



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



Université Amar Telidji- Laghouat

FACULTE: SCIENCES

DEPARTEMENT: SCIENCES AGRONOMIQUES

MEMOIRE DE MASTER

Présenté par: BEN SAAD Kaltoum

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

FILIERE: SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION: PROTECTION DES VEGETAUX

Thème

**Essais de biocontrôle de *Fusarium graminearum* par des souches
d'actinobactéries endophytes**

Soutenu le 24 Juin 2018

Jury de soutenance:

Nom et Prénom	Grade	Qualité
M ^r . KADOURI Mohamed A.	Maître Assistant "A"	Président
M ^r . AIT SALAH Boubekour	Maître Assistant "A"	Examineur
D ^r . ZAMOUM Miyada	Maître de Conférences "A"	Encadreur
M ^{elle} . NACIRA BOUKAYA	Maître Assistant "B"	Co-encadreur

Promotion: Juin 2018



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



جامعة عمار ثليجي – الأغواط

كلية العلوم
قسم علوم الفلاحة

مذكرة ماستر

تقديم الطالبة: بن سعد كلتوم

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة: علوم الفلاحة

تخصص: حماية النباتات

موضوع البحث

تجربة المكافحة البيولوجية ل *Fusarium graminearum* بإستعمال
عزلات أكتينوبكتيريا ضمنية.

أعضاء لجنة المناقشة:

الاسم و اللقب	الدرجة العلمية	الصفة
قدوري محمد الأمين	أستاذ مساعد " أ "	رئيسا
أيت صالح بوبكر	أستاذ مساعد " أ "	ممتحنا
زعموم ميادة	أستاذة محاضرة " أ "	مأطرة
بوقاية نصيرة	أستاذة مساعدة " ب "	

الدفعة: جوان 2018

Tables des matières		
		Page
Résumé		I
Abstract		II
ملخص		III
Dédicace		IV
Remerciements		V
Liste des tableaux		VI
Liste des figures		VII
Liste des abréviations		IX
Introduction		01
Partie I : Données bibliographiques		
I.	LA PLANTE HÔTE	03
I.1.	Généralités sur le blé dur	03
I.2.	La production de blé	03
I.2.1.	Dans le monde	03
I.2.1.	En Algérie	04
I.3.	Classification botanique	04
I.4.	Caractéristiques morphologiques et physiologiques	05
I.4.1.	Caractères morphologiques	05
I.4.2.	Caractères physiologiques	05
I.5.	Cycle de développement	06
I.6.	Contraintes phytosanitaires	06
II.	LA MALADIE : POURRITURE RACINAIRE DU BLÉ	07
II.1.	Symptomatologie	07
II.2.	Taxonomie	08
II.3.	Agent causal : <i>Fusarium graminearum</i>	08
II.3.1.	Caractères morphologiques	09
II.3.2.	Cycle de développement	10
II.3.3.	Pouvoir pathogène	11
II.4.	Moyens de lutte contre la pourriture racinaire	12
II.4.1.	Pratiques culturale	12

II.4.2.	Lutte génétique.....	12
II.4.3.	Lutte physique	13
II.4.4.	Lutte chimique	13
II.4.5.	Lutte biologique	13
III.	LES ACTINOBACTERIES	15
III.1.	Généralités	15
III.2.	Taxonomie	15
III.3.	Cycle de développement	18
III.4.	Importance des actinobactéries	20
III.4.1	Dans le domaine agronomique	20
III.4.2	Dans le domaine médical et vétérinaire	20
III.5.	L'interaction plante – actinobactéries	21
III.5.1.	Actinobactéries endophytes	21
III.5.2.	Actinobactéries rhizosphériques	21
III.6.	Les interactions entre les microorganismes de la rhizosphère	22
III.7.	Mécanismes d'action liée au biocontrôle.....	22
III.7.1.	Production des enzymes lytiques	22
III.7.2.	Production des sidérophores	23
III.7.3.	Production de l'acide cyanhydrique (HCN).....	23
III.8.	Mécanismes d'actions liées à l'effet PGPB.....	23
III.8.1.	Production de phytohormones.....	23
III.8.2.	Production de l'ammoniaque.....	24
III.8.3.	Solubilisation des phosphates inorganiques.....	24
III.9.	Utilisation des actinobactéries	25
III.10.	Bioformulation des actinobactéries	26
III.11.	Biofongicides à base d'actinobactéries	26
Partie II: Matériel et Méthodes		
II.1.	Matériel biologique	28
II.2.	Détermination des mécanismes liés au biocontrôle	28
II.2.1.	Production d'enzymes	28
II.2.1.1.	Production de protéases	28
II.2.1.2.	Production de la cellulase	29

II.2.2.	Production de sidérophores	30
II.2.3.	Production de l'acide cyanhydrique (HCN)	30
II.2.4.	Activité d'antagonisme <i>in vitro</i>	31
II.3.	Détermination des mécanismes liés à l'effet PGPB	32
II.3.1.	Production de phytohormones	32
II.3.1.1.	Production de l'acide indole-3-acétique (AIA)	32
II.3.1.2.	Production des gibbérellines (AG3)	33
II.3.2.	Libération de l'ammoniaque	33
II.3.3.	Solubilisation des phosphates inorganiques	34
II.4.	Préparation de l'essai de biocontrôle <i>in vivo</i>	34
II.4.1.	Sélection des isolats d'actinobactéries performants	34
II.4.2.	Préparation des suspensions de spore	34
II.4.3.	Bioformulation de biofongicides à base d'actinobactéries sélectionnées	35
II.4.3.1.	Biofongicide en poudre de talc	35
II.4.3.2.	Biofongicide en billes d'alginate de Sodium	35
II.4.4.	Efficacité des biofongicides formulés <i>in vivo</i>	36
II.4.4.1.	Désinfection superficielle des semences	36
II.4.4.2.	Stérilisation du sol et conditionnement des pots	36
II.4.5.	Application de traitements	37
II.4.5.1.	Traitement retenus	37
II.4.5.2.	Agent de lutte biologique (Sérénade®)	37
II.4.5.3.	Agent de lutte chimique (<i>Dividend</i> ®)	38
II.4.6.	Biofongicides formulés	38
II.4.7.	Paramètres mesurés	38
II.4.8.	Analyses de données	38
Partie III: RESULTATS ET DESCUSSION		
III.1.	Résultats des mécanismes impliqués dans biocontrôle	40
III.1.1.	Production d'enzymes lytiques	40
III.1.2.	Production des sidérophores	41
III.1.3.	Production de l'acide cyanhydrique (HCN)	43
III.1.4.	Activité d'antagonisme <i>in vitro</i>	45
III.2.	Résultats des mécanismes impliqués dans l'effet PGPB	47

III.2.1.	Production de phytohormones	47
III.2.1.1.	Production de l'Acide Indole-3-Acétique (AIA)	47
III.2.1.2.	Production de l'AG3	49
III.2.2.	Libération de l'ammoniaque	51
III.2.3.	Solubilisation des phosphates inorganiques	53
III.3.	Formulation des biofongicides des spores de <i>Streptomyces</i> sp. SN2 et de <i>Saccharothrix</i> sp. MB15	54
III.4.	Efficacité de biofongicides formulés	55
III.4.1.	Efficacité de biocontrôle <i>in vivo</i>	55
III.4.2.	Effet <i>PGPB</i> des biofongicides formulés	58
Conclusion		62
Références bibliographiques		64

BEN SAAD Kaltoum

Thème : Biocontrôle de *Fusarium graminearum* par des souches d'actinobactéries endophytes

Résumé :

L'objectif de ce travail est d'étudier le potentiel de biocontrôle et l'effet PGPB des isolats d'actinobactéries endophytiques et rhizosphériques. Les souches les plus performantes ont été formulées en poudre de talc et en billes d'alginate de sodium, puis testées, en conditions de culture *in vivo*, pour leur efficacité de biocontrôle contre *Fusarium graminearum* et dans la promotion de la croissance de plantules de blé, en comparaison avec un fongicide chimique systémique (*Dividend*®) et un biofongicide (*Sérénade*®).

Au total, 12 isolats d'actinobactéries endophytes et rhizosphériques du genre *Streptomyces*, *Saccharothrix*, *Streptosporangium* et *Nocardia* sont testés. Les principaux mécanismes de biocontrôle et de l'effet PGPB ont été évalués. La majorité de ces isolats sont capables de produire des enzymes lytiques, des sidérophores, de l'HCN, des phytohormones, et de solubiliser les phosphates inorganiques. Les résultats montrent que les deux isolats SN2 et MB15 présentent un effet PGPB et une activité antagoniste importante.

La formulation de biofongicides a montré que le biofongicide en poudre de talc à base des spores de l'isolat SN2 a présenté le meilleur effet protecteur contre l'agent phytopathogène par la diminution de l'incidence de la pourriture racinaire, et le meilleur effet PGPB par l'amélioration des paramètres de croissance des plantules du blé dur.

Les résultats de ce travail montrent que les isolats SN2 et MB15 ont une efficacité de biocontrôle et de l'effet PGPB ce qui permet de suggérer leur utilisation en lutte biologique.

Mots clé : Actinobactéries, biocontrôle, PGPB, *Fusarium graminearum*, pourriture racinaire, blé dur, bioformulations.

BEN SAAD Keltoum

Theme: Essay Biocontrol of *Fusarium graminearum* by entophytic actinobacterial strains.

Abstract:

The aim of this work is to study the biocontrôle potential and the PGPB effect of entophytic and rhizophytic actinobacterial isolates. The best performing strains were formulated as talcum powder and sodium alginate beads, and then tested under *in vivo* culture conditions for their biocontrôle efficacy against *Fusarium graminearum* and in promoting the growth of wheat seedlings, compared to a systemic chemical fungicide (*Dividend*®) and a biofungicide (*Serenade*®).

A total of 12 entophytic and rhizophytic actinobacterial isolates of the genus *Streptomyces*, *Saccharothrix*, *Streptosporangium* and *Nocardia* were tested. The main biocontrôle mechanisms and the effect were evaluated. The majority of these isolates produces lytic enzymes, sidérophores, HCN, phytohormones and solubilizes inorganic phosphates. The results show that the two isolates SN2 and MB15 show a PGPB effect and a significant antagonistic activity.

The biofungicide formulation showed that spore based talcum biofungicide SN2 had the best protective effect against phytopathogenic agent by decreasing the root rot incidence; it had also the best PGPB effect by improving growth parameters of durum wheat seedlings.

The results of this work show that the SN2 and MB15 isolates have a biocontrôle efficacy and the PGPB effect which makes it possible to suggest their use in biological control.

Key words: Actinobacteria, biocontrôle, PGPB, *Fusarium graminearum*, root rot, durum wheat, bioformulations.

عنوان المذكرة: تجربة المكافحة البيولوجية ل *Fusarium graminearum* بإستعمال عزلات أكتينوبكتيريا ضمنية.

ملخص:

الهدف من هذا العمل هو دراسة إمكانيات المكافحة البيولوجية وتأثير PGPB لعزلات الأكتينوبكتيريا الضمنية و rhisosphériques. العزلات الأفضل أداءا استعملت في صياغة مبيد حيوي على شكل مسحوق التلك وحببيات ألجينات الصوديوم، ثم أختبرت ميدانيا من أجل فعالية الحماية البيولوجية ضد *Fusarium graminearum* و تعزيز نمو شتلات القمح. بالمقارنة مع مبيد فطري كيميائي (Dividend®) وآخر بيولوجي (Sérénade®).

مجموعة من 12 عزلة أكتينوبكتيريا ضمنية و rhisosphériques من صنف *Saccharothrix, Streptomyces* و *Nocardia* و *Streptosporangium*. معظم هذه العزلات كانت قادرة على إنتاج الإنزيمات القادرة على تفكيك المركبات البروتينية والسيليلوزية، مخلبيات الحديد (sidérophores)، حمض سيانيدريك (HCN)، هرمونات النمو النباتية و إذابة الفوسفات غير العضوي. تظهر النتائج أن العزلتين SN2 و MB15 لهما تأثير PGPB و قدرة تنافسية كبيرة.

أظهرت نتائج صياغة العزلتين أن المبيد الحيوي المشكل من أبواغ SN2, في مسحوق التلك, كان له أفضل تأثير حماية ضد العامل الممرض من خلال تقليل معدل تعفن الجذور. وكان له أيضا أفضل تأثير PGPB من خلال تحسين معايير النمو لشتلات القمح الصلب.

تظهر نتائج هذا البحث أن العزلات SN2 و MB15 لها فعالية في الحماية البيولوجية وتأثير PGPB الذي يجعل من الممكن إقتراح إستخدامها في المكافحة البيولوجية.

الكلمات المفتاحية: أكتينوبكتيريا, المكافحة البيولوجية, PGPB, *Fusarium graminearum*, تعفن الجذور, القمح الصلب.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

*Ma très chère **Maman**, qui n'a ménagé aucun effort pour m'encourager durant mes longues études. Qui a tout fait avec abnégation pour me voir réussir dans ce modeste travail de recherche. Une mère très adorable, d'un soutien infaillible ; Merci pour les valeurs nobles, les précieux conseils, l'éducation permanent venu de toi.*

*Mon très chère **Papa**, رحمه الله*

Ma grande mère: Fatma

Mes chères sœurs: Amina, Siham, Mama, Souhila, Ouahiba,

Mes chers frères: Mohamed, Hamza, Aziz, Dadi

Mes tantes: Fatna², Mbarka, Rokaya, khira, Elhachmia, Zinab

Mes oncles: Elmoradj, Amar, Ben omar, Hmaida, Tahar

Petites enfant: Fatima.Z, Houda, Sadek, Taha, Iyade, Mouaàd

Toute ma chère ami (e)s :

Hasna, Faiza, Amina, Sara, Abla, Houda, Rihab, Ahlam, Atika

Taher, Abd Elrahman, Sliman, yousef, Omar

Surtout mes amis de BRIDGE-Club.

Imane, Nana, Saif, Oussama. M, Oussama. N, Oussama. Y, Yacine

REMERCIEMENTS

Remerciant tout d'abord Allah tout puissant de m'avoir donné la force, le courage et la volonté pour réaliser ce travail. Merci de m'avoir éclairé le chemin de la réussite.

Je tiens à remercier tous les membres du jury pour avoir accepté d'examiner le présent travail.

Je tiens à exprimer mes plus sincères remerciements à **M^{ME} GOUDJAL-ZAMOUM MIYADA**, Maître de conférences "A" à l'Université Amar TELIDJI de Laghouat, pour avoir accepté de diriger ce travail, et pour avoir participé activement à la correction de ce manuscrit, pour ses compétences techniques, ainsi que l'orientation et la confiance.

Mes sincères remerciements à **Mr. GOUDJAL YACINE**, MCA à l'Université Amar TELIDJI de Laghouat, pour son aide inestimable et ses précieux conseils.

Mes remerciements s'adressent également à **M^{LLE} NASSIRA BOUKAYA**, et à **M^{ME} KHADIDJA ALLALI**, pour m'avoir tendus la main pour la réalisation de ce travail.

Je voudrais remercier tous les enseignants du département d'agronomie à l'Université Ammar TELIDJI de Laghouat.

Mes remerciements vont aux ingénieurs du laboratoire du département d'Agronomie pour leur aide et soutien, et à Monsieur le chef de département de Génie des Procédés, d'avoir accepté de faciliter l'accès au laboratoire.

J'adresse également mes remerciements à toutes les personnes qui, de diverses façons et à tout moments, m'ont apporté leur aide, surtout à **BENSALEM. A ; KAABOUCHE. A ; RAHMANI. F ; BENSAAD. A ; ATHMANI. T ; HOUARI. S**, et tout mes amies de la promotion de 2^{ème} année Master « Protection des végétaux » pour leur soutien et leur aide, et pour les agréables moments qu'on a passé ensemble.

LISTE DES TABLEAUX

	Page
Tableau 01. Utilisation des actinobactéries dans la lutte biologique.....	26
Tableau 02. Production des enzymes lytiques par les actinobactéries.....	40
Tableau 03. Résultats de la production des sidérophores par les actinobactéries...	42
Tableau 04. Résultats de la production de l'HCN.....	44
Tableau 05. Activité antifongique des souches d'actinobactéries selon la méthode des stries croisées.....	45
Tableau 06. Production de l'acide indole-3-acétique (AIA) par les souches d'actinobactéries.....	48
Tableau 07. Production des gibbérellines (AG3) par les souches d'actinobactéries.....	50
Tableau 08. Résultats des tests de libération de l'ammoniaque dans l'eau peptonée.....	52
Tableau 09. Résultats de la solubilisation des trois sources de phosphates inorganiques par les souches d'actinobactéries.....	53

LISTE DES FIGURES

	Page
Figure 01. Pôles agricoles algériens de filière blé dur.....	04
Figure 02. Culture de céréale au Stade de tallage	05
Figure 03. Cycle de développement de blé.....	06
Figure 04. Pourriture racinaire causé par <i>F. graminearum</i> sur les plants de blé..	07
Figure 05. Caractères morphologiques des <i>Fusarium</i>	09
Figure 06. Cycle de vie de <i>F. graminearum</i>	10
Figure 07. Types de spores de <i>F. graminearum</i>	11
Figure 08. Types de chaînes de spores rencontrés chez les Streptomycètes.....	17
Figure 09. Cycle de développement des Streptomycètes.....	19
Figure 10. Schéma représentatif de la production des protéases sur milieu SMA.....	29
Figure 11. Schéma représentatif de la production des cellulases par les actinobactéries cultivées sur le milieu ISP9.....	29
Figure 12. Photographie montrant la production des sidérophores sur milieu CAS-bleu agar.....	30
Figure 13. Test de la production de l'HCN.....	31
Figure 14. Schéma représentant la méthode des stries croisées.....	31
Figure 15. Protocole expérimental de la production de l'AIA dans le milieu <i>YT</i> (<i>Yeast extract-Tryptone</i>).....	32
Figure 16. Protocole de la préparation des suspensions de spore d'actinobactéries.....	35
Figure 17. Photographie montrant le semer des graines de blé	37
Figure 18. Photographie montrant la présence d'halo clair indiquant la production de sidérophores par les souches d'actinobactéries.....	43
Figure 19. Photographie montrant le changement de couleur indiquant la production de l'HCN par la souche MB15.....	44
Figure 20. Photographie montrant l'activité antagonistique de la souche <i>Streptosporangium</i> sp. SG20 vis-vis-vis de trois champignons phytopathogènes cibles.....	46
Figure 21. Révélation de la production de l'acide indole 3-acétique.....	47
Figure 22. Analyse chromatographie sur couche mince de l'AIA pur et celui produit par les souches d'actinobactéries SN2 et MB15.....	49
Figure 23. Libération d'ammoniaque indiquée par la couleur jaune brunâtre....	51
Figure 24. Photographie montrant les billes d'alginate de sodium et la poudre	55

	de talc.....	
Figure 25.	Pourriture racinaire observés sur les plantules de blé après 6 semaines de culture.....	56
Figure 26.	Incidence de la pourriture racinaire causée par <i>Fusarium graminearum</i> observée après 6 semaines de culture <i>in vivo</i> . Les barres d'erreur représentent l'erreur standard à la moyenne de 5 répétitions. Les histogrammes avec la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test de Newman-Keuls à P = 0,05.....	56
Figure 27.	Effet des biofongicides formulés à base de spores de <i>Streptomyces</i> spp. SN2 et <i>Saccharothrix</i> sp. MB15 sur la promotion de la longueur racinaire, la longueur des tiges, le poids frais et le poids sec des plantules de blé cultivées en sol stérilisé ou en sol non stérilisé.....	59
Figure 28.	Promotion de la croissance des plantules de blé par le biofongicide en poudre de talc et en billes d'alginate de sodium à base de spores de la souche MB15.....	60

LISTE DES ABREVIATION

ADN	Acide désoxyribonucléique
AG3	Acide gibbérellique 3
AIA	Acide indole-3-acétique
AIB	Acide indole-3-butyrique
Al (POO₄)₂	Phosphates d'aluminium
ANOVA	Analyse de variance
ARN	Acide ribonucléique
ARNr 16S	Acide ribonucléique codant pour la sous unité ribosomique 16S
°C	Degrés Celsius
Ca₃(PO₄)₂	Phosphates tricalciques
CCM	Chromatographie sur couche mince
DO	Densité optique
FAO	Organisation mondiale de l'agriculture et de l'alimentation
Fe(PO₄)₂	Phosphates ferriques
GC	Coefficient de Chargaff
HCl	Acide chlorhydrique
ITGC	Institut Technique des Grandes Cultures
MA	Mycélium aérien
mm	Millimètre
MS	Mycélium du substrat
PDA	Potato Dextrose agar
PGPB	Plant Growth-Promoting Bacteria
PVK	Pikovskaya
rpm	Rotations par minute
ssp	Sous espèce
UFC / g	Unité formant colonie par gramme
UV	Ultra-violet
YT	Yeast extract-Tryptone
%	Pourcent

- INTRODUCTION

INTRODUCTION

En Algérie, les céréales sont les principales cultures cultivées sur une superficie annuelle d'environ 3,6 millions d'hectares (MADR, 2012). Le blé dur parmi les céréales les plus cultivé et consommé en Algérie et à travers le monde. Il représente avec le riz et le maïs 85.4% de la production céréalière mondiale (Toumatia *et al.*, 2014). La culture de blé est sujette à de nombreuses attaques parasitaires par une gamme assez large de ravageurs et maladies cryptogamiques qui occasionnent des pertes substantielles (Rastoin et Benabderrazik, 2014). La pourriture des racines causées par le *Fusarium graminearum*, est une maladie très fréquente en Algérie elle peut causer une perte importante à l'échelle mondiale (Ezzahiri, 2001).

Plusieurs moyens de lutte sont utilisés pour prévenir ou réduire la pourriture racinaire telle que les pratiques culturales et par l'utilisation des fongicides synthétiques d'origine chimique qui permettent de protéger les cultures et les récoltes contre ces organismes nuisibles. Pourtant, leur emploi inconsidéré pourrait faire courir des risques aux consommateurs et déstabiliser dangereusement les écosystèmes (Bousaber, 2012). Pour cette raison, les méthodes de lutte biologique utilisant des agents antagonistes naturels sont considérées comme une voie alternative à l'emploi de pesticides de synthèse (Milaire, 1995).

Ces biopesticides peuvent être constitués d'organismes (plantes, insectes, nématodes) ou de microorganismes (bactéries, levures, champignons, virus) exerçant une activité protectrice sur les plantes vis-à-vis des agents phytopathogènes (Lee *et al.*, 2006).

Les biopesticides peuvent être synthétisés à base de bactéries bénéfiques tels que les bactéries phytostimulantes ou biofertilisantes appartenant au genre *Azospirillum*, *Streptomyces* et *Saccharothrix* qui peuvent stimuler la croissance du végétal via la synthèse de phytohormones (auxines et gibbérellines), la fixation atmosphérique de l'azote, etc. (Molina- Favero *et al.*, 2008).

Tout comme les autres agents de lutte biologique, les biopesticides sont écologiquement beaucoup plus compatibles que les produits chimiques et ont une spécificité accrue vis-à-vis des agents phytopathogènes contre lesquels ils sont dirigés. Ils sont par conséquent moins dommageables pour les organismes non ciblés de la microflore endogène qui exerce une action bénéfique sur les plantes (Saravanakumar *et al.*, 2007).

De plus, les biopesticides sont souvent efficaces en faibles quantités et leurs activités protectrices peuvent relever de mécanismes multiples et déclenchent donc rarement des phénomènes de résistance chez le pathogène. Parmi les biopesticides, les produits à base de bactéries représentent 74% du marché mondial (Lourenco Junior *et al.*, 2006).

A la lumière des ces informations, l'objectif de notre travail est d'étudier le pouvoir de douze souches d'actinobactéries à produire des enzymes lytiques, des sidérophores et l'acide cyanhydrique, et leur pouvoir de biofertilisation par la détermination de la capacité des souches à solubiliser des phosphates inorganiques, la libérer d'ammoniaque, la produire de l'acide indole-3-acétique et le gibbérelline. Notre étude vise également l'inclusion des spores des souches les plus prometteuses sous forme des billes d'alginate de sodium et en poudre de talc.

PARTIE I:
- DONNEES BIBLIOGRAPHIQUE

I. LA PLANTE HÔTE

I.1. Généralités sur le blé dur

Le blé dur (*Triticum durum*. Desf) est un appartient de la famille des *Poaceae* (*Gramineae*), appartient au groupe tetraploïde ($2n = 28$) du genre *Triticum* qui comprend de nombreuses espèces (Laala, 2009). Morphologiquement, le blé dur (*Triticum durum* Desf) se différencie du blé tendre (*T. aestivum*) par un feuillage plus clair, totalement glabre. L'appareil végétatif est à tallage faible, à chaume long et souple (Olmedo, 1995 ; Soltner, 2005). Les fruits de blé sont secs et indéhiscent appelés caryopses. La graine est grosse, de section triangulaire très riche en albumen et de texture vitreuse (Hadria, 2006).

Le blé dur est très riche en gluten, vue l'importance nutritionnelle élevée. Les semoules de graines de blé dur, sont la matière première utilisée en alimentation. La semoule issue du blé dur est également à l'origine de produits alimentaires très divers, et aliments traditionnels (Feillet, 2000).

Le blé dur ainsi défini doit avoir une couleur jaune ambrée à brun et présenter une cassure vitreuse d'aspect translucide et cornée. Ainsi, le législateur a, d'une part, tenu compte de la définition de l'espèce botanique et des possibilités de l'amélioration variétale, d'autre part, restreint le terme de blé dur aux blés possédant des caractères appréciés par les industries utilisatrices.

Le blé dur est une plante annuelle, mono-cotylédonaire, appartenant au genre : *Triticum* qui comprend plusieurs espèces. Le blé dur est nommé : « *Triticum durum* Desf » (Brouillet *et al.*, 2006).

I.2. La production de blé

I.2.1. Dans le monde

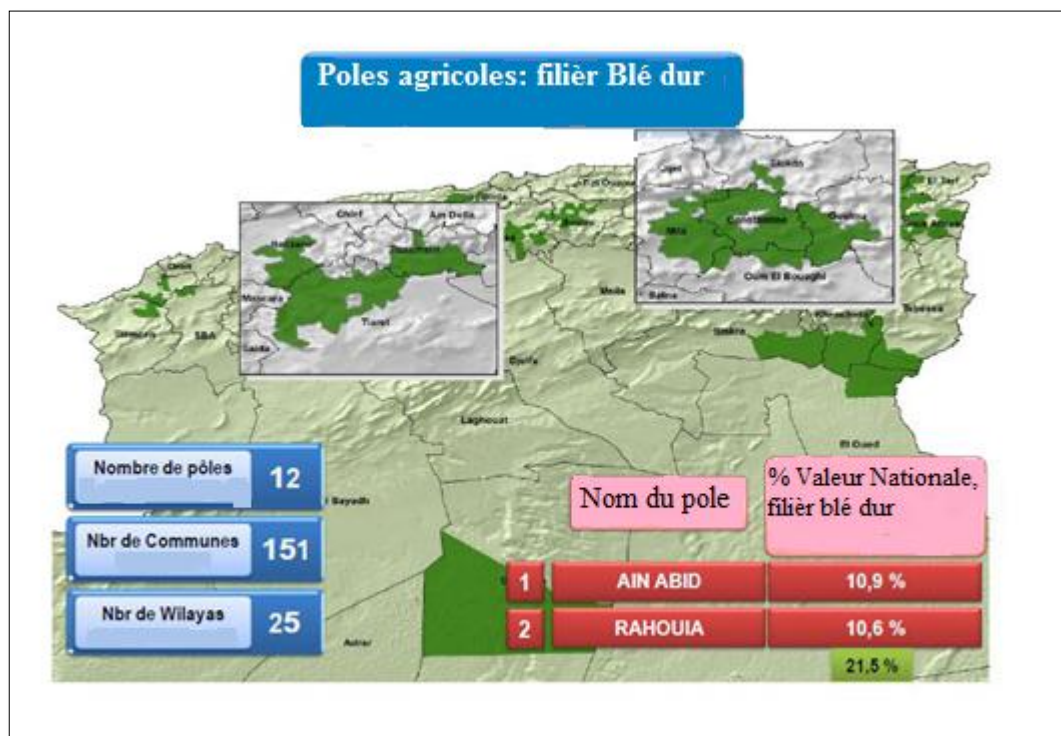
Le blé dur (*Triticum durum* Desf.) occupe une place importante dans certaines régions du monde (Pena et Pfeiffer, 2005). La culture du blé dur est concentrée au Moyen-Orient, en Afrique du Nord, en Russie, aux Dakotas, au Canada, en Inde et en Europe méditerranéenne. La production de blé dur des différents pays n'est pas stable, ceci en raison du fait que cette céréale est produite dans des zones et climats très variables (Royo *et al.*, 2000).

La superficie moyenne consacrée annuellement à la culture du blé dur est estimée à 8 millions d'hectares, pour une production moyenne de 37.9 millions de tonnes durant la

période (2006-2010). La production de blé dur avait atteint 754.8 millions de tonnes par an durant l'année 2017 (FAO, 2017). L'Union européenne est le plus grand producteur de blé dur avec plus de 144 millions de tonnes en (2017). La Chine arrive au deuxième rang, elle produisait plus de 128 millions de tonnes (FAO, 2017).

I.2.2. En Algérie

La superficie totale de l'Algérie est de 238 174 100 ha dont seulement 3 % représentent des terres arables (Mara, 1992). La production des céréales est la plus importante, parmi toutes les productions agricoles en Algérie. Le blé est cultivé à travers l'ensemble des zones agro-écologiques de l'Algérie, mais il est essentiellement localisé dans les régions semi-arides et même arides et donc, soumis aux aléas climatiques qui pénalisent fortement les niveaux de productivité (Boulal *et al.*, 2007). La culture de blé dur occupe une place prépondérante de la surface agricole algérienne (Figure 01). Durant la période (2010-2015) les superficies récoltées consacrées au blé dur ont été estimées à environ de 120 000 ha, et la production représente 55 % de la récolte nationale des céréales lors de la campagne 2014-2015 (MADRP, 2015).



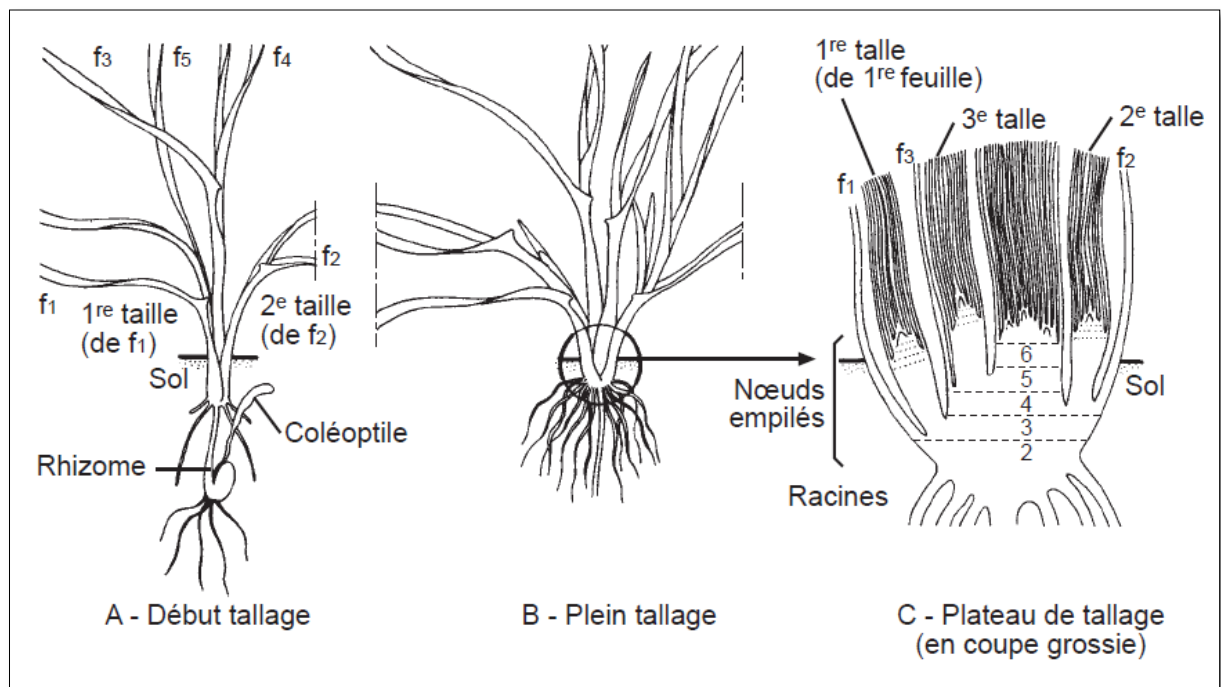
(Source : MADRP, 2015).

Figure 01: Pôles agricoles algériens de filière blé dur.

I.3. Caractères morphologiques et physiologiques

I.3.1. Caractères morphologiques

Le blé dur est caractérisée par des feuilles longues et étroites dépourvues de pilosité et à teinte vert clair. Les chaumes sont longs et à diamètre faible, alors que les épis sont barbus, compacts, à glumes longues, fortement carénées. Les grains sont allongés, à embryon saillant, à brosse peu développée. Il est à noter que l'amélioration variétale actuelle a créé des variétés qui, morphologiquement, se rapprochent des variétés actuelles de blé tendre (Soltner, 2005). L'appareil végétatif est constitué de talles émises depuis le plateau de tallage situé à la base de la plante (Figure 02). Ces talles se développent à partir du bourgeon principal (talle principale) et des bourgeons axillaires (talles secondaires). Chaque talle se compose de différents phytomères formés de tige, gaine, limbe foliaire, un bourgeon axillaire qui porte à son sommet un épi formé de deux rangées d'épillets situés de part et d'autre du rachis (Boyeldieu,1999).



(Source : Boyeldieu ,1999)

Figure 02. Culture de céréale au Stade de tallage

I.3.2. Caractères physiologiques

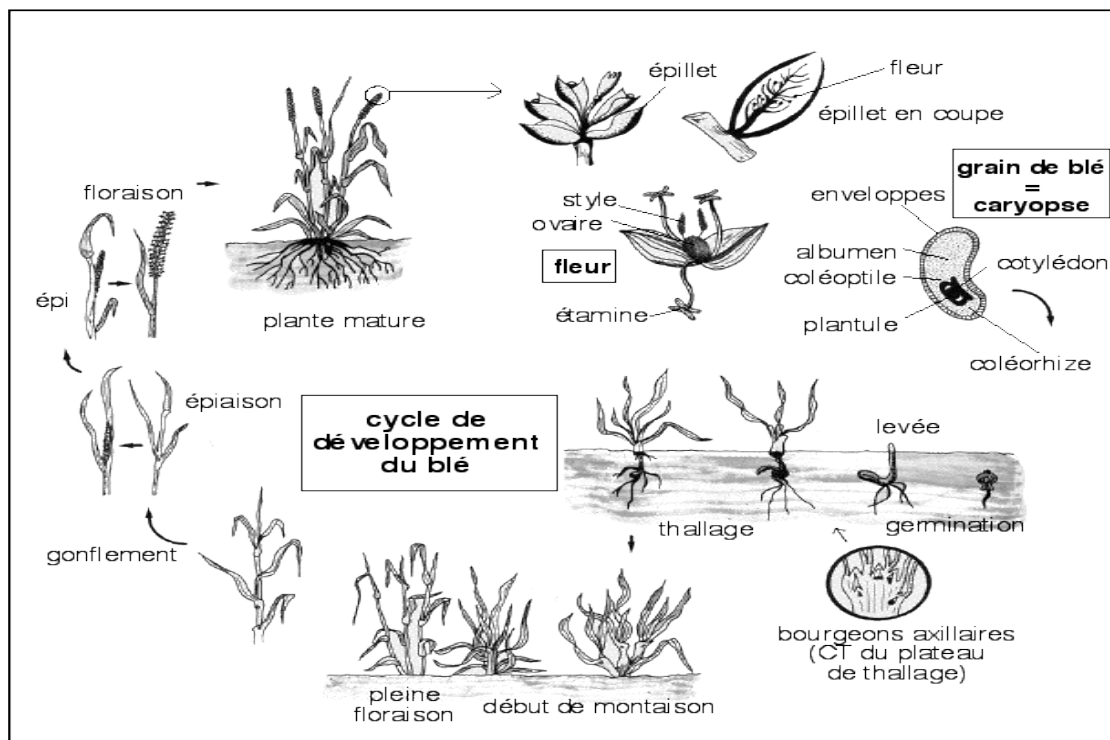
Le blé dur se caractérise par un tallage faible, il est également caractérisé par le développement de type printemps, par la longueur de la période de maturation, par sa sensibilité aux mauvaises conditions de l'hiver (froid et humidité), et à la verse. Par ailleurs,

le blé dur est connu par sa résistance élevée aux hautes températures et au déficit hydrique (Soltner, 2005).

I.4. Cycle de développement

Selon (Boufenar *et al.*, 2006), toutes les céréales ont le même cycle de développement. Le développement représente l'ensemble des modifications phénologiques qui apparaissent au cours du cycle de la culture. Trois périodes repères (Figure 03) caractérisent le développement de blé à savoir :

- Période végétative où se fait la différenciation des racines et des feuilles ;
- Période reproductrice caractérisée par l'apparition de l'épi ;
- Période de maturation qui s'étend entre la fécondation et la maturation du grain.



(Source : Henry et De Buyser, 2000).

Figure 03 : Cycle de développement de blé

I.5. Contraintes phytosanitaires

Le blé dur, comme toutes les plantes, est soumis à de nombreuses contraintes biotiques comme le développement de plantes adventices, qui entrent en compétition avec le blé dur en puisant les éléments minéraux du sol. Il peut être également attaqué par des ravageurs tels que, les oiseaux (les moineaux et la tourterelle), les rongeurs (les ras des champs), les insectes (punaise des céréales, pucerons), et les nématodes (*Anguina tritici*) (Bakour et Bendifallah.;

1990). Ces derniers peuvent transmettre des virus dont les plus répandus sont le BYDV (*Barley Yellow Dwarf Virus*), le WSMV (*Wheat Streak Mosaic Virus*).

D'autres microorganismes sont à l'origine de plusieurs maladies telles que les bactéries (*Rathyibacter tritici*, *Erwinia rhapontici*), et les champignons phytopathogènes (Nekache, 2013). Parmi les maladies fongiques, nous pouvons citer l'oïdium causé par *Erysiphe graminis* f. sp. *tritici* ; la tache bronzée (ou tache helminthosporienne) causée par *Phyrenophora tritici-repentis* ; la carie causée par *Tilletia caries* et *T. foetida* ; les rouilles causées par *Puccinia triticina*, *P. graminis* f. sp. *tritici* et *P. striiformis* ; les septorioses causé par *Septoria tritici*, et *S. nodorum*, et les pourritures racinaires causées par plusieurs agents fongiques principalement *Fusarium culmorum*, et *F. graminearum*, ces derniers représentent une contrainte considérable au sein des céréales dans le monde (Ezzahiri, 2001).

II. LA MALADIE : POURRITURE RACINAIRE DU BLÉ

En Algérie, la pourriture racinaire est l'une des maladies redoutables les plus répandues dans les champs céréaliers. Elle est causée par plusieurs agents fongiques principalement *F. graminearum* (Sayoud *et al.*, 1999).

II.1. Symptomatologie

D'après Caron (1993), l'attaque de *F. graminearum* se traduit par l'apparition de plusieurs symptômes sur les différents organes de la plante. Ainsi, les symptômes sur les racines sont peu souvent remarqués car ils ne manifestent rien de particulier sur le feuillage ou alors, très précocement des manques à la levée ou des fontes de semis. Ces symptômes racinaires se présentent sous forme de plages brunes en pourriture humide (Figure 04), de quelques millimètres à quelques centimètres de longueur, et qui sont observées en lavant les racines.



(Source : <http://www.omafra.gov.on.ca/french/contact.html>).

Figure 04 : Pourriture racinaire causée par *F. graminearum* sur les plants de blé.

Au stade tallage, les gaines présentent rapidement une pourriture humide généralisée, le reste de la feuille se nécrose alors entièrement. De la montaison à la maturité les gaines présentent ce même brunissement diffus généralisé, mais sous une forme sèche (Caron, 1993). A partir du gonflement, sur les gaines et les feuilles desséchées de la base apparaissent des ponctuations noires violacées, ce sont les périthèces. L'initiation de la maladie sur les tiges se fait très souvent à partir des gaines atteintes qui l'entourent. A partir de ces points de contamination, la maladie s'étend le long des nervures sous forme de traits bruns verticaux, la nécrose se généralise ensuite autour de la tige. Si la maladie progresse rapidement, les tiges peuvent être gravement atteintes ; parfois même les jeunes talles sont tuées avant que la tige ne monte ; par contre si la maladie s'installe tardivement, ou si elle progresse lentement

comme cela se passe très souvent, les attaques de tiges ne sont que superficielles malgré des gaines entièrement détruites (Caron, 1993).

Quand aux symptômes sur les nœuds, ordinairement, la maladie dépasse facilement la hauteur du premier nœud, des fragments d'anneaux brun violacés entourent plus au moins complétement ce dernier. Les nœuds supérieurs peuvent aussi être atteints de la même façon, bien que cela soit moins fréquent (Caron, 1993).

Les symptômes sur les feuilles sont assez rares, on les trouve plus spécifiquement sur les blés durs les plus sensibles à *Microdochium nivale* (Caron, 1993).

II.2. Taxonomies

Selon Lynch et al. (2003), la classification de *F. graminearum* est la suivante :

Règne: Fungi
Division: Ascomycetes
Classe: Sordariaceae
Ordre: Hypocréales
Famille: Nectriaceae
Genre: *Fusarium*
Espèce: *Fusarium graminearum*

II.3. Agent causal : *Fusarium graminearum*

De nombreuses espèces fusariennes ont été identifiées dans la nature dont les principales capables d'induire la pourriture racinaire de blé: *Fusarium culmorum* ; *F. graminearum* et *F. avenaceum* (Xu et Nicholson, 2009).

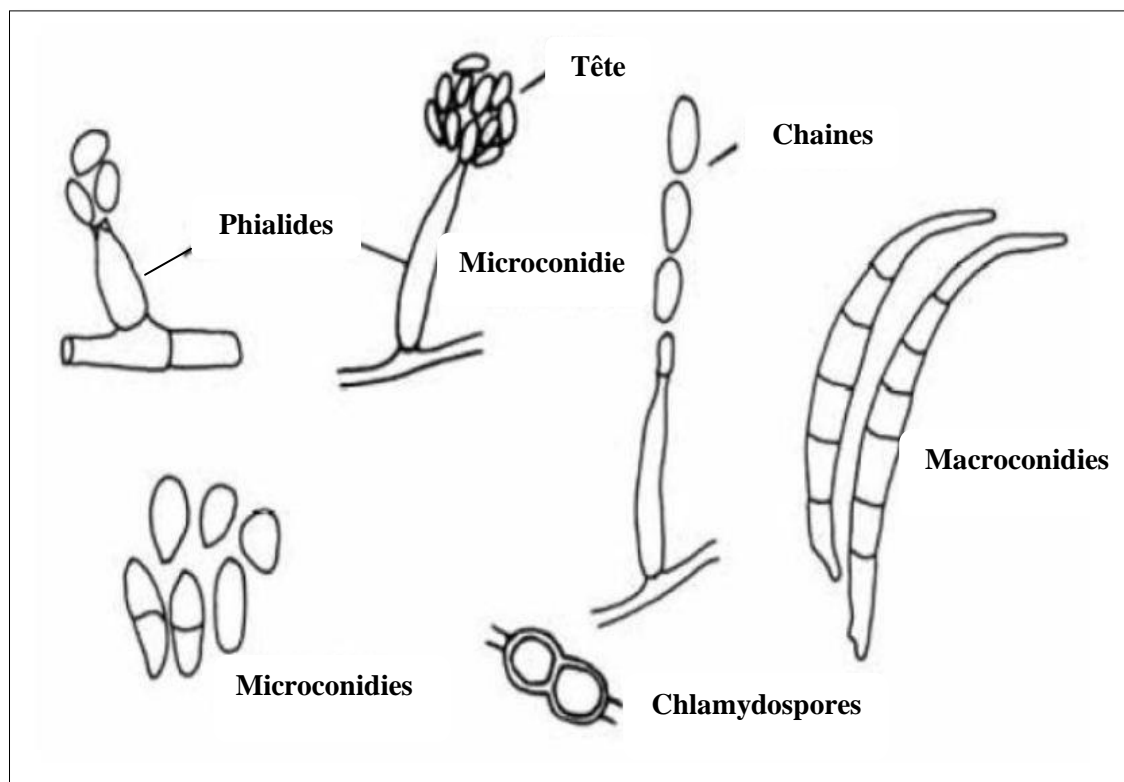
Le champignon *F. graminearum* a été identifié comme un facteur limitant majeur de la production de blé dans de nombreuses régions du monde (Stack, 1999). Ce champignon filamenteux est réputé pour provoquer de nombreuses pathologies notamment dans les grandes cultures céréalières (blé, maïs ...etc). En plus des pertes occasionnées par une diminution de rendement, la production de mycotoxines rend certaines récoltes impropres à la consommation humaine ou animale. Deux types de toxines majeures sont produits : le DeOxyNivalenol (DON ou Vomitoxine) et les Trichothécènes (Hatsch, 2004).

II.3.1. Caractères morphologiques

D'après Botton *et al.* (1985) cité par Jeunot (2005), les *Fusarium* ont un thalle à croissance généralement rapide, blanc à crème, jaune brunâtre, rose, rouge ou violet. Les conidiophores (Figure 04), parfois très ramifiés, forment sur le thalle des coussinets (sporodochies) et portent des masses de spores d'aspects gras. Les phialides (Figure 04) sont plus ou moins allongées et peuvent produire deux types de conidies :

- Les macroconidies (Figure 05) fusiformes, souvent courbées, pluriseptées, avec une cellule basale pédicellée, portant une sorte de talon.
- Les microconidies (Figure 05) de petites tailles, généralement septées, piriformes, fusiformes ou ovoïdes.

Selon Botton *et al.* (1985) cité par Jeunot (2005), certaines espèces produisent les deux types de spores, d'autres ne forment que des macroconidies. Les chlamydospores (Figure 05) sont présentes ou absentes, terminales ou intercalaires, différenciées par le mycélium ou par les conidies (Figure 05).

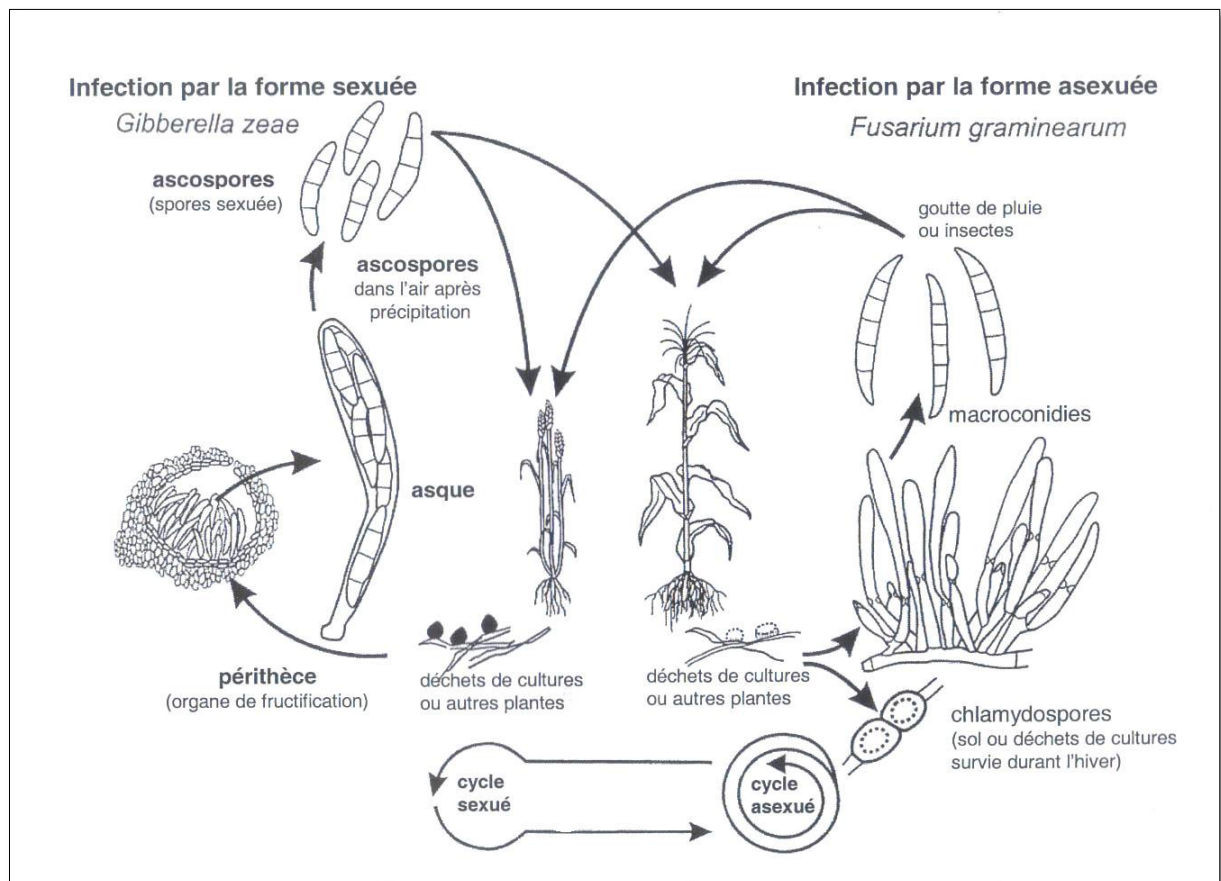


(Source: Tabuc, 2007).

Figure 05: Caractères morphologiques des *Fusarium*.

II.3.2 Cycle de développement

Le cycle de vie des Ascomycètes peut se faire selon deux modes sexué et asexué (Figure 06). La reproduction sexuée prend environ deux semaines (Turkington *et al.*, 2014), selon deux types de stratégies : la reproduction homothallique et hétérothallique. La première stratégie, connue chez *Gibberella zeae*, n'a pas besoin de deux parents, la méiose produit des ascospores qui sont expulsées de force dans l'air par des périthèces en forme de ballon. L'espèce *F. graminearum* se reproduit selon un mode de reproduction hétérothallique qui est caractérisée par la présence d'un locus MAT avec deux formes. La reproduction ne peut se produire qu'entre individus ayant des loci de différents types. La majorité des Ascomycètes utilisent cette stratégie de reproduction (Yun *et al.*, 2000 in Hatsch, 2004).



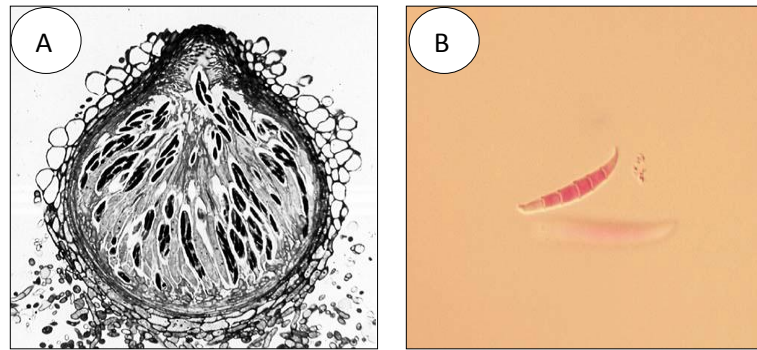
(Source : Turkington *et al.*, 2014).

Figure 06 : Cycle de vie de *F. graminearum*.

Le champignon *F. graminearum* produit deux types de spores : les ascospores (Figure 07 A) et les macroconidies (Figure 07 B). Les ascospores sont produites lors de la reproduction sexuée dans des asques contenus dans le périthécium. Cette structure sert de canon à spores : des recherches récentes ont montré que le mécanisme d'expulsion dans les asques serait lié à

une augmentation de pression interne lié à un influx d'ion et de mannitol (Trail *et al.*, 2002). Ces auteurs ont également montré que la décharge de spores se réalisait préférentiellement en présence de lumière (Trail *et al.*, 2002).

Les macroconidies sont des spores issues de phénomènes mitotiques. Ces spores sont particulièrement résistantes aux cycles de congélation / décongélation mais perdent rapidement leur viabilité lors d'exposition à des conditions où l'humidité relative est inférieure à 53% (Beyer *et al.*, 2004).



(Source : Trail *et al.*, 2002).

Figure 07 : Types de spores de *F. graminearum*. **A** : Périthécium contenant les ascospores, **B** : Macroconidie isolée.

II.3.3. Pouvoir pathogène

F. graminearum n'est pas capable de former des structures de type appressorium. Par conséquent, il trouve facilement des sites propices à infection au niveau des plumeaux des jeunes épis des céréales ou sur des blessures. Ce champignon dispose également de chitinases (8 protéines prédites) mais leur rôle dans le processus infectieux n'a pas encore été clairement démontré (Hatsch, 2004).

Les parois végétales sont composées de différents polymères, cellulose, xylane, pectine ainsi que de lignine. Le *F. graminearum* dispose d'un grand nombre d'enzymes lytiques qui lui permettent de dégrader la paroi cellulaire de la plante. Ces enzymes sont appelées enzymes de dégradation de paroi (*Cell Wall Degrading Enzymes* : *CWDE*). Il a été montré que les spores de *F. graminearum* germaient à la surface des épis en produisant des tubes germinatifs. Ces derniers forment un mycélium dense colonisant préférentiellement les cavités de l'épi. Ensuite le mycélium forme des hyphes infectieux qui colonisent l'ovaire. L'analyse des zones infectées montre une réduction des différents composants de la paroi végétale, indiquant clairement que les *CWDE* sont des facteurs importants de pathogénicité (Hatsch, 2004).

Outre les enzymes lytiques, les mycotoxines de *F. graminearum* jouent un rôle important lors de l'infection des plantes. Il a été montré que l'implication du DON (DeOxyNivalenol) dans les pathologies végétales est proportionnelle à sa concentration (Hatsch, 2004).

II.4. Moyens de lutte contre la pourriture racinaire

II.4.1. Pratiques culturales

D'après Nasraoui (2008), les méthodes culturales de lutte contre le *F. graminearum* concernent toutes les actions culturales qui peuvent créer des conditions défavorables au pathogène et favorables à la plantes. La destruction des repousses et des hôtes alternatifs qui peuvent former des réservoirs de pathogènes durant la saison où la culture est absente, c'est une action importante qui réduit le niveau d'inoculum, c'est le cas des rouilles.

Les pathogènes transmis par le sol et les débris des plantes hôtes dans le sol peuvent être réduits lorsqu'on cultive des espèces végétales avec une rotation de trois à quatre ans. La rotation des cultures est un moyen de lutte efficace, en particulier, contre les pathogènes spécifiques à certains types de plantes hôtes (Champeil *et al.*, 2004).

D'autres opérations culturales sont aussi utilisées pour réduire le niveau d'inoculum. Ainsi, le labour profond retournant les débris d'hôtes infectés après la récolte permet d'enterrer l'inoculum dans le sol et le détruire. D'autre part, en labourant pendant l'été, la haute température du sol due à la chaleur du soleil, inactive beaucoup de champignons transmis par le sol et par conséquent diminue le niveau d'inoculum (Nasraoui, 2008).

II.4.2. Lutte génétique

Pour induire ou améliorer la résistance dans les plantes hôtes à plusieurs pathogènes, la résistance génétique a été introduite et augmentée à travers le croisement des variétés résistantes. En plus de la génétique conventionnelle en usage depuis longtemps, la technologie du génie génétique a commencé à être de plus en plus utilisée. L'utilisation des variétés résistantes est l'un des moyens les plus efficaces dans la lutte contre les maladies des plantes. C'est aussi un moyen facile, sûr et relativement peu cher. La culture de variétés résistantes élimine les pertes dues aux maladies et permet d'éviter les autres méthodes de lutte qui sont généralement chères et polluantes. Il est toujours préférable d'utiliser les variétés qui ont à la fois une résistance verticale et horizontale (Toumatia, 2015).

II.4.3. Luittes physique

Plusieurs agents physiques peuvent être utilisés pour lutter contre les maladies des plantes. Ces agents sont la température (haute ou basse), l'air sec, la lumière à longueurs d'onde défavorables, la radiation, et les rayonnements électromagnétiques (Vincent, 2000).

II.4.4. Lutte chimique

Plusieurs stratégies chimiques permettent de lutter contre l'invasion d'une plante par les agents phytopathogènes, de façon directe ou indirecte mais avec une efficacité limitée. Toutefois, appliqué à la bonne dose de fongicide et au bon stade, un traitement à l'aide d'un produit spécifique est un levier complémentaire pour lutte contre la fusariose. Certains fongicides agissent sur le système énergétique des cellules fongiques en inhibant les processus respiratoires, et d'autres agissent sur la synthèse des constituants du champignon. Des substances ont encore pour but de désorganiser les cellules des tissus fongiques et leurs divisions. La diversité des agents pathogènes ainsi que la différence d'efficacité des matières actives d'une espèce à l'autre complexifient ce moyen de lutte (Rocher, 2004 ; Dorothée, 2013). Parmi les fongicides les plus utilisés en Algérie pour lutter contre les maladies causés par *F. graminearum* nous citons le fongicide ACIL, et le *Dividend*® (Hadjeres, 2015).

II.4.5. Lutte biologique

Elle a pour but de maintenir la population d'organismes bioagresseurs en dessous d'un seuil de nuisibilité. C'est une méthode de lutte au moyen d'organismes vivants antagonistes, appelés agents de lutte biologique, sans faire appel à des pesticides (Milaire, 1995). Dans le sens écologique strict, l'application de la lutte biologique peut être considérée comme une stratégie pour restaurer la biodiversité dans les agro-écosystèmes par l'addition des antagonistes naturels (parasite ou prédateur) (Altieri, 1999 ; Nautiyal *et al.*, 2000).

La lutte biologique connaît ces dernières années un regain de popularité dû en partie à un certain échec de la lutte chimique. Les traitements chimiques donnent de bons résultats à court terme mais à long terme, l'accumulation de leurs résidus dans l'environnement représente un danger non négligeable. Par contre, la lutte biologique a une efficacité relative et demande plus de connaissances et d'observations, mais à long terme, elle est beaucoup plus intéressante sur le plan environnemental et économique (Corbaz, 1990 ; Toussaint, 1996).

Plusieurs microorganismes du sol ont été utilisés pour lutter contre le *F. graminearum* (Whipps, 2001; Reyes *et al.*, 2004 ; Haas et Defago 2005 ; Valdebenito *et al.*, 2006 ; 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/ou l'induction des mécanismes de la résistance de la plante (Lugtenberg *et al.*, 2002 ; Lehr *et al.*, 2008). Parmi ces microorganismes les actinobactéries (*Streptomyces lydicus*, *S. violaceusniger*), qui peuvent agir par différents mécanismes d'action (Emmert et Handelsman, 1999 ; Toumatia, 2015).

III. LES ACTINOBACTÉRIES

III.1. Généralités

Les actinobactéries (ou actinomycètes anciennement) constituent l'ordre des Actinomycetales. Ce sont des bactéries filamenteuses, septées, ramifiées, prenant généralement le Gram positif, elles possèdent un coefficient de Chargaff (GC %) compris entre 60-70 % (Larpent, 1989). La plupart d'entre elles sont toujours immobiles et saprophytes mais quelques-unes peuvent être pathogènes ou symbiotes de plantes ou d'animaux. La croissance des actinobactéries est lente avec un temps de génération de 2 à 3 heures, ils croissent en l'espace de quelques jours à quelques semaines, et ils sont abondamment distribués dans la nature (Suzuki *et al.*, 2001).

Les actinobactéries ont souvent été confondus avec les champignons, du fait de l'allure mycosique des maladies qu'ils provoquent et aussi de leur morphologie fongicoïde : filaments ramifiés, organes de sporulation, etc. Or, leurs propriétés chimiques, physiologiques, et immunologiques les rangent parmi les procaryotes. Leur paroi cellulaire ne renferme ni chitine ni cellulose mais une glycoprotéine contenant de la lysine (formes fermentatives) ou de l'acide diaminopimélique (formes oxydatives) et leur cytologie est celle des bactéries. Ces caractères s'ajoutent à d'autres comme la sensibilité à des actinophages et à des antibactériens, cela confirment le bien-fondé de la classification des actinobactéries parmi les bactéries (Larpent, 1989).

Les Actinobactéries se séparent en deux groupes physiologiques. Le plus important est composé de germes ayant un métabolisme oxydatif et habitant surtout le sol. Le second rassemble des bactéries fermentatives, hôtes des cavités naturelles de l'homme et des animaux (Leminor, 1989), Ils sont présents en surface jusqu'à plus de 2 mètres de profondeur, la zone optimale étant comprise entre 2 et 15 cm (Breton *et al.*, 1989).

III.2. Taxonomie

Les actinobactéries appartiennent au règne des procaryotes. Selon et Lechevalier (1965), la position taxonomique du genre *Streptomyces* s'établit comme suit:

Règne :	Procaryotes
Phylum:	Actinobacteria
Classe:	Actinobacteria
Ordre:	Actinomycetales

Famille : Streptomycetaceae

Genre : *Streptomyces*

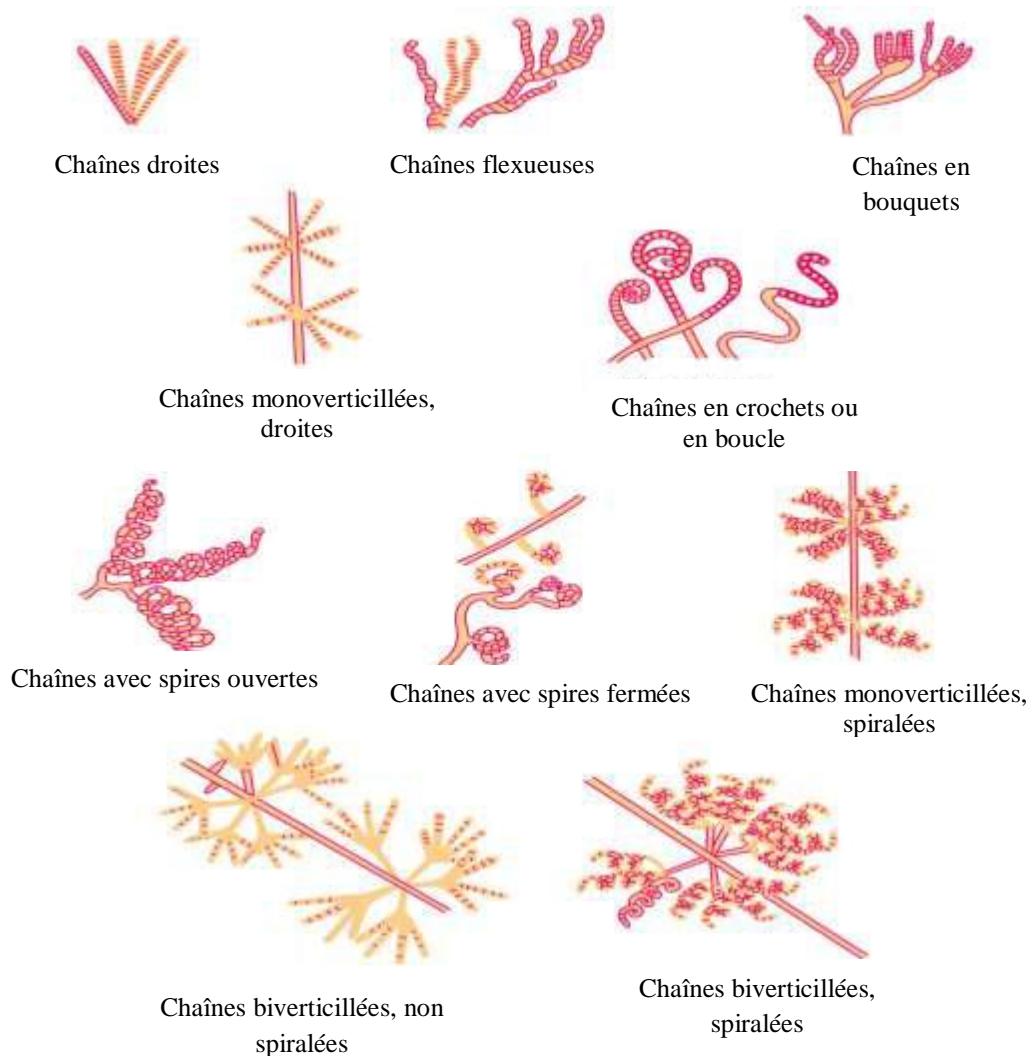
D'après Stackebrandt *et al.* (1997), la classification hiérarchique des actinobactéries ne change pas les descriptions courantes des espèces et des genres. Cette classification, basée sur des caractères morphologiques, chimio-taxonomiques, etc., a été vérifiée, et il s'est avéré qu'elle est en accord avec le regroupement phylogénétique basé sur l'ADNr / ARNr 16S.

➤ **Position taxonomique des *Streptomyces* et des *Saccharothrix***

Dans ce travail, nous nous intéressons à deux espèces d'actinobactéries appartenant à deux genres différents : *Streptomyces* et *Saccharothrix*. Donc il est utile de donner quelques informations sur ces deux genres.

• **Le genre *Streptomyces***

Le genre *Streptomyces* a été très longtemps classé dans l'ordre des Actinomycetales (Bergey's Manual, 2004). Cependant, très récemment, dans la nouvelle édition du Manuel de Bergey de 2012, Goodfellow *et al.* (1984), ont scindé, sur la base des données de la biologie moléculaire, l'ordre des Actinomycetales en plusieurs ordres. Le genre *Streptomyces* appartient actuellement à l'ordre des Streptomycetales et à la famille des *Streptomycetaceae*. Morphologiquement, ce genre se distingue par la formation d'un mycélium du substrat (MS) non fragmenté et un mycélium aérien (MA) produisant des sporophores qui forment des chaînes de spores (3 à 10, 10 à 50 ou plus de 50 spores par chaîne) pouvant être droites à flexueuses (type RF = *Rectus Flexibilis*), en crochets ou en boucles (type RA = *Retinaculum Apertum*) ou encore spiralées (type S = *Spiral*). Les sporophores ne sont en général pas verticillés, sauf pour certaines espèces (Figure 08).



(Source : Aouiche, 2013).

Figure 08: Types de chaînes de spores rencontrés chez les Streptomycètes

Le pourcentage de GC des espèces de *Streptomyces* est compris entre 68 et 78% (Bergey's Manuel, 2012). Le genre *Streptomyces* est celui qui comporte le plus grand nombre d'espèces. Selon Labeda *et al.* (2012), il compte actuellement plus de 612 espèces définies sur la base du gène codant pour l'ARNr 16S et de l'hybridation ADN-ADN.

• Le genre *Saccharothrix*

Le genre *Saccharothrix* était classé dans l'ordre des Actinomycetales et la famille des Actinosynnemataceae (Labeda et Kroppenstedt, 2000). Actuellement, dans la dernière édition du Manuel de Bergey de 2012, et après les profonds remaniements opérés à l'échelle supragénérique, ce genre est actuellement classé dans l'ordre des Pseudonocardiales et la famille des Pseudonocardiaceae. Tout comme *Streptomyces*, le genre *Saccharothrix* est rattaché au règne des *Procaryotae*, au Phylum des *Actinobacteria* et à la classe des

Actinobacteria. Ce genre est caractérisé par un mycélium aérien (MA) à filaments ramifiés, se fragmentant totalement et de manière anarchique, en de longues chaînes de spores ovoïdes ou en bâtonnets, bien différenciées et non mobiles. Le mycélium du substrat (MS) se fragmente en zigzag donnant des éléments coccoïdes ou en bâtonnets non mobiles (Labeda et Kroppenstedt, 2000). Du point de vue chimique, les espèces du genre *Saccharothrix* possède une paroi (Labeda et Kroppenstedt, 2000; Labeda *et al.*, 2001) et une composition membranaire en phospholipides (Lechevalier *et al.*, 1977).

Le genre *Saccharothrix* compte 21 espèces, dont deux sous-espèces. Certains espèces appartenant à ce genre ont été isolées et identifiées par des chercheurs Algériens, à savoir *S. algeriensis* (Zitouni *et al.*, 2004), *S. hoggarensis* (Boubetra *et al.*, 2013a), *S. saharensis* (Boubetra *et al.*, 2013b), *S. tamenrassetensis* (Boubetra *et al.*, 2015), *S. ghardaiaensis* (Bouznada *et al.*, 2017), et *S. isguensis* (Chaabane chaouch *et al.*, 2016).

III.3. Cycle de développement

Les actinobactéries possèdent un cycle de vie complexe (Figure 09), qui est le résultat de trois processus physiologiques majeurs : la croissance végétative, la différenciation et la sénescence cellulaire puis la mort (Danilenko *et al.*, 2005). Il débute par la germination d'une spore, processus qui nécessite la présence des ions de calcium. Cette germination donne naissance à un mycélium primaire formé d'hyphes qui se ramifie et non fragmenté et se développent par croissance apicale (O'Gara *et al.*, 2008).

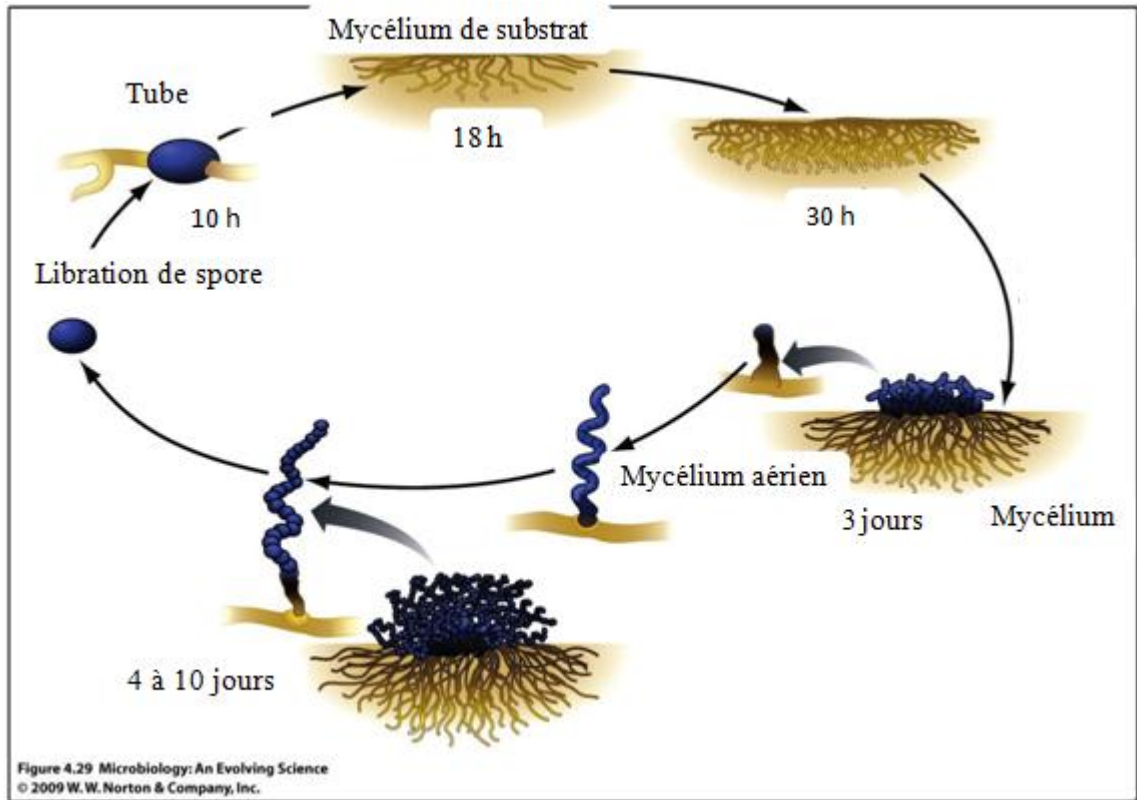


Figure 09: Cycle de développement des Streptomycètes.

Le développement du mycélium du substrat vers la partie superficielle donne le mycélium aérien, les extrémités des hyphes aériens se différencient pour former des spores asexuées à paroi fine appelées conidies ou conidiospores, qui sont des agents de dissémination (Kim *et al.*, 2004 ; Smaoui, 2010). Ces spores naissent par septation du mycélium primaire habituellement en réponse à un stress d'environnement. La différenciation morphologique s'accompagne d'une différenciation métabolique. Un métabolisme secondaire se met en place donnant lieu à la biosynthèse de composés d'une extraordinaire diversité de structures et d'activités biologiques (Choulet, 2006). Le mycélium du substrat s'autolyse et les produits de la lyse sont utilisés par le mycélium aérien, c'est à ce moment-là que les composés médicalement utiles sont synthétisés, et on les appelle métabolites secondaires (Smaoui, 2010). Le mycélium aérien émerge par la réutilisation de composés assimilés par le mycélium végétatif tels que l'ADN, les protéines ainsi que des composés stockés résultants de la lyse du mycélium du substrat (Ou *et al.*, 2008). Lorsque la croissance du mycélium aérien s'arrête, contrairement au mycélium végétatif, des septas sont formés à des intervalles réguliers le long de l'hyphe formant des compartiments uni-génomiques. Si les spores sont localisées dans des sporanges, on les appelle des sporangiospores. Généralement ces spores ne sont pas résistantes à la chaleur, mais résistent bien à la dessiccation et ont de ce fait une

importante valeur adaptative, les actinobactéries sont immobiles, excepté pour les spores de certains genres (*Actinoplan*, *Spirillospora*...etc.) (Prescott et al., 2010). La sporulation est contrôlée par des facteurs extérieurs aux microorganismes et par des facteurs propres à ceux-ci. C'est un processus hautement régulé (McCormick et Flärdh, 2012).

Parmi les éléments extérieurs favorisant la sporulation, nous retiendrons principalement: la dessiccation, une concentration élevée en gélose, le glycérol comme source de carbone, l'urée comme source d'azote, l'addition de carbonate de calcium et d'extrait de sol, la présence de magnésium, de fer et de manganèse, et un pH légèrement alcalin voisin de 7,5. En milieu liquide, les cellules se développent uniquement sous forme de mycélium végétatif, même si certains Streptomycètes peuvent sporuler dans cet environnement (Hodgson, 1992).

III.4. Importance des actinobactéries

III.4.1. Dans le domaine agronomique

Les actinobactéries jouent un rôle très important dans les phénomènes de biodégradation et de transformation de la matière organique. Ils peuvent dégrader les substances organiques non biodégradables par les champignons et les bactéries, tels que les polymères complexes, les polysaccharides, la chitine et les lignocelluloses des plantes (Lechevalier, 1981 ; Goodfellow et Williams, 1983 ; Goodfellow et al., 1984). Ils jouent par conséquent un rôle important la fertilité des sols. Grâce à un potentiel enzymatique riche (ligninases, cellulases, xylanases, amylases, protéases et chitinases), les actinobactéries peuvent dégrader la biomasse et décomposer des déchets agricoles ou urbains (Goodfellow et al., 1984). Ils sont également capables de dégrader ou de transformer certaines toxines produites par des champignons toxigènes (mycotoxines) et réduire ainsi leur teneur dans les produits finaux en agro-alimentaire (Holzapfel et al., 2002).

III.4.2. Dans le domaine médical et vétérinaire

Les actinobactéries produisent de nombreuses molécules bioactives, en particulier les antibiotiques, utilisés en thérapie humaine et vétérinaire (Solankiet al., 2008). Depuis la découverte des antibiotiques par Fleming chez le champignon *Penicillium notatum* en 1928 et par la suite par Waksman et Woodruff en 1940 chez les actinobactéries du sol, plus de 10 000 molécules ont été décrites à partir de ces bactéries mycéliennes (Solecka et al., 2012). En plus des effets thérapeutiques des antibiotiques exploités en médecine vétérinaire, certaines molécules sont utilisées dans l'élevage industriel des animaux comme additif nutritionnel (Schwarz et al., 2001).

III.5. L'interaction plantes - actinobactéries

III.5.1. Actinobactéries endophytes

Le terme « endophyte » sous-entend un microorganisme capable d'entrer à l'intérieur d'une plante et d'y survivre au moins une partie de sa vie sans provoquer de symptômes apparents à son hôte végétal. Cette définition correspond à la définition de Hallmann (2001), pour les bactéries endophytes et inclut également les microorganismes de nature fongique. Certains effets dans la promotion de la croissance de plantes de ces endophytes peuvent même former des symbioses remarquables avec les plantes comme c'est le cas avec les genres *Rhizobium* (Sessitsch *et al.*, 2002), et *Burkholderia* dans les nodules des Fabacées (Moulin *et al.*, 2001; Chen *et al.*, 2006).

Les interactions actinobactéries endophytes-plante montrent plusieurs similarités avec les interactions plante-pathogènes au niveau des réactions de la plante. Des études ont montrées que lors des deux types d'interaction, on trouve une augmentation de production de H₂O₂ ainsi qu'une activité de peroxydase à l'intérieur de la plante caractéristique de la réponse hypersensible chez les plantes. Seulement, à la différence d'une infection pathogène, une interaction actinobactéries endophytes-plante ne conduit pas à une maladie et il est supposé que l'activation des systèmes de défense demeure après la colonisation (Boyle *et al.*, 2001 ; Bishop, 2002).

III.5.2. Actinobactéries rhizosphériques

Un nombre important d'actinobactéries est rencontré dans la rhizosphère que dans le sol environnant, il dépend de l'espèce et de l'âge de la plante (Goodfellow et Williams, 1983). Dans un sol relativement sec, humique et calcaireux, les actinobactéries représentent la fraction dominante de la microflore avec des cellules viables de l'ordre de 10⁶ UFC/g sol. Cependant dans les sols submergés, anaérobiques ou acides le nombre est relativement faible 10² UFC/g sol sec (Goodfellow et Williams, 1983). Williams et Wellington (1982) ont rapporté que parmi les actinobactéries, la fréquence d'isolement des *Streptomyces* est de 95,3%, des *Nocardia* de 1,98%, des *Micromonospora* de 1,4%, des *Actinoplanes* de 0,20%, des *Microbispora* de 0,18%, des *Actinomadura* de 0,10%, des *Streptosporangium* de 0,10%, *Thermoactinomyces* 0,14%, *Thermomonospora* 0,22% et des *Pseudonocardia* de 0,06%.

L'effet rhizosphérique est exprimé par le ratio R:S (Rhizosphère : Sol). Par exemple, le maïs et la fève abritent de 10 à 18 fois plus d'actinobactéries dans leur rhizosphère par rapport au sol avoisinant (Abraham et Herr, 1964).

III.6. Les interactions entre les microorganismes de la rhizosphère

Hiltner (1904) fut le premier à définir la rhizosphère comme étant la zone de sol entourant la racine qui est directement ou indirectement influencée par cette dernière et qui présente une forte activité microbienne (Lemanceau *et al.*, 2006).

Les interactions entre les microorganismes sont nombreuses et très intenses, ces interactions sont catalysées par les exsudats racinaires qui favorisent certains groupes de micro-organismes au dépend d'autres au sein de la communauté microbienne (Aouar, 2012).

Parmi ces microorganismes, certains sont présents dans la rhizosphère sans que leur influence sur le développement des végétaux ne soit connue. Certains sont associée mutuellement avantageuse aux microorganismes partenaires, exemple : de *Proteris vulgaris* qui a besoin de biotine, mais qui synthétise l'acide nicotinique requis par *Bacillus polymyxa* qui le transforme en biotine, alors que d'autres ont des effets d'antagonisme désigne une inhibition ou une action défavorable d'un organisme vis-à-vis d'un autre à l'intérieur d'une population microbienne. L'antagonisme se manifeste généralement soit par une compétition, un hyperparasitisme, une production de sidérophores ou par une antibiose (Aouar, 2012).

III.7. Mécanismes d'action liée au biocontrôle

Du fait que la lutte biologique contre les maladies des plantes soit la conséquence des interactions entre la plante, l'agent pathogène et l'agent de biocontrôle, une application efficace de ce dernier nécessite une bonne connaissance des mécanismes qu'il utilise pour inhiber les agents phytopathogènes (Toumatia, 2015). En plus de la compétence rhizosphériques, l'agent de biocontrôle doit disposer aussi de divers mécanismes pour lutter contre les agents phytopathogènes du sol, à savoir, l'antibiose, la compétition, le parasitisme (Kanini *et al.*, 2013).

II.7.1. Production des enzymes lytiques

Les actinobactéries bénéfiques synthétisent des cellulases, protéases, chitinases (Ameur, 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 (Ameur, 2014).

II.7.2. Production des sidérophores

Le fer est le micro-élément le plus important utilisé par les bactéries et il joue également le rôle de cofacteur de nombreuses enzymes et protéines (Ameur, 2014). 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 de 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).

II.7.3. 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).

II.8. Mécanismes d'actions liées à l'effet PGPB

Plusieurs actinobactéries sont utilisées en lutte biologique contre certains agents phytopathogènes et cela en raison de leurs propriétés antagonistes et leurs rôles dans la promotion de la croissance des plantes à travers différents mécanismes (Pliego *et al.*, 2011). La production de phytohormones et la solubilisation d'éléments minéraux tels que les phosphates sont parmi les principaux mécanismes des bactéries bénéfiques à effet PGPR (Hamdali *et al.*, 2008 ; Khamna *et al.*, 2010).

II.8.1. Production de phytohormones

Les phytohormones sont des molécules régulatrices de la croissance végétale qui régissent la croissance et le développement en agissant sur la division, l'élongation et la différenciation

cellulaires, la régulation de l'activité enzymatique et l'induction de la germination des graines (Zahir *et al.*, 1996), notamment par la synthèse d'acide indole-3-acétique (AIA) (Goudjal *et al.*, 2013), et d'acide gibbérellique (AG3) (Bottini *et al.*, 2004).

L'auxine AIA est une phytohormone le plus souvent produite par les bactéries à effet *PGPB*. Les actinobactéries synthétisent l'AIA à partir de son précurseur, l'acide indole-3-butyrique (AIB) (Patten et Glick, 2002). L'AIA, tout comme pour les autres plantes, stimule la germination des graines de blé, l'élongation racinaire, la formations des racines latérales et la croissance des plantes par son effet sur la division cellulaire (Duca *et al.*, 2014).

Les gibbérellines synthétisées par des actinobactéries endophytes sont transportées pour contrôler la croissance des organes floraux et des fruits (Kaneko *et al.*, 2003). Elles sont également impliquées dans l'induction de la germination en provoquant la sortie de la radicule à travers la graine et induisent l'expression des gènes impliqués dans la modification de la paroi cellulaire (Goudjal *et al.*, 2013).

II.8.2. Production de l'ammoniaque

L'azote est parmi les éléments nutritifs nécessaires, et le plus souvent limitant pour la croissance des plantes. La majeure partie de cet élément se trouve sous forme d'azote gazeux (N₂) 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. Plusieurs recherches ont montré que les actinobactéries (*Frankia*) ont des effets bénéfiques sur les plantes, en procurant à la plante l'azote sous forme d'ammonium par leurs associations symbiotiques (Benmati *et al.*, 2012).

II.8.3. Solubilisation des phosphates inorganiques

Les phosphates ont de fortes réactivités avec le Calcium, le Fer et l'Aluminium, ce qui les rend insolubles et inaccessibles par les plantes. Par conséquent, une très faible quantité de phosphate sera assimilables par les plantes. Il a été démontré que certaines bactéries rhizosphériques sont capables de solubiliser les complexes phosphatés insolubles et de les rendre ainsi à la disposition de la plante (Hamdali *et al.*, 2008). La transformation de ces

complexes insolubles par des bactéries bénéfiques en orthophosphate, assimilable par les plantes, est considérée comme une excellente solution pour remédier à l'utilisation intensive des engrais chimiques et à l'accumulation des phosphates insolubles dans le sol (Rodriguez *et al.*, 2006). La synthèse de phosphatases et d'acides organiques a été rapportée pour sa contribution dans cette solubilisation. Cependant, le rôle de certaines souches d'actinobactéries a également été souligné dans l'amélioration de l'absorption racinaire et de la croissance des plantes (Toumatia, 2014).

III.9. Utilisation des actinobactéries

Selon Toumatia (2015), certaines actinobactéries, notamment des *Streptomyces* spp., possèdent plusieurs qualités en tant qu'agents efficaces de lutte biologique, elles sont capables de coloniser la rhizosphère grâce à leurs caractères antagonistes et compétitifs vis-à-vis des autres microorganismes du sol. Elles disposent également divers mécanismes pour lutter contre les agents phytopathogènes, à savoir, l'antibiose, la compétition, le parasitisme et/ou l'induction des mécanismes de résistance de la plante. L'utilisation de ces mécanismes peut se faire de manière complexe, indépendante ou synergique. Ces caractéristiques en font des candidats de choix pour une éventuelle utilisation en lutte biologique (Tableau 01).

Tableau 01: Utilisation des actinobactéries dans la lutte biologique.

Maladies	Plantes hôte	Agents pathogènes	Agents antagonistes	Références
Fontes des semis	Betterave	<i>Pythium ultimum</i>	<i>Actinoplanes spp</i>	Khan <i>et al.</i> (1997).
	Concombre	<i>Pythium aphanidermatum</i>	<i>Microbispara rodea</i>	El-Tarabily <i>et al.</i> (2006).
	Tomate	<i>Phytophthora sp.</i>	<i>Micromonospora chalcea</i> <i>Streptomyces sp.</i>	Khamna <i>et al.</i> , (2009).
Pourritures racinaires	Lupin	<i>Plectosporium tabacinum</i>	<i>Actinoplanes spp.</i>	Valois <i>et al.</i> , (1996).
	<i>Banksia sp</i>	<i>Phytophthora cinnamomi</i>	<i>Missouriensis carbonacea</i>	El- Tarabily, (1996).
	Framboise	<i>Phytophthora fragariae var. rubi</i>	<i>Nocardioides sp.</i>	El- Tarabily, (2003).
Pourriture grise	Vigne	<i>Botrytis cinerea</i>	<i>Streptomyces analatus</i> <i>Micromonospora flavogrisea</i>	Loqman <i>et al.</i> , (2009).

III.10. Bioformulation des actinobactéries

L'élaboration d'un produit de biocontrôle consiste en sa formulation qui dépend du mode d'application, de la facilité d'utilisation, de la stabilité et/ou de la persistance. Les principaux facteurs déterminant le choix du type de formulation sont la nature de l'agent de biocontrôle, les sites d'action contre l'agent phytopathogène ciblé et les quantités efficaces (Lewis, 1991).

Selon Lumsden *et al.*, (1995), le maintien de la viabilité et de l'efficacité de l'agent antagoniste est la principale préoccupation au cours des différentes étapes du processus de formulation, c'est-à-dire lors de la production d'inoculum, de la formulation proprement dite et du stockage.

III.11. Biofongicides à base d'actinobactéries

De nombreux agents de lutte biologique ont été formulés dans diverses formes de liquides, solides et poudres mouillables pour contrôler des agents phytopathogènes (Lewis, 1991;

Lumsden *et al.*, 1995). Parmi les biofongicides formulés à base d'actinobactéries nous pouvons citer l'Actinovate®, l'Actino-Iron®, et le Mycostop®.

L'Actinovate®, formulé à base de la souche (*Streptomyces lydieus* souche WYEC 108), est un biofongicide qui permet de réprimer la pourriture grise et l'oïdium des fraises, aussi la pourriture blanche des cucurbitacées et de la tomate. Ce fongicide biologique peut diminuer des symptômes de pourriture de fruit, et également remédier la flétrissure fusarienne sur les cyclamens, le pourridié pythien sur les pétunias, la pourriture des racines et du collet causé par *Rhizoctonia* sur les géraniums et le blanc sur les verbanas, la pourriture racinaire du blé causé par *F. graminearum* (RAP, 2014 ; Toumatia, 2015).

L'Actino-Iron® c'est un biofongicide fabriqué à base de la souche (*Streptomyces lydicus* souche WYEC 108) hautement concentré sur un support en fer et en acide humique. Il protège les racines contre les agents pathogènes appartenant au genre : *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Rhizoctonia* et autres maladies à racines (Mediak, 1995).

Le Mycostop® WP, un biofongicide appliqué sous forme d'eau ou de pulvérisation, il est fiable pour contrôler la fonte de semis, les maladies racinaires et les flétrissements. En plus, il stimule la croissance et induit les mécanismes de défense des plantes. Il est efficace dans les milieux de culture organiques et de synthèse (Verdera, 2014). Ce biofongicide est formulé à base de la souche (*Streptomyces griseoviridis* souche K61).

PARTIE II:
- MATERIEL ET METHODES

II. MATÉRIEL ET MÉTHODES

II.1. Matériel biologique

II.1.1. Le blé

Des semences de blé dur (*Triticum durum*) appartenant à la variété Vitron de l'ITGC de Sétif ont été utilisées pour le test de biocontrôle *in vivo* réalisé dans notre étude.

La variété Vitron a été introduite en Algérie par l'ITGC en 1986 et sélectionnée au niveau de la station expérimentale de Tiaret (Haut Plateaux de l'Ouest). C'est une variété semi-précoce, assez sensible à la rouille brune. Elle est productive (50 à 60 qx/ha en sec) et présente un épi fertile (50 à 60 grains/épi) et un gros grain (ITGC, 1998).

II.1.2. Origine des isolats d'actinobactéries

Un total de douze (12) isolats d'actinobactéries endophytes et rhizosphériques ont été utilisés dans notre travail. Ces actinobactéries ont été préalablement isolées et purifiées sur ISP2 (*International Streptomyces Project*), selon des travaux réalisés auparavant dans le même objectif de lutte biologique contre *Fusarium graminearum*, agent causal de la pourriture racinaire du blé dur, ainsi que dans la promotion de la croissance de cette plante.

II.1.3. L'agent phytopathogène

La souche de *Fusarium graminearum* a été isolée préalablement à partir de racines infectées de blé présentant les symptômes typiques de *F. graminearum*. Après l'identification de *F. graminearum*, la souche a été purifiée sur un milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*) et conservée à 4°C.

II.2. Détermination des mécanismes liés au biocontrôle

Tous les isolats d'actinobactéries ont été testés pour leur capacité à produire des enzymes lytiques, des sidérophores, de l'HCN, et pour leur activité d'antagonisme *in vitro* contre *F. graminearum*.

II.2.1. Production d'enzymes

II.2.1.1. Production de protéases

Pour tester la capacité des isolats d'actinobactéries à produire des protéases, la méthode décrite par Zamoum *et al.* (2015), a été utilisée. Le principe de cette méthode consiste à déposer, à partir d'une culture active de chacune des souches étudiées, un disque gélosé de 06

mm de diamètre à la surface du milieu de culture *SMA* (*Skim Milk Agar*) (Figure 10). Les boîtes ont été ensuite incubées à 30°C pendant 5 jours. L'activité protéolytique positive se traduit par la présence d'un halo transparent autour des colonies, dont le diamètre est noté.

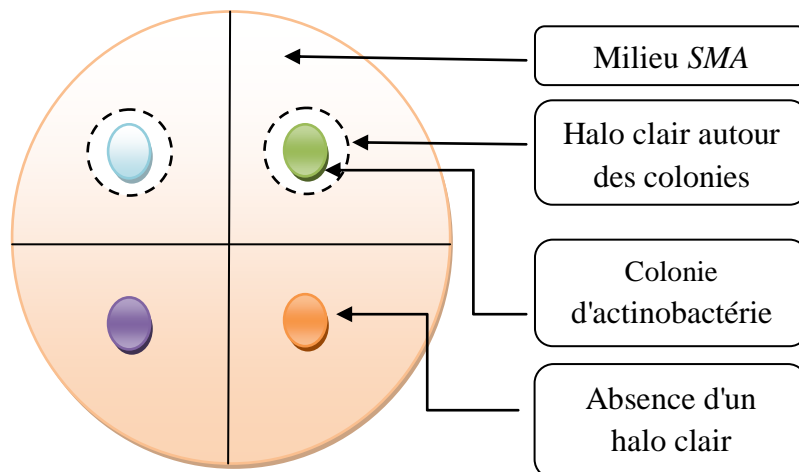


Figure 10. Schéma représentatif de la production des protéases sur milieu *SAM*.

II.2.1.2. Production de cellulases

Pour vérifier la capacité des souches d'actinobactéries à produire des cellulases, nous avons utilisé la méthode de Goudjal *et al.* (2016). Les souches ont étéensemencées à la surface du milieu de culture ISP9 contenant le CMC « Carboxyméthylcellulose » comme source de carbone. Par la suite, les boîtes ont été incubées à 30°C pendant 05 jours, l'activité cellulolytique positive se traduit par l'apparition d'un halo clair autour des colonies d'actinobactéries testées, dont le diamètre est noté.

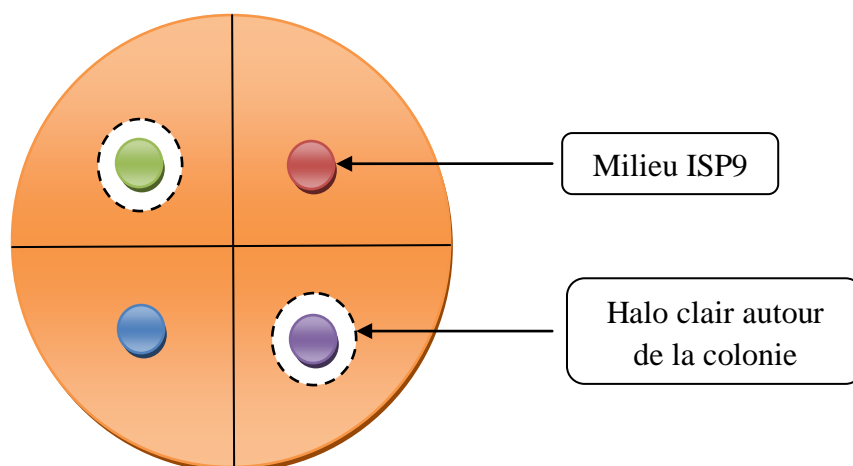


Figure 11. Schéma représentatif de la production des cellulases par les actinobactéries cultivées sur le milieu ISP9.

II.2.2. Production de sidérophores

La production des sidérophores est testée sur milieu CAS-bleu agar (Chrome Azurol S) selon la méthode décrite par Toumatia *et al.* (2014). Un disque gélosé de 06 mm de diamètre d'une culture active des souches étudiées est inoculé à la surface des milieux de culture, puis incubé à 30 °C pendant 5 jours. Après cette période d'incubation, un changement de couleur bleu et l'apparition d'un halo jaune-orange autour de la colonie productrice des sidérophores, signifie un résultat positif. La culture des actinobactéries sur le milieu AIM sans Fer permet de déterminer leur dépendance au fer.

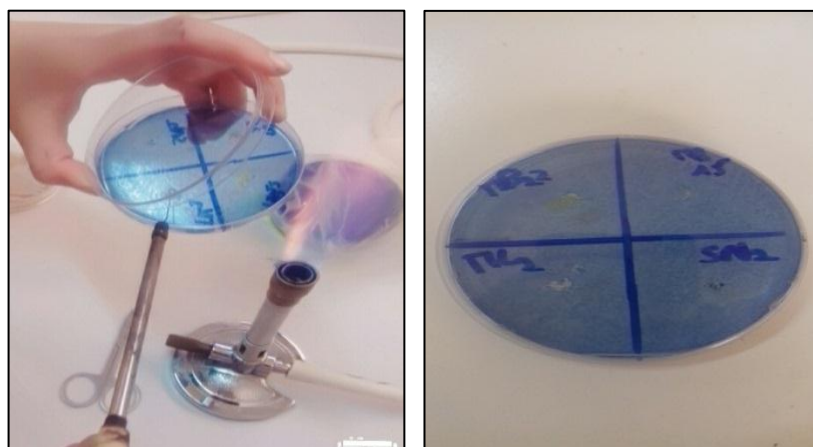


Figure 12. Photographie montrant le test de production de sidérophores sur milieu CAS-bleu agar

(Originale, 2018).

II.2.3. Production de l'acide cyanhydrique (HCN)

La production de l' HCN est testée selon la méthode de Goudjal *et al.* (2016). Le principe de cette méthode consiste à ensemencer les souches d'actinobactéries à la surface du milieu Bennett additionnée de glycine (4 g/l). Du papier Whatman imprégné d'une solution de picrate de sodium a été déposé sur le couvercle de la boîte de Pétri. Cette dernière est scellée avec du papier parafilm et incubée à 30°C pendant 7 jours. Le résultat positif se traduit par le changement de couleur du papier Whatman du jaune vers une l'orange.



Figure 13. Test de production de l'HCN (Originale, 2018).

II.2.4. Activité d'antagonisme *in vitro*

L'activité d'antibiose des souches d'actinobactéries est évaluée par la méthode des stries croisées décrite par Zitouni *et al.*, (2004). Le principe de cette méthode consiste à ensemencer l'actinobactérie selon une strie horizontale à la surface du milieu ISP2 en boîte de Pétri. Après incubation à 30°C pendant 7 jours, les champignons cibles (*Fusarium graminearum*, *F. culmorum* et *Bipolaris sorokiniana*) sont ensemencés selon des stries perpendiculaires à celle de l'actinobactérie. La boîte sera réincubée à nouveau pendant 5 jours à 30°C, et la zone d'inhibition est évaluée en (mm). Une culture témoin de l'agent phytopathogène, dans les mêmes conditions, est effectuée en absence de l'actinobactérie.

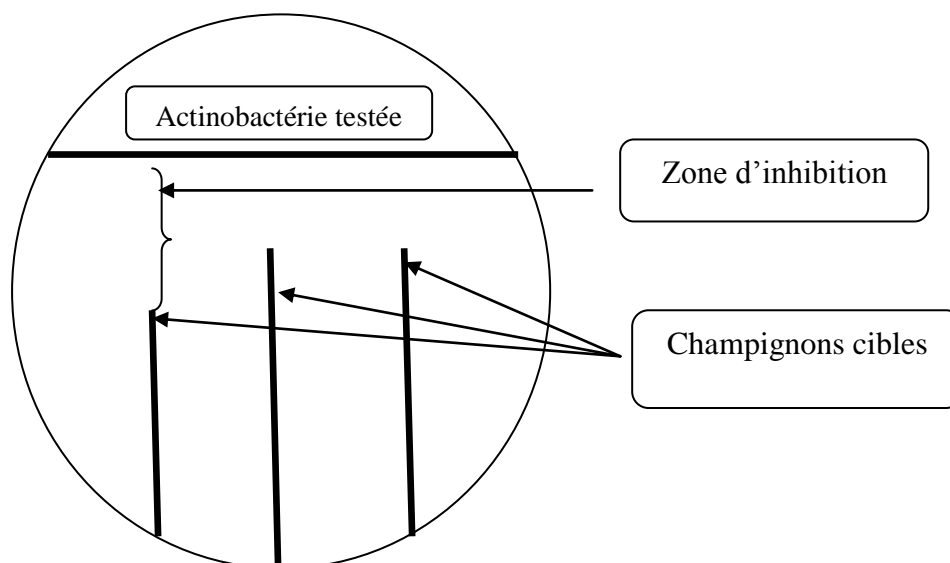


Figure 14. Schéma représentant la méthode des stries croisées.

II.3. Détermination des mécanismes liés à l'effet PGPB

II.3.1. Production de phytohormones

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

La production de l'acide Indole-3-acétique (AIA) est testée sur le bouillon *YT* (*Yeast extract-Tryptone*), ce test est réalisé selon la méthode de (Loper et Scroth, 1986). Le principe de cette méthode consiste à inoculer 1 ml de la suspension de spores des souches d'actinobactéries dans des Fioles Erlenmeyers contenant 50 ml du bouillon *YT* additionnée de L-Tryptone. Après incubation dans le shaker (200 rpm, 30 °C) pendant 5 jours (Figure 14), les cultures liquides sont centrifugées à 4000 rpm pendant 15 min. La production des groupements indole est révélée par le réactif de Salkowski, un ml du réactif est additionnée à 2 ml du surnageant. Par la suite, la densité optique a été déterminée par spectrophotométrie à 530 nm, après 30 min d'incubation à l'obscurité.

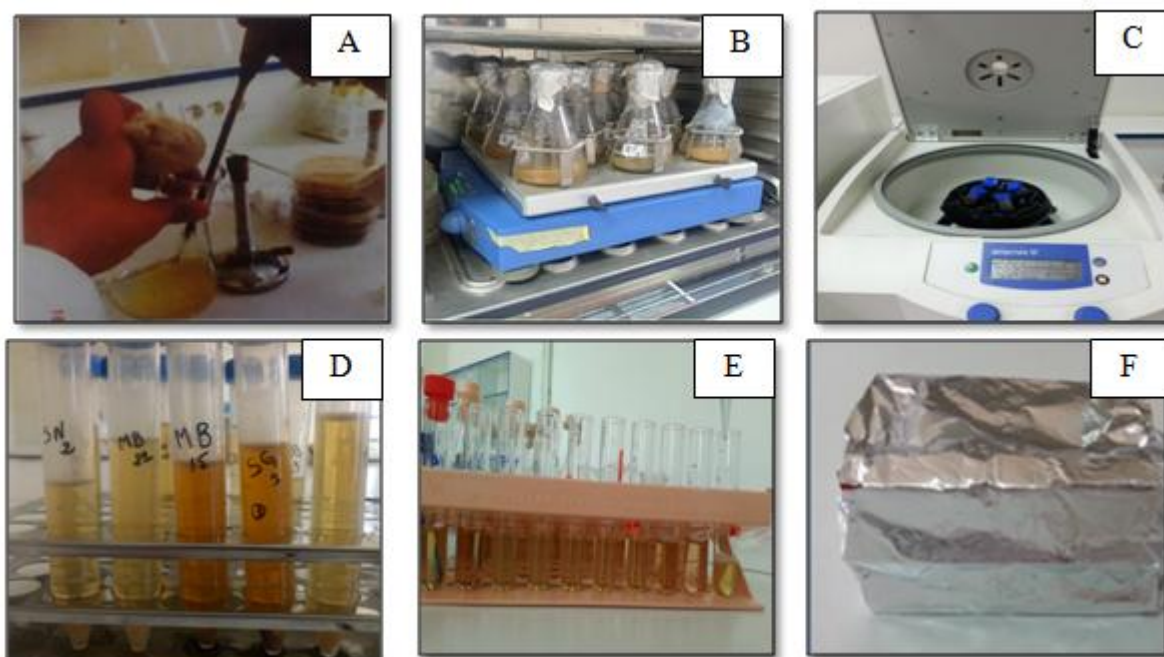


Figure 15. Le protocole expérimental de la production de l'AIA dans le milieu *YT* (*Yeast extract-Tryptone*).

A. Ensemencement les souches d'actinobactéries, B. Incubation en shaker,

C. Centrifugation (4000 rpm pendant 15 mn), D. Récupération de surnageant,

E. L'addition du réactif de Salkowski, F. Conservation a l'ombre 30min.

➤ Chromatographie sue couche mince (CCM)

La chromatographie est une technique analytique qui permet la séparation des constituants d'un mélange en phase homogène liquide ou gazeuse. La méthode de Naik et Sakthivel

(2006) à été adoptée afin de confirmer la production de l'acide indole-3-acétique (AIA) par les souches d'actinobactéries. La CCM a été réalisée sur plaque chromatographique développé sur un système de solvant: acétate d'éthyle, chloroforme et l'acide formique. Après la migration des taches, la plaque a été observée sous lumière UV à 254 nm. Les R_f ont été calculés pour ces taches selon la formule suivante :

$$R_f = \text{Hauteur de la tâche} / \text{Hauteur du front du solvant}$$

Les tâches de même R_f avec l'AIA ont été considérées comme AIA. Après confirmation de la production d'AIA par CCM, la quantité d'AIA produite par les souches d'actinobactéries, exprimée en $\mu\text{g/ml}$ de surnageant de culture, a été déterminé par extrapolation des densités optiques obtenues dans une courbe d'étalonnage tracée par différentes concentration d'AIA pur.

II.3.1.2. Production des gibbérellines (AG3)

La production de gibbérellines (AG3) est testée sur le milieu ISP2 liquide, la méthode décrite par (Berríos *et al.* (2004) à été utilisée. Le principe de cette méthode consiste àensemencer les souches d'actinobactéries dans des Erlenmeyers contenant 50 ml du bouillon ISP2, puis incubés dans un shaker à 30 C° pendant 5 jours sous agitation permanent (200 rpm). Les cultures sont centrifugées à 4000 rpm pendant 30 min le surnageant est ensuite récupéré, puis acidifié à un pH = 2.5.

L'extraction de l'AG3 du surnageant des cultures est effectuée par un volume égal d'acétate d'éthyle dans une ampoule à décanter. La phase organique est récupérée puis, un millilitre d'une solution d'acétate de zinc à 10 % (m/v) et 1 ml d'une solution de Ferrocyanide de potassium à 1% (m/v) sont ajoutés à 7,5 ml de l'extrait à l'acétate d'éthyle avant d'être centrifugés à nouveau à 4000 g durant 20 min. Le surnageant obtenu est ensuite acidifié par 2,5 ml d'HCl à 30 % (v/v). Les solutions sont ensuite maintenues 2 h à l'obscurité avant de subir une mesure de la densité optique à une longueur d'onde égale à 254 nm à l'aide d'un spectrophotomètre. Les concentrations de l'AG3 contenu dans le surnageant ont été obtenu par extrapolation des densités optiques dans une courbe d'étalonnage réalisée par différentes concentration de l'AG3 pur.

II.3.2. Libération de l'ammoniaque

Les isolats d'actinobactérie testées ont été inoculés dans des Erlenmeyers contenant 50 ml de l'eau peptonée, puis incubés en agitation permanente (200 rpm) à 30°C pendant 7 jours.

Les cultures sont centrifugées à 4000 g pendant 15 min, puis 1 ml du réactif de Nessler sont ajoutés à 1 ml du surnageant et le mélange est complété à 10 ml par l'eau distillée. Après incubation pendant 2 h à l'obscurité, le développement d'une couleur jaune brunâtre ou orange indique la libération de l'ammoniaque (NH₃).

II.3.3. Solubilisation des phosphates inorganiques

La méthode de Franco-Correa *et al.* (2010), a été adoptée pour étudier la capacité des souches d'actinobactéries à solubiliser des phosphates inorganiques sur milieu de Pikovskaya (PVK) additionné de (Ca₃(PO₄)₂), (Fe(PO₄)₂) ou de (Al(PO₄)₂) comme trois sources de phosphates inorganiques. Les souches ont été ensemencées à la surface du milieu de culture, puis incubées à 30°C pendant 5 jours. La solubilisation des phosphates inorganiques se traduit par l'apparition d'auréoles transparentes autour des colonies. Ainsi, la croissance de l'actinobactérie et le diamètre de l'auréole autour des colonies sont notés.

II.4. Préparation de l'essai de biocontrôle *in vivo*

II.4.1. Sélection des isolats d'actinobactéries performants

Les isolats d'actinobactéries qui ont donné des résultats positifs sont retenus pour un essai de formulation de biofongicides qui sont appliqués dans le biocontrôle de *F. graminearum* dans des conditions de cultures *in vivo*.

II.4.2. Préparation des suspensions de spore

En vue d'obtenir des spores, les souches d'actinobactéries ont été cultivées sur ISP2 et incubées pendant 7 jours dans l'étuve à 30°C. Alors que l'agent phytopathogène a été cultivé sur milieu PDA et incubé pendant 7 jours à 25°C.

Après incubation, les spores sont récupérées à l'aide d'une solution de tween 80 à 0,05%. Par la suite un volume de la solution de récupération a été mis dans la boîte de Pétri. Les spores sont récupérées par un raclage à l'aide d'une anse en platine en conditions d'asepsie, pour éliminer toute possibilité de contamination.

La concentration des suspensions de spore a été ensuite ajustée à 10⁶ UFC / ml pour les actinobactéries et à 10⁴ UFC / ml pour le champignon, respectivement. Le dénombrement des spores a été réalisé à l'aide d'une cellule de Thomas.

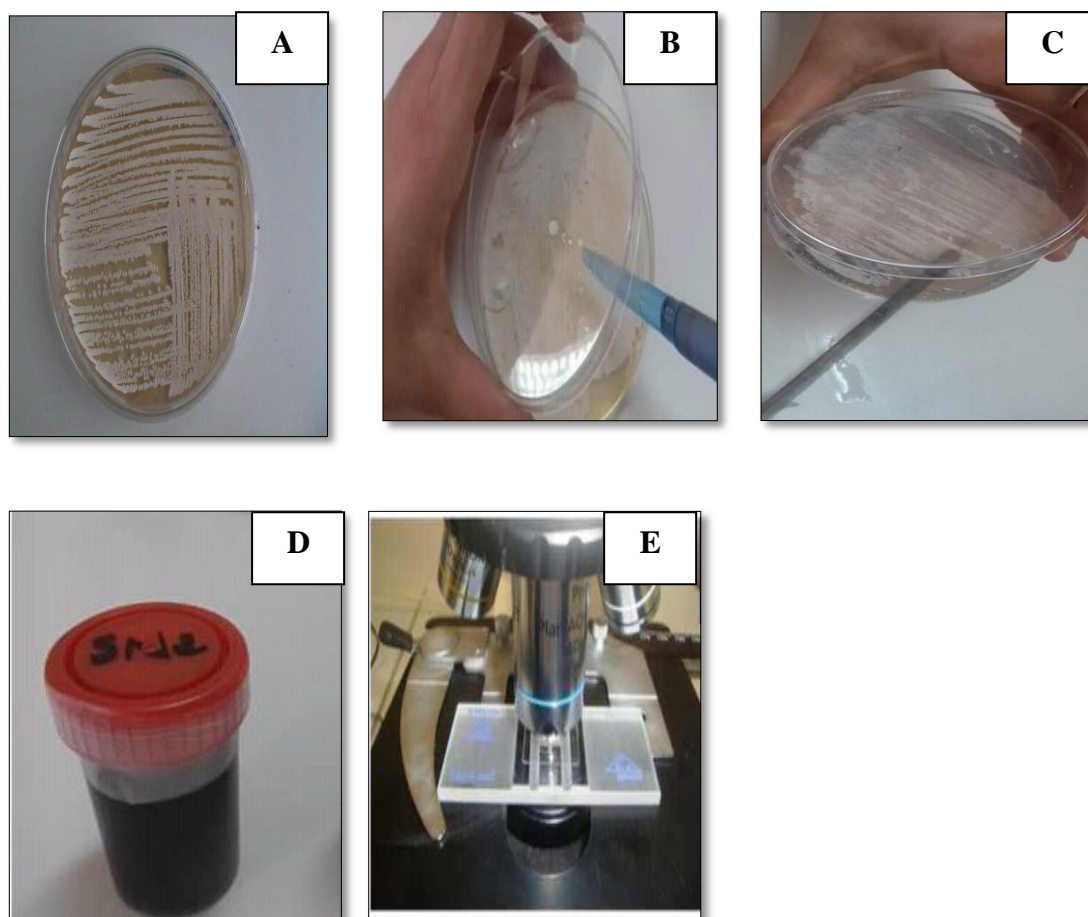


Figure 16. Protocole de la préparation des suspensions de spore d'actinobactéries.

A. Spore d'actinobactérie, **B.** Ajout la solution de Tween 80, **C.** Raclage des spores, **D.** Récupération des suspensions de spore, **E.** Calcul du nombre de spores à l'aide d'une cellule de Thomas.

II.4.3. Bioformulation de biofongicides à base d'actinobactéries sélectionnées

II.4.3.1. Biofongicide en poudre de talc

Les spores des actinobactéries sont formulées en poudre de talc. Nous avons mélangé 16 g de poudre de talc et 4 g d'argile verte, stérilisés par autoclavage, avec 10 ml de la suspension de spores de l'actinobactérie sélectionné. À l'aide d'une baguette en verre, nous avons mélangé la boue obtenue pour homogénéiser la répartition des spores. Le mélange est laissé sécher pendant 48 h sous hotte microbiologique à flux laminaire, puis pilonné dans un mortier en porcelaine stérile. La poudre ainsi obtenue est conservées à 4°C.

II.4.3.2. Biofongicide en billes d'alginate de Sodium

Les spores d'actinobactéries sélectionnées sont incluses dans les billes l'alginate de sodium. Pour cela, 4 g d'alginate de sodium est mélangé avec 200 ml d'eau distillée stérile,

puis mélangé avec 10 ml de la suspension des spores d'actinobactéries. Le mélange est ensuite transformé en billes d'alginate de sodium à l'aide d'une seringue sur laquelle a été placé une aiguille de 0,6 mm de diamètre. Les billes sont directement récupérées dans une solution de chlorure de calcium (CaCl_2) sous agitation permanente. Les billes obtenues sont séchées pendant 15 jours.

II.4.4. Efficacité des biofongicides formulés *in vivo*

II.4.4.1. Désinfection superficielle des semences

L'objectif de la stérilisation superficielle des grains est d'éliminer toutes les pollutions externes d'origines fongiques ou bactériennes. Les grains placés dans un tamis à mailles de 0,5-1 mm, seront désinfectés selon le cycle décrit par Champion (1997) :

- Placer 10 min dans un bécher contenant 300 ml d'une solution d'hypochlorite de sodium à 2°.
- Placer 20 min dans un bécher contenant 300 ml d'une solution d'éthanol à 70%.
- Rincer, pendant 3 min, dans un bécher contenant 300 ml d'eau distillée stérile (cette opération est effectuée 3 fois).

Les grains sont ensuite égouttés placés à sécher sur du papier filtre stérile (compter 15 min minimum dans la zone stérile).

II.4.4.2. Stérilisation du sol et conditionnement des pots

Notre essai a été mené en sol stérilisé et en sol non stérilisé. La stérilisation du sol a été réalisée par autoclavage à 120°C pendant 20 minutes. Par la suite, des pots en plastique (12 cm X 15 cm) ont été remplis par 250 g du sol. Par la suite, des graines de blé, désinfectées préalablement, ont été semées dans chaque unité expérimentale (pot en plastique) à raison de 5 graines par pot (Figure 17). Ces unités expérimentales sont distribuées dans un dispositif en randomisation totale à 5 répétitions et mises dans la serre. L'irrigation a été faite 4 fois par semaine avec l'eau de robinet stérile.



Figure 17. Photographie montrant le semer des graines de blé

Il est à noter que la suspension de spores du champignon cible (préparé selon la méthode décrite précédemment) a été ajoutée dans le sol stérilisé et non stérilisé une semaine avant le semer des graines de blé.

II.4.5. Application de traitements

II.4.5.1. Traitement retenus

Les traitements retenus dans notre expérimentation sont les suivants :

❖ Témoins négatif : des graines de blé, désinfectées préalablement, ont été semées dans des pots contenant du sol stérilisé et non stérilisé.

❖ Témoins positif : des graines de blé, désinfectées préalablement, ont été semées dans des pots contenant du sol stérilisé et non stérilisé et infectés par les spores du champignon cible (*F. graminearum*).

❖ Le *Dividend*® : des graines de blé, désinfectées préalablement et traité par le fongicide chimique (*Dividend*®), ont été semées dans des pots contenant du sol stérilisé et non stérilisé.

❖ Le *Sérénade*® : des graines de blé, désinfectées préalablement et traité par l'agent de lutte biologique (*Sérénade*®), ont été semées dans des pots contenant du sol stérilisé et non stérilisé.

❖ Les biofongicides formulés à base des spores d'actinobactéries sélectionnées.

II.4.5.2. Agent de lutte biologique (*Sérénade*®)

Le *Sérénade*® (*Bacillus subtilis* souche QST713) est un agent de lutte biologique homologué et commercialisé au Canada. Il est utilisé contre plusieurs agents phytopathogènes notamment ceux responsables de la fonte des semis. Un gramme de la poudre de *Sérénade*® a

été dissoute dans 20 ml d'eau distillée, et utilisée pour trempage des graines du blé. Dans notre travail, le Sérénade[®] a été utilisé comme traitement dans le but de comparer son effet de biocontrôle de *F. graminearum* avec celui des biofongicides formulés à base d'actinobactéries sélectionnées dans notre travail.

II.4.5.3. Agent de lutte chimique (*Dividend*[®])

Le *Dividend*[®] est un fongicide chimique de très large utilisation pour le traitement des semences autant que fongicide systémique. Il a été utilisé pour comparer son effet protecteur avec celui des biofongicides formulés. Cette fongicide chimique systémique se présente sous forme d'un liquide rouge mouillable, qui a été dilué à 2% dans l'eau distillée et utilisé pour traiter les graines du blé.

II.4.6. Biofongicides formulés

Les biofongicides formulés ont été appliqués dans un essai de biocontrôle *in vivo* de *F. graminearum* agent causal de la pourriture racinaire du blé dur (*Triticum durum* Desf.).

Les billes d'alginate de sodium ont été mélangées directement avec le sol à raison de 5 g par kilogramme du sol. Pour le biofongicide en poudre de talc, une quantité de 20 g a été dissoute dans 100 ml de l'eau distillée stérile et puis utilisé pour bactériser les graines du blé.

II.4.7. Paramètres mesurés

Après 6 semaines de cultures, les plantules de blé ont été récupérées du sol, lavées à l'eau de robinet pour éliminer le sol. Afin de déterminer l'efficacité des biofongicides formulés, dans le biocontrôle de *F. graminearum* et dans l'effet PGPB sur les plantules de blé, les principaux paramètres mesurés sont l'incidence de la maladie qui correspond au nombre de plantules malades par rapport au nombre total des plantules semées pour chaque traitement.

Nous avons mesurés également le poids frais des plantules du blé par pesée à l'aide d'une balance de précision. Le poids sec a été obtenu par séchage des plantules à 80°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant. La longueur de la tige et des racines a été mesurée à l'aide d'un pied à coulisse.

II.4.8. Analyses de données

Après six jours de culture, les résultats obtenus sont soumis à une analyse de la variance (ANOVA) réalisée à l'aide du logiciel XLSTAT 2014. Les différences entre les moyennes

sont considérées significatives lorsque $P < 0,05$. Les histogrammes ont été réalisés par Microsoft Excel 2010.

PARTIE III:
- RESULTATS ET DISCUSSIONS

III. RESULTATS ET DISCUSSION

Notre travail porte sur l'évaluation de la capacité de 12 souches d'actinobactéries endophytes et rhizosphériques appartenant à différents genres, dans le biocontrôle et dans l'effet PGPB.

La caractérisation des isolats a porté essentiellement sur l'étude de la capacité de nos souches à produire des enzymes lytiques, des sidérophores, de l'HCN, l'activité antagoniste, l'AIA, l'AG3, de libérer l'ammoniaque et de solubiliser les phosphates inorganiques.

III.1. Résultats des mécanismes impliqués dans le biocontrôle

III.1.1. Production d'enzymes lytiques

Les 12 souches d'actinobactéries ont été testées pour leur capacité à produire les enzymes lytiques (protéases et cellulases). Les résultats sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 02. Production des enzymes lytiques par les actinobactéries.

Souches	Enzymes lytiques			
	Protéases		Cellulases	
	Croissance	Ø de l'halo (mm)	Croissance	Ø de l'halo (mm)
<i>Streptomyces</i> sp. AP4	+/-	9	-	00
<i>Streptomyces</i> sp. AR2	++	22	+	12
<i>Saccharothrix</i> sp. MB15	-	00	+	09
<i>Nocardia</i> sp. MB23	+	19	-	00
<i>Streptomyces</i> sp. PT2	+	23	+	18
<i>Streptosporangium</i> sp. SG10	-	00	-	00
<i>Streptosporangium</i> sp. SG20	-	00	-	00
<i>Streptomyces</i> sp. SN2	+++	26	+	20
<i>Streptomyces</i> sp. SN6	+	18	+	12
<i>Streptomyces</i> sp. TL8	++	16	-	00
<i>Streptomyces</i> sp. ZL2	-	00	+	8
<i>Streptomyces</i> sp. ZP1	+++	27	+	16

(-) pas de croissance, (+) croissance moyenne, (++) croissance importante, (+++) croissance très importante

Les résultats du tableau 01 montrent que parmi les 12 souches testées, 66 % des souches ont présenté une activité protéolytique positive sur le milieu *SMA* riche en protéines. Les deux souches *Streptomyces* sp. SN2 et *Streptomyces* sp. ZP1 présentent un diamètre du halo clair de 26 mm et de 27 mm respectivement, ce résultat signifie par une bonne production de protéases.

Les résultats obtenus montrent que 58% des souches testées ont une activité 0cellulolytique positive. Les deux souches *Streptomyces* sp. SN2 et *Streptomyces* sp. PT2 présentent un diamètre du halo clair de 20 mm et de 18 mm respectivement, signifie une bonne production de cellulases.

Notre travail montre que les isolats testés produisent des enzymes lytiques telles que les protéases et les cellulases. Plusieurs travaux ont montré la capacité des souches d'actinobactérie à produire les enzymes lytiques telles que les protéases (Yekkour *et al.*, 2012 ; Toumatia *et al.*, 2014) et les cellulases (Macagnan *et al.*, 2008 ; DivyaTeja *et al.*, 2014).

D'après nos résultats, la meilleure activité enzymatique a été observée chez les souches *Streptomyces* SN2, ZP1, et PT2. Allaoui (2017) a trouvé des résultats similaires et montre une forte activité enzymatique contre *Fusarium graminearum* l'agent causal de la pourriture racinaire du blé dur. Selon Toumatia *et al.* (2014), les enzymes lytiques dégradent la paroi fongique et les spores des champignons induisant ainsi la mort de ces agents phytopathogènes. Les protéases sont parmi les enzymes les plus importantes, elles dégradent les enzymes de pathogénicité des champignons phytopathogènes (Thumar et Singh, 2007).

III.1.2. Production des sidérophores

Les résultats du test de la production des sidérophores par les souches d'actinobactéries testées dans notre travail sont présentés dans le tableau 03.

Tableau 03. Résultats de la production des sidérophores par les actinobactéries.

Souches	Croissance sur le milieu	
	CAS-bleu agar	AIM sans fer
<i>Streptomyces</i> sp. AP4	+	+
<i>Streptomyces</i> sp. AR2	-	+
<i>Saccharothrix</i> sp. MB15	+	+
<i>Nocardia</i> sp. MB23	-	+
<i>Streptomyces</i> sp. PT2	-	+/-
<i>Streptosporangium</i> sp. SG10	++	-
<i>Streptosporangium</i> sp. SG20	+	-
<i>Streptomyces</i> sp. SN2	+	+
<i>Streptomyces</i> sp. SN6	++	+
<i>Streptomyces</i> sp. TL8	-	+
<i>Streptomyces</i> sp. ZL2	+	+
<i>Streptomyces</i> sp. ZP1	+	+

+++ : Croissance important ; + : Croissance moyenne ; +/- : Croissance faible à très faible ; - : Pas de croissance.

Les résultats présentés dans le tableau 03, montrent que 66% des isolats produisent les sidérophores sur le milieu CAS-bleu agar, où nous remarquons que les souches *Streptomyces* sp. AP4, *Streptomyces* sp. SN2, *Streptomyces* sp. SN6, et *Streptosporangium* sp. SG10 sont capables de produire des sidérophores en quantité importante. Ce résultat se traduit par l'apparition d'un halo jaune orange autour des colonies d'actinobactéries (Figure 18). A l'exception de *Streptosporangium* sp. SG10 et *Streptosporangium* sp. SG20, toutes les souches d'actinobactéries testées sont capables de croître sur le milieu AIM sans fer.

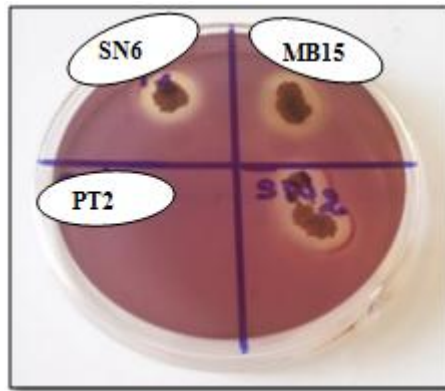


Figure 18. Photographie montrant la présence d'halo clair indiquant la production de sidérophores par les souches d'actinobactéries.

Les sidérophores sont des molécules de faible poids moléculaire secrétées par de nombreux champignons et bactéries, tel que les streptomycètes (Muller *et al.*, 1984). Concernant la compétition comme mécanisme de biocontrôle, de nombreuses études ont montré le rôle combiné de *Streptomyces* spp. en lutte biologique contre les agents phytopathogènes du sol et leur faculté de chélater le fer par la synthèse de sidérophores qui font une compétition pour le fer (Kanini *et al.*, 2013).

III.1.3. Production de l'acide cyanhydrique (HCN)

La capacité des souches d'actinobactéries à produire l'HCN a été étudiée. L'apparition d'une couleur orange sur le papier Whatman indique la production de l'HCN (Figure 19).

Les résultats du tableau 04 montrent que parmi les 12 souches d'actinobactéries testées, uniquement quatre souches (*Streptomyces* sp. AP4, *Streptomyces* sp. SN6, et *Streptomyces* sp. ZP1, *Streptosporangium* sp. SG10), ne produisent pas l'HCN soit 33%. Par contre, 66% présentés un résultat positif.

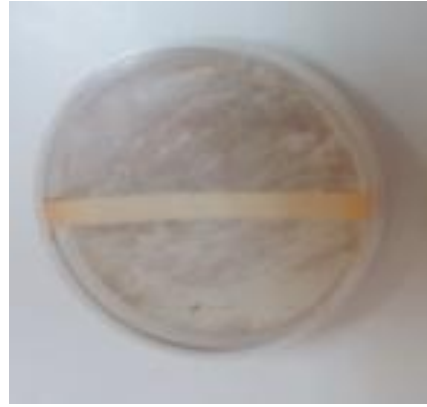


Figure 19. Photographie montrant le changement de couleur indiquant la production de l'HCN par la souche MB15 (Originale, 2018).

Tableau 04. Résultats de la production de l'HCN

Souches	Production de l'HCN
<i>Streptomyces</i> sp. AP4	-
<i>Streptomyces</i> sp. AR2	+
<i>Saccharothrix</i> sp. MB15	+
<i>Nocardia</i> sp. MB23	+
<i>Streptomyces</i> sp. PT2	+
<i>Streptosporangium</i> sp. SG10	-
<i>Streptosporangium</i> sp. SG20	+
<i>Streptomyces</i> sp. SN2	+
<i>Streptomyces</i> sp. SN6	-
<i>Streptomyces</i> sp. TL8	+
<i>Streptomyces</i> sp. ZL2	+
<i>Streptomyces</i> sp. ZP1	-

(+) : Test positif ; (-) : Test négatif

L'acide cyanhydrique (HCN) est un composé volatil connu par son action négative sur les champignons phytopathogènes. La production de l'HCN est une activité très commune chez les espèces qui appartiennent au genre *Streptomyces* (Schippers *et al.*, 1990).

Les résultats obtenus dans notre travail montrent que 66% des souches d'actinobactéries testées produisent l'HCN. Allaoui (2017), ont trouvé des résultats similaires qui montrent que 50% des souches d'actinobactéries testées produisent l'HCN.

La production d'HCN est parmi les mécanismes les plus efficaces dans le biocontrôle des champignons phytopathogènes. Ces composés interviennent au niveau de la chaîne respiratoire de l'agent phytopathogène, en inhibant l'activité du cytochrome oxydase (Ahmad *et al.*, 2008). De plus, plusieurs travaux ont montrés l'efficacité de *Streptomyces* productrices de l'HCN dans le biocontrôle de certains champignons phytopathogènes des sols (*Fusarium* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp.) où le contact direct entre les deux microorganismes n'est pas nécessaire (Ahmad *et al.*, 2008).

III.1.4. Activité d'antagonisme *in vitro*

L'activité d'antagonisme *in vitro* des souches d'actinobactéries testées ont été étudiées, selon la méthode de stries croisées, vis-à-vis de trois champignons phytopathogènes (*Fusarium graminearum*, *F. culmorum* et *Bipolaris sorokiniana*). Les résultats donnés dans le tableau 05 illustrent les zones d'inhibition exprimées en mm.

Tableau 05. Activité antifongique des souches d'actinobactéries selon la méthode des stries croisées.

Souches	Zone d'inhibition (mm)		
	<i>F. graminearum</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>B. sorokiniana</i>
<i>Streptomyces</i> sp. AP4	00	00	00
<i>Streptomyces</i> sp. AR2	13	20	13
<i>Saccharothrix</i> sp. MB15	22,3	12	14
<i>Nocardia</i> sp. MB23	10	11	19
<i>Streptomyces</i> sp. PT2	17	15	19
<i>Streptosporangium</i> sp. SG10	05	08	10
<i>Streptosporangium</i> sp. SG20	20	22	19
<i>Streptomyces</i> sp. SN2	22	07	14
<i>Streptomyces</i> sp. SN6	00	00	00
<i>Streptomyces</i> sp. TL8	10	08	07
<i>Streptomyces</i> sp. ZL2	16	15	16
<i>Streptomyces</i> sp. ZP1	13	10	10

Les résultats de l'activité d'antagonisme *in vitro* des souches d'actinobactéries étudiées vis-à-vis de trois champignons cibles montrent que 16% des souches possèdent une activité antagoniste vis-à-vis au moins d'un seul champignon phytopathogène testé (5 mm < zone

d'inhibition < 22 mm), et 83% des souches d'actinobactéries testées ont présenté une activité d'antagonisme vis-vis-vis de trois champignons phytopathogènes.

D'après les résultats obtenus dans notre travail, la zone d'inhibition la plus importante (22.3mm) a été observée chez la souche *Saccharothrix* sp. MB15 contre *F. graminearum*, suivie par la souche *Streptomyces* sp. SN2 (22 mm) et *Streptosporangium* sp. SG20 avec une zone d'inhibition de 20 mm. Tandis que les souches *Nocardia* sp. MB23, *Streptomyces* sp. PT2 et *Streptosporangium* sp. SG20 ont montré une activité positive contre *B. sorokiniana* avec une zone d'inhibition de 19 mm, aussi la souche *Streptosporangium* sp. SG20 est efficace contre *F. culmorum* avec une zone d'inhibition de 22 mm (Figure 20).

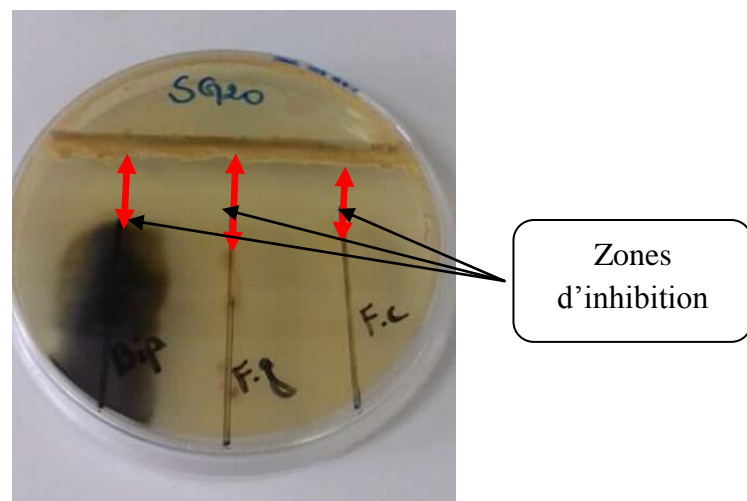


Figure 20. Photographie montrant l'activité antagoniste de la souche *Streptosporangium* sp. SG20 vis-vis-vis de trois champignons phytopathogènes cibles.

Les résultats des activités antifongiques sont confirmés par plusieurs travaux où ils ont constaté un effet inhibiteur de certaines espèces du genre *Streptomyces* contre plusieurs champignons phytopathogènes (Ahmed *et al.*, 2008).

Cette activité antifongique des actinobactéries illustrent que certains parmi ces derniers produisent des substances antifongiques qui agissent spécifiquement sur certains constituants de la paroi des champignons, comme les chitinases et les glucanases (Yekkour *et al.*, 2012). En outre, Les Streptomycètes à eux seuls sont à l'origine de plus de 80% des antibiotiques secrétés par les actinobactéries (Breton *et al.*, 1989).

L'inhibition de la croissance mycélienne des champignons testés peut s'expliquer par la synthèse de composés antifongiques actifs ou d'enzymes lytiques actives sur la paroi des champignons phytopathogènes (Tomatia *et al.*, 20014).

III.2. Résultats des mécanismes impliqués dans l'effet PGPB

III.2.1. Production de phytohormones

III.2.1.1. Production de l'Acide Indole-3-Acétique (AIA)

La détermination de la capacité des 12 isolats d'actinobactéries testées à synthétiser l'AIA a été effectuée dans le bouillon *YT*. La production d'AIA a été révélée par le réactif de Salkowski. L'apparition d'une couleur rouge (Figure 21) indique la présence d'un groupement indole dans le surnageant des cultures liquides.

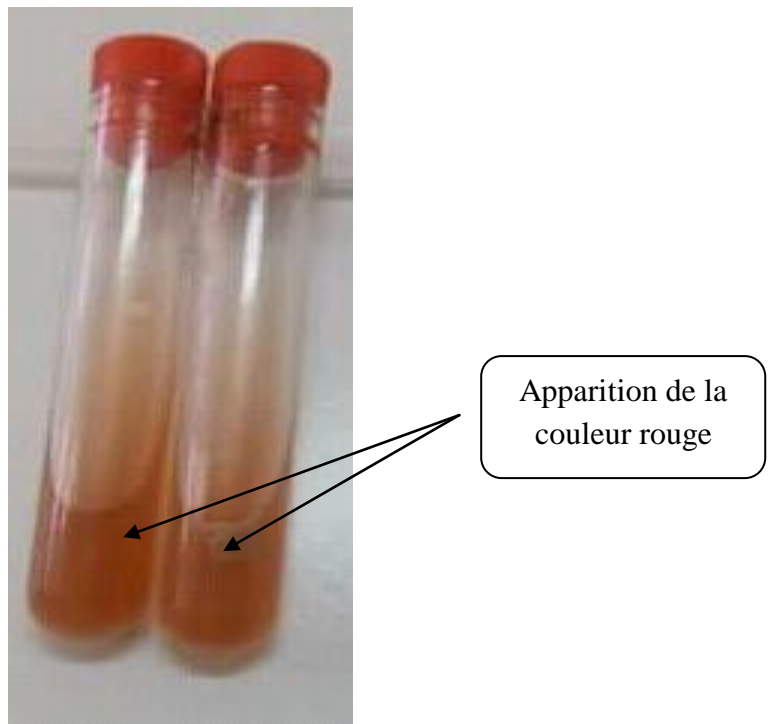


Figure 21 : Révélation de l'acide indole 3-acétique.

La concentration de l'AIA dans le surnageant des cultures liquides d'actinobactéries testées, est obtenu par extrapolation des densités optique dans une courbe d'étalonnage (réalisée par différentes concentration de l'AIA pur). Les résultats sont représentés dans le tableau 06.

Tableau 06. Production de l'acide indole-3-acétique (AIA) par les souches d'actinobactéries.

Souches	Réaction avec le réactif de Salkowski	Densité optique	Concentration d'AIA ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)
<i>Streptomyces</i> sp. AP4	-	00	00
<i>Streptomyces</i> sp. AR2	-	0	0
<i>Saccharothrix</i> sp. MB15	+	1,311	93,64
<i>Nocardia</i> sp. MB23	+	0.814	58.14
<i>Streptomyces</i> sp. PT2	-	0	0
<i>Streptosporangium</i> sp. SG10	+	0.794	56.71
<i>Streptosporangium</i> sp. SG20	+	0.161	11.50
<i>Streptomyces</i> sp. SN2	+	0.380	27.14
<i>Streptomyces</i> sp. SN6	-	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. TL8	-	0	0
<i>Streptomyces</i> sp. ZL2	+	0.427	30.50
<i>Streptomyces</i> sp. ZP1	+	0.376	26.86

(-) absence de la couleur rouge, (+) présence de la couleur rouge

Parmi les 12 souches d'actinobactéries étudiées 58% produisent l'AIA. Les concentrations de ce dernier dans le surnageant des cultures liquides sont variables d'une souche à une autre. La production maximale de l'AIA a été observée chez la souche *Saccharothrix* sp. MB15 avec $93.64 \mu\text{g.ml}^{-1}$. Les souches *Nocardia* sp. MB23 et *Streptosporangium* sp. SG10 ont également produit des quantités notables d'AIA estimées à $58.14 \mu\text{g.ml}^{-1}$ et $56.71 \mu\text{g.ml}^{-1}$, respectivement. Les valeurs les plus faibles ont été obtenues par les souches *Streptomyces* sp. ZL2 et *Streptomyces* sp. ZP1 (de $30.50 \mu\text{g.ml}^{-1}$ à $26.86 \mu\text{g.ml}^{-1}$).

Plusieurs travaux ont montré que les actinobactéries produisent l'AIA (Solans *et al.*, 20011 ; Goudjal *et al.*, 2013). D'après Glick (2007), l'AIA produit par ces actinobactéries augmente la longueur des racines, fournissant à la plante un meilleur accès aux nutriments du sol. En outre, la production de l'AIA, augmente la quantité des exsudats racinaires sécrétés par les racines ce qui donne plus de nutriments pour soutenir la croissance des bactéries de la rhizosphère. Pour cette raison, les actinobactéries productrices d'AIA

peuvent améliorer nettement la croissance des plantes en favorisant principalement un bon enracinement et une bonne nutrition de la plante.

➤ **Chromatographie sur couche mince (CCM)**

La vérification qualitative de la production de l'AIA ainsi que leur mise en évidence par CCM ont été réalisées chez les douze souches testées. Cette confirmation est effectuée sur plaque chromatographique observée sous lumière UV à 254 nm. Les résultats présentés par la Figure 22 nous permettent de remarquer que les souches SN2 et MB15 produisent de l'AIA, elles possèdent la même distance de migration que l'AIA pur.

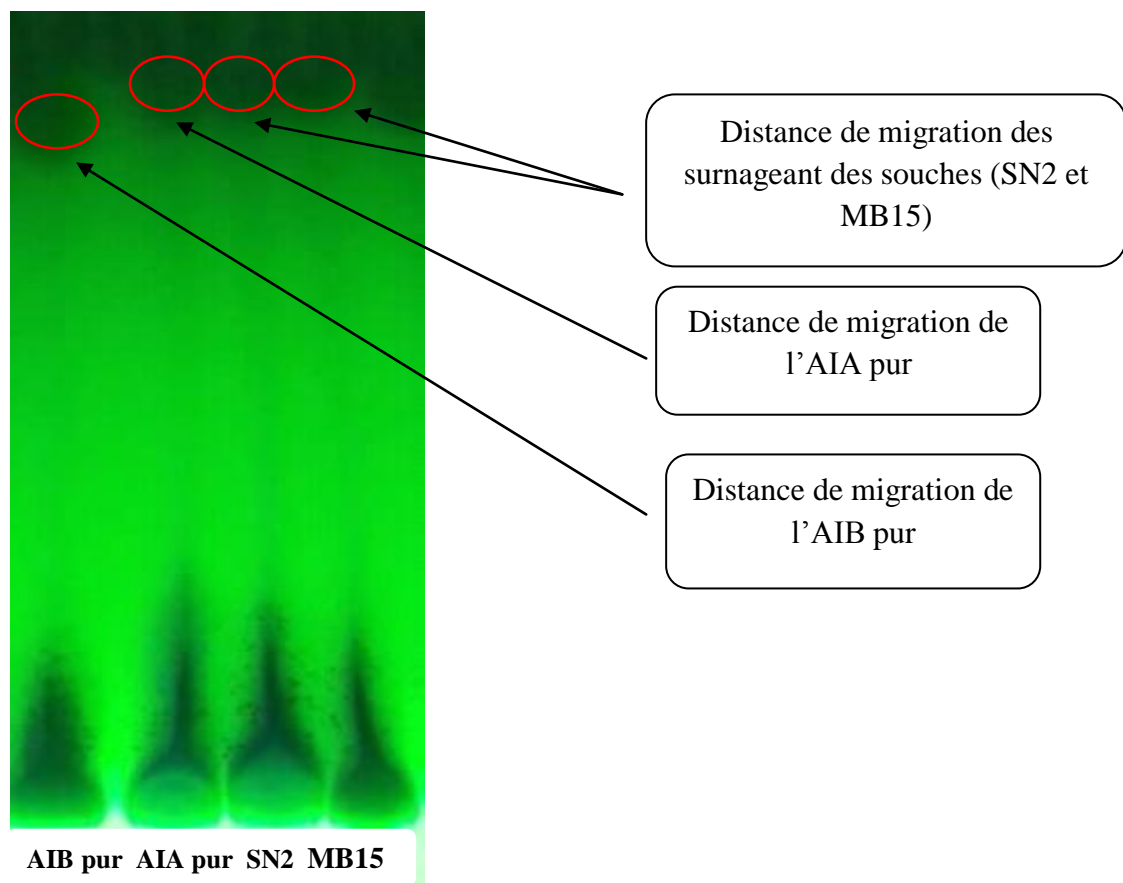


Figure 22. Analyse Chromatographique sur couche mince de l'AIA pur et celui produit par les souches d'actinobactéries SN2 et MB15.

III.2.1.2. Production de l'AG3

Les 12 souches d'actinobactéries ont été testées pour leur capacité à produire l'AG3 dans le bouillon ISP2. Les résultats sont présentés dans le tableau 07.

Tableau 07. Production des gibbérellines (AG3) par les souches d'actinobactéries.

Souches	Croissance	Densité optique	Concentration d'AG3 ($\mu\text{g.ml}^{-1}$)
<i>Streptomyces</i> sp. AP4	-	00	00
<i>Streptomyces</i> sp. AR2	+	0.52	260
<i>Saccharothrix</i> sp. MB15	+	0.85	425
<i>Nocardia</i> sp. MB23	+	0.41	205
<i>Streptomyces</i> sp. PT2	+	0.48	240
<i>Streptosporangium</i> sp. SG10	-	00	00
<i>Streptosporangium</i> sp. SG20	+	0.32	160
<i>Streptomyces</i> sp. SN2	+	0.21	105
<i>Streptomyces</i> sp. SN6	+	0.18	90
<i>Streptomyces</i> sp. TL8	+	0.63	315
<i>Streptomyces</i> sp. ZL2	+	0.17	85
<i>Streptomyces</i> sp. ZP1	-	00	00

Les résultats du tableau ci-dessus montrant que, parmi les 12 souches d'actinobactéries étudiées, 75% produisent l'AG3. Les concentrations de cette hormone varient d'une souche à une autre, avec une valeur maximale de $425 \mu\text{g.ml}^{-1}$ observée chez la souche *Saccharothrix* sp. MB15. Les souches *Streptomyces* sp. TL8 et *Streptomyces* sp. AR2 ont également données des résultats remarquables, les concentrations d'AG3 ont été estimées à $315 \mu\text{g.ml}^{-1}$ et $260 \mu\text{g.ml}^{-1}$ respectivement.

Les phytohormones sont de petites molécules régulatrices de la croissance végétale (Zahir *et al.*, 1996). Les résultats montrent que la majorité des actinobactéries testées sont capables de synthétiser l'AG3. Leurs concentrations varient d'une souche à une autre. Globalement, les quantités produites d'AG3 sont remarquables, notamment pour les souches *Saccharothrix* sp. MB15 ; *Streptomyces* sp. TL8 et *Streptomyces* sp. AR2 ; *Nocardia* sp. MB23 et *Streptosporangium* sp. SG10. La synthèse de l'AG3 par des espèces du genre *Streptomyces* et leur rôle dans la promotion de la croissance des plantules de blé et d'autres plantes cultivées ont été rapportés par plusieurs études (Goudjal *et al.*, 2013 ; Zamoum *et al.*, 2015).

Les gibbérellines sont essentiellement impliquées dans la division cellulaire et l'allongement à l'intérieur du méristème sub-apical jouant ainsi un rôle essentiel dans la germination des graines, la formation des entre-nœuds, la croissance du tube pollinique et la floraison des plantes (Toumatia, 2015).

III.2.2. Libération de l'ammoniaque

Les souches d'actinobactéries ont été testées pour leur pouvoir de libérer l'ammoniaque. La révélation de la libération de l'ammoniaque a été révélée par l'addition du réactif de Nessler aux surnageants des cultures. L'apparition d'une couleur jaune brunâtre indique un test positif (Figure 23).

D'après les résultats obtenus, nous enregistrons que 8 souches soit 66% du total sont capables de libérer l'ammoniaque dans l'eau peptonée. Les résultats sont représentés dans le tableau 08.

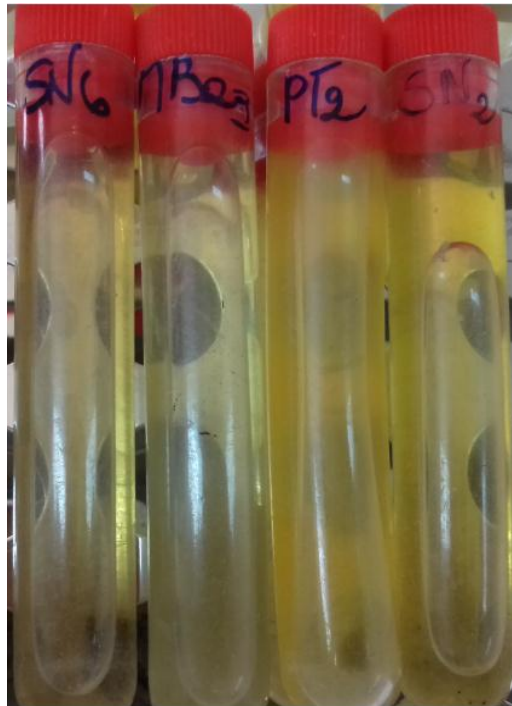


Figure 23. Libération de l'ammoniaque indiquée par la couleur jaune brunâtre.

Tableau 08. Résultats des tests de libération de l'ammoniaque dans l'eau peptonée.

Souches	Réaction avec le réactif de Nessler	Densité optique	Quantité de l'ammoniaque libérée (mg/ml)
<i>Streptomyces</i> sp. AP4	-	00	00
<i>Streptomyces</i> sp. AR2	-	00	00
<i>Saccharothrix</i> sp. MB15	+	0,263	33,7
<i>Nocardia</i> sp. MB23	-	00	00
<i>Streptomyces</i> sp. PT2	+	1,500	157.4
<i>Streptosporangium</i> sp. SG10	+	1,746	182
<i>Streptosporangium</i> sp. SG20	+	1,389	146.3
<i>Streptomyces</i> sp. SN2	+	1,174	124.8
<i>Streptomyces</i> sp. SN6	+	0,800	87.4
<i>Streptomyces</i> sp. TL8	+	0,581	65.5
<i>Streptomyces</i> sp. ZL2	+	0,943	101.7
<i>Streptomyces</i> sp. ZP1	-	00	00

(-) Pas de croissance; (+) Croissance moyenne ; (++) Croissance importante.

A l'issu de ces résultats, nous remarquons que la majorité des souches testés sont capables de pousser dans l'eau peptonée et de libérer l'ammoniaque, sauf les souches *Nocardia* sp. MB23 et *Streptomyces* sp. AP4, AR2 et ZP1. La quantité de l'ammoniaque libérée varie d'une souche à une autre, elle est comprise entre 33,7 et 182 mg/ml.

L'ammoniaque joue un rôle important dans la nutrition de la plupart de plantes cultivées (Gray et Smith, 2005). Plusieurs études ont montrées que les actinobactéries sont capables de libérer l'ammoniaque, et soulèvent des associations symbiotiques de bactéries fixatrices de l'azote atmosphérique appartenant au genre *Rhizobium*, *Frankia*, et *Azobacter* (Tilak *et al.*, 2005 ; Benmati *et al.*, 2012).

D'après nos résultats, les souches d'actinobactéries testées sont capables de libérer l'ammoniaque dans le milieu de culture liquide. Taibaoui et Hamadouche (2016) ont trouvé des résultats semblables. Toumatia *et al.* (2014), ont également remarqués que de nombreuses espèces appartenant au genre *Streptomyces* telle que l'espèce *Streptomyces caeruleatus* ont un rôle très important dans la libération de l'ammoniaque à partir de la

matière organique dans le sol. Ce processus peut contribuer efficacement dans la biofertilisation et la promotion de la croissance des plantes cultivées.

III.2.3. Solubilisation des phosphates inorganiques

Les douze souches d'actinobactéries ont été testées pour leur capacité à solubiliser les trois formes de phosphates inorganiques ($\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, $\text{Fe}(\text{PO}_4)_2$ et $\text{Al}(\text{PO}_4)_2$) sur le milieu Pikovskaya. Les résultats sont mentionnés dans le tableau 09.

Tableau 09. Résultats de la solubilisation des trois sources de phosphates inorganiques par les souches d'actinobactéries.

Souches	$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$	$\text{Fe}(\text{PO}_4)_2$	$\text{Al}(\text{PO}_4)_2$
	Croissance	Croissance	Croissance
<i>Streptomyces</i> sp. AP4	++	-	± à -
<i>Streptomyces</i> sp. AR2	++	++ à +++	-
<i>Saccharothrix</i> sp. MB15	++	-	+
<i>Nocardia</i> sp. MB23	+	-	-
<i>Streptomyces</i> sp. PT2	++++	+	-
<i>Streptosporangium</i> sp. SG10	++	++	+
<i>Streptosporangium</i> sp. SG20	++	-	++
<i>Streptomyces</i> sp. SN2	+++	+	+
<i>Streptomyces</i> sp. SN6	+++	++	+
<i>Streptomyces</i> sp. TL8	+++	+	++
<i>Streptomyces</i> sp. ZL2	+	-	++
<i>Streptomyces</i> sp. ZP1	+	-	-

(-) Pas de croissance; (±) Très faible croissance; (+) Croissance modérée; (++) Croissance moyenne; (+++) Croissance forte avec disparition de l'opacité du milieu; (++++) Très bonne croissance avec disparition de l'opacité du milieu.

L'analyse des résultats du tableau 09 montre que les 12 souches d'actinobactéries sont capables de se développer sur le milieu solide PVK contenant le $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ comme source de phosphate inorganique. Les souches *Streptomyces* sp. SN2 ; *Streptomyces* sp. SN6 ; *Streptomyces* sp. TL8 ont une bonne croissance sur le milieu Pikovskaya et une bonne solubilisation du complexe $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. Cette croissance est caractérisée par le développement d'un auréole claire autour des colonies. Par ailleurs, une croissance moyenne à très faible,

chez les mêmes souches, à été observée dans le milieu contenant le phosphate d'aluminium et le phosphate ferrique.

Le phosphore joue un rôle essentiel dans le transfert de l'énergie nécessaire à la croissance et à l'amélioration de la productivité des plantes. C'est un élément indispensable et irremplaçable pour les besoins vitaux des plantes (Selami, 2015).

Plusieurs travaux ont montré le rôle des espèces d'actinobactéries dans la solubilisation des sels de phosphate insolubles en orthophosphate assimilable par les plantes (Hamdali *et al.*, 2008 ; Xiao *et al.*, 2008). En outre, une large gamme d'espèces du genre *Streptomyces* a été rapportée pour leur faculté d'améliorer l'absorption racinaire du phosphate et dans la promotion de la croissance des plantes (Franco-Correa *et al.*, 2010).

III.3. Formulation des biofongicides à partir des spores de *Streptomyces* sp. SN2 et de *Saccharothrix* sp. MB15

Les souches *Streptomyces* sp. SN2 et *Saccharothrix* sp. MB15 ont été choisi parmi les autres actinobactéries pour effectuer des essais d'inclusion de spores dans des billes d'alginate de sodium et en poudre de talc. Le choix de ces deux souches était basé sur :

- Leur activité antifongique remarquée vis-à-vis de nombreux champignons phytopathogènes. Ces résultats ont été rapportés par des travaux réalisés auparavant dans le cadre de projet de fin d'étude effectué par Renane (2014), Hamadouche (2016), Taibaoui (2016), Allaoui (2017) et Aouissi (2017).
- Leurs potentiels de biocontrôle *in vitro* de *Fusarium graminearum* (Allaoui, 2017).
- En outre, le choix de ces deux souches est basé sur nos résultats positifs observés par l'étude *in vitro* des mécanismes de biocontrôle et d'effet *PGPB*.

Les spores des deux souches choisies *Streptomyces* sp. SN2 et *Saccharothrix* sp. MB15 ont été formulés en billes d'alginate de sodium (Figure 24 a) et en poudre de talc (Figure 24 b).

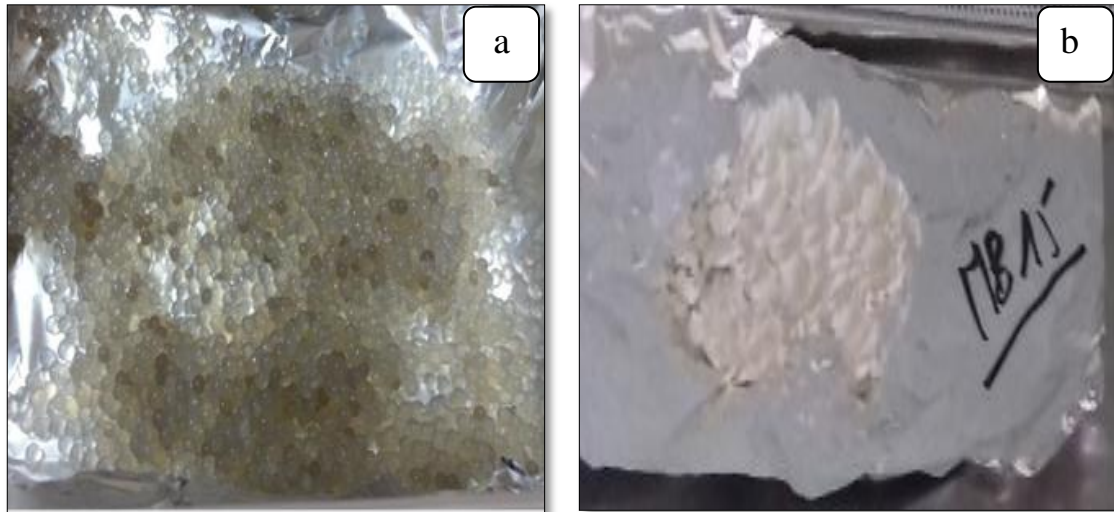


Figure 24. Photographies montrant les billes d'alginate de Sodium (a) et la poudre de talc (b) (Originale, 2018).

La formulation de spores des isolats SN2 et MB15 a permis d'obtenir des biofongicides homogènes. De nombreux travaux ont montrés que la meilleure forme d'inclusion des spores de *Streptomyces* sp. se fait par l'alginate de sodium (Prosser et Tough, 1991) et en poudre de talc (Zamoum *et al.*, 2017). Ces formes d'inclusion donnent une viabilité étalée et une résistance meilleure aux conditions de conservation des spores. De plus, les spores incluses sont caractérisées par une efficacité de biocontrôle des agents phytopathogènes dans des conditions expérimentales variables (Woodward, 1985).

III.4. Efficacité de biofongicides formulés

III.4.1. Efficacité de biocontrôle *in vivo*

Les biofongicides formulés ont été testés, dans des conditions de culture *in vivo*, pour le biocontrôle de la pourriture racinaire du blé dur causée par *Fusarium graminearum* et pour la promotion de la croissance des plantules. Les paramètres mesurés sont l'incidence de la pourriture racinaire sur les plantules de blé, la longueur racinaire et des tiges, le poids frais et sec des plantules. Après 6 semaines de culture, des symptômes de la pourriture racinaire ont été observés (Figure 25).



Figure 25. Pourriture racinaire observés sur les plantules de blé après 6 semaines de culture.

La figure 26 représente l'incidence de la maladie sur les plantules de blé selon le traitement appliqué.

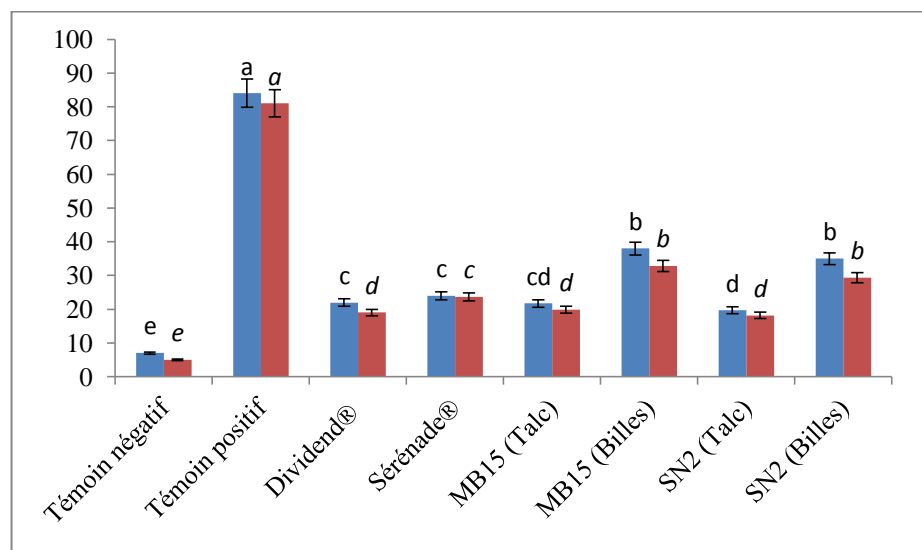


Figure 26. Incidence de la pourriture racinaire causée par *Fusarium graminearum* observée après 6 semaines de culture *in vivo*. Les barres d'erreur représentent l'erreur standard à la moyenne de 5 répétitions.

Les histogrammes avec la même lettre ne sont pas significativement différents selon le test de Newman-Keuls à $P = 0,05$.

A la lumière des histogrammes donnés par la Figure 26, nous remarquons clairement que le *Dividend®* et les biofongicides formulés en poudre de talc, à base des souches *Streptomyces* sp. SN2, et *Saccharothrix* sp. MB15, ont diminué significativement ($P < 0,05$) l'incidence de la pourriture racinaire causée par *F. graminearum* dans le sol stérilisé et non stérilisé. Cependant, aucune différence significative ($P < 0,05$) n'a été remarquée entre l'ensemble des résultats obtenus en sol stérilisé et en sol non stérilisé.

La comparaison des résultats montre une forte incidence de la maladie sur le témoin positif cultivé dans le sol stérilisé non stérilisé et infecté par les spores de *F. graminearum*. Le biofongicide formulé en poudre mouillable à base de la souche *Streptomyces* sp. SN2 a donné la meilleure protection des plantules de blé, cultivées en sol stérilisé (19,7 %) et en sol non stérilisé (18,2 %), suivi par le *Dividend*® avec 19 %, et puis le biofongicide formulé en poudre mouillable à base de la souche *Saccharothrix* sp. MB15 (21,7 % en sol stérilisé et 19,9 % en sol non stérilisé). Les biofongicides formulés en billes d'alginate de sodium à base des souches sélectionnées ont donné un taux de protection faible par rapport aux biofongicides en poudre mouillable, au *Dividend*® et au Sérénade®.

Plusieurs auteurs ont rapportés que des essais de biocontrôle *in vivo* ont donné des résultats satisfaisants en utilisant des *Streptomyces* contre quelques pathogènes d'origine tellurique tel que *Fusarium avenaceum*, *F. culmorum*, *F. oxysporum*, *F. oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*, *Pythium debaryanum*, *Phomopsis sclerotiodes*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, (Tahvonen et Avikainen, 1987 ; Mohammadi et Lahdenpera, 1992 ; Hibar et al., 2007, Yekkour et al., 2012 ; Goudjal et al., 2014, Toumaia et al., 2014, Zamoum et al., 2015).

L'essai de biocontrôle *in vivo* montre que le biofongicide en poudre de talc à base de spores de l'isolat SN2 a réduit significativement l'incidence de la maladie en comparaison avec ceux formulés en poudre de talc à base de spores de l'isolat MB15 et en billes d'alginate de sodium à base de spores de deux souches, *Dividend*® et le Sérénade® commercialisé. Nos résultats sont en accord avec les résultats de Zamoum et al. (2017) qui ont rapporté que les graines de tomate bactérisées par la poudre de talc à base de *Streptomyces* sp. ZL2, montre une grande efficacité dans la suppression de *Rhizoctonia solani*, agent causal de la fonte des semis de la tomate. Cette efficacité peut être expliquée selon Bencheikh et al. (2010), par la diffusion rapide des spores des *Streptomyces* sp. dans les espaces rhizosphériques.

Les biofongicides formulés en billes d'alginate de sodium ont présenté une efficacité faible par rapport à ceux formulés en poudre de talc mais plus importante que le Sérénade®. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Zamoum et al., (2015). Cependant, Hamadouche (2016) et Taibaoui (2016), ont également trouvés que les biofongicides formulés en billes d'alginate de Sodium à base des *Streptomyces* spp.

montrent une grande performance dans la suppression de *Rhizoctonia solani* et de *Fusarium oxysporum* f.sp *radicis-lycopercisi*.

III.4.2. Effet *PGPB* des biofongicides formulés

Les biofongicide formulés ont été étudiées pour leur effet sur les paramètres de croissance des plantules de blé, par la mesure de la longueur des racines et des tiges, du poids frais et du poids sec des plantules saines cultivées en sol stérilisé et en sol non stérilisé. L'évaluation de ces paramètres a pour objectif de sélectionner le biofongicide ayant un effet stimulateur de la croissance des plantules de blé. Les résultats sont présentés par la Figure 27.

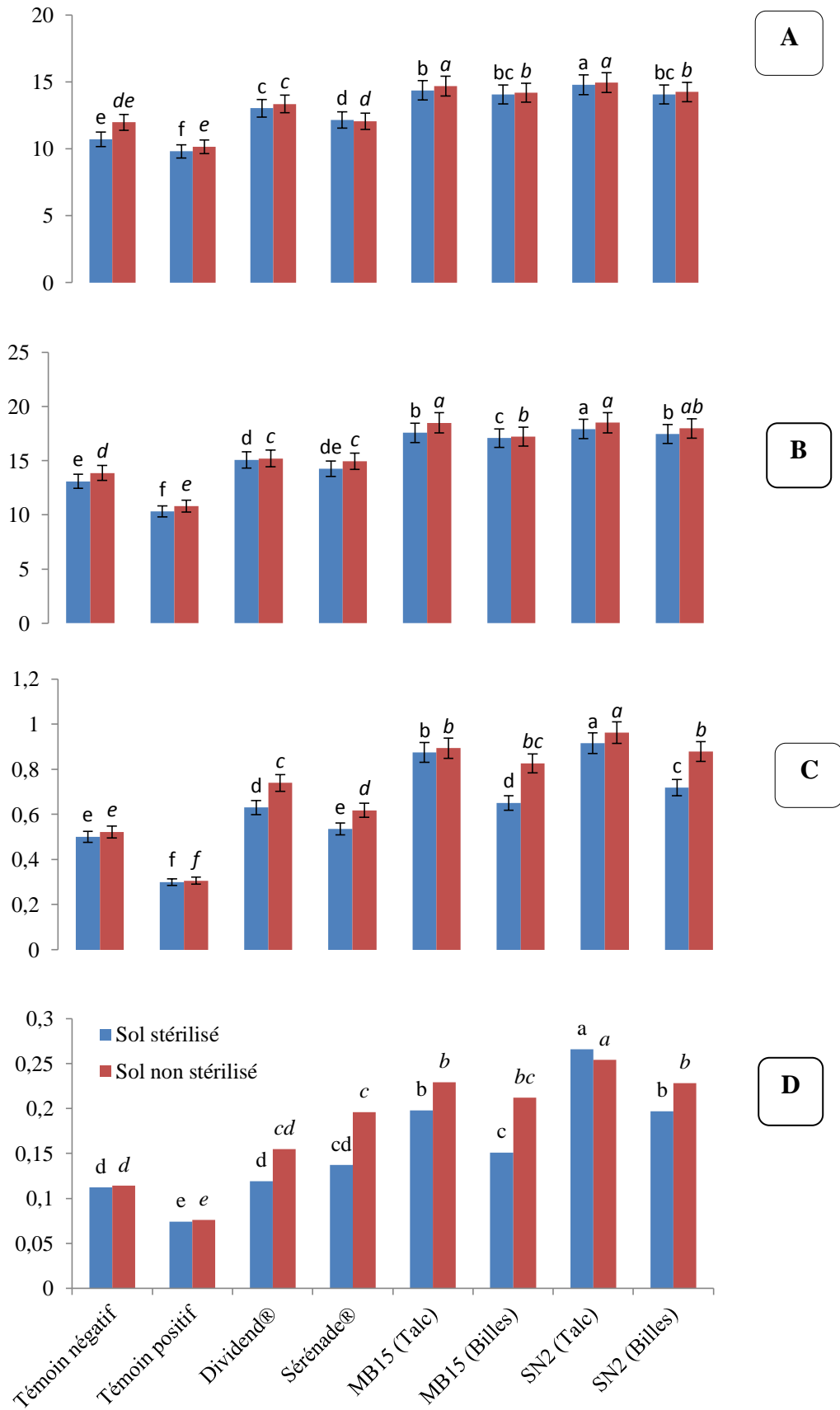


Figure 27. Effet des biofongicides formulés à base de spores de *Streptomyces* spp. SN2 et *Saccharothrix* sp. MB15 sur la promotion de la longueur racinaire (A), la longueur des tiges (B), le poids frais (C) et le poids

sec (**D**) des plantules de blé cultivées en sol stérilisé (histogrammes bleu) ou en sol non stérilisé (histogrammes rouge). Les barres d'erreurs représentent l'erreur standard à la moyenne de cinq répétitions.

La Figure 26 montre la variabilité de l'effet des traitements sur la longueur racinaire, la longueur des tiges, le poids frais et le poids sec des plantules de blé.

Nous constatons que les biofongicides formulés en poudre mouillable et en billes d'alginate de sodium à base de spores des souches SN2 et MB15 ont pu améliorer les paramètres de croissance des plantules de blé et ont donné des valeurs supérieures à celles données par le témoin négatif (Figure 28), le Sérénade® et le *Dividend*®.



Figure 28. Promotion de la croissance des plantules de blé par le biofongicide en poudre de talc et en billes d'alginate de Sodium à base de spores de la souche MB15 (**B, C**) en comparaison avec le témoin négatif (**A**).

Le bactérisation des graines de blé dur par les biofongicides formulés à base des souches d'actinobactéries choisis sur la base de leur effet PGPB à été montré par les travaux de Goudjal *et al.* (2013, 2014) et de Zamoum *et al.* (2015). Cependant, l'efficacité de ces souches dans la promotion de croissance des plantules est due probablement à la sécrétion de substances spécifiques, généralement des métabolites secondaires (Brader *et al.*, 2014).

Les biofongicides formulés à base de spores des isolats *Streptomyces* sp. SN2 et *Saccharothrix* so. MB15 en billes d'alginate de sodium montrent un effet PGPB faible par rapport à ceux formulés en poudre de talc qui ont amélioré les paramètres de croissance des plantules de blé à savoir la longueur des tiges, la longueur racinaire, le poids frais et le poids sec. Ces résultats sont semblables à ceux trouvés par Zamoum *et al.* (2017) qui ont montré que les isolats de *Streptomyces* spp. utilisés pour la préparation d'une poudre de talc pour le biocontrôle de *Fusarium oxysporum* fsp. *radisici-lycopersici*, agent causal de la pourriture racinaire et du collet de la tomate, stimule la croissance des plantules par l'amélioration de leur taille et de leur poids en plus de son effet de biocontrôle.

D'après Bencheikh et Setti (2010), l'efficacité des biofongicides en poudre de talc peut être expliquée 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.

- CONCLUSION

CONCLUSION

Les pourritures racinaires sont parmi les maladies les plus importantes qui attaquent le blé dur en Algérie. Elles sont causées par plusieurs espèces du genre *Fusarium*. En plus de la perte du rendement engendrée, les qualités sanitaires et technologiques des graines sont fortement dépréciées.

L'objectif de notre travail est d'utiliser 12 souches d'actinobactéries endophytes et rhizosphériques dans le biocontrôle de *Fusarium graminearum*, agent causal de la pourriture racinaire de blé dur, et d'étudier également leur effet PGPB sur les plantules.

La majorité des souches testées sont capables de produire des protéases. A l'exception des souches MB15, SG10, SG20 et ZL2. Les souches SN2, PT2 et ZP1 présentent la meilleure production de cellulases.

Le test de production des sidérophores montre que les souches AP6, SG10, SN2, et SN6 sont capables de produire des sidérophores. A l'exception de SG10 et SG20, toutes les souches testées sont capable de croître sur le milieu AIM sans fer.

Les souches AR2, MB15, MB23, PT2, SG20, SN2, TL8, et ZL2 sont capables de produire l'HCN. La production de ce composé, est parmi les mécanismes les plus efficaces dans le biocontrôle des champignons phytopathogènes.

Les 12 souches d'actinobactérie testées présentent une activité d'antagonisme *in vitro* plus ou moins importante, vis à vis des trois champignons phytopathogènes testées (*Fusarium graminearum*, *F. culmorum* et *Bipolaris sorokiniana*). Les souches MB15, SG20 et SN2 présentent une zone d'inhibition plus importante contre *F. graminearum*.

Les souches MB15, MB23, SG10, SG20, SN2, ZL2 et ZP1 produisent l'AIA avec des quantités différentes. Le maximum de production a été enregistré par la souche MB15 avec une concentration de 93,64 $\mu\text{g.ml}^{-1}$. Ce résultat a été confirmé par une chromatographie en couche mince.

Le test de production de l'AG3 montre que les souches AR2, MB15, MB23, PT2, SG20, SN2, SN6, TL8 et ZL2 produisent l'AG3. Les souches MB15 et TL8 synthétisent par des quantités plus importantes avec des concentrations de 425 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ et 315 $\mu\text{g.ml}^{-1}$ respectivement.

Les souches MB15, PT2, SG10, SG20, SN2, SN6, TL8 et ZL2 sont capables de pousser dans l'eau peptonée et de libérer l'ammoniaque. La quantité de l'ammoniaque libérée varie d'une souche à une autre. La souche SG10 présente la quantité la plus importante.

Le test de solubilisation des phosphates inorganiques montre que tous les souches poussent sur le milieu PVK additionné de $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$. La croissance de ces souches est réduite en présence d' $\text{Al}(\text{PO}_4)_2$ et encore plus faible en présence du $\text{Fe}(\text{PO}_4)_2$.

Les résultats du poids frais et du poids sec des plantules de blé ont montré que l'enrobage des semences de blé dur, par les spores des souches SN2 et MB15, a amélioré nettement le poids frais et sec des plantules, comparativement aux témoins positif et négatif, et aux plantules traitées par le Sérénade® et le Dividend®.

Les résultats obtenus par notre travail ouvrent de nouvelles perspectives pour l'utilisation des actinobactéries dans le future pour lutter contre des espèces phytopathogènes telluriques. Il serait également très intéressant d'évaluer l'efficacité de la combinaison de deux souches *Streptomyces* sp. SN2, *Saccharothrix* sp. MB15 contre des agents phytopathogènes et d'étudier les paramètres de conservation et de viabilité des biofongicides formulé après 6 mois et 12 mois de conservation.

- REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Abraham, T.A. et Herr, L.J., (1964). Activity of actinomycetes from rhizosphere and non-rhizosphere soils of corn and soybean in four physiological tests. *Can. J. Microbiol* 10, p. 281-285.

Altieri, M.A., (1999). The ecological role of biodiversity in agroecosystems. *Agri. Ecosystems Environ.* 74, 19-31.

Ameur, H., (2014). Effet d'osmoprotecteurs naturels sur la restauration de croissance de *Streptomyces* et de plantes d'intérêt agricole sur sol salé ou aride. Thèse de doctorat. Université Ferhat Abbas Sétif 1. 145p.

Aouar, L., (2012). Isolement et identification des actinomycètes antagonistes des microorganismes phytopathogènes. Thèse de doctorat. Université Mentouri-Constantine. 218p.

Aouiche, A., (2013). Taxonomies et antibiotique de quelques souches de *Streptomyces* et *Saccharothrix* des sols de Ghardaïa active contre des microorganismes pathogènes et toxigènes pour l'Homme. L'école normale supérieure de Kouba-Alger. 153p.

Benmati M., Ykhlef N., Belbekri N. et Djekoun A., (2012). Effect of 2, 4-dichlorophenoxyacetate on the formation of paranodules root in durum wheat (*triticum durum* desf.) inoculated with *Azospirillum brasilense* isolated in rhizosphere of wheat in algeria. *Sciences. Technologie.* p. 18-24.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology., (2004). Garrity GM, Bell JA, Lilburn TG (Eds). vol 4: Taxonomic Outline of the Prokaryotes. 2ème édition, Springer-Verlag, New York. 401 p.

Bergey's Manual of Systematic Bacteriology., (2012). Whitman WB, Goodfellow M, Kämpfer P, Busse HJ, Trujillo ME, Ludwig W, Suzuki Ki, Parte A (Eds). vol 5: The Actinobacteria. 2ème édition, Springer, New York. 1750 p.

biologie, Taxonomie et écologie. In "Biotechnologie des Antibiotiques". Larpent J.P. et Sanglier J.J., Masson : Paris. p: 33-70.

Bishop, DL., (2002). Gene expression of a vacuolar peroxidase with stress-induced pathogenesis in wheat sheaths. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 61(1): 65-71.

Botton, R, Breton, A, Fevre, M., Guy, PH., Larpent, J.P. et Veau, P., (1985). Moisissures utiles et nuisibles. Importance industrielle. *Biotechnologies.* Masson, p139 à 145.

Boubetra D., Zitouni A., Bouras N., Mathieu F., Lebrihi A., Schumann P., Spröer C., Klenk H-P., Sabaou N. (2013). *Saccharothrix saharensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Algerian Saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 63: 3744–3749.

Boubetra D., Zitouni A., Bouras N., Schumann P., Spröer C., Klenk H-P., Sabaou N. (2015). *Saccharothrix tamanrassetensis* sp. nov., an actinomycete isolated from Saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 65: 1316–1320.

Boufenar-Zeghouane, F., Zeghouane, O., (2006). Guide des principales variétés de céréales à paille en Algérie (blé dur, blé tendre, orge et avoine). ITGC, ICARDA. 1^{ère} édition. Algérie, 154 p.

Boulal, H., Zaghoulane, O., El mourid, M. et Razghi, S., (2007). Guide pratique de la conduite des céréales d'automne (blé et orge) dans le Maghreb (Algérie, Maroc, Tunisie). ITGC/ICARDA.176p.

Bouznada K., Bouras N., Mokrane S., Chaabane Chaouch F., Zitouni A., Pötter G., Spröer C., Klenk H-P., Sabaou N. (2017). *Saccharothrix ghardaiensis* sp. nov., an actinobacterium isolated from Saharan soil. *Antonie van leeuwenhoek*. 110, 399-405

Chaabane Chaouch F., Bouznada K., Bouras N., Mokrane S., Zitouni A., Pötter G., Spröer C., Klenk H-P., Sabaou N. (2016). *Saccharothrix isguenensis* sp. nov., a novel actinobacterium isolated from Saharan soil. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 66, 4785-4790.

Bottini, R., Cassán, F. and Piccoli, P., (2004). Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion and yield increase. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 65: 497-503.

Boyle, C, Gotz, M, Dammann-Tugend, U., Schulz, B., (2001). Endophyte-host interactions III. Local vs. systemic colonization. *Symbiosis* 31(4): 259-281.sol

Breton, A., Theilleux, J., Sanglier, J. J. et Viobis G., (1989). Organismes producteurs: biologie, Ctaxonomie et écologie. In "Biotechnologie des Antibiotiques". Larpent J.P. et Sanglier J.J., Masson : Paris. p: 33-70.

Brouillet, L., F. Coursol, M. Favreau., (2006). VASCAN. *The database of Canadian vascularplants*.Herbier Marie-Victorin, Institut de recherche en biologie végétale, Université de Montréal <http://data.canadensys.net/vascan/about>.

Champeil, A., Fourbet, J.F., Dore, T. et Rossihol, L., (2004). Influence of cropping system on Fusarium head blight and mycotoxin levels in winter wheat. *Crop Protection* 23,531-537.

Chen, W.M., James, E.K., Coenye, T., Chou, J.H., Barrios, E., de Faria, S.M., Elliott, G.N., Sheu, S.-Y., Sprent, J.I. et Vandamme, P. (2006). *Burkholderia mimosarum* sp. nov. isolated from root nodules of *Mimosa* spp. from Taiwan and South America. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. Vol. 56, p. 1847-1851.

Choulet, F., (2006). Evolution du génome des *Streptomyces* : transfert horizontal et variabilité des extrémités chromosomiques. Thèse de Doctorat. Université Henri Poincaré, Nancy 1, pp 210.

Chouyeb, S., Nia, M., (2012). Actinomycètes endophytes et hormone de croissance végétale acide indol-3-acétique: production, partielle purification et promotion de la croissance des plantules de tomate. Mém. Mas. Dépt. Agron. Faculté des Sciences, Univ. Amar Telidji, Laghouat. 70p.

Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clement, C. et Barka, E-A., (2005). *Use of plant growth-promoting bacteria for biocontrol of plant diseases: principles, mechanisms of action, and future prospects.* *Applied and Environmental Microbiology*.71: 4951-4959 p.

Corbaz, R., (1990). Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. *Presse polytechniques et universitaires romandes.*

Danilenko, V.N., Mironov, V.A., Elizarov, S.M., (2005). Calcium as a Regulator of Intracellular Processes in Actinomycetes: A Review. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 41(4), 319–329.

Davies, K. A., De Lorono, I., Foster, S. J., Li D., Johnstone, K., Ashby, A. M., (2000). Evidence for a role of cutinase in pathogenicity of *Pyrenopeziza brassicae* on brassicas, *Physiological and Molecular Plant Pathology*, Vol. 57, Issue 2, 63-75.

Demain, A. L., Dykhuizen L., (2006). Ecology and industrial microbiology. Editorial Overview. *Current Opinion in Microbiology* .(9): 237-239.

Emmert, E.A.B., & Handelsman, J., (1999). Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective. *FEMS Microbiol Lett*. 171: 1- 9.

Ezzahiri, B., (2001). Les maladies du blé Identification, facteurs de développement et méthodes de lutte. Transfert de technologie en Agriculture. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA 77, 4p.

Feillet, P., (2000). Le grain du blé. Composition et utilisation. Ed. INRA, Paris, pp : 17-18.

Franco-Correa, M., Quintana, A., Duque, C., Suarez, C., Rodriguez, M. and Barea, J. M., (2010). Evaluation of actinomycete strains for key traits related with plant growth promotion and mycorrhiza helping activities. *Appl. Soil Ecol.*, 45, 209-217.

Glick, B., Cheng, Z. et Park, E., (2007). 1-Aminocyclopropane-1-carboxylate deaminase from *Pseudomonas putida* UW4 facilitates the growth of canola in the presence of salt. *Can J. Microbiol.* 41, p. 109-117.

Goodfellow, M., Williams, S.T. and Mordaschi, M., (1984). Introduction to and importance of the actinomycetes. In: *The biology of the actinomycetes*. Goodfellow M., Williams S.T. and Mordaschi M. (Eds.). Academic Press, London, pp. 1-6.

Goodfellow, M., Williams, S.T., (1983). –Ecology of actinomycetes. *Ann. Rev. Microbiol.*, 37,189-216.

Goudjal, Y., Toumatia, O., Sabaou, N., Barakate, M., Mathieu, F. et Zitouni, A., (2013). Endophytic actinomycetes from spontaneous plants of Algerian Sahara : indole-3-acetic acid production and tomato plants growth promoting activity. *World J. Microb. Biot.*, 29, 1821-1829.

Grignac, P. LE BLE DUR: MONOGRAPHIE SUCCINTE. Nlautre de Conférences à l'Ecole National Supérieure Agronomique de Montpellier. 97p.

Grund, E., Kroppenstedt, R.M., (1990). Chemotaxonomy and numerical taxonomy of the genus *Nocardopsis* Meyer 1976. *Int J Syst Bacteriol* 40:5–11.

Haas, D., and Defago, G., (2005). Biological control of soil-borne pathogens by *fluorescent pseudomonads*. *Nat. Rev. Microbiol.* 3(4):307-319.

Hadjeres, S., (2015). Index des produits phytosanitaires à usage agricole. 217p.

Hamadouch, A., (2016). Mécanismes de biocontrôle et de l'effet PGPB de quelques isolats d'actinobactéries et essai d'inclusion des spores dans des billes d'alginate de sodium. Mém. Mas. Dépt. Agron. Faculté des Sciences, Univ. Amar Telidji, Laghouat. 81p.

Hamdali, H., Hafidi, M., Virolle, M.J., Ouhdouch, Y., (2008). *Growth promotion and protection against damping-off of wheat by two rock phosphate solubilizing actinomycetes in a P-deficient soil under greenhouse conditions*. *App Soil Ecol.* vol.40, p.510-517.

Hasegawa, S., Meguro, A., Shimizu, M., Nishimura, T. and Kunoh, H., (2006). Endophytic actinomycetes and their interactions with host plants. *Actinomycetologica*, 20, 72–81.

Hatsch, D., (2004). Interaction hôte/pathogène : étude du modèle *Humulus lupulus* / *Fusarium graminearum*. Identification, génomique et transcriptomique du pathogène. Thèse de doctorat. Université Louis Pasteur Strasbourg I. 190p.

Hodgson, D. A., (1992). Differentiation in actinomycetes. In: Prokaryotic Structure and Function, Cambridge University Press, Cambridge.

Holt, JG., Krieg, NR., Sneath, PHA., Staley, JT., Williams, ST., (1994). In: Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9ème édition, Williams and Wilkins editors, Baltimore. 816 p.

Holzappel, W., Brost, L., Faerber, P., Geisen, R., Bresch, H., Jany, K.-D., Mengu, M., Jakobsen, M., Steyn, P.S., Teniola, D. and Addo, P., (2002). -Bacterial degradation of aflatoxin B1 , ochratoxin A and /or zearalenone. *PCT Int. Appl.*, 19.

Hu, YT., Zhou, PJ., Zhou, YG., Liu, ZH., Liu, SJ., (2004). *Saccharothrix xinjiangensis* sp. nov., a pyrenedegrading actinomycete isolated from Tianchi lake, Xinjiang, China. *Int J Syst Bacteriol* 54:2091–2094.

Huang, S., Sirikhachornkit, A., Su, X., Faris, J., Gill, B., Haselkorn, R. et Gornicki, P., (2002). Genes encoding plastid acetyl-CoA carboxylase and 3-phosphoglycerate kinase of the *Triticum/Aegilops* complex and the evolutionary history of polyploidy wheat. Proceedings of the national academy of science of the USA, 99 : 8133-8138.

Jeunot, B., (2005). Les fusariotoxines sur céréales: détection, risque et nouvelle réglementation. Thèse de doctorat. UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1. 111p.

Kanini, G. S., Katsifas, E. A., Savvides, A. L., Hatzinikolaou, D. G., Karagouni, A. D., (2013). Greek indigenous streptomycetes as biocontrol agents against the soil-borne fungal plant pathogen *Rhizoctonia solani*. *J. Appl. Microbiol.*, 114, 1468-1479.

Khamna, S, Yokota, A et Lumyong, S., (2010). *Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole- 3-acetic acid and siderophore production.* World J Microbiol Biotechnol. vol. 25, p.649–655.

Kim, BY, Brown, R., Labeda, DP., Goodfellow, M., (2011). Reclassification of *Dactylosporangium variesporum* as *Saccharothrix variisporea* corrig. (ex Tomita et al. 1977) sp. nov., nom. rev. *Int J Syst Evol Microbiol* 61:310–314.

Kim, S.B., Seong, C.N., Jeon, S.J., Bae, K.S., et Goodfellow, M., (2004). Taxonomic study of neuro-tolerant acidophilic actinomycetes isolated from soil land description of *Streptomyces yeochonensis* sp.nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*, N°.54. p. 211-214.

Laala, Z., (2009). Analyse en chemin des relations entre le rendement en grains et les composantes chez des populations F3 de blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous conditions semi-arides. Mém. Mag. Dépt. Agron. Faculté des Sciences, Univ. Ferhat Abbas, Sétif. 97p.

Labeda DP, Lechevalier MP., (1989). Amendment of the genus *Saccharothrix* Labeda et al. 1984 and descriptions of *Saccharothrix espanaensis* sp. nov., *Saccharothrix cryophilis* sp. nov., and *Saccharothrix mutabilis* comb. nov. *Int J Syst Bacteriol* 39:420–423.

Labeda, DP., Goodfellow, M., Brown, R., Ward, AC., Lanoot, B., Vanncanneyt, M., Swings, J., Kim, SB et al., (2012). Phylogenetic study of the species within the family *Streptomycetaceae*. *Antonie van Leeuwenhoek* 101(1):73–104.

Labeda, DP., Hatano, K., Kroppenstedt, RM., Tamura, T., (2001). Revival of the genus *Lentzea* and proposal for *Lechevalieria* gen. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 51:1045–50.

Labeda, DP., Kroppenstedt, RM., (2000). Phylogenetic analysis of *Saccharothrix* and relate taxa: proposal for *Actinomycetaceae* fam. nov. *Int J Syst Evol Microbiol* 50:331–336.

Labeda, DP., Lyons, AJ., (1989). *Saccharothrix texasensis* sp. nov. and *Saccharothrix waywayandensis* sp. nov. *Int J Syst Bacteriol* 39:355–358.

Larpent, J.P. et Sanglier, j.J., (1989). *Biotechnologie des antibiotiques*. Ed. Masson,

Lechevalier, M.P., (1981). Ecological associations involving actinomycetes. In : *Actinomycetes*. Shaal and Pulverer (Eds.). *Zbl. Bakt. Suppl.*, 11, 159-166.

Lechevalier, MP., De-bievre, C., Lechevalier, HA., (1977). Chemotaxonomy of aerobic actinomycetes:phospholipid composition. *Biochem Syst Ecol* 5:249–260.

Lee, J-P., Lee, S-W., Kim, C-S., Son, J-H., Song, J-H., Lee, K-Y., Kim H-J., Jung, S-J. et Moon B-J., (2006). *Evaluation of formulations of Bacillus licheniformis for the biological control of tomato gray mold caused by Botrytis cinerea*. *Biol. Control*. 37(3): 329 337.

Lehr, N-A., Schrey, S-D., Hampp, R., Tarkka, M-T., (2008). *Root inoculation with a forest soil streptomycete leads to locally and systemically increased resistance against phytopathogens in Norway spruce*. *New Phytol*. Doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02322.x.

Leminor, L., Veron, M., (1989). *Bactériologie médicale*. 2 ème édition. p 335-349.

Lugtenberg, B., Chin-A-Woeng, T., Bloemberg, G., (2002). *Microbe-plant interactions: principles and mechanisms*. *Antonie van Leeuwenhoek*, 81:373–383.

Lumsden, R.D., Lewis, J.A. and Fravel D.R., (1995). Formulation and delivery of biocontrol agents for use against soilborne plant pathogens. *In*: Hall, F.R. and Barry, J.W. eds., *Biorational pest control agents*. American Chemical Society, Washington, D.C. pp.166–182.

Macagnan, D., da S. R., Romeiro, V Pomella A. W. et de Souza T. (2008). Production of lytic enzymes and siderophores, and inhibition of germination of basidiospores of *Moniliophthora (ex Crinipellis) pernicioso* by phylloplane actinomycetes. *Biol. Control.*, **47**: 309-314.

MADRP., (2015). Observatoire National des filières Agricoles et Agroalimentaires (ONFAA). Bilan de la campagne céréalière 2014/2015.

Mara., (1992). Le secteur agricole et les perspectives de sa promotion et de son développement. Rapport général de la commission nationale consultative sur l'agriculture. 292 p.

Marché du blé dur > Monde, Europe, France © FranceAgriMer 2013

McCormick, J. R., Flärdh, K., (2012). Signals and regulators that govern *Streptomyces* development. *FEMS Microbiol Rev*, 36(1): 206–31.

Microorganisms: Biotechnology and the Release of GMOs. John Wiley & Sons: Weinheim.

Milaire, H., (1995). À propos de quelques définitions. *Phytoma*, La Défense des Végétaux. 474:7-9.

Nasraoui, B., (2008). Principales Maladies Fongiques des Céréales et des Légumineuses en Tunisie. Centre de Publication Universitaire. 129p. Tunisie.

Nautiyal, C.S., (2000). Biocontrol of plant diseases for agricultural sustainability. *In*: Biocontrol potential and its exploration in sustainable agriculture. Upadhyay R.K., Mukherji K.G., Chamola B.P. (Eds). Kluwer Academic/Plenum Publishers, USA. 9-23.

Nekache. Abdallah, N., (2013). Complexe fongique pourriture racinaire et fusariose de l'épi étude pathologique et lutte biologique avec *Trichoderma atroviride* P. Karsten. Mém. Mag. Dépt. Botanique. Ecole nationale Supérieure Agronomique El Harache. 124p.

O'Gara, F., Dowling, D.N. et Boesten, B., (2008). Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms: Biotechnology and the Release of GMOs. John Wiley & Sons: Weinheim. 192p.

Olmedo-Areaga, O.B., Cantrell R.G., (1995). Recurrent sélection for grain yield in Durum Wheat. *Crop Scio.* 35 :714-719. *IN* : Evaluation de la qualité D'un germoplasme de blé dur (*Triticum durum* Desf) : appréciation de l'aptitude technologique et biochimique. Ait Kaki, S. (2001). Mém. Mag. Univ. Badji Mokhtar, Annaba.

Otoguro, M., Tamura, T., Suzuki, KI., Hayakawa, M., (2009). *Saccharothrix violaceirubra* sp. nov., isolated from soil and plant litter. *Int J Syst Evol Microbiol* 59:1504–1507.

Ou, X., Zhang B., Zhang, L., Dong, K., Liu, C., Zhao G., Ding, X., (2008). SarA influences the sporulation and secondary metabolism in *Streptomyces coelicolor* M145. *Acta. Biochim. Biophys Sin*, 40 (10), 877-882.

Patten, C. L. and Glick, B. R., (2002). Role of *Pseudomonas putida* indoleacetic acid in development of the host plant root system. *Appl. Environ. Microbiol.*, 68, 3795-3801.

Pena, R.J., WH. Pfeiffer., (2005). Breeding methodologies and strategies for durum wheat quality improvement. In *Conxita, R., Nachit, M., di Fonzo, N., Araus, J.L., Pfeiffer, W.H., & Slafer, G.A. (eds.). Durum wheat breeding: current approaches and future strategies. Food product press.* 663-686.

Pliego, C., Cayo, R., de Vicente, A. and Francisco, M., (2011). Cazorla Screening for candidate bacterial biocontrol agents against soil borne fungal plant pathogens. *Plant Soil*, 340, 505-520.

Prescott, L. M., Harley, J. P., Klein, D. A., (2010). Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition. Pp : 1088.

Pujic P. et Normand P. (2009). La symbiose racinaire entre la bactérie *Frankia* et les plantes actinorhiziennes. *Biofutur.*, **298**: 26-29.

Rahman, M-S., Ano, T., et Shoda, M., (2007). *Biofilm fermentation of iturin A by a recombinant strain of Bacillus subtilis 168.* *J. Biotechnol.* 127(3), p. 503-507.

RAP. (2014). Special phytoprotection biologique. Bulletin d'information. N°3. 20p.

Renane, Z., (2014). Contribution à l'étude de l'induction de la résistance systémique chez la tomate et biocontrôle de la fusariose vasculaire par des isolats d'actinomycètes endophytes. Mém. Mas. Dépt. Agron. Faculté des Sciences, Univ. Amar Telidji, Laghouat. 58p.

Reyes, M.E.Q., Rohrbach, K.G. and Paull R.E., (2004). Microbial antagonists control

Rezenka, T., Klanova, K., Podojil, M., Vanek, Z., (1984). Fatty acids of *Streptomyces cinnamonensis*, producer of monensin. *Folia Microbiol* 29:217.

Rocher, F., (2004). *Lutte chimique contre les champignons pathogènes des plantes : évaluation de la systémie phléomienne de nouvelles molécules à effet fongicide et d'activateurs de réaction de défense.* Thèse de doctorat : université de poitiers (France).163p.

Rodríguez, H., Fraga, R., Gonzalez, T. and Bashan, Y., (2006). Genetics of phosphate solubilization and its potential applications for improving plant growth-promoting bacteria. *Plant Soil*, 287, 15-21.

Royo, C., Abaza, M., Blanco, R., and Garcia del Moral. L-F., (2000). Triticale grain growth and morphometry as affected by drought stress, late sowing and simulated drought stress. *Aust. J. Plant Physiol.*, n. 27, p. 1051–1059.

Saravanakumar, D., Vijayakumar, C., Kumar, N. et Samiyappan, R., (2007). *PGPR induced defense responses in the tea plant against blister blight disease.* *Crop Protect.* 26(4): 556-565.

Sayoud, R., Ezzahiri, B. and Bouznad, Z., (1999). Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb. ITGC. Alger, 64 p.

Sessitsch, A., Reiter, B., Pfeifer, U. et Wilhelm, E., (2002). *Cultivation-independent population analysis of bacterial endophytes in three potato varieties based on eubacterial and Actinomyces-specific PCR of 16S rRNA genes.* *FEMS Microbiology Ecology.* vol. 39, p. 23-32.

Smaoui, S., (2010). *Purification et caractérisation de biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés.* Thèse de Doctorat en Génie de Procédés et Environnement : Université de Toulouse (France). 251p.

Solans, M., Vobis, G., Cassan, F., Luna, V. et Wall, L.G., (2011). Production of phytohormones by root-associated saprophytic actinomycetes isolated from the actinorhizal plant *Ochetophila trinervis*. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 27, 2195-2202.

Soltner, D., (2005). Les bases de la production végétale. Le sol et son amélioration 24 Edition. Tome I. Collection science et technique agricole. 472 p

Soltner, P., (2005). Les bases de la production végétale: La plante et son amélioration. 4^{ème}Ed. Collection et Techniques Agricoles.248p.

Stackebrandt, E., Rainey, FA., Ward-Rainey, NL., (1997). Proposal for a new hierarchic classification system, *Actinobacteria* classis nov. *Int J Syst Bacteriol.*, 47:479–491.

Suzuki, S. I., Okuda T. et Komatsubara S., (2001). Selective isolation and study on global distribution of the genus *Planobispora* in soil. *Cana. J. Microbiol.* 47 (11): p. 979- 986.

Taibaoui, Z., (2016). Etude de quelques mécanismes impliqués dans le biocontrôle des agents phytopathogènes et l'effet PGPB de certaines actinobactéries endosymbiotiques. Mém. Mas. Dépt. Agron. Faculté des Sciences, Univ. Amar Telidji, Laghouat. 72p.

Toumatia, O., (2015). Etude de quelques souches de *Streptomyces* des sols arides d'Algérie antagonistes de *Fusarium culmorum*: taxonomie, caractérisation des antibiotiques et essais de lutte contre la fusariose du blé. Thèse de doctorat. Université Mentouri-Constantine. 206p.

Toumatia, O., Yekkour, A., Goudjal, Y., Riba, A., Coppel, Y., Mathieu, F., Zitouni, A. (2014). Antifungal properties of an actinomycin D-producing strain, *Streptomyces* sp. IA1, isolated from a Saharan soil. *Journal of Basic Microbiology*, 54, 1–8.

Toussaint, V., (1996). Caractérisation d'un antibiotique produit par la souche d'actinomycète EF-76 antagoniste à *Phytophthora Fragariae* var. *rubi* causant le pourridié des racines du framboisier. Mémoire de Maitrise ès science. Université de Sherbrooke, Québec, Canada.

Trail F., Xu H., Loranger R., Gadoury D., (2002). Physiological and environmental aspects of ascospore discharge in *Gibberella zea* (anamorph *Fusarium graminearum*), *Mycologia*, Volume 94, Issue 2, Pages 181-189.

Valdebenito, M., Crumbliss, A.L., Winkelmann, G. and Hantke, K., (2006). Environmental factors influence the production of enterobactin, salmochelin, aerobactin and yersiniabactin in *Escherichia coli* strain Nissle 1917. *Int. J. Med. Microbiol.* 296(8):513-520.

Verdera. (2009). Mycostop® biofongicide biologique, un moyen de protection fiable sans danger contre les pathogènes de vos cultures. Naturally Profitably.4p.

Whipps, J.M., (2001). Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *Journal of Experimental Botany* 52: 487-511.

Williams, S. T. et E. Wellington., (1982). Actinomycetes. *In* Methodes of soil analysis, Part 2. Chemical and Microbiological Properties. Agronomy monograph N°. 9 (Second Edition).Ed., A. L. Page, pp. 969-987, ASA-SSSA. Madison.

Xu, XM., Nicholson, P., (2009). Community ecology of fungal pathogens causing wheat head blight. *Annual Review of Phytopathology* 47, 83–103. (Developpement epidemique de la fusariose des epis de ble et consequences des interactions entre especes du complexe fusarien).

Yan, X., Huang LL, Tu X., Gao, XN., Kang, ZS., (2012). *Saccharothrix yanglingensis* sp. nov., an antagonistic endophytic actinomycete isolated from cucumber plant. *Antonie van Leeuwenhoek* 101:141–146

Yun, S. H., Arie, T., Kaneko, I., Yoder, O.C., Turgeon, B.G., (2000).Molecular organization of mating type loci in heterothallic, homothallic, and asexual *gibberella/fusarium* species, *Fungal Genetics and Biology*, Volume 31, Issue 1, Pages 7-20.

Zaamoum, M., Goudjal., Y, Sabaou, N., Barakate, M., Mathieu F., Zitouni A. (2016). Biocontrol capacities and plant growth-promoting traits of endophytic actinobacteria isolated from native plants of Algerian Sahara. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 122 (5/6), 215–223, 2015.

Zaamoum M., Goudjal Y, Sabaou N, Barakate M., Mathieu F., Zitouni A.2015. Biocontrol capacities and plant growth-promoting traits of endophytic actinobacteria isolated from native plants of Algerian Sahara. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 122 (5/6), 215–223, 2015.

Zahir, A. Z., M. Archad et A. Hussain. (1996 a). Response of wheat (*Triticum aestivum*) to *Azotobacter* inoculation under fertilized conditions. *Sarhad. J. Agri.* 12: 133-140

Zitouni, A, Lamari, L., Boudjella, H., Badji, B., Sabaou, N., Gaouar, A., Mathieu. F., Lebrihi, A., Labeda, DP., (2004). *Saccharothrix algeriensis* sp. nov., isolated from Saharan soil. *Int Syst Evol Microbiol* 54:1377–1381.

Titre du mémoire : Biocontrôle de *Fusarium graminearum* par des souches d'actinobactéries endophytes

Nom : BEN SAAD

Prénom : Keltoum

Encadreur : Zaamoum Miyada

Résumé : L'objectif de ce travail est d'étudier le potentiel de biocontrôle et l'effet PGPB des isolats d'actinobactéries endophytiques et rhizosphériques. Les souches les plus performantes ont été formulées en poudre de talc et en billes d'alginate de sodium, puis testées, en conditions de culture *in vivo*, pour leur efficacité de biocontrôle contre *Fusarium graminearum* et dans la promotion de la croissance de plantules de blé, en comparaison avec un fongicide chimique systémique (*Dividend®*) et un biofongicide (*Sérénade®*).

Au total, 12 isolats d'actinobactéries endophytes et rhizosphériques du genre *Streptomyces Saccharothrix*, *Streptosporangium* et *Nocardia* sont testés. Les principaux mécanismes de biocontrôle et de l'effet PGPB ont été évalués. La majorité de ces isolats sont capables de produire des enzymes lytiques, des sidérophores, de l'HCN, des phytohormones, et de solubiliser les phosphates inorganiques. Les résultats montrent que les deux isolats SN2 et MB15 présentent un effet PGPB et une activité antagoniste importante.

La formulation de biofongicides a montré que le biofongicide en poudre de talc à base des spores de l'isolat SN2 a présenté le meilleur effet protecteur contre l'agent phytopathogène par la diminution de l'incidence de la pourriture racinaire, et le meilleur effet PGPB par l'amélioration des paramètres de croissance des plantules du blé dur.

Les résultats de ce travail montrent que les isolats SN2 et MB15 ont une efficacité de biocontrôle et de l'effet PGPB ce qui permet de suggérer leur utilisation en lutte biologique.

Mots clé : Actinobactéries, biocontrôle, PGPB, *Fusarium graminearum*, pourriture racinaire, blé dur, bioformulations.

Memory title: Biocontrol of *Fusarium graminearum* by entophytic actinobacterial strains.

Name: Keltoum

First name: BEN SAAD

Directed by: Zaamoum Miyada

Abstract: The aim of this work is to study the biocontrol potential and the PGPB effect of entophytic and rhizospheric actinobacterial isolates. The best performing strains were formulated as talcum powder and sodium alginate beads, and then tested under *in vivo* culture conditions for their biocontrol efficacy against *Fusarium graminearum* and in promoting the growth of wheat seedlings, compared to a systemic chemical fungicide (*Dividend®*) and a biofungicide (*Serenade®*).

A total of 12 entophytic and rhizospheric actinobacterial isolates of the genus *Streptomyces*, *Saccharothrix*, *Streptosporangium* and *Nocardia* were tested. The main biocontrol mechanisms and the effect were evaluated. The majority of these isolates produces lytic enzymes, siderophores, HCN, phytohormones and solubilizes inorganic phosphates. The results show that the tow isolates SN2 and MB15 show a PGPB effect and a significant antagonistic activity.

The biofungicide formulation showed that spore based talcum biofungicide SN2 had the best protective effect against phytopathogenic agent by decreasing the root rot incidence; it had also the best PGPB effect by improving growth parameters of durum wheat seedlings.

The results of this work show that the SN2 and MB15 isolates have a biocontrol efficacy and the PGPB effect which makes it possible to suggest their use in biological control.

Key words: Actinobacteria, biocontrol, PGPB, *Fusarium graminearum*, root rot, durum wheat, bioformulations.

عنوان المذكرة: المكافحة البيولوجية ل *Fusarium graminearum* باستعمال عزلات أكتينوبكتيريا ضمنية.
الإسم: كلتوم **اللقب: بن سعد** **المؤطرة: زعموم ميادة**

ملخص:

الهدف من هذا العمل هو دراسة إمكانيات المكافحة البيولوجية وتأثير PGPB لعزلات الأكتينوبكتيريا الضمنية و rhisosphériques. العزلات الأفضل أداءا استعملت في صياغة مبيد حيوي على شكل مسحوق التلك وحببيبات ألجينات الصوديوم، ثم أختبرت ميدانيا من أجل فعالية الحماية البيولوجية ضد *Fusarium graminearum* و تعزيز نمو شتلات القمح. بالمقارنة مع مبيد فطري كيميائي (*Dividend®*) وآخر بيولوجي (*Sérénade®*).

مجموعة من 12 عزلة أكتينوبكتيريا ضمنية و rhisosphériques من صنف *Saccharothrix*, *Streptomyces*, *Nocardia* و *Streptosporangium*. معظم هذه العزلات كانت قادرة على إنتاج الإنزيمات القادرة على تفكيك المركبات البروتينية والسيليلوزية، مخلبيات الحديد (sidérophores)، حمض سيانيدريك (HCN)، هرمونات النمو النباتية و إذابة الفوسفات غير العضوي. تظهر النتائج أن العزلتين SN2 و MB15 لهما تأثير PGPB و قدرة تنافسية كبيرة.

أظهرت نتائج صياغة العزلتين أن المبيد الحيوي المشكل من أبواغ SN2، في مسحوق التلك، كان له أفضل تأثير حماية ضد العامل الممرض من خلال تقليل معدل تعفن الجذور. وكان له أيضا أفضل تأثير PGPB من خلال تحسين معايير النمو لشتلات القمح الصلب.

تظهر نتائج هذا البحث أن العزلات SN2 و MB15 لها فعالية في الحماية البيولوجية وتأثير PGPB الذي يجعل من الممكن إقترح إستخدامها في المكافحة البيولوجية.

الكلمات المفتاحية: أكتينوبكتيريا، المكافحة البيولوجية، PGPB، *Fusarium graminearum*، تعفن الجذور، القمح الصلب.