



République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Amar Thelidji- Laghouat

FACULTE : SCIENCES

DEPARTEMENT : SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par : HOUARI Slimane

DOMAINE : SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE (SNV)

FILIERE : SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION : PROTECTION DES VEGETAUX

Thème

**Effet des biofongicides à base des Actinobactéries dans le
biocontrôle de la pourriture racinaire du blé dur (*Triticum
durum Desf*)**

Jury de soutenance :

Nom et Prénom	qualité
ZAZA. M.	Président
AMARA. Y.	Examineur1
ALLALI. K.	Rapporteur

Promotion : Juane2019

Sommaire

Dédicace	I
Remerciements	II
Résumé	III
	IV
Abstract	V
Liste des tableaux	VI
Liste des figures	VII
Liste des abréviations	IX
Introduction	01
<i>Revue bibliographique</i>	
Chapitre I : Généralités sur le blé dur	02
1. Historique et origine de la culture	02
2. Description générale de la plante (blé dur)	03
2.1. Racines	03
2.2. Tige	03
2.3. Feuilles	03
2.4. Fleurs	03
3. Cycle de développement du blé dur	04
3.1. La période végétative	04
3.2. La période reproductive	04
3.3. La période de maturation	04
4. Importance de la culture du blé dur	05
4.1. Importance du blé dur dans le monde	05
4.2. Importance du blé dur en Algérie	06
5. Les contraintes de la production du blé dur en Algérie	06
5.1. Contraintes abiotique (pédoclimatiques)	06
5.2. Contraintes biotiques	07
5.2.1. Les bioagresseurs animaux	07
✓ Les oiseaux	07
✓ Les nématodes	07
✓ Les insectes	07
✓ Les rongeurs	08
5.2.2. Les maladies phytopathogènes	08
Chapitre 2 : Agent causal de la pourriture racinaire : <i>Bipolaris sorokiniana</i>	10
1. La pourriture racinaire du blé dur	10
2. Agent causal : <i>Bipolaris sorokiniana</i>	10
2.1. Historique et répartition géographique	10
2.2. Taxonomie	12
2.3. Sources d'inoculum	12
2.4. Cycle biologique	12
2.5. Principaux symptômes provoqués par <i>B. sorokiniana</i>	13
2.6. Méthodes de lutte	14
2.6.1. La Lutte culturale	14
2.6.2. La Lutte génétique	14
2.6.3. La Lutte chimique	15
2.6.4. La Lutte biologique	15
Chapitre 3 : Les Actinobactéries	16

Sommaire

1. Historique	16
2. Taxonomie	16
3. Propriétés générales des actinobactéries	16
3.1.Morphologie	16
• Mycélium aérien (MA)	17
• Mycélium du substrat(MS)	17
3.2.Physiologie et écologie	18
4. Cycle de développement	18
5. Intérêt des Actinobactéries	19
5.1. En biotechnologie	19
5.2.En Agronomie	20
6. Mécanismes impliqués dans la biocontrôle et l'effet PGPB	21
6.1.Mécanismes impliqués dans le biocontrôle	21
6.1.1. Production des enzymes lytiques	21
6.1.2. Production des sidérophores	21
6.1.3. Production de l'Acide cyanhydrique (HCN)	22
6.1.4. Mécanisme d'action d'un agent de lutte biologique	22
• Antibois	22
• Compétition	22
• Parasitisme	23
• Diminution l'agressivité du pathogène	23
• Les microorganismes de lutte biologique les plus utilisés	23
6.1.5. Induction des systèmes de résistance de la plante hôte	24
6.2.Mécanismes impliqués dans l'effet PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria)	24
6.2.1. Solubilisation des phosphates inorganiques	24
6.2.2. Production de l'ammoniaque	25
6.2.3. Production des phytohormones	25
7. Exemple de quelque biofongicides à base des Actinobactéries	26
7.1. Actinovate	26
7.2.Mycostop	26

Matériel et méthode

1. Matériel biologique	29
1.1.Matériel végétal	29
1.2.L'agent phytopathogène	29
1.3.Les souches d'Actinobactéries	29
2. Etude quelque mécanismes impliqués dans le biocontrôle	30
2.1.Activité d'antagonisme	30
2.2.production des enzymes lytique	30
2.2.1. production de lipase	30
2.2.2. production des protéase	30
2.2.3. production des cellulase	31
3. Etude quelque mécanismes impliqués dans l'effet PGPB	31
3.1.Production des phytohormones	31
3.1.1. Production de l'acide indol-3-acétique (AIA)	31
4. Formulation des biofongicides et efficacité de biocontrôle et de l'effet	31

Sommaire

PGPB

4.1.Préparation de la suspension bactérienne	31
4.2. inclusion des spores	32
4.2.1. inclusion des spores dans les bills d'alginate de sodium	32
4.2.2. formulation des spores en granulés à épandre	32
4.2.3. formulation des spores en poudre de talc	32
4.3. Application <i>in vivo</i> des biofongicides formulés	33

Résultats et discussion

1. Etude quelque mécanismes impliqués dans le biocontrôle	34
1.1.L'activité d'antagonisme	34
1.2.Production des enzymes lytiques	35
2. Etude quelque mécanismes impliqués dans l'effet PGPB	37
2.1.Production de l'acide indol-3-acétique (AIA)	37
3. Efficacité <i>in vivo</i> des biofongicides formulés	37
3.1.Efficacité de biocontrôle	37
3.2. Effet PGPB des biofongicides	39

Conclusion

Références bibliographiques

42

Dédicaces

*A nom dieu le tout puissant et le très miséricordieux par la grâce duquel
j'ai pu réaliser ce travail que je dédie avec les sentiments de la plus
profonde humilité*

Je dédie ce modeste travail

en premier lieu A mon père (رحمه الله)

Je dédie ce modeste travail à ma chère maman

Je dédie ce modeste travail à mes frères et mes sœurs

A tous les membres de la famille houari

A mon ami lagraa khaled et a tous mes amis

A mes collègues de la promotion de la protection des végétaux 2019

A tous qui me connaisse de près et de loin.

REMERCIEMENTS

*Avant toute chose, nous remercions **DIEU**, tout puissant, maître des cieux et de la terre, qui m'a permis de mener à bien ce travail.*

*Tout d'abord nous tient surtout à adresser nos plus vifs remerciements à mon promoteur **M^{me}. Allali khadidja**. Maître de conférences qui j'a fait l'honneur de réaliser ce travail sous sa direction, pour sa grande patience, pour sa disponibilité et ses conseils judicieux.*

Je tiens également à exprimer mes remerciements à tous les membres du jury, désignés parmi les enseignants du département d'Agronomie, université de Laghouat, d'avoir accepté d'examiner mon travail.

Je remercie encore tous les enseignants qui nous accompagnent durant mon cycle d'étude et les travailleurs de la bibliothèque, et aussi les ingénieurs de laboratoire, pour son patience et son l'aide.

Je remercie toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Un grand merci à tous.

HOUARI Slimane

Titre du mémoire : Effet de biofongicides à base d'actinobactéries sur la pourriture racinaire du blé dur (*Triticum durum* Desf).

Résumé :

L'objectif de notre travail vise l'étude des principaux mécanismes impliqués dans le biocontrôle et l'effet PGPB de huit isolats d'actinobactéries endophytes (isolées de plantes spontanées sahariennes) et rhizosphériques (isolées de sols sahariens) dans le biocontrôle de la pourriture racinaire causée par *Bipolaris sorokiniana* et dans la promotion de la croissance des plantules de blé dur (variété Vitron). La détermination *in vitro* de l'activité antagoniste de ces isolats vis-à-vis de *B. sorokiniana* et des principaux mécanismes impliqués dans le biocontrôle et l'effet PGPB ont permis de sélectionner la souche PT2 appartenant au genre *Streptomyces*, pour un essai d'inclusion des spores sous formes des billes d'alginate de sodium, granulés à épandre et poudre en talc afin de formuler des biofongicides pour voir leurs effets *in vivo* dans le biocontrôle de *B. sorokiniana* et dans la promotion de la croissance des plantules de blé dur en sol stérilisé et non stérilisé et ce en comparaison avec un fongicide systémique (Dividend®) et un biofongicide (Sérénade®). Les résultats obtenus ont indiqué que l'utilisation des biofongicides en poudre de talc à base des spores de la souche PT2 a donné la meilleure efficacité de biocontrôle de l'agent phytopathogène et de l'effet PGPB.

Mots clé : Actinobactéries, Biocontrôle, PGPB, Blé dur, *Bipolaris sorokiniana*, Biofongicide

: تاثير مبيدات الفطر الحيوية المشكلة عن طريق ابواغ الاكتينوبكتيريا

(*Triticum durum* Desf.)

:

يهدف هذا العمل لدراسة الآليات التي تشارك في المكافحة البيولوجية وتأثير PGPBP لثمانية سلالات الاكتينوبكتيريا بعض أنواع النباتات الصحراوية و من اجل تقييم نشاطها المضاد للفطر *Bipolaris sorokiniana* تعزيز نمو نبات القمح الصلب (نوع Vitron) . تبينت القدرة الفائقة للسلالة PT2 في تثبيط نمو الفطر *B. Sorokiniana* الآليات التي تشارك في المكافحة البيولوجية وتأثير PGPBP التي تمت دراسته للسلالات الثمانية وعلى اساسها تم اختيارها ابواغها في حبات ألجينات الصوديوم، حبيبات منتشرة و بودرة التالك لإعداد مضاد فطريات حيوي المضاد للفطر *Bipolaris sorokiniana* وتعزيز نمو نبات القمح الصلب هذا *Dividend*[®] *Sérénade*[®]. اظهرت النتائج ان صياغة ابواغ PT2 على شكل بودرة التالك لها كفاءة في المكافحة البيولوجية وتأثير PGPBP .

مكافح الفطريات *Bipolaris sorokiniana*

الحيوية، PGPB

احية : اكتينوبكتيريا

الحيوي.

Memory title : Effect of biofungicides based on actinobacteria for biocontrol of common root rot of durum wheat (*Triticum durum* Desf.).

Name : HOUARI

First name : SLIMAN

Directed by : Allali khaddja

Abstract :

The objective of this investigation was to evaluate the principal mechanisms involved in the biocontrol and PGPB effect of eight actinobacteria isolated from roots of native plants and soil from Algerian Saharan for biological control of *Bipolaris sorokiniana* and plant-growth-promoting of durum wheat seedlings (cv. Vitron). The determination *in vitro* of their antagonistic activity against *B. sorokiniana* and their principal mechanisms involved in the biocontrol and PGPB effect have allowed to selected the actinobacterial strain PT2 belonged to the genus *Streptomyces*, for spores inclusion in the form of sodium alginate beads, spreading granules and talcum powder in the order to formulate a biofungicide for biological control essay in sterilized and non-sterilized soil in comparison with chemical treatment (Difeconazole[®]) and biofungicide (Serenade[®]). The PT2 spores formulated in powder talc biofungicide showed the highest biocontrol efficacy and PGPB effect.

Keywords: Actinobacteria, Biocontrol, PGPB, Durum wheat, *Bipolaris sorokiniana*, Biofungicide.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Les principales maladies fongiques du blé dur.	09
Tableau 02. Origine d'isolement des souches d'actinobactéries	30
Tableau 03. Activité d'antagonisme des souches d'actinobactéries testées.	34
Tableau 04. Production des enzymes lytiques par les souches actinobactéries étudiées.	36

Liste des figures

Figure01 : Cycle de développement de blé.	05
Figure 02 : Distribution géographique de <i>B. sorokiniana</i> dans le monde.	12
Figure03 : Cycle biologique de <i>Bipolaris sorokiniana</i>	14
Figure 04. Principaux symptômes provoqués par <i>B. sorokiniana</i> . lésions foliaires chez l'orge(A), blé(B), feuille étendard de blé (C), pourriture racinaire (D), pourriture des collets (E), points noirs chez les graines(F), graines saines (G)	15
Figure 05 : Morphologie des hyphes en croissance dans le milieu liquide (A) (Almaris, 2007) et solide (Zermane, 2008) (B).	19
Figure 06: Cycle de développement des <i>Streptomyces</i> sur milieu solide	20
Figure 07. Diverses substances organiques-inorganiques produites par les bactéries responsables de la solubilisation du phosphate dans le sol	26
Figure 08 : Rôles de l'AIA dans l'amélioration de la croissance des plantes	27
Figure 09: Activité antagoniste de la souche PT2 contre les trois champignons cibles	35
Figure 10 : Mise en évidence de la production de l'AIA en milieu solide	37
Figure 11 : Incidence de la pourriture racinaire du blé dur causée par <i>B. sorokiniana</i> après 30 jours en culture <i>in vivo</i> .	38
Figure 12: Effet des biofongicides formulés à base de spores de <i>Streptomyces</i> sp. PT2 sur la promotion de la longueur des plantules (A), la longueur racinaire (B) et le poids sec (D) des plantules de blé dur <i>cv.</i> Vitron cultivées en sol stérilisé ou en sol non stérilisé.	40

Liste Des Abréviation

% Pourcent

AG3 Acide gibbérellique 3

AIA Acide indole-3-acétique

AIM Medal Iron Poor (Milieu pauvre en fer).

ANOVA Analyse de variance

°C Degrés Celsius

Ca₃(PO₄)₂ Phosphates tricalciques

CaCl₂ Chlorure de calcium

Fe(PO₄) Phosphates ferriques Fe³⁺+Chlorure de fer

HCN Acide cyanhydrique

ISP2 International Streptomyces Project 2

ISP9 International Streptomyces Project 9

Kg Kilogramme

MA Mycélium aérien

MT Million de tonnes

Mm Millimètre

MI Millilitre

MS Mycélium

nm Nanomètre

PDA Potato dextrose agar

PGPB Plant growth-promoting bacteria

SMA Skim Milk Agar

UFC g Unité formant colonie par gramme YT Yeast extract-Tryptone

Introduction

Les produits céréaliers constituent la base de l'alimentation humaine dans la plupart des pays du monde, du fait qu'ils apportent la plus grande part des Protéines de la ration alimentaire. Ils fournissent 57 % de protéines consommées contre 23 % apportées par les tubercules et les légumineuses ainsi que 20 % par les produits d'origine animale (GODON, 1995). Cette filière occupe une place très importante dans l'économie algérienne car l'Algérie appartient au groupe des plus gros importateurs de blé dans le monde. En 2013 et 2015 la production du blé en Algérie est de 19 millions de quintaux, réparti entre blé dur (70%) et blé tendre (30%). Avec une importance variable interannuelle (Djaouti, 2010)

Au cours de sa croissance, le blé peut-être soumis à un certain nombre d'agressions de natures diverses, du semis jusqu'à la récolte. De nombreuses attaques parasitaires par une gamme assez large de ravageurs, de maladies fongiques, en affectant des pertes remarquables en rendement. Parmi les agents phytopathogènes qui causent beaucoup de dégâts aux cultures, les champignons responsables de la pourriture racinaire telles que *Bipolaris sorokiniana* sp (singh *et al.*, 1994). Les engrais chimiques sont largement utilisés en agriculture pour toutes les cultures. Malgré cela, ces fertilisants chimiques possèdent des effets néfastes sur l'environnement et la santé humaine. Face à ces inconvénients, il est nécessaire de trouver une alternative qui permet d'améliorer la production des cultures et qui ne présente pas des effets néfastes sur l'environnement ou sur les êtres vivants. Les biofertilisants ou à base des microorganismes rizosphériques sont considérés comme une efficace alternative en agriculture. Parmi ces microorganismes, on peut citer les *Pseudomonas* sp et les actinobactéries (Benitez *et al.*, 2004, Compant *et al.*, 2005).

A cet égard, l'objectif de ce travail est d'étudier quelques mécanismes impliqués dans le biocontrôle et dans l'effet PGPB de huit souches d'actinobactéries et sélectionner la souche la plus performante pour une formulation en biofongicide et évaluer leur potentiel dans des essais de biocontrôle contre *Bipolaris sorokiniana*, l'agent causal de la pourriture racinaire de blé dur.

Chapitre 1 : Généralités sur le blé dur

1. Historique et origine de la culture

La culture des céréales est très ancienne, puisque l'on constate les traces de blé, de seigle dès le néolithique et la plupart des civilisations se sont développées autour de la culture d'une céréale (Bonjean et Picard, 1991). En Algérie, les travaux de Laumont s'appuyant sur l'archéologie, l'histoire et la phylogénie indiquent que les céréales ont dû être cultivées depuis fort longtemps, ce qui a permis aux agriculteurs d'en faire un usage alimentaire traditionnel (Benbelaid, 1991). L'aire d'origine des blés est le proche Orient, dans la zone dite du Croissant fertile, l'Iraq, la Syrie et la Turquie (Baldy, 1986). La diffusion du blé vers l'Europe, l'Asie et l'Afrique du Nord est très ancienne.

Le blé dur est une monocotylédone de la famille des graminées. La classification du Genre *Triticum* a connu plusieurs controverses. Le nombre exact d'espèces du genre *Triticum* n'est pas définitivement déterminé puisqu'il existe de nombreuses propositions de Classification dont les unes considèrent certains taxons comme des espèces, alors que les autres les considèrent comme des sous-espèces (Khalighi et al., 2008). D'après Feillet (2000), ces espèces se différencient par leur degré de ploïdie (blés diploïdes : génome AA ; blés tétraploïdes : génomes AA et BB ; blés hexaploïdes : génomes AA, BB et DD) et par leur nombre de chromosomes (14, 28 ou 42). La nature polyploïde du génome des blés aurait également contribué au succès de leur domestication (Dubcovsky et Dvorak, 2007). Le blé dur est classé selon Prats (1960) :

- Embranchement : Angiospermes
- Sous embranchement : Spermaphytes
- Classe : Monocotylédones
- Ordre : Glumiflorales
- Super ordre : Comméliniflorales
- Famille : *Gramineae (Poaceae)*
- Tribu : *Triticeae*
- Sous tribu : *Triticinae*
- Genre : *Triticum*
- Espèce : *Triticum durum*
-

2. Description générale de la plante (blé dur)

2.1. Racines

Le blé dur dispose de deux systèmes racinaires successifs. Un système racinaire primaire ou séminale, fonctionnel dès la germination. Il ne se forme en général que de 6 racines séminales (Monneveux, 1992), et d'un système racinaire secondaire ou racines adventices, de type fasciculé, qui apparaît au tallage et se substitue progressivement au précédent. Le nombre de racines est d'autant plus important que la phase de tallage est plus longue. Très actives jusqu'à la floraison, les racines adventices rentrent ensuite en sénescence (Boulal *et al.*, 2007).

2.2. Tige Sur la partie aérienne, on distingue une tige principale appelée le maître brun cylindrique, lisse, plus ou moins creuse et des tiges secondaires appelées talles qui naissent à la base de la plante (Boulal *et al.*, 2007).

2.3. Feuilles Les feuilles sont alternes, distiques, simples et entières, avec une gaine arrondie (Belay, 2006). Chaque feuille prend naissance à l'aisselle d'un nœud. La feuille du blé se compose de quatre parties : la gaine, les stipules ou oreillettes, la ligule et le limbe (Boulal *et al.*, 2007). Le limbe est linéaire à nervures parallèles, plat et légèrement poilu (Belay, 2006).

L'appareil reproducteur (l'inflorescence) est un épi muni d'un rachis portant des épillets séparés par de courts entre-nœuds (Bozzini, 1988). Chaque épillet est une petite grappe de une à cinq fleurs bisexuées (Boulal *et al.*, 2007). Chaque fleur peut produire un fruit à une seule graine (Bozzini, 1988). Vitreux de couleur ambrée, le grain de blé dur est le plus dur de tous les blés, fruit sec et indéhiscent (caryopse), Il a un aspect ovoïde et allongé, muni d'un sillon central sur l'une des faces (Belay, 2006).

2.4. Fleurs

Le blé est une plante autogame, les fleurs sont petites et sans couleur vive. Chaque fleur est enfermée entre deux bractées appelées "glumelles" dont se compose d'un corps et d'un bec, séparés par un étranglement ou col. On trouve dans chaque fleur : 3 étamines à filet long et grêle portant des anthères en forme de X, un ovaire à une loge contenant un seul ovule. Deux stigmates plumeux surmontant l'ovaire et Deux glumellules, ou petites écailles qui se trouvent à la base de l'ovaire. (Hubert, 1998).

3. Cycle de développement du blé dur

Le blé dur (*T. durum* Desf.) est une graminée annuelle de hauteur moyenne (Bozzini, 1988). Le cycle biologique de développement de blé dur s'élabore en trois périodes successives: végétative, reproductives et maturation.

3.1. La période végétative

Elle débute par la germination qui correspond à une activation métabolique de l'embryon décelable par les échanges respiratoires de la graine. C'est un processus préparatoire à l'élongation de la radicule et du coléoptile (Boyeldieu, 1999). La levée est définie par l'apparition de la première feuille qui traverse la coléoptile. Le stade début tallage est repéré dès que la plante possède trois à quatre feuilles et une tige sur le maître brin à l'aisselle de la feuille la plus âgée (Gate, 1995)

3.2. La période reproductive

La période reproductrice se caractérise par la formation et la croissance de l'épi. Elle s'étend du stade épi-1cm, montaison, au stade de la floraison. La montaison débute à la fin du tallage. Elle se distingue par l'allongement des entre-nœuds et la différenciation des pièces florales (Grandcourt et Prats, 1971). Le stade de l'épiaison-floraison se réalise au stade méiose pollinique, la gaine de la dernière feuille s'écarte progressivement suite à l'allongement des derniers entre-nœuds de la tige, la gaine s'éclate et le sommet de l'épi sort de la dernière gaine (Gate, 1995).

3.3. La période de maturation

A ce stade, l'élongation du dernier entre-nœud assure l'élévation de l'épi au-dessus de la dernière feuille. Le stade gonflement du grain est marqué par une photosynthèse intense pour l'élaboration des substances de réserve, l'amidon qui migre vers l'albumen du grain qui grossit tandis que l'embryon se forme. Cette migration nécessite une circulation d'eau, il peut y avoir échaudage en cas de stress hydrique (Moule, 1998). Le grain subit trois stades, du grain laiteux au pâteux au grain dur. Entre les stades laiteux et pâteux, la quantité d'eau contenue dans le grain est stable, c'est le palier hydrique (Robert *et al.*, 1993).

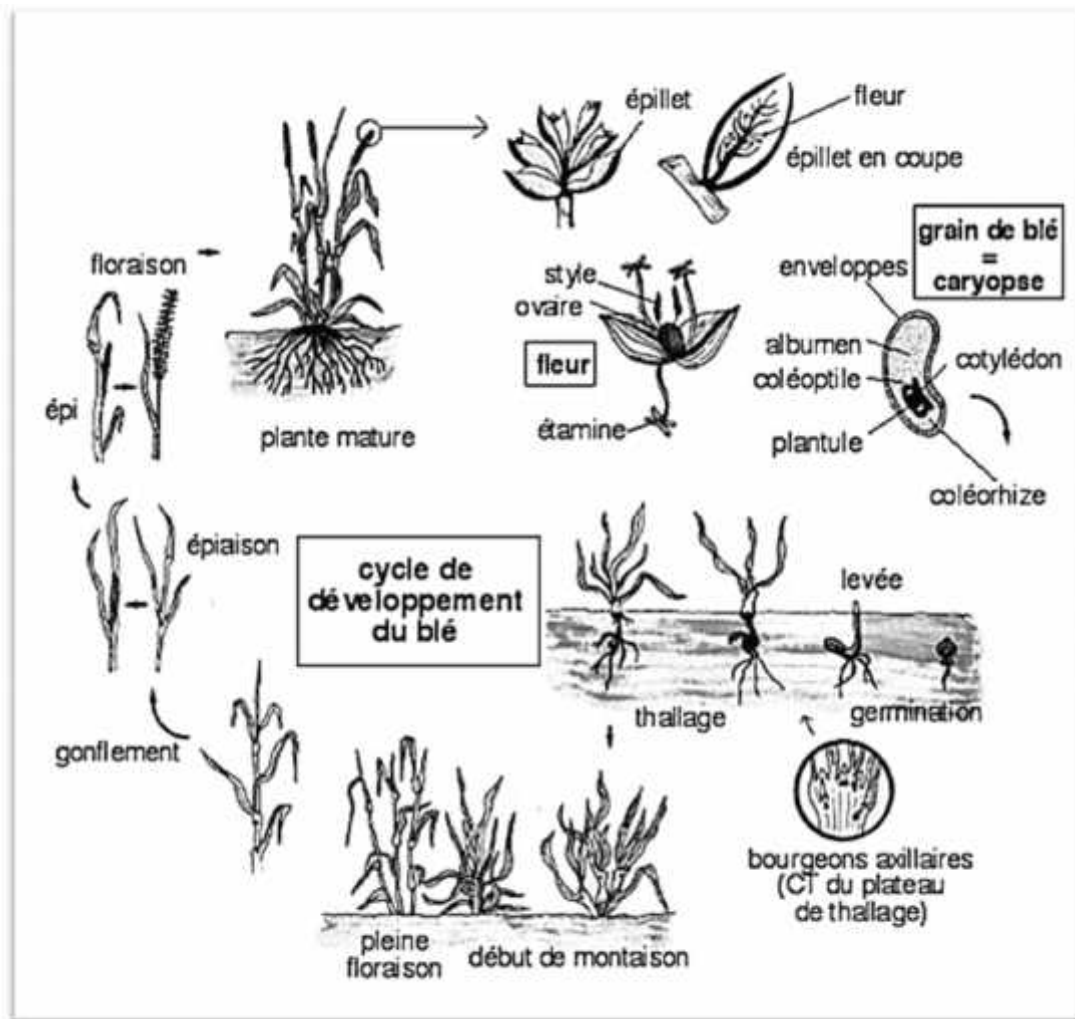


Figure01 : Cycle de développement de blé (Henry *et al.*, 2000).

4. Importance de la culture du blé dur

4.1. Importance du blé dur dans le monde

Les céréales occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole. Elles sont considérées comme une principale source de la nutrition humaine et animale (Slama *et al.*, 2005). La superficie dédiée à la culture de céréales au niveau mondial en 2017 a été estimée par 610 millions d'hectares dont 240 millions d'hectares sont consacrés pour la culture du blé (FAO, 2018).

Les statistiques publiées de la FAO (2018) concernant la production céréalière mondiale en 2017 font état d'un niveau record de 2 640 millions de tonnes (MT). La production de blé dur est de 760 millions de tonnes (FAO, 2018).

4.2. Importance du blé dur en Algérie

En Algérie, la culture des céréales joue un rôle nutritionnel, social et économique (Djermoun, 2009). Durant la période de 2000-2017, la superficie des céréales occupe en moyenne annuelle environ 40% de la Superficie Agricole Utile (SAU), dont la culture de blé dur représente environ 80% de cette superficie (MADR, 2019).

La production nationale réalisée du blé dur au cours de la période 2010-2017 représente environ 50% de la production céréalière du pays qui a été estimée à 41.2 millions de quintaux en moyenne (MADR, 2019). Malgré les énormes progrès enregistrés dans la productivité qui ont permis d'améliorer les variétés et d'assurer une meilleure protection ; les productions céréalières en Algérie demeurent toujours irrégulières et semblent être étroitement liées à un certain nombre de facteurs dont l'un des principaux est d'ordre phytosanitaire (Ouffroukh, 2013).

5. Les contraintes de la production du blé dur en Algérie

5.1. Contraintes abiotique (pédoclimatiques)

Les variations interannuelles de la production céréalière et plus particulièrement du blé dur sont dues principalement aux conditions climatiques qui varient chaque année et qui jouent un rôle dominant sur les fonctions de croissance et de développement (Gate, 1995).

En Algérie quel que soit la zone cultivée, la pluviométrie est un facteur prédominant qui conditionne fortement les récoltes (Feliachi, 2000). Selon Baldy (1974), le déficit est généralement enregistré au moment des seuils critiques (Mars- Avril) compromettrait gravement la production de l'année.

Les gelées printanières et les fortes chaleurs (sirocco) constituent également des phénomènes importants et leurs effets sont particulièrement redoutables au stade de la formation du grain (remplissage) (Riou, 1993 ; Abbassenne *et al.*, 1998 ; Chaker et Brinis, 2004).

Il existe d'autres facteurs limitant liés à des mauvaises propriétés physiques du sol et à une faible fertilité des sols qui pourrait être dérivé à des pratiques culturales inappropriées appliquées depuis plusieurs années (Habtegebrial *et al.*, 2007).

5.2. Contraintes biotiques

5.2.1. Les bioagresseurs animaux

Il s'agit généralement d'oiseaux, de nématodes, d'insectes et de rongeurs, pouvant entraîner des dépréciations plus ou moins importantes sur les cultures (Bakour et Bendifallah, 1990).

✓ Les oiseaux

Les plus redoutables en Algérie sont les moineaux (*Passer*) qui sont des oiseaux de petite taille notant que ces derniers touchent sévèrement les céréales précoces. Borteli (1969), attire l'attention sur le fait qu'un moineau cause une perte réelle sur la récolte de céréales estimée à 300 g de graines ce qui correspond à 150. 000 quintaux sur une population de 50 millions de moineaux. Bellatreche (1985), estime que les pertes sur le blé dur dans la plaine de la Mitidja à 3.4 quintaux/ha. Leurs dégâts peuvent être causés sur champ et même jusqu'au sein d'entrepôts, toutefois leurs attaques sur les champs peuvent être très graves (Bakour et Bendifallah, 1990).

✓ Les nématodes

Un complexe d'au moins 10 espèces de nématodes est inféodé aux céréales (Rivoal *et al.*, 1985). Parmi les plus dangereux, *Heterodera avenae* qui est considéré actuellement comme étant l'espèce la plus dommageable en raison de sa large distribution géographique et ses spécificités (Rivoal *et al.*, 1978). Les prospections menées dans quelques régions d'Algérie ont montré qu'il peut exister un mélange d'espèces de nématodes à Kystes des céréales à savoir (*H. avenae*, *H. latipons* et *H. mani*), *H. avenae* a été découverte pour la première fois à Birtouta, Sidi bel abbés et Ain Defla (Bakour et Bendifallah, 1990).

✓ Les insectes

Les principaux insectes susceptibles de s'attaquer aux céréales sont fort nombreux et appartiennent à divers ordres entomologiques : homoptères (punaises des céréales et les

pucerons), orthoptères (sauterelles et sauteriaux), lépidoptères (mineuses et tordeuses), etc. (Ouffroukh, 2013).

✓ **Les rongeurs**

Selon Bakour et Bendifallah (1990), en Algérie les dégâts sont estimés de 5 à 10% de la production totale des céréales. Les rongeurs appartiennent à deux groupes bien distincts qui sont: les **muridés**, à ce groupe appartiennent le rat noir (*Rattus rattus*), le surmulot (*Rattus novogicus*), le mulot (*Apodemus sylvaticus*) et la mérione des shaw (*Meriones shawi*) et les **microtidés**, ce sont les campagnols.

5.2.2. Les maladies phytopathogènes

Le blé dur, comme toutes les céréales, est menacé par de nombreuses maladies qui peuvent être d'origine bactérienne comme *Xanthomonas* sp. (Leoville et Coleno, 1976), virale comme la mosaïque du blé dur dont les deux agents de la mosaïque sont nommés l'un VMB (virus de la mosaïque du blé) et l'autre VMJB (virus de la mosaïque jaune du blé), tous deux sont transmis par le champignon du sol *Polymyxa graminus* (Hariri, 1999). Il existe également des maladies de blé dur d'origine fongique, ces dernières ont été récapitulées dans le tableau ci-dessous :

Tableau 1 : Les principales maladies fongiques du blé dur.

Nom de la maladie	Agent causal	Symptômes	Références
La rouille brune	<i>Puccinia recondita</i> f.sp. <i>tritici</i>	Petites pustules circulaires ou ovales de couleur orange ou brune apparaissent sur la face supérieure des feuilles.	(Ezzahiri, 2001).
Septoriose	<i>Septoria nodorum</i>	Des taches ovales lenticulaires brunes sur les feuilles, elles peuvent être entourées d'une chlorose ou d'un jaunissement périphérique. Les pycnides sont de couleur brune claire moins apparente que celles provoquées par la septoriose des feuilles.	(Aouali et Douici-Khalfi, 2009).
Helminthosporioses	<i>Pyrenophora tritici-repentis</i> (Died) Drechs	Des taches brunes ovoïdes de 3×5 mm environ, entourées d'un halo chlorosé, ou à bords parallèles entre 2 nervures avec en haut et en bas de la tache un point de chlorose plus clair, la maladie s'étend à partir de semences infectées ou de résidus de récolte.	(Lamari <i>et al.</i> , 2005).
Oidium	<i>Erysiphe graminis</i> f.sp. <i>tritici</i>	Un duvet blanchâtre ou gris pâle sur les limbes des feuilles basales, puis se développent sur les feuilles des étages supérieurs.	(Ezzahiri, 2001).
Pourriture racinaire	<i>Bipolaris sorokiniana</i>	Taches elliptiques, uniformément brun foncé, graines infectée avec des points noirs (voir chapitre suivant).	Kumar <i>et al.</i> , (2002).

Chapitre 2 : Agent causal de la pourriture racinaire : *Bipolaris sorokiniana*

1. La pourriture racinaire du blé dur

La pourriture racinaire ou la pourriture de pied ou encore la pourriture commune, sont des appellations décrivant une même maladie due à différents agents fongiques du genre *Fusarium* (*Fusarium culmorum*, *F. graminearum* et *F. avenaceum*) et *cochliobolus* (*Cochliobolus sativus*). L'importance des dégâts est intimement liée au type de culture, à la région et surtout aux conditions climatiques (El hadj Hammiche, 2013). Les agents pathogènes responsables de la pourriture des racines causent des pertes économiquement importantes dans plusieurs régions céréalières du monde, spécialement dans les zones à pluviométrie faible à moyenne, cas de l'Afrique du Nord. L'infection des racines pendant la période de sécheresse peut provoquer des pertes de rendement avec une diminution de la qualité des grains (El yacoubi *et al.*, 2012). *B. sorokiniana* encore appelé *Helminthosporium sativum*) est l'agent le plus probable et le plus redoutable pour les graminacées, en particulier le blé (Sivanesan, 1990). Cette espèce est la cause d'autres maladies qui touchent l'épi et les feuilles (Chang et Wu, 1998).

2. Agent causal : *Bipolaris sorokiniana*

2.1. Historique et répartition géographique

Bipolaris sorokiniana est une espèce de champignons ascomycètes de la famille des *Pleosporaceae*. Le stade téléomorphe est *Cochliobolus sativus*. Ce champignon parasite de nombreuses céréales chez lesquelles il provoque des maladies du type helminthosporiose (helminthosporiose des céréales ou brûlure des épis des céréales). Les dégâts concernent tant les racines, la tige, les feuilles que les fruits (van Ginkel et Rajaram, 1993).

Dans la littérature plus ancienne, *B. sorokiniana* a été connu sous le nom de *Helminthosporium sorokiniana* (Sivanesan, 1990). Le pathogène *Cochliobolus sativus* est le téléomorph (stade sexuel) de *B. sorokiniana* (anamorph) (Krishnendu *et al.*, 2011). Plusieurs synonymes de l'anamorphe ont été utilisés: *Helminthosporium sorokinianum*, *Drechslera sorokiniana* et *Helminthosporium sativum* (Maraite *et al.*, 1998). Leur mycélium est composé des hyphes cotonneux de couleur blanche à noire grisâtre selon la souche (Kumar *et al.*, 2002). Shoemaker (1959) a proposé le nom générique *Bipolaris* pour les espèces de *Helminthosporium* avec des conidies fusibles, droites, ou courbées germant par un tube de germination dans chaque extrémité (germination bipolaire). Subramanian (1971) a proposé

une clé d'identification des espèces de *Bipolaris*, dont la forme des conidiophore et des conidiospores représente le principal critère de d'identification de *B. sorokiniana*. *B. sorokiniana* est caractérisé par des colonies noires foncées dues à la présence de mélanine à paroi épaisse, la forme des conidies est ovale (60-120 μm \times 12-20 μm) avec cinq à neuf cellules (Bashyal *et al.*, 2010).

Au Brésil, Reis (1991) a suggéré que, pour les épidémies de mildiou foliaires de se produire, les feuilles de blé doivent rester humide pendant > 18 h à une température moyenne de 18°C ou plus. Modéré à des températures chaudes (18°C à 32°C) favorise la croissance de *B. sorokiniana*. En Asie, Nema et Joshi (1973) et Singh *et al.*, (1998) ont rapporté que l'infection était plus rapide et plus sévère à 28°C qu'à des températures plus basses. L'aire sous la maladie valeurs de la courbe de progression (AUDPC), réalisée lors de la 26e Novembre 2002 au 26 Décembre 2003 pour le calcul de l'étude épidémiologique de la maladie le développement, a augmenté de manière significative en fonction de l'époque des semis (Duveiller *et al.*, 2005).

Cependant, il est également l'instigateur progressivement de graves inquiétudes parmi les endroits avec irriguées, faibles précipitations et des conditions de croissance tempérées (van Ginkel et Rajaram, 1993 ; CIMMYT, 1995). À l'échelle mondiale, on estime que 25 millions d'hectares de blé terres cultivées sont affectées par la maladie helminthosporiose (van Ginkel et Rajaram, 1998).

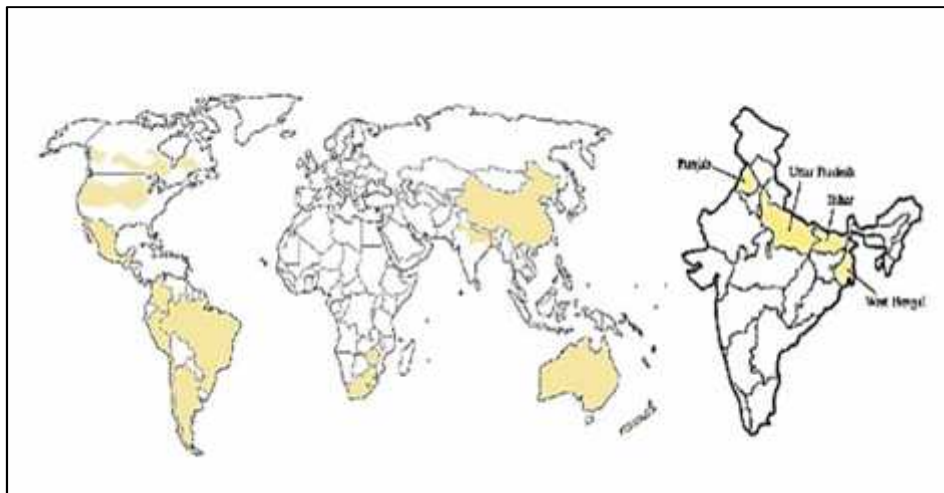


Figure 02 : Distribution géographique de *B. sorokiniana* dans le monde.

2.2. Taxonomie

Selon Acharya *et al.* (2011), la classification de *B. sorokiniana* après la découverte du stade sexué (*C. sativus*) est la suivante :

Règne: *Fungi*

Division: Ascomycotina,

Classe: Loculoascomycetes

Sous-classe: *Agaricomycetidae*

Ordre: Pleosporales

Famille: Pleosporaceae

Genre: *Bipolaris*

Espèce: *Bipolaris sorokiniana*.

2.3. Sources d'inoculum

Les sources d'inoculum de *B. sorokiniana* dans la nature sont les graines infectées, les résidus de culture infectés, les hôtes secondaires et les conidies dormantes dans le sol qui sont disséminées par le vent, la pluie ou l'eau d'arrosage, etc. (Dours, 2017).

2.4. Cycle biologique

B. sorokiniana est un saprophyte qui peut survivre primitivement sous forme de conidies bruns-noires (Acharay *et al.*, 2011). La phase sexuée 'étape sexuelle n'est pas importante dedans le cycle de la maladie. Le pathogène héberge à la fois sous forme de conidies à l'extérieur et sous forme de mycélium à l'intérieur des semences, des résidus de culture et sous formes des conidies dormantes libres dans le sol (Reis, 1991). Selon Shaner (1981), lors de la germination des semences infectées, l'agent causal devient actif, c'est le point de départ de la maladie. Il germe complètement en quatre heures, puis les hyphes à l'intérieure de cellules infectées passent immédiatement et se répartissent dans toutes les cellules adjacentes pendant 24 heures ce qui provoque la granularisation du cytoplasme de la cellule hôte (Bisen et Channy, 1983). Le champignon se transmet plus tard vers la coléoptile avec une efficacité atteignant jusqu'à 87% (Reis et Forcelini, 1993). Le développement maximal des symptômes apparaît quand les feuilles restent humide plus que 18 heures avec une température dépassant 18°C (Couture et Sutton, 1978).

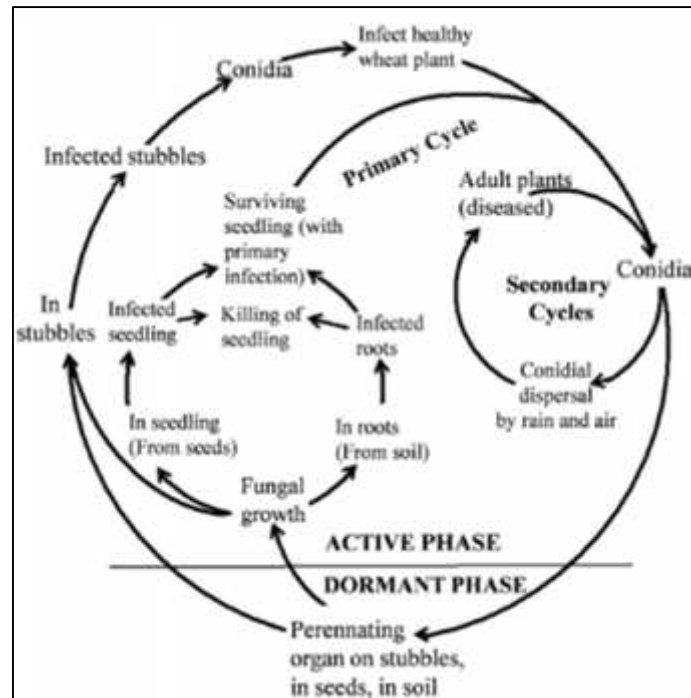


Figure03 : Cycle biologique de *Bipolaris sorokiniana*.

2.5. Principaux symptômes provoqués par *B. sorokiniana*

B. sorokiniana peut entraîner de nombreux symptômes selon l'organe ou l'espèce attaqués. au niveau des feuilles, les symptômes sont des taches elliptiques, uniformément brun foncé, 2 à 10 mm de longueur et pouvant être bordées d'un halo jaune, les taches peuvent s'allonger et être délimitées par les nervures mais les lésions n'auront jamais l'apparence de longues stries étroites comme la rayure réticulée (Lacroix, 2002) à un stade précoce de l'infection, les lésions foliaires avaient une longueur de 1-2 mm ; plus tard ces lésions s'étendent rapidement et peuvent atteindre quelques centimètres (Acharya *et al.*, 2011). Si les conditions climatiques sont favorables, les lésions s'unissent en formant de large nécroses et induisent un dessèchement prématuré de la plante hôte et le rendement grain est alors réduit considérablement (Mathre, 1987). La pourriture des racines et des collets et l'infection des grains au niveau du germe qui est connue de « Black points » ou points noirs sont également les principaux symptômes de *B. sorokiniana* (Kumar *et al.*, 2002) (Figure 4).

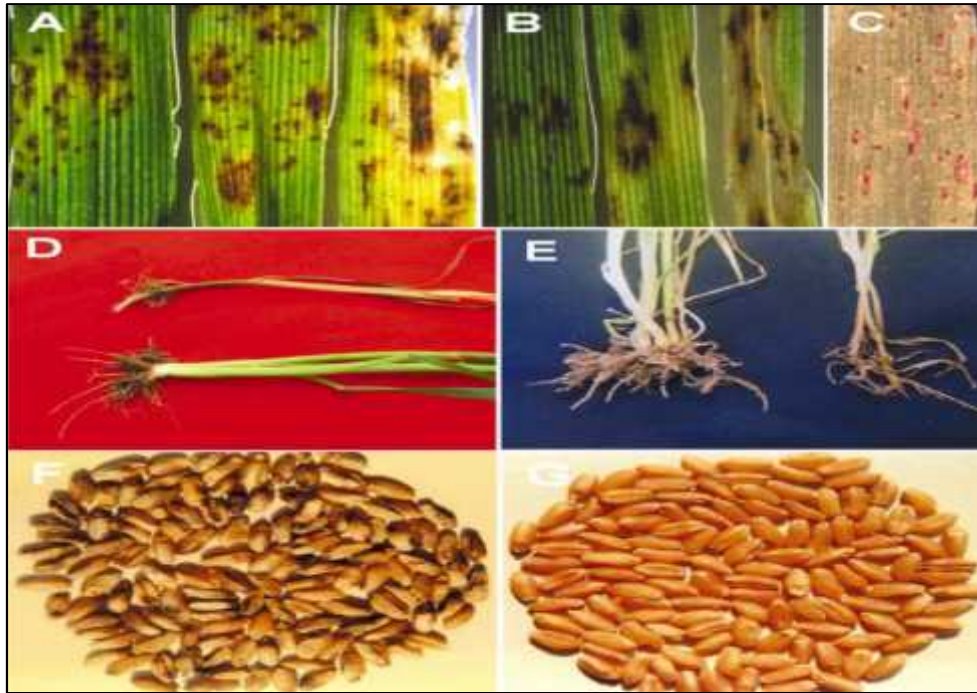


Figure 04. Principaux symptômes provoqués par *B. sorokiniana*. lésions foliaires chez l'orge(A), blé(B), feuille étendard de blé (C), pourriture racinaire (D), pourriture des collets (E), points noirs chez les graines(F), graines saines (G) (Kumar *et al.*, 2002).

2.6. Méthodes de lutte

2.6.1. La lutte culturale

Cette lutte vise à limiter l'accroissement du taux de l'inoculum dans le sol et consiste à :

- ✓ L'utilisation des semences saines (Caron, 2013)
- ✓ L'utilisation de la fumure azotée de façon rationnelle (Maurer *et al.*, 1997).
- ✓ L'élimination des résidus de culture par incinération ou enfouissement profond (DillMacky *et al.*, 2000).
- ✓ La réalisation des rotations culturales ce qui va réduire la densité de l'inoculum (Gilbert et Tekauz, 2000).
- ✓ L'utilisation de la solarisation pour réduire les populations pathogènes et l'incidence de la maladie (Pandy *et al.*, 1996).

2.6.2. La lutte génétique

Pour induire ou améliorer la résistance dans les plantes hôtes à plusieurs pathogènes, la lutte génétique envisage l'utilisation de plantes génétiquement modifiées permettant d'introduire une résistance à une ou plusieurs maladies en exprimant des gènes de défense issus d'autres organismes ou en sur-exprimant les gènes de défenses déjà existants (Gilbert *et al.*, 2006).

2.6.3. La lutte chimique

Les fongicides sont utiles pour protéger les plantes et les semences contre des phyto ravageurs entraînant de graves maladies telluriques, comme la fonte des semis et la pourriture racinaire, de façon directe ou indirecte (Neched, 2015). Les fongicides sont utilisés par enrobage des grains pour détruire les spores infectieuses situées sur la semence, mais des fongicides systémiques sont nécessaires pour atteindre les agents pathogènes qui se logent plus en profondeur dans le grain (Phyto-info Meknès-Tafilalet, 2011). Il est important de souligner le succès des Difenoconazole depuis les années 70 qui possédait en effet des caractéristiques révolutionnaires avec des faibles dosages à l'hectare, un spectre d'action très large (ascomycètes et basidiomycètes), des propriétés inégalées de systémie dans la plante qui lui conférait un fort pouvoir curatif (Giraud, 2018).

2.6.4. La lutte biologique

La lutte biologique a pour principe l'utilisation des agents biologiques capables d'entrer en compétition (antagonisme) avec les agents pathogènes et les ravageurs sans avoir d'activité néfaste sur la plante (Lefort, 2010). Plusieurs microorganismes du sol ont été utilisés pour lutter contre les maladies des plantes (Rahman *et al.*, 2007). Ces microorganismes utilisent différents mécanismes pour lutter contre les agents phytopathogènes du sol, à savoir: l'antibiose, la compétition, le parasitisme et l'induction des mécanismes de résistance chez la plante (Lehr *et al.*, 2008). Une meilleure application d'un agent efficace en lutte biologique nécessite une bonne compréhension des mécanismes qu'il utilise et à les molécules qu'il sécrète pour inhiber les agents phytopathogènes (Alabouvette *et al.*, 1991). Les bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manières bénéfiques la plante en la protégeant contre des infections par les agents phytopathogènes. La pluparts des souches bactériennes exploitées comme biopesticides appartiennent aux genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* et *Agrobacterium* (Haas et Defago, 2005). Salehpour (2005), a également travaillé sur la lutte biologique contre *B. sorokiniana* et les résultats obtenus étaient très intéressants. Des résultats prometteurs obtenus par Neched (2015) et Ouyed (2015) avec des traitements d'éthanol combinés aux ultrasons, mène à la réduction de la contamination par *B. sorokiniana* tout en maintenant la germination des grains.

Chapitre 3 : Les Actinobactéries

1. Historique

Les actinobactéries ont été isolées la première fois par Cohen en 1875 à partir de sources humaines (William *et al.*, 1984). Et c'est en 1943 que Waksman a pu isoler un genre d'actinobactéries à partir de sol. Ce même auteur divise en quatre grandes périodes, l'histoire d'actinobactéries. La première, est celle de la découverte de leur rôle dans la pathologie, et va de 1874 aux années 1890. La seconde période allant de 1900 à 1919 se rapporte à la mise en évidence et l'étude des actinobactéries du sol, avec les travaux de Kaysky, de Cohen, de Waksman et de Curtis. Ensuite, la période de 1919 à 1940 au cours de laquelle, une meilleure connaissance des germes d'été a été acquise grâce aux recherches de Waksman, de Liesken de Krassilinkov, La dernière époque allant de 1940 à ce jour est des antibiotiques produits par les actinobactéries. On peut noter les travaux de professeur SABAOU en Algérie (1980) et ses collaborateurs.

2. Taxonomie

Jusqu'à ces dernières années, les actinobactéries étaient classées dans plus de 50 Familles. Le principal Ordre, celui des Actinomycetales regroupait à lui seul environ 45 familles et près de 290 genres (Kämpfer, 2010).

La classe des *Actinobacteria* est divisée en 5 sous-classes : *Acidimicrobidae*, *Rubrobacteridae*, *Coriobacteridae*, *Sphaerobacteridae* et *Actinobacteridae*. Chacune de ces sous classes est constituée d'un ou de plusieurs ordres eux-mêmes constitués d'une ou de plusieurs familles. Dans la sous-classe des *Actinobacteridae*, l'ordre des *Actinomycetales* est subdivisé en 10 sous-ordre: *Actinomycineae*, *Micrococcinea*, *Corynebacterineae*, *Micromonosporineae*, *Frankinea*, *Propionibacterineae*, *Pseudonocardineae*, *Streptomycineae*, *Streptosporangineae* et *Glycomycineae* (Stackebrandt *et al.*, 1997; Labeda et Kroppenstedt, 2000 ; Stackebrandt et Schumann, 2000).

3. Propriétés générales des actinobactéries

3.1. Morphologie

Morphologiquement, les actinomycètes peuvent être classés en deux groupes. Le premier se compose d'organismes qui ne présentent pas de caractéristiques morphologiques particulières et forme seulement une masse de filaments ramifiés. Le second comprend les

organismes qui sont morphologiquement plus complexes que le premier (Lechevalier et Lechevalier, 1985). Les colonies formées par les actinomycètes sur des milieux solides présentent différents aspects macroscopiques qui peuvent être regroupés en trois types :

- ✓ des colonies poudreuses couvertes d'hyphes aériens fermement attachés au milieu
- ✓ des colonies pâteuses qui peuvent être facilement détachées des milieux solides
- ✓ des colonies exemptes de mycélium de substrat et se composent d'hyphes aériens attachés au milieu par des crampons.

Les différents genres d'actinomycètes peuvent sporuler soit en morcelant certaines hyphes pour former des conidies, un peu plus résistantes aux conditions hostiles que les hyphes, soit en produisant des endospores (*Thermoactinomyces*). D'autres genres d'actinomycètes sporulent en produisant des sporanges tel que le genre *Streptosporangium* (Kalakoutskii et Agre, 1976).

- **Mycélium aérien (MA)**

Le mycélium aérien peut être stérile, fragmenté ou sporulant. Les spores sont généralement non mobiles ou parfois mobiles, isolées ou regroupées par deux, par quatre ou en chaînes plus ou moins longues. Les spores peuvent être sessiles ou portées par des sporophores courts ou longs ou encore formées anarchiquement sur le MA. Chez le genre *Streptomyces*, les chaînes de spores peuvent être droites à flexueuses (type RF = *Rectus Flexibilis*), en crochets ou en boucles fermées (RA = *Retinaculum Apertum*) ou encore spiralées (type S = *Spira*). La surface des spores peut être lisse, rugueuse, épineuse ou chevelue. Quelques genres d'actinobactéries possèdent des structures particulières, comme les sporanges, les sclérotés, les synnemata ou les endospores (Toumatia, 2010).

- **Mycélium du substrat (MS)**

Le MS peut être stérile ou non, fragmenté ou persistant. Il peut produire ou non des spores (mobiles ou non) ou des sporanges.

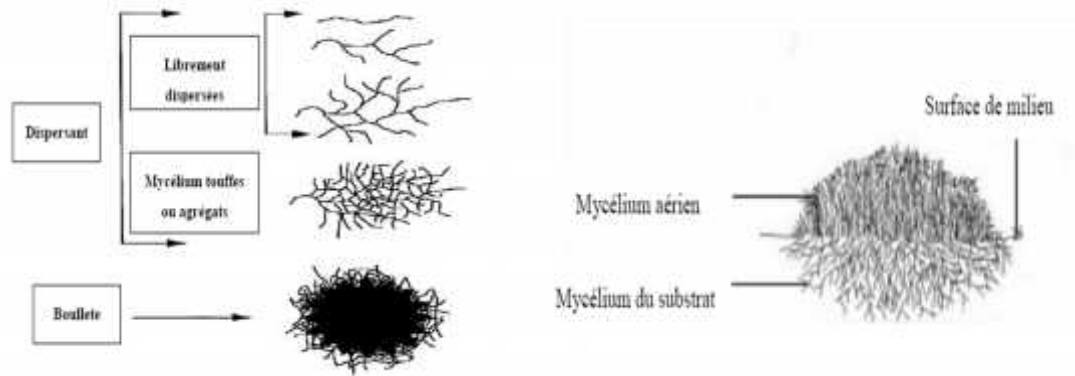


Figure 05 : Morphologie des hyphes en croissance dans le milieu liquide (A) (Almaris, 2007) et solide (Zermame, 2008) (B).

3.2. Physiologie et écologie

Physiologiquement et écologiquement, il existe deux groupes d'actinomycètes. En premier lieu, les formes fermentatives, anaérobies strictes ou facultatives, illustrées par le genre *Actinomyces*. Ces organismes sont des saprophytes obligés des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs et ils ne sont jamais retrouvés dans le sol (Mariat et Sebald, 1990). En second lieu, les formes oxydatives, aérobies, tels que les *Streptomyces* où le sol est leur réservoir principal et à partir duquel elles sont disséminées, en particulier dans l'air (Reponen *et al.*, 1998). Les *Streptomyces* disséminés dans les eaux douces et salées, s'adaptent en formant des spores résistantes caractérisées soit par une psychophilie, soit par une halophilie ou par une barotolérance (Mincer *et al.*, 2002; Zaitlin *et al.*, 2003). Certains genres d'actinomycètes ont été isolés à partir des composts (lacey, 1997; Song *et al.*, 2001). Quelques espèces d'actinomycètes sont des symbiotes de plantes (Larpen et Larpen-Gourgau, 1985). Le genre *Frankia* s'intègre aux racines, fixe l'azote et joue un rôle dans la protection des plantes contre les pathogènes (Sardi *et al.*, 1992 ; Thirupl *et al.*, 2001).

En général, les actinomycètes sont des chimoorganotrophes utilisant une grande variété de sources d'énergie y compris les polymères complexes. Mais plusieurs espèces sont capables aussi de croissance chimioautotrophique utilisant l'oxydation de l'hydrogène comme source d'énergie et le gaz carbonique comme source de carbone (Mariat et Sebald, 1990).

4. Cycle de développement

Les actinomycètes possèdent une structure de procaryotes, mais un cycle biologique semblable à certains champignons (Floyd *et al.*, 1987; Sanglier et Trujillo, 1997). Le cycle de développement des *Streptomyces* débute par la germination des spores, il comprend quatre

étapes : l'activation, l'initiation, l'émergence du tube germinatif et enfin la croissance. Parfois, l'activation peut être déclenchée par un choc thermique, par exemple un traitement de 5 minutes à 50°C pour les spores de *Streptomyces viridochromogenes*, puis le tube de germination croît et donne des hyphes non séptés et plurinucléés, ramifiés et ancrés dans le milieu solide appelés le mycélium primaire, de substrat ou végétatif. Sur ce mycélium primaire, se développera ensuite un mycélium aérien ou secondaire composé d'hyphes dressés sur le mycélium de substrat, leurs extrémités se cloisonnent et se différencient pour former des chaînes de spores uninucléés comme le montre la Figure ci-dessous (Hopwood *et al.*, 1985).

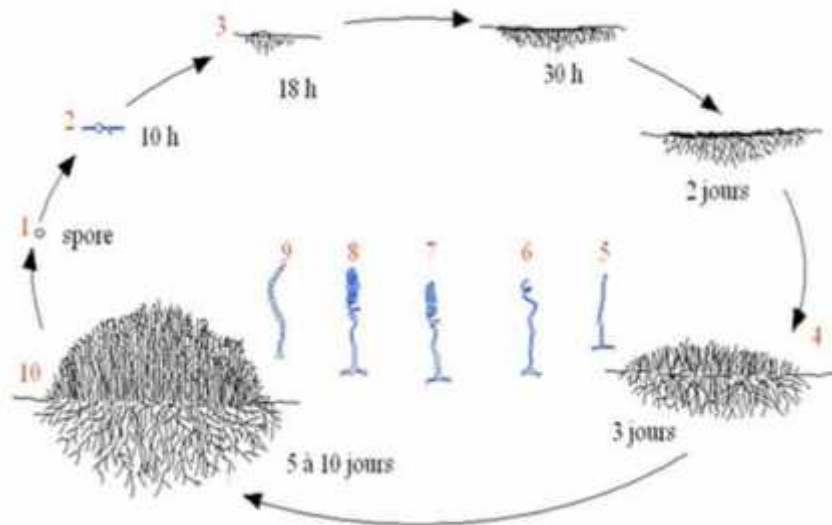


Figure 06: Cycle de développement des *Streptomyces* sur milieu solide (Hopwood *et al.*, 1985).

5. Intérêt des actinobactéries

5.1. En Biotechnologie

Les actinobactéries sont bien reconnues pour leur production de métabolites primaires et secondaires qui ont des applications importantes dans divers domaines. Ils sont également une source prometteuse de large gamme d'enzymes importantes, qui sont produites à l'échelle industrielle. Une grande fraction d'antibiotiques sur le marché provient d'actinobactéries. Ils produisent des inhibiteurs enzymatiques utiles pour le traitement du cancer et les immunomodifiants qui améliorent la réponse immunitaire. Ils ont la capacité de dégrader une large gamme d'hydrocarbures, de pesticides et de composés aromatiques et aliphatiques (Skplovska *et al.*, 2003). Ils effectuent des transformations de composés organiques. De nombreux genres d'actinobactéries peuvent être potentiellement utilisés dans la bioconversion des déchets

agricoles et urbains sous-utilisés en produits chimiques de haute valeur. Les actinobactéries sont également importantes dans le domaine de la biotechnologie végétale (PGPR), en effet, certaines sont utiles dans la lutte biologique.

5.2. En Agronomie

En plus de la production d'un grand nombre de métabolites d'importance commerciale, les actinomycètes possèdent d'autres potentiels intéressants tels que leur implication dans le processus de recyclage. En effet, ils sont vitaux pour le recyclage des nutriments et comptent parmi un nombre réduit d'organismes utilisés en biorémediation, capable de dégrader des composés organiques complexes tels que la chitine (Zaitlin et Watson, 2006 ; Pizzul, 2006), grâce à un potentiel enzymatique riche ainsi que des spores résistantes à la dessiccation (Pizzul, 2006). Les actinomycètes peuvent jouer un rôle important dans le processus de biodégradation durant le traitement biologique. Ils ont l'avantage sur les autres microorganismes d'adhérer aux interfaces non miscibles à l'eau en raison de l'hydrophobicité de leur paroi cellulaire et sont capables de dégrader des hydrocarbures chlorés ainsi que des composés organiques complexes (El-Shatoury *et al.*, 2004).

a) la production de biosurfactants extracellulaires, particulièrement des glycolipides, tels le tréhalose produit par les espèces du genre *Rhodococcus*.

b) la production de biosurfactants cellulaires tels que les acides mycoliques conférant aux cellules microbiennes la capacité d'adhérer aux phases hydrophobes (Pizzul, 2006). Le genre *Frankia* est également très important pour un bon nombre de plantes, provoquant des nodulations aux racines permettant ainsi la fixation de l'azote par la plante hôte (Zaitlin et Watson, 2006). Un isolat de l'espèce *Micromonospora purpurea* isolé à partir de sédiments du lac Baikal, a présenté la capacité à dégrader le phtalate à 4 °C. Des isolats de *Streptomyces* sp. isolés à partir de la rivière du Danube sont capables de dégrader l'acide phtalique, le benzène, les dérivés du benzoate et les alcools aliphatiques.

Les actinomycètes peuvent également jouer un rôle dans la décomposition des algues bleues et d'autres bactéries. Une étude effectuée par Yammamoto *et al.* (1998), sur un actinomycète identifié comme l'espèce *Streptomyces phaeofaciens*, a révélé que celui-ci était capable de provoquer la lyse des cellules de la Cyanobactérie *Microcystis aeruginosa*, suggérant qu'il peut être intéressant comme agent de contrôle des cyanobactéries (Zaitlin et Watson, 2006).

6. Mécanismes impliqués dans la biocontrôle et l'effet PGPB

6.1. Mécanismes impliqués dans le biocontrôle

6.1.1. Production des enzymes lytiques

Les actinobactéries bénéfiques synthétisent des chitinases, des glucanases, cellulases, protéases, pectinases, des peroxydases (Tokala *et al.*, 2002) et des glutaminases (Divya Teja *et al.*, 2014). Des espèces appartenant au genre *Streptomyces* produisent des amylases, des cellulases et des hémi-cellulases. D'autres sont capables de dégrader la lignine. *Streptosporangium* sp., isolé à partir des feuilles de maïs, produit des glucoamylases exploitées en industrie afin de dégrader l'amidon (Hasegawa *et al.*, 2006). La production d'enzymes chitinolytiques par *Streptomyces albovinaceus*, *S. caviscabies*, *S. griseus*, *S. setonii* et *S. virginiae* est considérée comme l'action antagoniste la plus efficace dans le contrôle de certaines maladies fongiques en raison de leur action directe sur la paroi fongique (Macagnan *et al.*, 2008). Les protéases sont parmi les enzymes les plus importantes. Elles dégradent les enzymes des champignons phytopathogènes, et elles constituent plus de 65% des applications industrielles totales comme agents blanchisseurs dans les détergents ou dans la synthèse des peptides (Thumar et Singh, 2007).

6.1.2. Production des sidérophores

Le fer est le microélément le plus important utilisé par les bactéries et il joue également le rôle de cofacteur de nombreuses enzymes et protéines (Djibaoui et Bensoltane, 2005). Il est abondant dans le sol et se présente sous forme d'oxydes de fer (Fe^{3+}) (Compant *et al.*, 2005), mais il demeure souvent un facteur limitant la croissance des bactéries et des plantes. Les sidérophores sont des molécules de faible poids moléculaire secrétées par de nombreux champignons et bactéries, tel que les streptomycètes (Muller *et al.*, 1984), en réponse à la carence en fer (Pérez-Mirinda *et al.*, 2007). Ils solubilisent et transportent le fer vers la cellule microbienne à travers des récepteurs spécifiques (Cabrera *et al.*, 2001; Sridevi *et al.*, 2008).

6.1.3. Production de l'Acide cyanhydrique (HCN)

Certains gaz volatiles comme l'HCN (antibiotique), sont connus par leur action négative sur les champignons phytopathogènes. La production de l'HCN est une activité très commune chez les espèces appartient au genre *Streptomyces* (Schippers *et al.*, 1990). Defago *et al.* (1990), suggèrent que la production de l'acide cyanhydrique provoquerait sur la plante un stress auquel elle réagirait par une augmentation de son système racinaire et de sa résistance naturelle (Lemanceau, 1991).

6.1.4. Mécanismes d'action d'un agent de lutte biologique

- **Antibiose**

La sécrétion de substances antibiotiques par les microorganismes est un phénomène fréquent. Certains métabolites sont capables d'interférer avec la germination, la croissance mycélienne et/ou la sporulation des agents phytopathogènes. D'autres entraînent le relargage de composés cellulaires suite à la perturbation de la perméabilité cellulaire. L'antibiose est le mode d'action le plus étudié chez les agents de lutte biologique (Jijakli, 2003). Elle consiste dans la production par l'agent antagoniste d'antibiotiques efficaces contre l'agent pathogène (Corbaz, 1990). Ces antibiotiques vont ralentir ou arrêter la croissance de l'agent pathogène. La fonte des semis du coton due à *Pythium ultimum* peut être combattue par un enrobage des semences avec la souche de *P. fluorescens* Pf 5. Cette souche produit un antibiotique, la polyulutéline. La fonte des semis est ainsi réduite de façon significative aussi bien par l'utilisation de ce *Pseudomonas* comme agent d'enrobage que par l'utilisation de l'antibiotique purifié (Howell et Stipanovic, 1980).

- **Compétition**

La compétition pour les éléments nutritifs entre en jeu lorsqu'il y a simultanément consommation du même composé par plusieurs microorganismes. Pour être un compétiteur efficace, un agent antagoniste doit être capable d'utiliser rapidement et efficacement les éléments nutritifs présents en faible concentration sur les organes de la plante (Jijakli, 2003).

En occupant la même niche écologique qu'un agent pathogène, un microorganisme peut entrer en compétition avec l'agent pathogène au niveau des nutriments, ce qui peut diminuer ou même empêcher la croissance de cet agent pathogène. Par exemple, certaines bactéries produisant des sidérophores ont un avantage écologique. Les sidérophores de ces microorganismes captent le fer, pouvant le rendre ainsi non disponible pour l'agent

pathogène ce qui, conséquemment, limite sa croissance. Ce mécanisme est souvent attribué aux agents antagonistes de l'espèce *Pseudomonas fluorescens* (Corbaz, 1990). Des sidérophores produits par *P. fluorescens* formeraient un complexe avec les métaux du sol et les rendraient non disponibles pour les autres microorganismes de son environnement dont le *Pythium ultimum*, causant la fonte des semis (Howell et Stipanovic, 1980). Outre, la compétition nutritionnelle, la compétition spatiale contribue aussi à la réduction des infections racinaires par les agents phytopathogènes (Benítez *et al.*, 2004). En effet, les microorganismes ayant la capacité de coloniser les racines comme les bactéries promotrices de la croissance des plantes (PGPB) protègent les racines et occupent les sites d'infection aux agents phytopathogènes (Beníte *et al.*, 2004; Compant *et al.*, 2005).

- **Parasitisme**

Ce mécanisme de lutte consiste en une interaction directe entre deux microorganismes où les tissus vivants de l'un constituent une base nutritive pour l'autre (Helluy et Holmes, 2005). Il implique l'invasion des cellules de l'agent pathogène par le microorganisme antagoniste (Corbaz, 1990). L'agent antagoniste utilisera des enzymes lytiques tels que des glucanases, des chitinases et des lysozymes pour dégrader les parois de l'agent pathogène. Valueva et Mosolor (2004) ont montré que les enzymes utilisées par les antagonistes ont souvent une activité en mélange ou en synergie avec les antibiotiques. Par exemple, il a été démontré que les hyphes de l'agent pathogène *Rhizoctonia solani* et les spores de l'agent pathogène *Cochliobolus sp.* peuvent être perforées dans le sol par des myxobactéries du genre *Polyangium* et des amibes *vampyrellides*. Cette dégradation entraîne une diminution de la population des agents pathogènes. Certains actinobactéries produisent aussi des chitinases et glucanases pour dégrader les parois de *Fusarium oxysporum* (El-Tarabily *et al.*, 1997; Sabaou *et al.*, 1998; Errakhi, 2008).

- **Diminution de l'agressivité du pathogène**

Un agent de biocontrôle peut également agir en affectant les facteurs de pathogénicité de l'agent pathogène. L'intensité de symptômes de *Botrytis cinerea* sur les feuilles du haricot est réduite en présence de la souche *Trichoderma T39*. La réduction du développement du parasite ne s'observant qu'au cours du second jour d'incubation. Ce retard s'expliquerait par une production réduite par le pathogène des enzymes dégradant la pectine (Jijakli, 2003).

- **Les microorganismes de lutte biologique les plus utilisés**

Plusieurs microorganismes ont été utilisés dans le contrôle des maladies phytopathogènes (Errakhi, 2008).

6.1.5. Induction des systèmes de résistance de la plante hôte

Des microorganismes de lutte biologique sont capables de déclencher une résistance systémique induite (ISR) chez la plante hôte, ce qui peut rendre l'hôte plus résistant à l'agression future par des agents pathogènes (Jijakli, 2003). L'induction des systèmes de résistance chez la plante a été démontrée pour la première fois par Kempe et Sequira (1983). Ces derniers ont remarqué que des pré-traitements par des bactéries ont protégé des tubercules de pomme de terre des infections de *Pseudomonas solanacearum*.

Le microorganisme antagoniste peut consister en une souche avirulente occupant la même niche écologique qu'un agent pathogène. L'induction des systèmes de résistance se manifeste par des modifications au niveau de la composition des parois cellulaires ou la libération des éliciteurs. Ces derniers sont des substances mettant en branle les mécanismes de défense de la plante. Celle-ci produira alors des phytoalexines et des protéines PR qui lui confèrent une résistance systémique (Agrios, 1988; Toussaint, 1996). Par exemple, *Trichoderma harzianum* T-203 induit des changements structuraux et chimiques des parois cellulaires des plantes ce qui augmente leur résistance aux infections par les phytopathogènes (Brimner et Boland, 2003).

6.2. Mécanismes impliqués dans l'effet PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria)

6.2.1. Solubilisation des phosphates inorganiques

Le phosphate est le deuxième élément nutritif le plus important à côté de l'azote. La fonction la plus importante du phosphate dans le système végétal est le stockage de l'énergie. Il existe dans la nature sous une variété de formes organiques et inorganiques insolubles. La disponibilité en phosphate dans le sol est faible en raison de la fixation sous forme de phosphates insolubles de calcium, l'aluminium et le fer. Pour cette raison, la carence de phosphate est un symptôme très fréquent sur les plantes. Les actinobactéries solubilisant le phosphate sont les candidats potentiels pour la dissolution des phosphates inorganiques (Rodriguez et Fraga, 1999; Singh et Kapoor, 1994). Cependant, les informations sur les actinobactéries solubilisant le phosphate sont rares et la recherche est fait pour explorer les voies de solubilisation de phosphate par les actinobactéries.

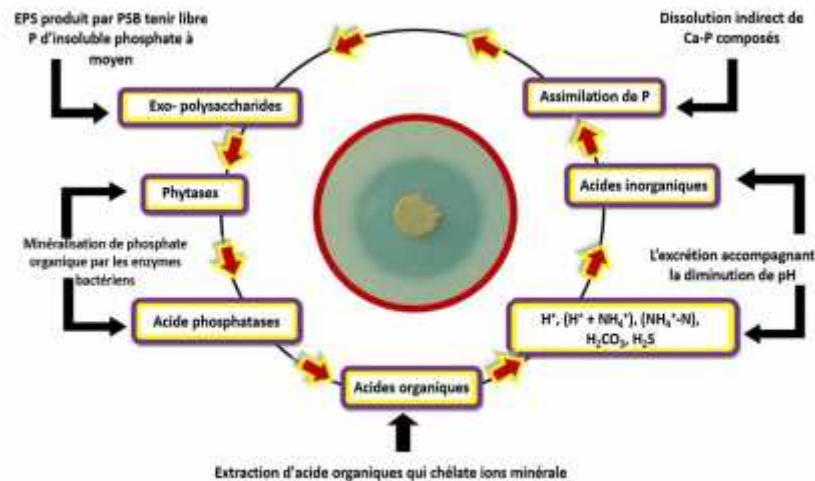


Figure 07. Diverses substances organiques-inorganiques produites par les bactéries responsables de la solubilisation du phosphate dans le sol (Zaidi *et al.*, 2013).

6.2.2. Production de l'ammoniaque

Parmi les éléments nutritifs nécessaires, et celui qui est le plus souvent limitant pour la croissance des plantes est l'azote. La majeure partie de cet élément se trouve sous forme d'azote gazeux (N_2) inaccessible aux plantes (Pujic et Normand, 2009). L'azote représente environ 2% de la matière sèche totale de la plante qui entre dans la chaîne alimentaire. Néanmoins, les plantes ne peuvent pas accéder directement au gaz nitreux, qui représente environ 80% de l'atmosphère. Les plantes absorbent l'azote disponible dans le sol par leurs racines sous la forme d'ammonium et de nitrates. La biodisponibilité limitée de l'azote et la dépendance de la croissance des cultures sur cet élément ont donné naissance à une industrie massive des engrais à base de l'azote dans le monde entier (Dobermann, 2007; Westhoff, 2009). Plusieurs recherches ont montré que les actinobactéries ont des effets bénéfiques sur les plantes, en procurant à la plante l'azote sous forme d'ammonium par leurs associations avec les légumineuses et certaines graminées (Benmati *et al.*, 2012).

6.2.3. Production des phytohormones

Les actinobactéries sont capables de produire des phytohormones tel que les auxines, les gibbérellines ou l'éthylène (Ahmad *et al.*, 2005). Parmi les auxines, l'Acide Indole-3-Acétique (AIA) joue un rôle essentiel dans la croissance et le développement des plantes (Ghosh et Basu, 2006). L'AIA influence plusieurs paramètres physiologiques chez la plante, à savoir l'élongation et la division cellulaire, la dormance apicale, la différenciation des tissus vasculaires, la production d'éthylène, l'initiation racinaire (Keyeo *et al.*, 2011) et la

prolifération racinaire aboutissant ainsi à une meilleure disponibilité en eau et en nutriments (Ashrafuzzamann *et al.*, 2009). Selon Matsukawa *et al.* (2007), chez de nombreuses espèces de *Streptomyces*, l'AIA stimule la formation du mycélium et améliore également la production des antibiotiques.

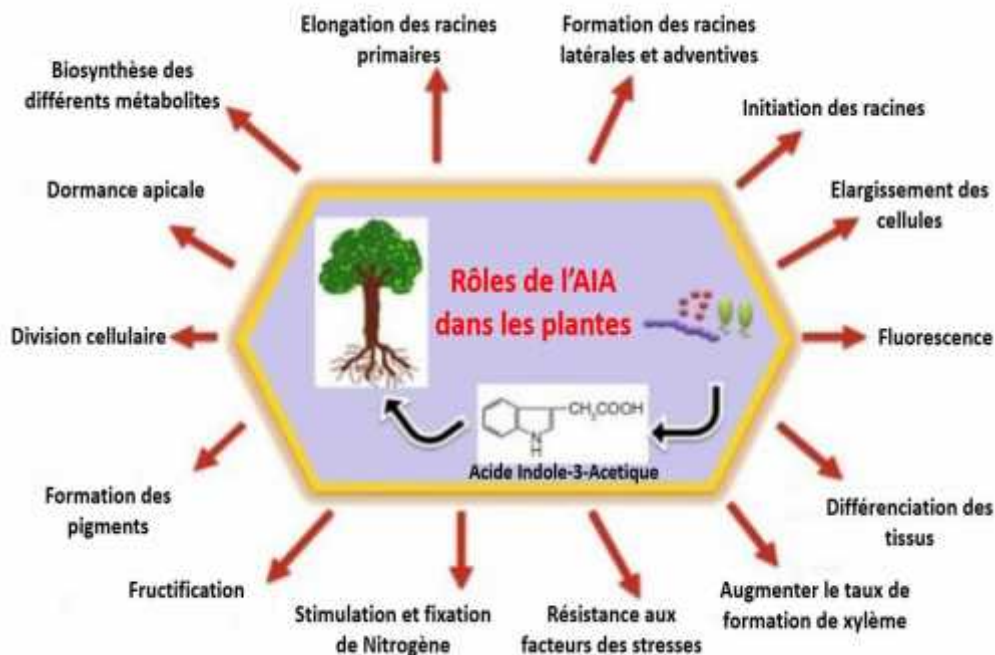


Figure 08 : Rôles de l'AIA dans l'amélioration de la croissance des plantes (Khan *et al.*, 2009).

7. Exemples de quelques biofongicides à base d'actinobactéries

7.1. Actinovate®

Actinovate est un biofongicide produit à base de *Streptomyces lydicus*, la bactérie forme une barrière aux maladies en sécrétant des produits de défense autour du système racinaire. Il contrôle la fonte des semis, les maladies racinaires (causées par *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium* et *Rhizoctonia*) et foliaires (botrytis, mildiou). L'association de l'actinobactérie avec les racines de la plante favorise l'absorption des minéraux et stimule la croissance.

7.2. Mycostop®

Le mycostop est un produit commercial synthétisé par *Streptomyces griseovirdis* K61 et *Streptomyces lydicus* WYEC 108. Il est utilisé dans le traitement des maladies causées par *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. et *Phytophthora* sp. (Rugthaworn *et al.*, 2007). Un outil fiable pour contrôler la fonte des semis, les maladies racinaires et les

flétrissements. Il stimule la croissance de la plante, induit les mécanismes de défense des plantes efficaces dans les milieux de cultures organiques et de synthèse. Il est autorisé en horticulture biologique compatible avec les programmes de lutte biologique et intégrée. Pas de risque de résistance, a un effet persistant sur l'entièreté de la plante et surtout, sans danger pour l'être humain, l'environnement et les auxiliaires (Verdera, 2009).

Chapitre 2 : Matériel et méthodes

1. Matériel biologique

1.1. Matériel végétal

Nous avons choisi la variété Vitron du blé dur comme plante modèle parce que cette variété est la plus cultivée dans la Wilaya de Laghouat. Elle est d'origine de l'Espagne mais elle a été demandée et introduite par la Station Expérimentale Agricole de l'Institut Technique des Grandes Cultures (ITGC) de Sétif en 1997 (ITGC, 2016). La variété Vitron se caractérise par une épiaison précoce, un rendement élevé, poids de milles grains élevé, une bonne qualité semoulière, une bonne résistance au mitadinage avec une teneur en protéine de 13.5%. Elle est résistante à oïdium, moyennement sensible à la septoriose et sensible à la rouille brune (ITGC, 2016).

1.2. L'agent phytopathogène

La souche de *Bipolaris sorokiniana* utilisée dans notre étude a été isolée préalablement à partir des collets infectés de blé présentant les symptômes typique de *B. sorokiniana*. Cette souche a fait l'objet des travaux de mémoires de Master en sciences agronomiques (Tigari, 2017 ; Bensalem, 2018).

1.3. Les souches d'actinobactéries

Huit souches d'actinobactéries sont utilisées dans notre étude. Ces dernières ont été isolées auparavant à partir des racines de plusieurs plantes spontanées sahariennes et à partir du sol saharien. Ces souches d'actinobactéries ont fait l'objet de plusieurs travaux de mémoires d'Ingénieurs d'Etat et de Master en agronomie. Le tableau ci-dessous représente l'origine d'isolement et le genre de ces souches d'actinobactéries :

Tableau 02. Origine d'isolement des souches d'actinobactéries.

Souche	Origine d'isolement	Genre
ACD1	Sol saharien de Hoggar	<i>Actinomadura</i>
AP4	<i>Aristida Pungens</i>	<i>Streptomyces</i>
MB23	Sol saharien de Ghardaïa	<i>Nocardiosis</i>
ML1	<i>Medicago laciniata</i>	<i>Streptomyces</i>
PT2	<i>Panicum turgidum</i>	<i>Streptomyces</i>
SG1	Sol saharien de Béchar	<i>Streptosporangium</i>
SG20	Sol saharien de Ghardaïa	<i>Streptosporangium</i>
TL8	<i>Terfezia leonis</i>	<i>Streptomyces</i>

2. Etude de quelques mécanismes impliqués dans le biocontrôle

2.1. Activité d'antagonisme

La détermination de l'activité antagoniste des souches d'actinobactéries est effectuée *in vitro* sur milieu ISP2 (*International Streptomyces Project*) en utilisant la méthode des stries croisées. Selon Zamoum et al. (2015), cette méthode consiste à ensemencer l'actinobactérie en un seul trait sur la surface du milieu ISP2 et incubé les boîtes à 30°C pendant 7 jours. Les champignons cibles (*Bipolaris sorokiniana*, *Fusarium culmorum* et *F. graminearum*) sont par la suite ensemencés par des stries perpendiculaires à l'actinobactérie et ré-incubés à 25°C pendant 5 jours. Les zones d'inhibition (mm) sont mesurées entre la limite de la croissance mycélienne des champignons cibles et celle de l'actinobactérie.

2.2. Production des enzymes lytiques

2.2.1. Production des lipases

Le milieu de culture utilisé est la gélose nutritive en additionnant le tween 20. Le pH est ajusté à 7.4. Le milieu est ensemencé et incubé à 30°C/48h. le résultat positif se traduit par la présence d'un halo clair autour des colonies (Carrim *et al.*, 2006).

2.2.2. Production des Protéases

Le principe de ce test consiste à déposer un disque gélosé de 6 mm de diamètre d'une culture active de chacune des souches étudiées à la surface du milieu de culture SMA (*Skim Milk Agar*). Les boites ont été ensuite incubées à 30°C pendant 5 jours (Hariprasad et Niranjana, 2009). L'activité protéolytique se traduit par la présence ou l'absence d'un halo clair autour des colonies.

2.2.3. Production des cellulases

Pour révéler leur activité cellulastique, les souches ont été déposées à la surface du milieu ISP9 qui contient le CMC (*Carboxy-Methyl-Cellulose*) comme une seule source de carbone. Nous avons effectué la même manipulation comme décrit précédemment pour le témoin qui ne contient pas de CMC. Les boîtes sont incubées pendant 8 jours à 30°C (Carrim *et al.*, 2006). Le résultat positif qui concerne la production cellulolytique se traduit par un halo clair autour des colonies bactériennes.

3. Etude de quelques mécanismes impliqués dans l'effet PGPB

3.1. Production de phytohormones

3.1.1. Production de l'acide indole-3-acétique (AIA)

Sur des boîtes de Pétri contenant le milieu ISP2 additionné de 0.2% de tryptone, nous avons déposé un volume de 10µl d'une jeune suspension bactérienne préalablement préparée. Chaque boîte a été recouverte par un disque stérile de papier filtre Whatman. Après incubation de 48 heures à 28 ± 2 °C, le papier filtre a été retiré et plongé dans une solution de Salkowski (Naik et Sakthivel, 2006). Ce réactif en présence d'AIA donne une coloration rouge violacée. La production de l'AIA a été révélée par la coloration rouge du disque.

4. Formulation des biofongicides et efficacité de biocontrôle et de l'effet PGPB

La souche PT2 a été retenue pour inclure ses spores sous forme des biofongicides contre *B. sorokiniana* et pour voir son effet PGPB sur les plantes de blé dur car cette souche est la plus performante parmi les 8 souches étudiées et elle a des résultats positifs pour tous les tests effectués.

4.1. Préparation de la suspension bactérienne

La souche PT2 a été cultivée sur milieux de culture ISP2, pour une incubation de 5 jours à 30 °C. Par la suite, les spores ont été récupérées à l'aide d'une solution tensioactif de tween 80 à raison 0.05%. Un volume de la solution de récupération a été mis dans la boîte de Pétri avant d'effectuer un raclage des spores à l'aide d'une anse en platine en conditions d'asepsie afin d'éliminer toute possibilité de contamination. La concentration de la suspension mère est déterminée par comptage à l'aide d'une cellule de Thoma. Cette suspension a été ensuite ajustée à 10^6 UFC/ ml, tout en utilisant la même solution aqueuse comme agent diluant.

4.2. Inclusion des spores

4.2.1. Inclusion des spores dans des billes d'alginate de sodium

Une solution d'alginate de sodium est préparée par dissolution de 4,66 g d'alginate de sodium dans 200 ml d'eau distillée stérile bouillante. Dix millilitres de la suspension de spores sont ensuite ajoutés aseptiquement à la solution d'alginate de sodium et homogénéisés délicatement. Le mélange est ensuite transformé en billes à l'aide d'une pompe péristaltique sur laquelle a été placée une aiguille de 0.6 mm de diamètre d'intérieure.

Les billes sont directement récupérées dans une solution de chlorure de calcium (CaCl_2) à 0,2 molaire sous agitation permanente. Les billes ont été ensuite rincées trois fois à l'eau distillée stérile puis séchées sous hotte microbiologique pendant 8 jours.

4.2.2. Formulation des spores en granulés à épandre

Dix millilitres de la suspension de spores de l'actinobactérie sont dilués dans 10 ml d'eau distillée stérile et mélangée aseptiquement avec 20 g de poudre d'argile verte stérile. La « boue » obtenue contenant les spores de l'actinobactérie est mélangée avec 200 ml d'une solution d'alginate de sodium (préparée de la même manière que celle indiquée précédemment). Le mélange est ensuite transformé en billes d'alginate de Na-Argile verte à l'aide d'une pompe péristaltique sur laquelle a été placée une aiguille de 0.6 mm de diamètre d'intérieure.

Les billes d'alginate de Na-Argile verte sont directement récupérées dans une solution de chlorure de calcium (CaCl_2) à 0,2 molaire sous agitation permanente. Les billes ont été ensuite rincées trois fois à l'eau distillée stérile puis séchées sous hotte microbiologique à pendant 5 jours.

4.2.3. Formulation des spores en poudre de talc

Seize grammes de poudre de talc et 4 g d'argile verte stériles sont mélangés avec 10 ml de la suspension de spores de l'actinobactérie. La "boue" obtenue est mélangées énergiquement à l'aide d'une baguette en verre pour homogénéiser la répartition des spores avant d'être séchées pendant 48 h sous hotte microbiologique à flux laminaire. Les grumeaux obtenus sont ensuite pilonnés dans un mortier en porcelaine stérile, puis la poudre contenant les spores de l'actinobactérie est récupérée par tamisage à un diamètre de 0.2 mm à l'aide d'un tamis pédologique stérile. Les spores ainsi formulées en poudre mouillable sont ensuite conservées à 4°C.

4.3. Application *in vivo* des biofongicides formulés

Les spores formulées ont subi un screening *in vivo* dans des pots contenant un sol stérilisé et non stérilisé pour tester leur efficacité dans le biocontrôle de la pourriture racinaire causée par *B. sorokiniana* et dans la promotion de la croissance des plantules de blé dur.

L'évaluation de l'aptitude de chacun des biofongicides formulés à réduire la pourriture racinaire causée par *B. sorokiniana* sur le blé a été réalisée selon un dispositif de randomisation totale dans des conditions contrôlées sous serre au niveau de département de sciences agronomiques. Cinq répétitions ont été effectuées pour chaque traitement. Les graines de blé sont d'abord désinfectées comme cité préalablement. Dix graines de blé sont ensuite déposées pour chaque pot (Bensalem, 2018).

Les granules d'alginate de sodium et d'alginate de Na-argile verte, formulées sont ajoutés à raison de 1 g/Kg et 5g/Kg de sol respectivement puis homogénéisés à l'aide d'une hélice pédologique. Le biofongicide en poudre de talc est liquéfié dans l'eau distillée stérile à raison de 5 g/100ml (Bensalem, 2018).. Les traitements réalisés sont les suivants:

- a- Contrôle négatif (-): des graines de blé désinfectées sont semées dans des pots non infectés.
- b- Contrôle positif (+): des graines de blé désinfectées sont semées dans des pots infectés. Déposées par *B. sorokiniana*.
- c- Essai de biocontrôle: des graines de blé désinfectées sont semées dans un sol inoculé par l'agent phytopathogène et par les différentes formes de biofongicides formulés à base des spores des deux isolats.
- d- Traitements chimique et biologique de référence: des graines traitées par le produit Dividend[®] ET Sérénade[®] sont semées dans des pots infectés.

Après 4 semaines de culture, l'incidence de la pourriture racinaire et du collet causée par *B. sorokiniana* ainsi que les paramètres de croissance de l'effet PGPB sont évalués. Le score de maladie est évalué par le système de notation selon une échelle de couleurs décrit par Khan *et al.* (2006): 0, pas de maladie; 1, nécrose brune très légère; 2, nécrose brune légère à modérée; 3, nécrose brune étendue et 4, nécrose noire étendue.

Chapitre 3 : Résultats et Discussion

Les tests effectués dans notre travail ont porté sur l'étude de quelques mécanismes impliqués dans le biocontrôle et l'effet PGPB de huit souches d'actinobactéries. Nous nous sommes intéressés aussi à la préparation d'un biofongicide à base des spores des souches d'actinobactéries et de voir leur potentiel dans le biocontrôle de la pourriture racinaire causée par *B. sorokiniana* et leur effet PGPB pour la promotion de la croissance des plantules de blé dur.

1. Etude de quelques mécanismes impliqués dans le biocontrôle

1.1. Activité d'antagonisme

L'activité antagoniste des souches d'actinobactéries a été testée envers les trois agents phytopathogènes. La capacité des souches étudiées à limiter la croissance d'éventuels phytopathogènes leur confère ainsi un avantage considérable.

Le tableau suivant montre les résultats obtenus, qui globalement assimilent l'activité enregistrée (par mesure de la longueur des zones d'inhibition) contre les trois souches fongiques ciblées par ce test.

Tableau 03. Activité d'antagonisme des souches d'actinobactéries testées.

Souche	Zone d'inhibition (mm) ^a		
	<i>B. sorokiniana</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. graminearum</i>
ACD1	00 d	10.1 e	00 e
AP4	17.8 b	4.0 f	00 e
MB23	15.0 c	17.0 d	15.0 b
ML1	00 d	00 g	00 e
PT2	25.0 a	11.0 e	16.0 b
SG1	00 d	28.0 b	15.0 b
SG20	19.0 b	22.0 c	20.1 a
TL8	00 d	32.0 a	6.0 c

^a Moyenne de trois répétitions, les moyennes avec la même lettre ne sont pas significativement différentes selon le test de PPDS au seuil de 5%.

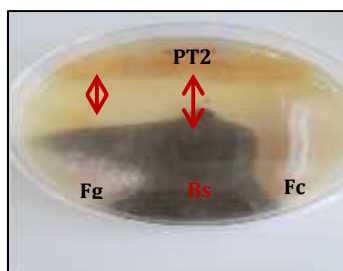


Figure 09: Activité antagoniste de la souche PT2 contre les trois champignons cibles

Les résultats des mesures de la zone d'inhibition de la croissance du pathogène *B. sorokiniana* confrontés aux souches testées indiquent que la souche PT2 aurait significativement ($P < 0.05$) un bon potentiel d'inhiber la croissance de cette cible (PT2: 25 mm). Les souches ACD1, ML1, SG1 et TL8 n'inhibent pas la croissance de *B. sorokiniana*. Par contre, l'effet antagoniste des souches SG1 et TL8 contre *F. culmorum* est marqué.

Les actinobactéries sont bien connus pour leur capacité de produire des produits naturels de structures complexes et avec diverses activités biologiques (Abdelmohsen *et al.*, 2014). Dans notre étude l'activité antagoniste la plus élevée a été marquée avec la souche PT2 du genre *Streptomyces*. Les résultats de la présente étude corroborent plusieurs travaux qui ont indiqué l'inhibition de la croissance de *B. sorokiniana* par les *Streptomyces* (Aouar *et al.*, 2012 ; Minotto *et al.*, 2016 ; Monteiro *et al.*, 2017). En outre, l'activité antagoniste de *Streptomyces* a été illustrée contre une grande variété des agents phytopathogènes (Hamdali *et al.*, 2008 ; Toumatia *et al.*, 2015 ; Zamoum *et al.*, 2015).

1.2. Production des enzymes lytiques

Les résultats de la capacité de ces souches d'actinobactéries à produire activités lipolytique, protéolytique et cellulolytique sont donnés dans le Tableau ci-dessous. Les colonies d'actinobactéries sont entourées d'une auréole claire indiquant la production de ces enzymes.

Tableau 04. Production des enzymes lytiques par les souches actinobactéries étudiées.

Souche	Lipase		Protéase		Cellulase	
	Croissance	de l'auréole (mm) ^a	Croissance	de l'auréole (mm) ^a	Croissance	de l'auréole (mm) ^a
ACD1	-	00 e	++	20.0 b	± à +	6.0 d
AP4	+	15.1 c	±	9.0 e	-	00 e
MB23	±	11.0 d	±	7.0 f	±	10.0 c
ML1	+	20.9 b	++	22.0 a	++	18.6 b
PT2	++	23.1 a	++	23.0 a	+	20.0 a
SG1	-	00 e	+	18.0 c	+	10.0 c
SG20	-	00 e	+	10.0 e	-	00 e
TL8	-	00 e	+	16.0 d	-	00 e

^a Moyenne de trois répétitions, (-) : pas de croissance, (+) : croissance modérée ; (++) : croissance importante ; (+++) : croissance très importante, les moyennes avec la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test de PPDS au seuil de 5%.

Sur les 8 souches d'actinobactéries étudiées, 4 (AP4 MB23 ML1 et PT2) ont montré une activité lipolytique positive (Tableau 4) avec un halo variant de 11 à 23 mm de diamètre.

L'activité protéolytique étudiée sur milieu SMA est caractérisée par une bonne croissance et une bonne sporulation des souches d'actinobactéries. Ce qui confirme que ces souches sont capables de dégrader les protéines du milieu utilisé en produisant des protéases.

La croissance des actinobactéries sur milieu CMC contenant la cellulose est variable selon les souches. Toutefois, nous avons observé l'inaptitude des souches suivantes : AP4, SG20 et TL8 à la croissance dans le milieu. Généralement, la souche PT2 présente la meilleure production des enzymes lytiques.

Les enzymes lytiques dégradent la paroi fongique et les spores des champignons induisant ainsi à la mort de ces agents phytopathogènes (Hoster, 2005). Les résultats obtenus dans cette étude ont été concordants avec ceux obtenus par d'autres études précédentes, qui ont montré la capacité des isolats du genre *Streptomyces* à produire les enzymes lytiques (Meena *et al.*, 2013 ; Kumar *et al.*, 2012 ; Tiggari, 2017).

2. Etude de quelques mécanismes impliqués dans l'effet PGPB

2.1. Production de l'acide indole-3-acétique (AIA)

Le test qualitatif de l'ensemble des souches testées sur un milieu solide ISP2 additionné de tryptone 0.2%, nous a permis de mettre en évidence la production de cette hormone chez ACD1, MB23, PT2 et SG. La révélation de cette production est traduite par le changement de la couleur du disque de papier Whatman en rouge en utilisant le réactif Salkowski après 20 à 60 min d'incubation à l'obscurité. Les résultats de la mise en évidence de la production de l'AIA en milieu solide sont présentés ci-dessous.



Figure 10 : Mise en évidence de la production de l'AIA en milieu solide.

L'AIA joue un rôle important dans la promotion de la croissance des plantes (El-Tarabily, 2008; Khamna *et al.*, 2010 ; Zamoum *et al.*, 2015). Aldesuquy (1998) a signalé que les actinobactéries du genre *Streptomyces* produisent l'AIA et améliorent la croissance des plantules de blé.

3. Efficacité *in vivo* des biofongicides formulés

3.1. Efficacité de Biocontrôle

La souche PT2 formulée sous forme des billes d'alginate de sodium, alginate d'argile et poudre de talc a été testée *in vivo* dans un sol stérile et non stérile pour voir son efficacité dans le biocontrôle de la pourriture racinaire du blé dur causée par *B. sorokiniana*. Les résultats de l'incidence de la pourriture racinaire et du collet en sol stérilisé et en sol non stérilisé sont représentés par la figure 11

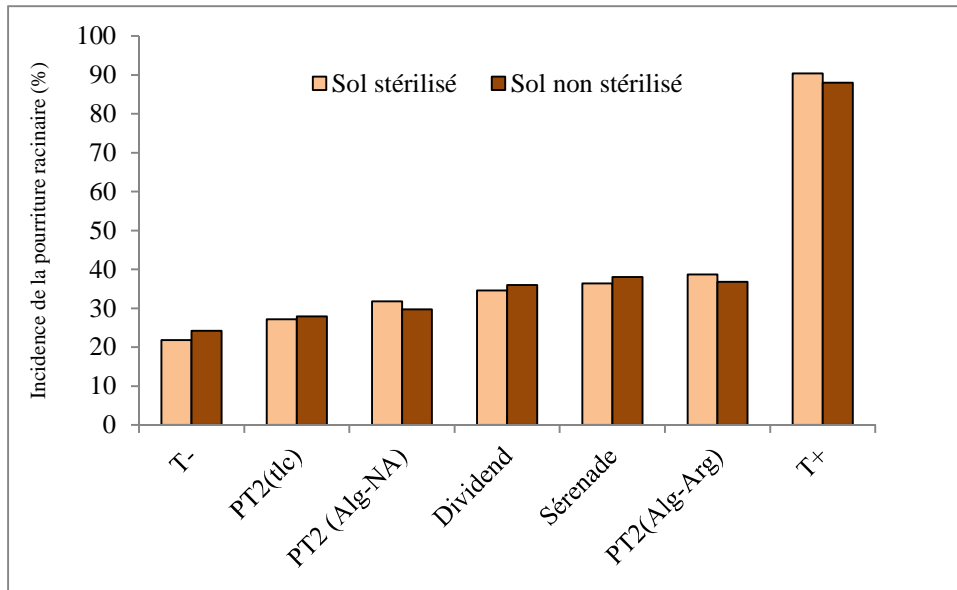


Figure 11: Incidence de la pourriture racinaire du blé dur causée par *B. sorokiniana* après 30 jours en culture *in vivo*.

Les résultats de l'analyse de la variance ont montré que le traitement des semences de blé dur par l'agent chimique et les agents de la lutte biologique a réduit significativement ($P < 0.05$) l'incidence de la maladie comparativement au témoin positif. Aucune différence significative ($P > 0.05$) n'a été observée entre ces traitements et le témoin négatif. L'analyse de la variance montre qu'il n'existe pas de différences significatives entre les deux sols (stérilisé et non stérilisé).

Les traitements de biocontrôle les plus efficaces sont observés respectivement avec la formulation de la souche PT2 sous forme de poudre de talc, sous forme d'alginate de sodium et puis sous forme d'alginate d'argile.

Nous remarquons une très forte incidence de la maladie observée dans le cas du témoin positif, confirmant la virulence de l'agent phytopathogène. Selon Monteiro *et al.* (2017), la pourriture racinaire causée par *B. sorokiniana* cause d'énormes dégâts provoquant des pertes de rendements considérables de la culture de blé. Pour cette raison, une lutte contre cette maladie devient nécessaire afin de diminuer les dégâts. Il est admis maintenant que la lutte chimique a des conséquences néfastes sur l'environnement; entre autres, par la toxicité dans la chaîne trophique, la pollution des eaux de surface et souterraine et surtout la résistance acquise par les agents phytopathogènes (Knight et Norton, 1989). L'utilisation des biofongicides a été proposée pour le biocontrôle de la pourriture racinaire comme une alternative de la lutte chimique (Paulitz et Bélanger, 2001). Les résultats de l'essai *in vivo* montrent que l'incidence de la maladie la plus faible a été constatée dans le cas des graines

bactérisées par le biofongicide en poudre de talc formulé à base de spores de la souche PT2. Le biofongicide en billes d'alginate de sodium de cette souche a montré également une grande efficacité de biocontrôle. Les résultats de ces deux bioformulations et celui de Dividend ne sont pas significativement différents ($P > 0.05$), mais ils sont plus intéressants que ceux trouvés avec le Sérénade[®]. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Sabaratnam et Traquair (2002), Tamreihao *et al.* (2016) et Zamoum *et al.* (2017), qui ont indiqué et confirmé l'efficacité des biofongicides en poudre de talc à base de *Streptomyces* dans le biocontrôle de *Rhizoctonia solani*. Les formulations solides ou en poudre sont généralement préférées à celles qui sont liquides, car elles contiennent des propagules sèches qui ont tendance à mieux résister aux conditions environnementales extrêmes, de transport et d'entreposage (Lewis, 1991).

3.2. Effet PGPB des biofongicides

L'effet de ces biofongicides formulés sur les paramètres de la croissance des plantules saines (longueur des plantes, longueur des racines, poids frais et poids sec) a été également évalué pour voir leur effet sur la promotion de la croissance des plantes. Les résultats sont représentés dans les histogrammes de la figure ci-dessous.

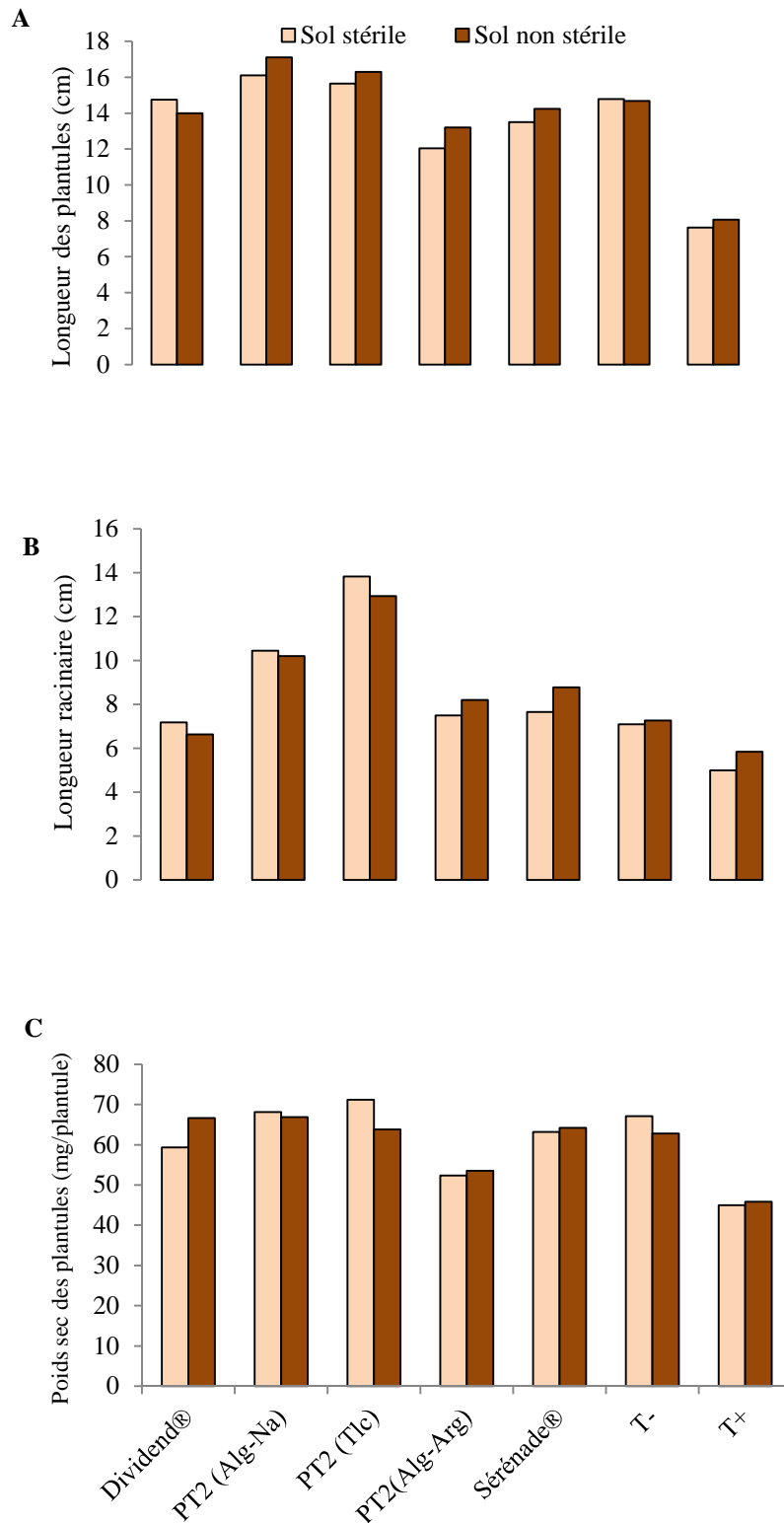


Figure 12: Effet des biofongicides formulés à base de spores de *Streptomyces* sp. PT2 sur la promotion de la longueur des plantules (A), la longueur racinaire (B) et le poids sec (D) des plantules de blé dur cv. Vitron cultivées en sol stérilisé ou en sol non stérilisé.

Les résultats mentionnés dans les histogrammes de la figure montrent une variabilité de la longueur des plantules, de la longueur racinaire et du poids sec en fonction du traitement. Nous remarquons que les biofongicides sous forme de la poudre de talc, ainsi que

les billes d'alginate à base de PT2 ont amélioré la longueur des plantules de blé, la longueur racinaire des plantules et le poids sec des plantules comparativement au témoin négatif. Cependant, les traitements par les biofongicides en granulés à épandre présentent un effet plus faible que les autres produits formulés.

Les résultats obtenus dans notre étude concernant l'effet PGPB des biofongicides corroborent ceux obtenus par Tamreihao *et al.* (2016) et Bensalem (2018), qui ont rapporté que la poudre de talc à base du genre *Streptomyces* améliore la croissance des céréales. La promotion de la croissance des plantes par le genre *Streptomyces* d'actinobactéries a été confirmée par Adhilakshmi *et al.* (2014). L'efficacité des biofongicides en poudre de talc peut être expliquée, selon Bencheikh et Setti (2010), par la diffusion rapide des spores des *Streptomyces* dans les espaces rhizosphériques. De plus, la taille des propagules de la poudre de talc est très appropriée pour une utilisation comme amendement pendant le travail du sol.

Les pertes de rendement dues aux pourritures racinaires induite par *Bipolaris sorokiniana* ne sont pas négligeables, nécessite une amélioration de la production nationale passe par le contrôle de cette maladie utilisant des méthodes de lutte efficace et respectueuse de l'environnement. D'après les études et les essais qui nous avons fait sur le contrôle biologique de cette maladie (la pourriture racinaire du blé) causé par le champignon *Bipolaris sorokiniana*, utilisant les Actinobactéries, ou les résultats obtenus présentent une efficacité importante vis-vis l'agent pathogène, Du plus l'avantage bénéfique sur la plante.

Le genre *Streptomyces* présente une activité antagoniste la plus élevée et marquée avec la souche PT2 contribue à la mort de ce champignon, Du plus les souches d'actinobactéries est caractérisée par une activité protéolytique et cellulolytique très importante, ainsi que la promotion de la croissance du plante produisant l'AIA. Les tests de la biocontrôle *in vivo* utilisant Les biofongicides formulées montre qu'il y a une efficacité significative par rapporte le contrôle chimique. plus une effet de PGPB des bio-fongicides (*plant growth promoting bacteria*) appréciable, comparativement à un agent de lutte chimique (Dividend). Et permis de réduire significativement la maladie.

Il serait intéressant d'étudier l'efficacité des souches sélectionnées, seules ou combinées, contre les maladies causées par d'autres agents phytopathogène, en étudiant les différents paramètres de conservation des spores des biofongicides formulées. Il serait également intéressant d'étudier le pouvoir des actinobactéries dans l'induction de la résistance systémique acquise chez le blé

Malheureusement En Algérie on dépend essentiellement sur la lutte chimique dans le contrôle de la maladie de pourriture racinaire et les autres différentes maladies bien qu'on sache les effets secondaires négatives sur la santé humaine et sur l'environnement et nous devons donc et à long terme de améliorer notre principe, focalisant en développement la lutte biologique, Être pratiquement la stratégie la plus sûre, car Ils ne laissent pas ou ne causent aucune conséquence hygiénique et environnemental.

Il faut donc travailler pour faire la lutte biologique la première option, et non la dernière ou l'absence de celle-ci, en particulier dans les cas de maladies qu'on peut les traitées par cette stratégie de lutte.

