organiques complexes présentes dans sol et les rendent facilement assimilables par la plante. Ils sont aussi considérés comme des prometteurs pour la croissance des plantes (Chitraselvi, 2018). Ceci suggère que les actinobactéries peuvent être appliqués comme des alternatives aux pesticides chimiques ou encore comme des bio-engrais pour augmenter la productivité des plantes (Vurukonda et al., 2018).

Les actinobactéries sont parmi les microorganismes producteurs de sidérophore, cette molécule possède un faible poids moléculaire et une forte affinité pour l'ion Fe³⁺ nécessaires pour le fonctionnement de la cellule, les réactions d'oxydo-réduction et dans les processus cellulaires tel que les transports d'électrons, la photosynthèse, et la synthèse des nucléotides ou des acides aminés. En outre, la promotion de la croissance est également associée à la production de

sidérophore, à la solubilisation du phosphate, et à la fixation de l'azote. De plus, les actinobactéries sont capables d'interagir avec plus de 220 espèces de plantes par des interactions actinorhiziennes (Sharma et Salwan., 2018). La figure 3 montre l'importance des interactions entre les actinobactéries et les plantes, ces interactions favorisent la croissance des plantes et/ou le biocontrôle des phytopathogènes.

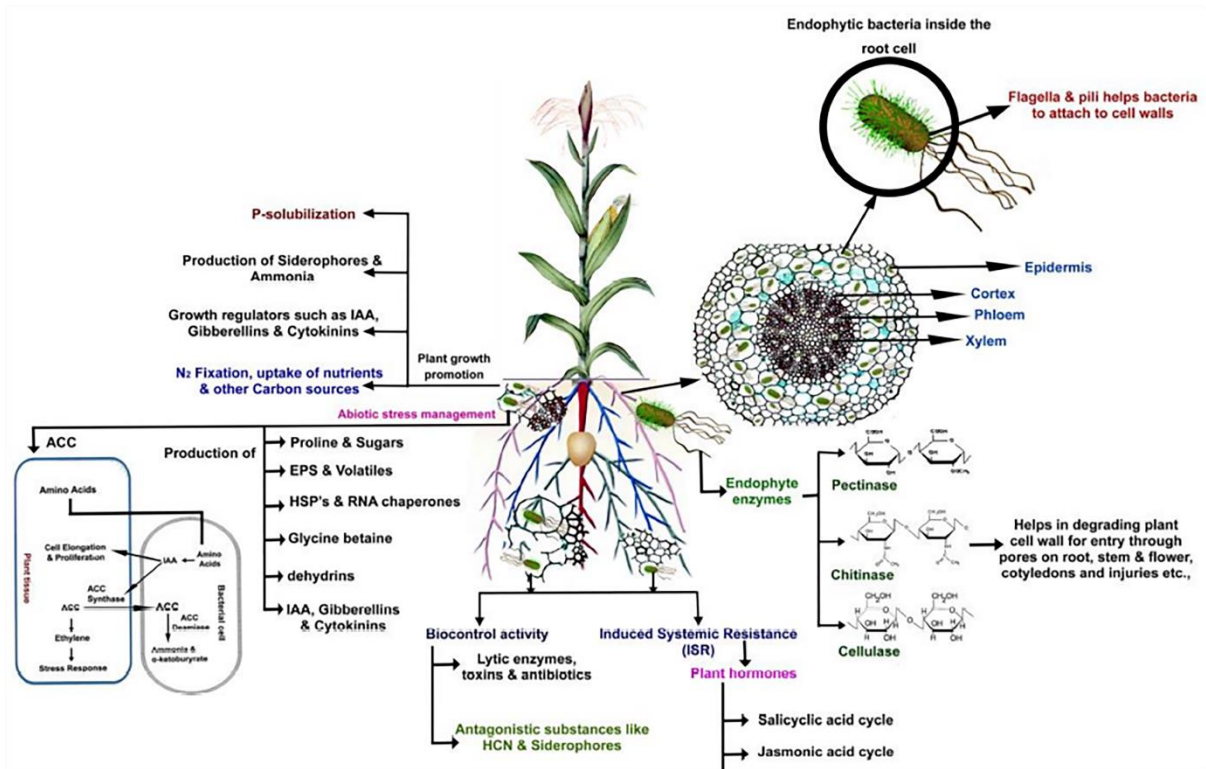


Figure 03. Association bénéfique entre une plante et une actinobactérie (Vurukonda et al., 2018).

Partie II :
Etude
expérimentale

*Matériel et
Méthodes*

I. Matériels et méthode

I.1. Matériel biologique

La souche d'actinobactérie désignée KX2 utilisée dans cette étude pour évaluer son potentiel biologique provient de la collection microbienne du Dr Gacem MA. KX2 appartient au genre *Streptomyces*.

Les espèces fongiques toxigènes utilisées dans cette étude pour tester l'activité antifongique de KX2 provient de la collection microbienne du laboratoire pédagogique de microbiologie (Université de Laghouat). Les espèces fongiques utilisées dans cette étude sont regroupées dans le **tableau 8**.

Tableau 09. Souches fongiques utilisées pour tester l'activité antifongique de KX2

Les souches fongiques	Origine
<i>Aspergillus flavus</i>	Laboratoire pédagogique de microbiologie. Département de Biologie. Faculté des Sciences. Université de Laghouat
<i>Aspergillus parasiticus</i>	
<i>Aspergillus ochraceus</i>	
<i>Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici</i>	
<i>Fusarium avenaceum</i>	
<i>Fusarium oxysporum</i>	
<i>Penicillium expansum</i>	

I.2. Confirmation de la pureté des souches fongiques par la technique de micro-culture

Décrite par **HARIS (1989)**, la technique de micro-culture consiste à inoculer les spores des moisissures sur une lame menée de petits carrés, de milieu PDA acidifié et les recouvrir par une lamelle. Les spores sontensemencées sur les limites périphériques du milieu pour leur fournir un potentiel d'oxygène élevé afin qu'elles puissent germer. L'ensemble est conditionné dans une chambre stérile et humide puis incubé à $25 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 3 à 5 jours

Après incubation, les lamelles auxquelles s'adhèrent le mycélium sont transférées sur d'autres lames stériles contenant quelques gouttes de lactophénol. Les observations microscopiques sont effectuées aux grossissements $\times 10$, $\times 40$ et $\times 100$. Les genres sont déterminés par les caractères cultureux et microscopiques en se référant au manuel de **BARNETT et HUNTER (1972) (Figure 04)**.

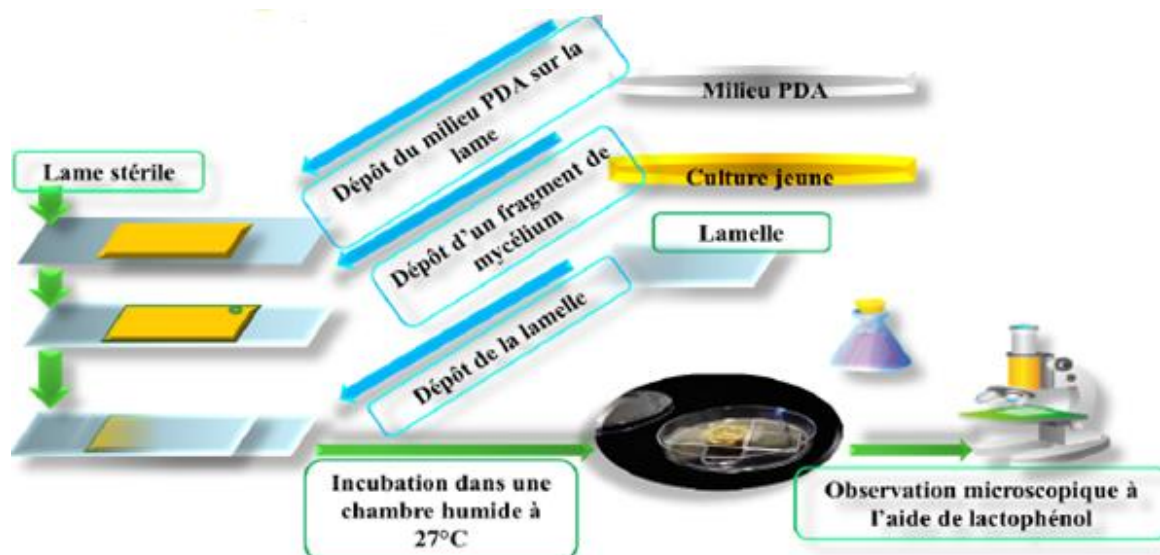


Figure 04 : technique d'identification des genres fongiques par micro-culture. (Gacem,2021)

I.3. Evaluation du pouvoir antifongique des actinomycètes par la méthode des cylindres

I.3.1. Préparation de la suspension fongique

Pour chaque moisissure, l'inoculum doit être préparé à partir d'une culture jeune de 7 jours déjà préparé sur milieu PDA. La récupération des spores est effectuée par un écouvillon stérile imbibé dans le Tween 20, les spores sont par la suite transférées dans 3ml d'eau physiologique stérile. A l'aide d'un vortex, la suspension des spores préparée est mélangée vigoureusement pendant 15-20 secondes afin d'empêcher l'agglutination des spores.

La solution est ajustée à 10^6 spores/ml à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 530 nm. La densité optique à laquelle l'inoculum est ajusté varie en fonction de l'espèce fongique et la taille des spores (Voir annexe 2). Les suspensions fongiques sont enfin ensemencées sur la surface des milieux GYM coulé et solidifié précédemment dans les boîtes de Pétrie.

L'effet antagoniste de la souche KX2 n'est possible qu'après son inoculation sur les surfaces des milieux GYM déjà ensemencés par les spores fongiques. Pour se faire, des disques bactériens de 1 cm de diamètre sont découpés des cultures de KX2 préparés précédemment (culture de 10 jours sur milieu GYM) puis déposés au centre des boîtes de Pétrie préalablement préparées. L'incubation se fait à 30°C pendant 7 jours.

Les boîtes de Pétrie présentant des zones d'inhibitions au tour des disques bactériens déposés au centre des boîtes sont considérées comme des résultats positifs.

I.4. Evaluation de pouvoir antifongique des extraits par la méthode des puits

Il est à noter que l'extrait contenant les métabolites secondaires de la souche KX2 est obtenu de la part du DSMZ (HZI-Allemagne) après fermentation de l'isolat dans le milieu 9452.

I.4.1. Préparation des suspensions fongique

Les inocula fongiques sont préparés de la même façon que pour l'évaluation directe de l'activité antifongique de la souche KX2

I.4.2. Préparation de la gamme de concentration et inoculation des boites de pétrie

Pour chaque souche fongique, les suspensions fongiques sontensemencées à l'aider d'écouvillon sur les surfaces des milieux PDA solidifié dans les boites de Pétrie. Le milieu PDA est par la suite perforée au centre de la boite à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur stérile. L'extrait bute de la souche KX2 est injecté dans les puits à raison de 20 et 30µl par puits. Les boites sont incubées à 30°C pendant 5 à 7 jours (**Figure 05**).

L'activité antifongique est mesurée par le rapport entre la surface de la zone de l'inhibition de croissance crée par l'extrait et la surface de la boite entière multipliée par 100. Le résultat obtenu est évalué comme suit :

- 0,1-3% : faible activité antifongique
- 3-8% : activité antifongique moyenne
- Supérieure à 8% : bonne activité antifongique (**Limonciel et al., 2014**)



Figure 05. Evaluation de l'activité antifongique des extraits par la méthode des puits. (Gasem,2021).

I.5. Evaluation de l'activité insecticide des extraits brutes

L'activité insecticide de l'extrait brute d'actinobactérie (KX2) est réalisée selon la méthode décrite par **Chen** et ses collaborateurs (2018) avec quelque modification. Les expériences sont réalisées en présence et en absences des feuilles d'haricot provenant des cultures d'haricot envahies de pucerons.

Tout d'abord, les feuilles sont lavées 3 fois à l'aide d'eau distillé stérile puis laissées séchées à la température ambiante, elles sont par la suite placées dans des boîtes de Pétri (90 x 14 mm) tapissées de papiers filtres humidifiés. Différentes concentrations d'extraits brutes sont préparés en diluant les extraits dans du méthanol. En parallèle, le méthanol est utilisé comme témoin Positif. Par la suite, Les boîtes de Pétri préparées sont pulvérisées avec 1 ml de chaque solution d'extrait préparé, cependant, le contrôle est pulvérisé avec 1 ml de méthanol pur.

Les boîtes sont laissées ouvertes pendant 10 minute à 24°C afin d'évaporer le solvant. Les pucerons sont placés après dans les boîtes de Pétri déjà préparées (à raison de 10 pucerons par boîte). Les boîtes de Pétri sont enfin recouvertes par d'un film de scellement pour réduire l'évaporation et incubées à $25 \pm 1^\circ\text{C}$ (**Figure 06**). Le témoin négatif est préparé par dépôt de 10 pucerons dans une boîte de Pétrie contenant seulement le papier humidifié. (**Chen et al., 2018**).

Afin de calculer les mortalités et les mortalités corrigées, le nombre de pucerons morts doit être enregistré chaque 3 heures jusqu'à l'extinction totale des insectes. La mort des pucerons est confirmée par leur immobilité après avoir touché leurs pieds et leur antenne avec un pinceau.

Les expériences sont réalisées en trois répétitions. La mortalité et la mortalité corrigée sont calculées comme suit :

La mortalité (%) = (Nombre d'insectes mortes / Nombre d'insectes testées) x 100

La mortalité corrigée = (Mortalité liée au traitement - Mortalité du control) / (100 - Mortalité du control) x 100

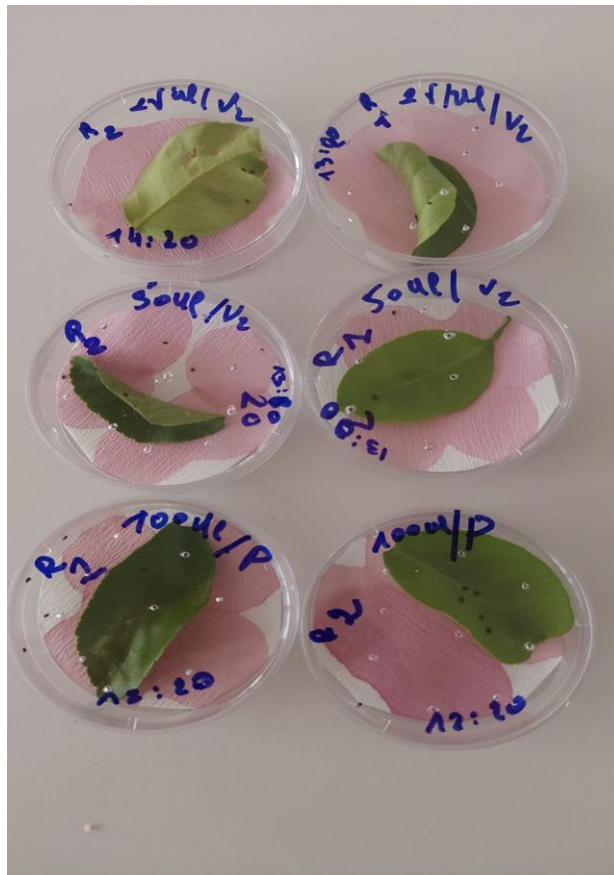


Figure 06. Photo de l'évaluation de l'activité insecticide de l'extrait de la souche KX2

I.6. Evaluation *in vivo* de l'activité antifongique de la souche KX2

I.6.1. Propriétés du sol

Le sol utilisé pour tester l'efficacité de la souche KX2 *in vivo* contre les moisissures toxigènes provient d'un champ agricole de tomates dans la région de Laghouat. Ses caractéristiques physico-chimiques et biologiques étaient :

- pH 7,6
- matière organique totale (1,6%)
- C/N (9,0)
- phosphate (0,07‰)
- potasse (0,3‰)
- CaCO₃ (1,2%)
- numération bactérienne aérobie totale $1,54 \times 10^8$ UFC g⁻¹
- numération fongique totale $3,9 \times 10^4$ UFC g⁻¹.

Le sol est stérilisé trois fois dans un autoclave à 120°C pendant 60 min sur trois jours consécutifs.

I.6.2. Préparation de suspensions microbiennes

Les suspensions d'actinomycètes sont préparées comme décrit dans le protocole de **Goudjal et ses collaborateurs (2014)**. Une solution de Tween-80 (0,05%) est utilisée pour récupérer les spores, la solution est par la suite ajustée à 10^6 UFC ml^{-1} à l'aide de la cellule Thomas.

Les suspensions fongiques testé sont préparées de la même façon que pour les tests antifongique In Vitro.

I.6.3. Enrobage de graines de tomates

Les graines de tomates sont stérilisées en surface en utilisant la méthode de **Coa et al. (2004)**. Les graines stérilisées ont été enrobées par trempage pendant 30 min dans les suspensions de spores d'actinomycètes puis séchées à l'air libre.

I.6.4. Préparation des sols infestés

Des sols stérilisés et non stérilisés sont infestés selon une méthode similaire à celle utilisée par **Dhanasekaran et al. (2005)**. Les sols sont conditionnés dans des pots en plastique (12 cm de haut \times 10 cm de diamètre) et infestés avec 10 ml de suspension d'agents pathogènes. Les pots ont été recouverts d'un film en plastique et incubés pendant une semaine à température ambiante pour favoriser la croissance des agents pathogènes.

I.6.5. Tests de biocontrôle

La sélection des moisissures pour le contrôle biologique *in vivo* est basé sur leurs sensibilités antifongiques *in vitro*. Les expériences sont menées dans des sols stérilisés et non stérilisés. Quatre traitements sont effectués :

- Contrôle négatif : en semant des graines de tomates non enrobées dans des sols non infestés ;
- Contrôle positif : en semant des graines de tomates enrobées dans des sols non infestés pour évaluer la sensibilité variétale
- Semer des graines de tomates non enrobées dans des sols infestés pour évaluer la capacité dévastatrice des moisissures sur les graines
- Semer des graines de tomates enrobées dans des sols infestés pour évaluer la capacité de lutte biologique de la souche KX2 contre les moisissures

Pour chaque traitement, 10 graines de tomates sont semées par pot à 5 mm de la surface du sol, avec 3 répétitions par traitement en utilisant un bloc complet entièrement randomisé. Les cultures de tomates sont cultivées dans des conditions standard dans une salle de culture de plantes

(22-26 °C, 16 h de lumière/8 h d'obscurité). Les pots ont été arrosés quotidiennement avec 10 ml d'eau distillé stérile pour maintenir un niveau d'humidité favorable à la germination des graines.

Après 30 jours, les semis ont été soigneusement retirés du sol et lavés à l'eau du robinet. La gravité de la maladie a été évaluée à l'aide d'une échelle telle que décrite par **Altier et Thies (1995)**.

Résultats et Discussion

II. Résultats et discussion

L'actinomycète utilisée dans cette étude pour évaluer leur activité biologique fait partie de la collection personnelle du Dr Gacem MA, Université de Laghouat (**Figure 07**).



Figure 07. Aspect de la souche KX2 sur différents milieux de culture.

II.1. Résultats obtenus par la méthode de micro-culture

Sur la base de l'observation microscopique de la souche fongique **A** mettant en évidence les têtes conidiennes, unisériées ou bisériées, d'abord radiées, puis réparties en plusieurs colonnes de spores individualisées, jaunâtres au début, puis vert-jaune foncé. Les conidiophores sont verruqueux. Les vésicules sont sub-globuleuses. Les phialides sont insérées directement sur la vésicule ou portées par des métules. Les conidies sont globuleuses à sub-globuleuses, de couleur vert pâle, verruqueuses. Les sclérotés, fréquents dans les isolats récents, sont globuleux à sub-globuleux, d'abord blanc puis virant au brunrouge foncé et au noir. Nous confirmons qu'il s'agit d'*Aspergillus flavus* (**Figure 08**).

L'observation microscopique de la souche fongique **B** permet de distinguer des organisations en pinceau. Le thalle, formé de filaments mycéliens septés et hyalins, porte des conidiophores lisses ou granuleux, simples ou ramifiés qui se terminent par un pénicille. Les conidiophores peuvent être isolés, groupés en faisceaux lâches ou agrégés en corémies bien individualisés. Nous pouvons déduire qu'il s'agit de *Penicillium expansum* (**Figure 08**).

L'observation microscopique de la souche fongique **C** permet de distinguer les têtes conidiennes bisériées, d'abord globuleuses puis se séparent en 2 ou 3 colonnes divergentes, bien individualisées, de couleur jaune, ocre-jaune ou chamois. Les conidiophores sont rugueux, jaunes à brun pâle et longs. Les vésicules sont globuleuses, et hyalines. Les phialides sont portées par des métules, de dimensions variables. Les conidies sont sub-globuleuses à globuleuses. Elles sont finement échinulées ou lisses. Les sclérotés, souvent présents, de couleur lavande à pourpre, sont

globuleux, ovales ou cylindriques. Nous pouvons déduire qu'il s'agit d'*Aspergillus ochraceus*. **(Figure 08)**.

Sur la base de l'observation microscopique de la souche fongique **D** mettant en évidence les microconidies en fusiformes, et courbées. La cellule terminale est longue et pointue. Les chlamydospores, intercalaires, formées par le mycélium rarement dans les conidies, sont globuleuses, hyalines à brun pâle. Nous pouvons déduire qu'il s'agit de *Fusarium avenaceum*. **(Figure 08)**.

Sur la base de l'observation microscopique de la souche fongique **E** mettant en évidence les phialides peuvent s'agréger en sporodochies. Les microconidies sont fusiformes, courbées. La cellule terminale est longue et pointue. Les chlamydospores, intercalaires, formées par le mycélium rarement dans les conidies, sont globuleuses, hyalines à brun pâle. Nous pouvons déduire qu'il s'agit *Fusarium oxysporum .sp. pisi*. **(Figure 08)**.

Souche fongique **F** : cette espèce se caractérise par un thalle vert jaune sombre, floconneux et des colonies granuleuses. Le conidiophore de couleur marron pâle à paroi échinulée. Les têtes unisériées par des vésicules sphériques recouvertes aux trois quarts, donnant des phialides verdâtres portant des conidies sphériques à disposition radiaire. Les sclérotés occasionnellement sphériques sont souvent blanches au début et deviennent noires avec le temps, c'est *Aspergillus parasiticus*. **(Figure 08)**.

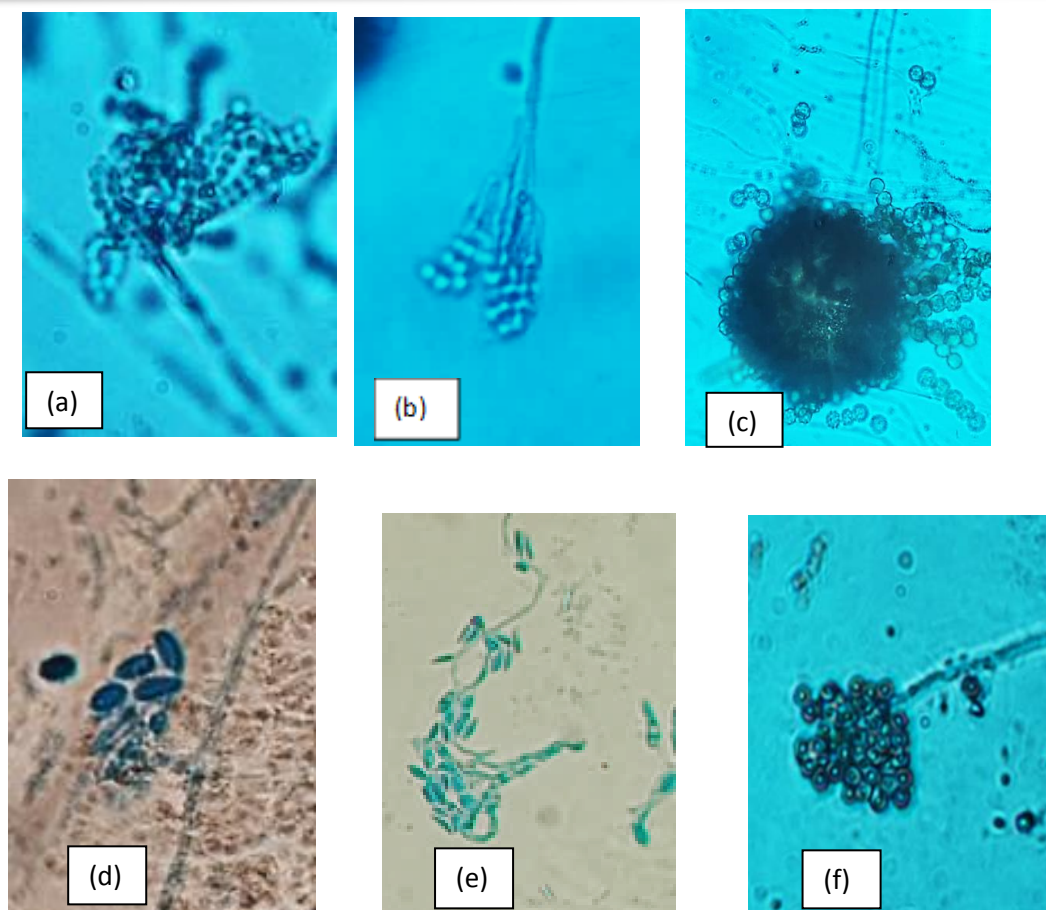



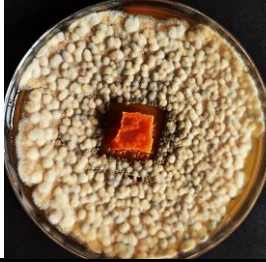
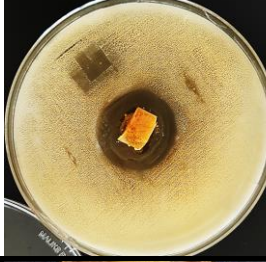


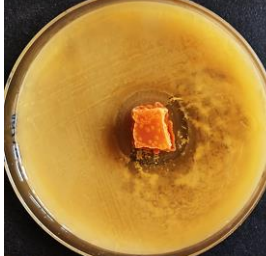
Figure 08. Aspect microscopique des souches fongiques


(a) *Aspergillus flavus*, (b) *Penicillium exopsum*, (c) *Aspergillus ochraceus*, (d) *Fusarium avenaceum*, (e) *Fusarium oxysporum*, (f) *Aspergillus parasiticus*

II.2. Résultat de l'activité antifongique obtenus par la méthode directe (test par cylindre)

Selon les résultats affichés sur le **tableau 10**, la souche KX2 a démontré une forte activité antifongique contre la majorité des moisissures sélectionnées. Sur le milieu GYM de culture utilisée, des zones d'inhibitions remarquables sont obtenues sur les culture fongique d'*Apergillus flavus*, *Penicillium expansum*, *Fusarium lycopersici*, et *Aspergillus ochraceus*. Aucune zone d'inhibition n'est enregistré pour *Fusarium oxysporum .sp pisi*, *Fusarium avenaceum*, et *Aspergillus parasiticus* sur milieu GYM. Ces résultats confirment que la souche KX 2 renferme un bon potentiel antifongique contre les moisissures sélectionnées.


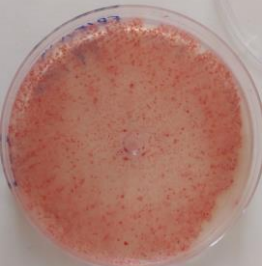
Tableau 10. Activité antifongique enregistrée pour la souche KX2 contre les souches fongiques sélectionnées.

Souche KX2		
Souche fongique	Activité antifongique enregistrée	Photo originale
<i>Fusarium avenaceum</i>	Absence d'activité antifongique	
<i>Penicillium citrinum</i>	Présence d'activité antifongique	
<i>Fusarium lycopersici</i>	Présence d'activité antifongique	
<i>Aspergillus flavus</i>	Présence d'activité antifongique	
<i>Aspergillus parasiticus</i>	Absence d'activité antifongique	
<i>Aspergillus ochraceus</i>	Présence d'activité antifongique	

<i>Fusarium oxysporum</i>	Absence d'activité antifongique	
---------------------------	---------------------------------	---

II.3. Résultats de l'activité antifongique évaluée par la technique des puits

Tableau 11. Résultats de l'activité antifongique des extraits KX2.

20ul		
Souche fongique	Pourcentage de l'activité antifongique	Photo originale
<i>Fusarium oxysporum</i>	33,16 %	
30ul		
<i>Fusarium oxysporum</i>	17,04 %	

Selon les résultats affichés sur le **tableau 11**, à 30 μ l l'extrait brute de la souche KX2 a démontré une remarquable activité antifongique en comparaison à celle obtenue à 20 μ l. *Fusarium oxysporum .sp pisi* était la moisissure la plus sensible avec un pourcentage d'inhibition de 33.16 et 17.04 % à 20 μ l et 30 μ l, respectivement.

Les résultats affichés dans le **tableau 11** affirment clairement que l'activité antifongique est en relation proportionnel avec le volume d'extrait injecté dans les puits.

II.4. Résultats de l'activité insecticides

Selon les résultats affichés dans la figure 9, l'extrait brute de la souche KX2 renferme un excellent potentiel insecticide contre les pucerons noir *Aphis fabae*. Le même tableau affirme que l'activité insecticide est en relation proportionnel avec le volume de l'extrait brute utilisé durant les tests *In vitro*.

A 100µl, un pourcentage de mortalité de 6.67% est enregistré après 9h de traitement, en revanche, 0% est enregistré pour le témoin durant la même durée de traitement. De plus, une mortalité de 100% et de 6.67% sont enregistrés après 36h de traitement pour 100µl d'extrait et pour le témoin, respectivement. Le volume d'extrait brute le plus faible (25µl) utilisé durant ce test a enregistré une mortalité totale après 36h de traitement.

Après 48 heures de traitement, tous les volumes réalisés ont enregistré une mortalité de 100%, en revanche, seulement 36.67% est enregistré pour le témoin ce qui témoigne la potentialité insecticide de cette extrait brute contre le puceron noir.

Il est à noter que durant ces expériences, les pucerons migrent vers le couvercle de boîte Pétri ont s'éloignant progressivement des extraits. Durant les dernières heures qui précèdent l'extinction complète des pucerons, ces derniers ralentissent leur mouvement avant qu'ils ne soient complètement immobilisés, un changement dans leur morphologie et aussi enregistré, en particulier la transformation de leur forme normale en forme sphérique.

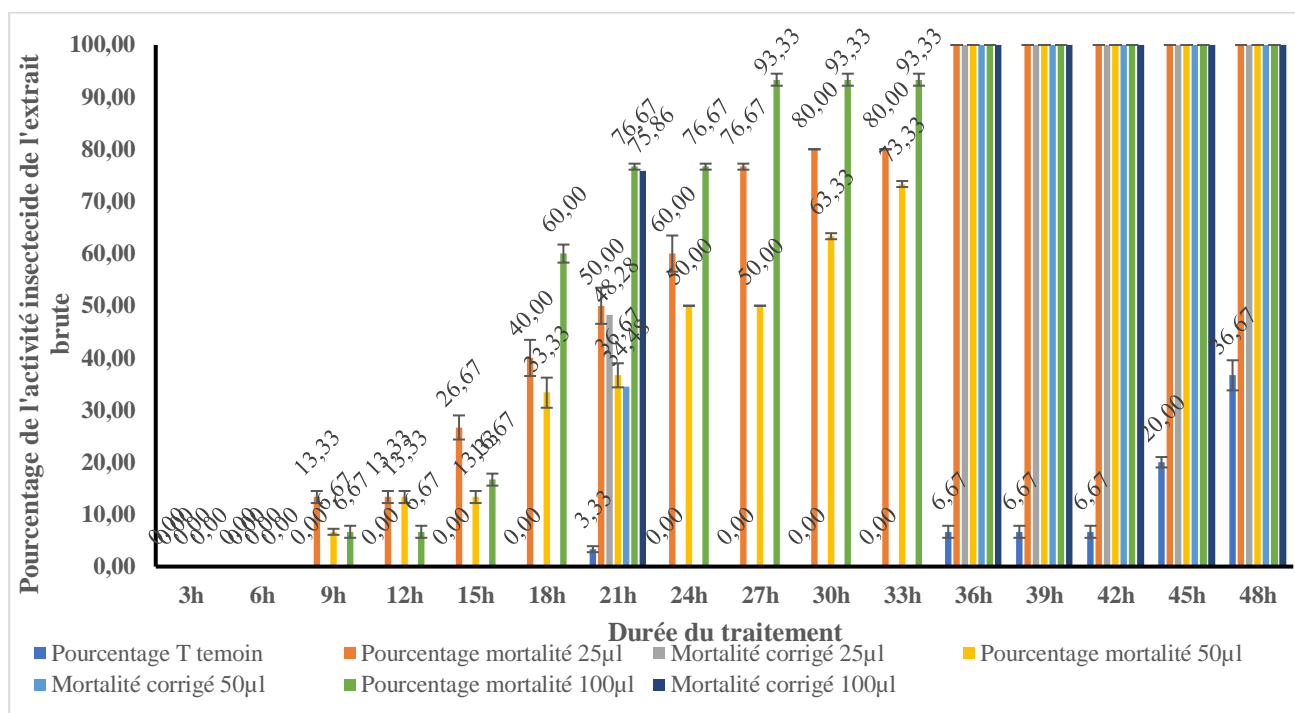


Figure 09. Résultat de l'activité insecticide de l'extrait brute KX2 contre les pucerons obtenus à partir des culture d'haricot.

II.5. Résultats *in vivo* de l'activité antifongique de la souche KX2

Selon les résultats obtenus dans les figures 10, 11, 12 et le tableau 12 la capacité de l'isolat KX2 est évaluée pour contrôler les souches fongiques pathogènes d'*Aspergillus flavus*, *Penicillium expansum*, *Fusarium lycopersici*, et *Aspergillus ochraceus*. Les différentes évidences ont été observées en virulence entre les contrôles (positif et négatif) et les traitements *in vivo* (les traités par les moisissures, les traités par les moisissures plus l'actinomyces).

Un excellent potentiel antifongique contre *Aspergillus flavus*, *Aspergillus ochraceus*, *Penicillium expansum*, à partir de 3ème jours dans le sol stérile traité par l'isolat KX2. En plus un bon potentiel antifongique contre *Aspergillus flavus*, *Fusarium lycopersici*, *Penicillium expansum*, à partir de 7ème jours qui montre la stimulation de la souche KX2 à la germination et la protection des graines de tomate contre les souches fongiques.

Dans le sol stérile traité par les moisissures une excellente potentialité antifongique contre *Aspergillus flavus*, *Penicillium expansum*, *Fusarium lycopersici*, et *Aspergillus ochraceus* à partir de 5ème jours jusqu'à meurtre en 10 -ème jours. En plus un bon potentiel d'activités antifongiques contre *Aspergillus flavus*, *Penicillium expansum*, *Fusarium lycopersici*, et *Aspergillus ochraceus* à partir de 6 -ème jours dans le sol non stérile traité par les moisissures jusqu'à meurtre en 15 jours à cause de l'infection fongique.



Figure 10. Photo du résultat de germination des graines des tomates traitées par souches d'actinomyces KX2 dans le sol stérile

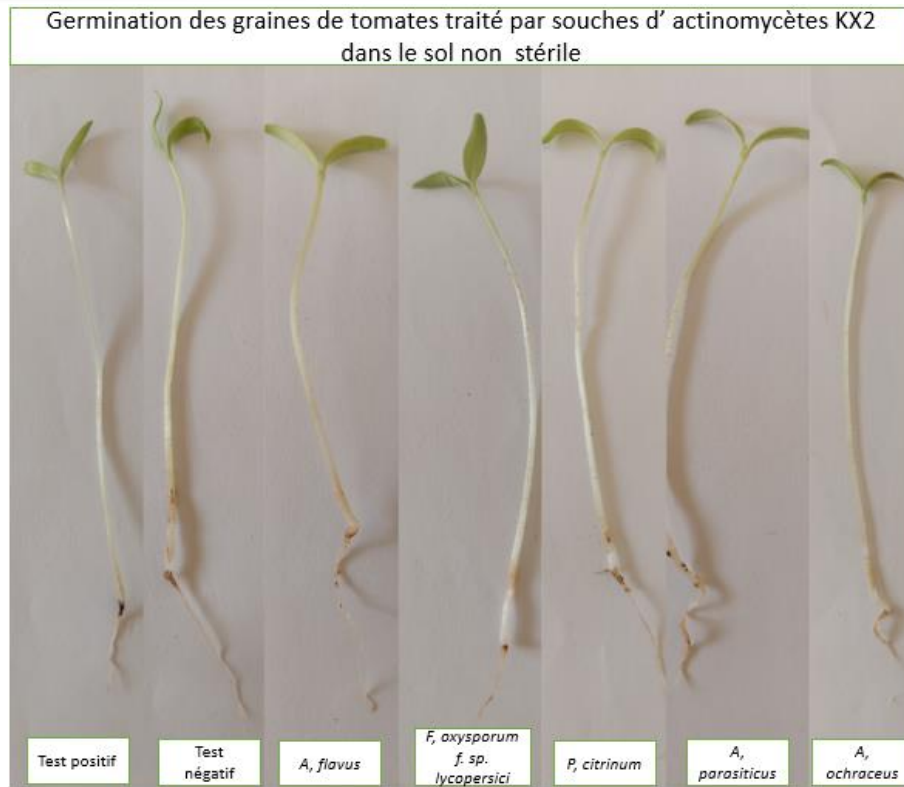


Figure 11. Photo du résultat de germination des graines des tomates traité par souches d'actinomycète KX2 dans le sol non stérile

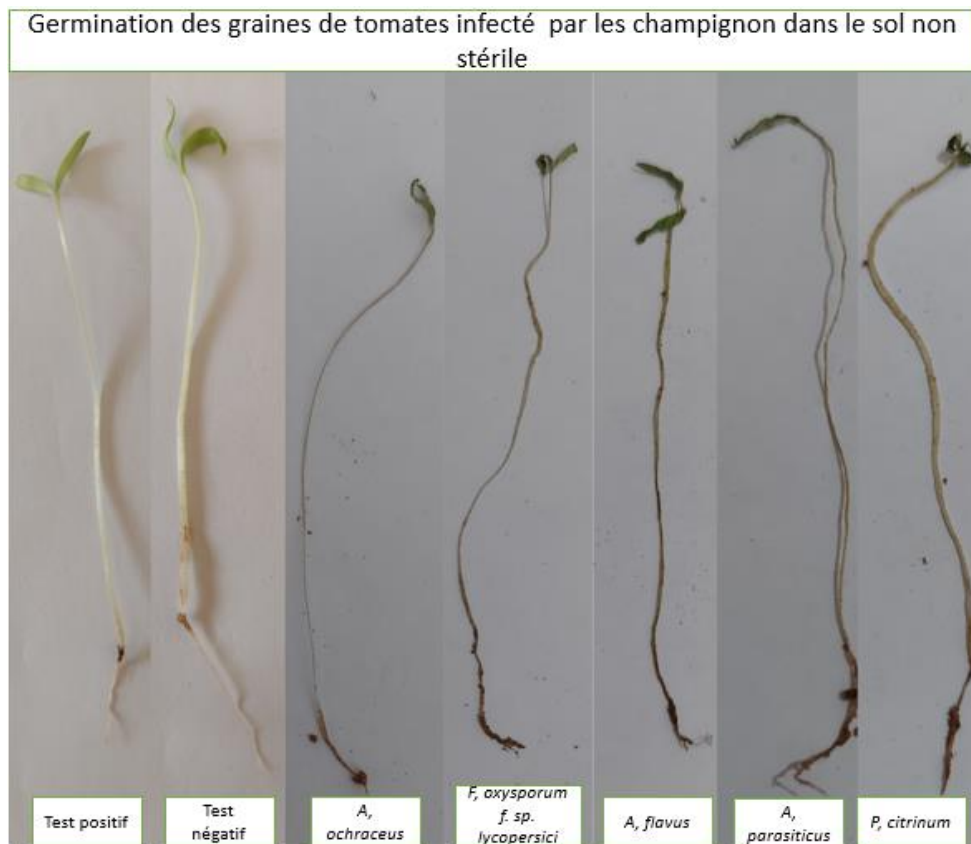


Figure 12. Photo du résultat de germination des graines des tomates infecté par les champignons dans le sol non stérile.

Tableau 12. Résultats de l'activité antifongique in vivo de l'isolat KX2

Etude expérimentale		Sol stérile						Sol non stérile					
		Nombre moyen des	Durée moyenne de la	Longueur moyenne des tiges	Aspects des feuilles	Aspects Des racines	Durée moyenne de la vie	Nombre moyen des	Durée moyenne de la germination des graines	Longueur moyenne des tiges (après 15 jours)	Aspects des feuilles	Aspects des racines	Durée moyenne de la vie de la plante
		graines germées	germination des graines	(après 15 jours)			de la plante	graines germées	germination des graines	(après 15 jours)			de la plante
	Témoin négatif	0,26	4,2	5,75 cm	2 feuilles vert		+15 jours	0,1	4,5	6,19 cm	2 feuilles vert		+15 jours
	Témoin positif	0,4	2,25	9 cm	2 feuilles vert		+15 jours	0,6	3,8	8,33 cm	2 feuilles vert		+15 jours
Tomate traitée par les moisissures	<i>Aspergillus flavus</i>	0,16	3,33	5,4 cm	2 feuilles jaunes et tige fine		10 jours	0,3	4,5	0,33 cm	2 feuilles jaunes et tige fine		15 jours
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,16	1	3,2 cm	2 feuilles jaunes et tige fine		10 jours	0,33	4,75	5,75 cm	2 feuilles jaunes et tige fine		15 jours
	<i>Aspergillus parasiticus</i>												
	<i>Fusarium avenaceum</i>												
	<i>Fusarium oxysporum .sp pisi</i>												
	<i>Fusarium lycopersici</i>	0,16	2	5 cm	2 feuilles jaunes et tige fine		10 jours	0,26	4	6,62 cm	2 feuilles jaunes et tige fine		15 jours
			0,1	5	3,66 cm	2 feuilles jaunes et tige fine		10 jours	0,16	8	6,4 cm	2 feuilles jaunes et tige fine	

	<i>Penicillium expansum</i>												
Tomate traitée par les actinomycètes plus les moisissures	<i>Aspergillus flavus</i>	0,4	2,33	8,33 cm	2 feuilles vert		+ 15 jours	0,06	4,5	7,5 cm	2 feuilles vert		+15 jours
	<i>Aspergillus ochraceus</i>	0,56	1,5	6,85 cm	2 feuilles vert		+ 15 jours	0,2	8	7,58 cm	2 feuilles vert		+15 jours
	<i>Aspergillus parasiticus</i>												
	<i>Fusarium avenaceum</i>												
	<i>Fusarium oxysporum .sp pisi</i>												
	<i>Fusarium lycopersici</i>	0,5	1,33	6,78 cm	2 feuilles vert		+ 15 jours	0,06	6,25	8,25	2 feuilles vert		+15 jours
	<i>Penicillium expansum</i>	0,43	1,33	5, 47 cm	2 feuilles vert		+ 15 jours	0,36	7	6,72 cm	2 feuilles vert		+15 jours

Discussion

Le genre *Streptomyces* fait partie des actinomycètes, ce genre est le plus répandu et le plus étudié. Il a été largement utilisé pour le criblage des agents de lutte biologique contre des maladies phytopathogènes (**Errakhi et al., 2007**).

La souche KX2 appartient au genre *Streptomyces* provient de la collection microbienne par Dr Gacem MA. Cette souche a montré une bonne activité inhibitrice contre quatre espèces fongiques : *Aspergillus flavus*, *Penicillium expansum*, *Aspergillus ochraceus* et *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici*. Une excellente activité antifongique a été enregistrée contre *Fusarium oxysporum* avec un pourcentage d'inhibition de 33.16% et de 17.04 % à 30 µl et 20 µl d'extrait, respectivement. L'analyse de l'activité insecticide des extraits brutes de l'isolat KX2 a montré une extinction totale des pucerons noirs après 36h de traitement à 25µl d'extrait. L'activité antifongique testé *in vivo* a affirmé que l'isolat KX2 possède un pouvoir stimulant de la germination des graines de tomates, il est également capable de protéger les graines germées contre les infections fongiques provoquées.

Les travaux de **Goredema et al., 2020**, ont démontré que les souches *Streptomyces sp* renferment une bonne inhibition de l'espèce *Aspergillus flavus*. **Peng et al (2020) et Faheem et al (2014)** ont évalué l'activité antifongique de deux souches désignées *Streptomyces sp* WP-1 et *Streptomyces goshikiensis*, ils ont rapporté que ces deux souches inhibent la croissance de *Fusarium oxysporum*.

Les extraits des souches *Streptomyces griseorubens* E44G et *Streptomyces amritsarensis* V31 ont enregistré une bonne activité antifongique contre *Fusarium oxysporum f. sp. Lycopersici* et *Fusarium oxysporum* (**Al-Askar et al., 2015 ; shahid et al., 2021**). Selon les résultats obtenus dans le test *in vivo*, les *streptomyces sp* ont une activité inhibitrice contre *Aspergillus flavus*, ce qui permet la germination des graines de tomate. (**martinez et al., 2020**).

D'après **Zaho et al (2020)**, les nouveaux composés identifiés à partir de l'espèce *streptomyces sp*.BS-1 ont présenté une forte activité létale contre *aphis gossypii* (puceron noire). En plus, dans les travaux de **Zhang et al (2010)**, plus de 85% de mortalité chez l'*aphis gossypii* a été obtenu par les souches *streptomyces* de (GA) et (PF-2). En addition, les études faites par **Liu et al (2008)** ont confirmé que la souche *Streptomyces sp*. KN-0647 inhibe la croissance des insectes pathogènes testés, tels que *Spodoptera exigua*, *Dendrolimus punctatus*, *Plutella xylostella*, *Aphis glycines* (puceron vert) et *Culex pipiens*

*Conclusion générale
et perspectives*

Conclusion générale

Les actinomycètes sont les micro-organismes abondants dans le sol, ils ont une grande capacité à produire des métabolites secondaires, y compris les antitumoraux, des agents immunosuppresseurs, des antibactériens, des antifongiques, des antiviraux et des biopesticides.

Au cours de notre étude, menée sur l'activité antifongique et insecticide des extraits brutes obtenus après extraction des métabolites secondaire d'une souche d'actinomycète désigné KX₂, le premier objectif identifié fut l'étude de l'activité antifongique *in vitro* sur quelques moisissures toxigènes sélectionnées.

Pour répondre à cet objectif, des tests antifongiques sont réalisés par la technique directe des cylindres et par la technique des puits.

Selon les analyses effectuées, l'actinomycète KX₂ et ses extraits bruts renferment une bonne activité antifongique contre *Apergilus flavus*, *Penicillium expansum*, *Fusarium lycopersici*, et *Aspergillus ochraceus*.

Pour répondre au second objectif évaluant l'activité insecticide des extraits de l'isolat KX₂, des examens insecticides *in vitro* ont été effectués. Ils démontrent que les extraits bruts sont une source privilégiée de molécules biologiquement actives dotées d'une forte activité insecticide.

Pour répondre au troisième objectif évaluant l'activité antifongique de l'isolat KX₂ *in vivo*, des expériences sont réalisées dans des lots contenant des sols stériles et non stériles. Les résultats obtenus affirment clairement que la souche KX₂ possède un pouvoir stimulant la germination des graines de tomates et également capable de protéger les graines germées contre les infections fongiques provoquées.

Perspectives

A l'issue de cette étude et afin d'élucider certains points restés peu claires, il apparaît nécessaire d'effectuer d'autres études approfondies qui se résument dans les points suivants :

- ✓ Identification des substances bioactive des extraits.
- ✓ Etude de l'activité antibactérienne des extraits sur des bactéries et d'autres insectes phytopathogènes.
- ✓ Etude de la toxicité de l'isolat KX₂ et de leurs substances bioactives.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

1. **Al-Askar, A. A., Baka, Z. A., Rashad, Y. M., Ghoneem, K. M., Abdulkhair, W. M., Hafez, E. E., & Shabana, Y. M. (2015).** Evaluation of *Streptomyces griseorubens* E44G for the biocontrol of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*: ultrastructural and cytochemical investigations. *Annals of Microbiology*. Vol 65(4). Pp 1815-1824.
2. **Amorn, W P., Charoenwongsa, W., Williams, C., Crump, M. P., & Apichaisataienchote, B. (2016).** Antibacterial activity of cyclo (L-Pro-L-Tyr) and cyclo (D-Pro-L-Tyr) from *Streptomyces* sp. strain 22-4 against phytopathogenic bacteria. *Natural product research*. Vol 30(17). Pp1980-1983.
3. **AOUAR, L. (2012).** Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Thèse de doctorat. Université Mentouri-Constantine. Pp 45-47.
4. **Aouar, L., Boukelloul, I., Benadjila, A., Medjoudj, H., Zaabat, M. (2019).** *Streptomyces griseus* LAC1 : biocontrôle et propriétés promotrices de la croissance des plantes. *Revue des Bioressources*. Vol (9). Pp 27 -37.
5. **Aouar, L., Lerat, S., Ouffroukh, A., Boulahrouf, A., Beaulieu, C., (2012).** Taxonomic identification of rhizospheric actinobacteria isolated from Algerian semi-arid soil exhibiting antagonistic activities against plant fungal pathogens. *Canadian Journal of Plant Pathology*. Vol (34). Pp 165–176.
6. **Azman, A. S., Othman, I., S Velu, S., Chan, K. G., & Lee, L. H. (2015).** Mangrove rare actinobacteria: taxonomy, natural compound, and discovery of bioactivity. *Frontiers in microbiology*. Vol 6. :856.
7. **Bhatti, AA., Haq, S., Bhat RA. (2017).** Actinomycetes benefaction role in soil and plant health. *Microbial Pathogenesis*. Vol 111. Pp 459-460.
8. **Caravallais, L. C., Dennis, P. G. (2021).** The plant microbiome. *Methodes in molecular biology*. Chap 18. Pp 222.
9. **Chaurasia, A., Meena, BR., Tripathi, AN., Pandey, KK., Rai, AB et Singh, B. (2018).** Actinomycètes : un micro-organisme inexploré pour la promotion de la croissance des plantes et le biocontrôle en cultures maraîchères. *Journal mondial de microbiologie et de biotechnologie*, Vol 34 (9). Pp 1-16.
10. **Chen, J., Liu, H., Xia, Z., Zhao, X., Wu, Y., & An, M. (2019).** Purification and structural analysis of the effective anti-TMV compound ϵ -Poly-L-lysine produced by *Streptomyces ahygroscopicus*. *Molecules*. vol 24(6). Pp 11.
11. **Chen, Y., Shafi, J., Li, M., Fu, D., & Ji, M. (2018).** Insecticidal activity of endophytic actinomycetes isolated from *Azadirachta indica* against *Myzus persicae*. *Archives of Biological Sciences*. Vol 70(2). Pp 349-357.
12. **Chitraselvi, R. P. E. (2018).** Actinomycetes: dependable tool for sustainable agriculture. *Curr. Investig. Agric. Curr. Res.* vol 1. Pp 128-130.
13. **Copping, L.G. and Menn, J.J. (2000).** Biopesticides: A Review of Their Action. *Applications and Efficacy*. *Pest Management Science*. vol 56. Pp 652-657.
14. **Dawn R. D. Bignell, José C. Huguet-Tapia, Madhumita V. Joshi, Gregg S. Pettis & Rosemary Loria. (2010).** "What does it take to be a plant pathogen: genomic insights from *Streptomyces* species." *Antonie van Leeuwenhoek* 98, no. 2. Pp 179-194.

15. **Dhanasekaran, D., & Jiang, Y. (Eds.). (2016).** Actinobacteria: basics and biotechnological applications, «Morphological Identification of Actinobacteria». Chap3. Pp 60-62
16. **Dhanasekaran, D., & Jiang, Y. (Eds.). (2016).** Actinobacteria: basics and biotechnological applications,” Frankia as a Biodegrading Agent. In Actinobacteria”. Chap 11. Pp 272
17. **Dhanasekaran, D., & Jiang, Y. (Eds.). (2016).** Actinobacteria: basics and biotechnological applications,” Hypersaline Actinomycetes and Their Biological. Chap 9. Pp 231-234
18. **Dhanasekaran, D., & Jiang, Y. (Eds.). (2016).** Actinobacteria: basics and biotechnological applications,” An Introduction to Actinobacteria”. Chap 1. Pp 13-28
19. **Dholakiya RN., Kumar R., Mishra A., Mody KH and Jha B. (2017).** Antibacterial and Antioxidant Activities of Novel Actinobacteria Strain Isolated from Gulf of Khambhat, Gujarat. *Frontiers in microbiology*. Vol 8. Pp2420
20. **Doumbou, C., Hamby Salove, M., Crawford, D., Beaulieu, C. (2001).** Actinomycetes, promising tools to control plant diseases and to promote plant growth. *Phytoprotection*. Vol 82. Pp 85-102.
21. **Errakhi, R., Bouteau, F., and Lebrihi,A.(2007).** Evidences of biological control capacities of *Streptomyces* ssp. Against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *World J Microbiol Biotechnol*. Vol 23. Pp 1503-1509.
22. **Eschaoasse, E., Hussennet, C., Bergeron., A., Lebeaux, D. (2017).** Infections respiratoires à bactéries à croissance lente : *Nocardia*, *Actinomyces*, *Rhodococcus*. *Revue des Maladie Respiratoires*. Pp 3-9
23. **Faheem, M., Raza, W., Zhong, W., Nan, Z., Shen, Q., & Xu, Y. (2015).** Evaluation of the biocontrol potential of *Streptomyces goshikiensis* YCXU against *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*. *Biological Control*. Vol 81. Pp 101-110.
24. **Gacem, M, A. (2021).** Screening phytochimique et activités biologiques des substances bioactives de plantes médicinales et d’actinobactéries prélevées des sols algériens. Thèse de doctorat. Université Kasdi Merbah ouargla. Pp 186-191
25. **Gacem, M. A., Ould-El-Hadj-Khelil, A., Abd-Elsalam, K. A., & Wink, J. (2021).** Actinobacteria in the Algerian Sahara: Diversity, adaptation mechanism and special unexploited biotopes for the isolation of novel rare taxa. *Biologia*, Pp 1-13.
26. **Gadelhak, G. G., El-Tarabily, K. A., & Al-Kaabi, F. K. (2005).** Insect control using chitinolytic soil actinomycetes as biocontrol agents. *Int J Agri Biol*. vol 7(4). Pp 627-628.
27. **Gomes, E. D. B., Dias, L. R. L., & Rita de Cassia, M. (2018).** Actinomycetes bioactive compounds: Biological control of fungi and phytopathogenic insect. *African Journal of Biotechnology*. vol 17(17), 554-555.
28. **Goudjal, Y., Toumatia, O., Yekkour, A., Sabaou, N., Mathieu, F., & Zitouni, A. (2014).** Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off and promotion of tomato plant growth by endophytic actinomycetes isolated from native plants of Algerian Sahara. *Microbiological research*. Vol 169(1). Pp 59-65.
29. **Harir. M. (2018).** Caractérisation des molécules bioactives produites par des souches d’actinobactéries isolées des sols arides et semi arides d’Algérie. Thèse de Doctorat. Université Oran 1, Ahmed Benbella. Pp 04

30. **Hotam S, Chaudhary., Jayprakash Yadav., Anju R, Shrivastava., Smriti Singh., Anil K, Singh., Natrajan Gopalan. (2013).** Antibacterial activity of actinomycetes isolated from different soil samples of Sheopur (A city of central India). *Journal of Advanced Pharmaceutical Technology & Research*. Vol 4. Pp 118
31. **Javed, Z., Tripathi, G. D., Mishra, M., & Dashora, K. (2020).** Actinomycetes–The microbial machinery for the organic-cycling, plant growth, and sustainable soil health. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. Pp 101893.
32. **Kekuda, T. P., Shobha, K. S., & Onkarappa, R. (2010).** Fascinating diversity and potent biological activities of Actinomycete metabolites. *Journal of Pharmacy Research*.vol 3(2). Pp 250-256.
33. **Kekuda, T. P., Shobha, K. S., & Onkarappa, R. (2010).** Fascinating diversity and potent biological activities of Actinomycete metabolites. *Journal of Pharmacy Research*. Vol 3(2). 250-256.
34. **Kitouni Mahmoud. (2007).** Isolement de bactéries actinomycétales productrices d'antibiotiques à partir d'écosystèmes extrêmes. Identification moléculaire des souches actives et caractérisation préliminaire des substances élaborées. Thèse de Doctorat. Université Mentouri, Constantine. Pp 10-14.
35. **Krzeniak, K. J., Mateusiak, A.R., Guspiel, A., Ziemska, J., Solecka, J., (2018).** Secondary metabolites of Actinomycetes and their Antibacterial, Antifangul and antiviral properties. *Polish Journal of Microbiology*. Vol 67(3). Pp 259.
36. **Lamari, L. (2006).** Production de nouveaux antibiotiques du groupe des pyrrothines par une nouvelle espèce d'Actinomycètes, *Saccharothrix algeriensis*. Thèse de Doctorat. Université Tizi Ouzou, Mouloud Mammeri. Pp 186.
37. **Liu, H., Qin, S., Wang, Y., Li, W., & Zhang, J. (2008).** Insecticidal action of Quinomycin A from *Streptomyces* sp. KN-0647, isolated from a forest soil. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. Vol 24(10). Pp 2243-2248.
38. **Ludwig W, Euzéby J, Schumann P et al (2015).** Road map of the phylum Actinobacteria. In: Whitman WB, Rainey F, Kämpfer P et al (eds). *Bergey's manual® of systematic bacteriology*. Wiley, Hoboken, pp 1–37.
39. **Mariat, F. (1962).** Critères de détermination des principales espèces d'Actinomycètes aérobies pathogènes. *Ann. Soc. Belg. Med. Trop*, 4, pp.651-672.
40. **Peng, C., An, D., Ding, W. X., Zhu, Y. X., Ye, L., & Li, J. (2020).** Fungichromin production by *Streptomyces* sp. WP-1, an endophyte from *Pinus dabeshanensis*, and its antifungal activity against *Fusarium oxysporum*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. Vol 104(24). Pp 10437-10449.
41. **Prescott, L. M., Willey, J. M., Sherwood, L. M., & Woolverton, C. J. (2013).** *Microbiologie*. De Boeck Supérieur. 4^{ème} Ed. Pp 572.
42. **Promnuan, Y., Promsai, S., Meelai, S. (2020).** Antimicrobial activity of *Streptomyces* spp. isolated from *Apis dorsata* combs against some phytopathogenic bacteria. *PeerJ*, vol 8. Pp 10512.
43. **Rachniyom, H., Matsumoto, A., Inahashi, Y., Take, A., Takahashi, Y., and Thamchaipenet, A. (2018).** *Actinomodura barringtonia* sp. Nov., an endophytic actinomycete isolated from the roots of *barringtonia acutangula* (L) Gaertn. *International Journal of Systematic And evolutuinary Microbiology*. Vol 68. P1584.

44. **Rakotomalala andrianasolo, H, R. (2017).** Activités biologiques d'Actinomycètes du sol sous baobabs dans les parties ouest et moyen ouest de Madagascar. Thèse de doctorat. Université d'Antananarivo. Pp 36
45. **Selim, M. S. M., Abdelhamid, S. A., & Mohamed, S. S. (2021).** Secondary metabolites and biodiversity of actinomycetes. *Journal of Genetic Engineering and Biotechnology*. Pp 13
46. **Sengupta, S., Pramanik, A., Ghosh, A., & Bhattacharyya, M. (2015).** Antimicrobial activities of actinomycetes isolated from unexplored regions of Sundarbans mangrove ecosystem. *BMC microbiology*, vol 15(1). Pp 6-7.
47. **Shahid, M., Singh, B.N., Verma, S., Choudhary, P., Das, S., Chakdar, H., Murugan, K., Goswami, S, K., Saxena, A, K. (2021).** Bioactive antifungal metabolites produced by *Streptomyces amritsarensis* V31 help to control diverse phytopathogenic fungi. *Braz J Microbiol*. Vol 52. Pp 1690–1697.
48. **Sharma, M., Dangi, P., Choudhary, M. (2014).** Actinomycetes: source, identification, and their Applications. *International journal of current Microbiology and applied sciences*. Vol 03. Pp 822.
49. **Sharma, M., Tarafdar, A., Ghosh, R., & Gopalakrishanan, S. (2017).** Biological control as a tool for eco-friendly management of plant pathogens. In *Advances in Soil Microbiology: Recent Trends and Future Prospects*. Springer. Pp 153-188
50. **Sharma, V., & Salwan, R. (2018).** Biocontrol potential and applications of Actinobacteria in agriculture. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Elsevier. Pp 93-108
51. **Sharma, V., & Salwan, R. (2018).** Biocontrol potential and applications of Actinobacteria in agriculture. In *New and future developments in microbial biotechnology and bioengineering*. Elsevier. Pp. 93-108.
52. **Suty, L. (2010).** La lutte biologique : Vers de nouveaux équilibres écologiques. Dijon cedex : Éducagri éditions. Pp 92-165.
53. **Vurukonda, S. S. K. P., Giovanardi, D., & Stefani, E. (2018).** Plant growth promoting and biocontrol activity of *Streptomyces* spp. as endophytes. *International journal of molecular sciences*. Vol 19(4). Pp 952.
54. **Yoo, Y. J., Kim, H., Park, S. R., & Yoon, Y. J. (2017).** An overview of rapamycin: from discovery to future perspectives. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*. Vol 44(4-5). Pp 537-539.
55. **Zahir, I., Babouchi, M., Boulanour, H., El Louyti, M. (2018).** Effet des microorganismes isolés à partir des biotopes marocains sur les phytopathogènes : Revue bibliographique. *Agrobiologia*. Vol 8(2). Pp 971.
56. **Zhang, X. B., Shi, Y. W., Wang, X. X., Zhang, W., & Lou, K. (2010).** Isolation, identification and insecticidal activity of endophyte from *Achnatherum inebrians*. *Wei sheng wu xue bao= Acta microbiologica Sinica*, 50(4), 530-536.
57. **Zhao, H., Yang, A., Zhang, N., Li, S., Yuan, T., Ding, N., ... & Hu, L. (2020).** Insecticidal endostemonines A–J produced by endophytic *Streptomyces* from *Stemona sessilifolia*. *Journal of agricultural and food chemistry*. Vol 68(6). Pp 1588-1595.

Annexe

Annexe 1 : Les différents milieux de culture utilisés

❖ **Caséine Agar Medium (CSA)**

Amidon	10 g
KNO ₃	2 g
K ₂ HPO ₄	2 g
NaCl	2 g
Caséine	0,30 g
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,05 g
CaCO ₃	0,02 g
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01 g
Agar-Agar	18 g
Eau distillée	1000 ml

❖ **Gélose dextrosée à la pomme de terre (PDA)**

Pomme de terre	200g
Glucose	20g
Agar-Agar	20g
Eau distillée	1000 ml

❖ **Bennett**

Glucose	10g
Peptone pancréatique de caséine	2g
Extrait de levure	1g
Extrait de viande	1g
Agar-Agar	15g
Eau distillée	1000 ml

❖ GYM

Agar-Agar	14g
Extrait de viande	10g
Extrait de levure	4g
CaCO ₃	2g
Glucose	4g
Eau distillée	1000 ml

Annex 2 :

TABLE 10.4
Optical Density (OD) Range and Inoculum Sizes for Common and Uncommon Molds

Species	OD Range (%T) ^a	10 ⁶ CFU/mL Range
<i>A. nidulans</i>	0.09–0.11 (80–82)	1.1–2
<i>A. flavus</i>	0.09–0.11 (80–82)	0.4–4
<i>A. fumigatus</i>	0.09–0.11 (80–82)	0.6–5
<i>A. terreus</i>	0.09–0.11 (80–82)	0.9–5
<i>Bipolaris hawaiiensis</i>	0.2–0.3	0.07–0.4
<i>B. spicifera</i>	0.2–0.3	0.3–3
<i>Cladophialophora bantiana</i>	0.15–0.17 (68–70)	0.4–3.1
<i>Dactylaria constricta</i>	0.15–0.17 (68–70)	0.4–1
<i>Fusarium oxysporum</i>	0.15–0.17 (68–70)	0.8–5
<i>F. solani</i>	0.15–0.17 (68–70)	0.5–5.9
<i>Paecilomyces lilacinus</i>	0.09–0.13	0.8–2.3
<i>P. variorii</i>	0.09–0.11 (80–82)	ND
<i>Scedosporium apiospermum</i>	0.15–0.17	0.4–3.2
<i>R. arrhizus</i>	0.15–0.17	0.4–2.6
<i>S. prolificans</i>	0.15–0.17	0.6–1.7
<i>S. schenckii</i>	0.09–0.11	
<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	0.09–0.11	0.7–2.3
<i>Wangiella dermatitidis</i>	0.15–0.17	1.2–3.7

^a %T = percent transmission.

Based on Refs. 4 and 8.