



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: Bensalem Amel

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

FILIERE: SCIENCES AGRONOMIQUES

OPTION: PROTECTION DES VEGETAUX

Thème

**Essai de Biocontrôle de la pourriture racinaire du blé dur
(*Triticum durum Desf.*) causée par *Bipolaris sorokiniana* par des
actinobactéries endophytes.**

Soutenu le Juin 2018

Jury de soutenance:

Nom et Prénom	Grade	Qualité
Dr. Zaamoum Miyada	Maître de Conférences "A"	Encadreur
M ^{me} . Allali Khadidja.	Maître Assistant "B"	Co-encadreur
Dr. Kouidri Mohammed	Maître de Conférences "A"	Président
Mr. Kadouri Mohammed A.	Maître Assistant A	Examineur

Promotion: Juin 2018



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي



جامعة عمار ثلجي – الأغواط

كلية العلوم
قسم علوم الفلاحة

مذكرة ماستر

تقديم الطالبة: بن سالم امال

ميدان: علوم الطبيعة والحياة

شعبة: علوم الفلاحة

تخصص: حماية النباتات

موضوع البحث

اختبار المكافحة البيولوجية لتعفن جذور القمح الناتجة عن *Bipolaris sorokiniana*
باستعمال اكتينوبكتيريا ضمنية.

أعضاء لجنة المناقشة:

الاسم واللقب	الدرجة العلمية	الصفة
السيدة: زعموم ميادة	أستاذة محاضرة " أ "	مقررا
السيدة خديجة علالي	استاذة مساعدة "ب"	
قويدري محمد	أستاذ محاضر " أ "	رئيسا
قدوري محمد الأمين	أستاذ مساعد " أ "	ممتحن

الدفعة: جوان 2018

Table des matières

	Page :
Résumé	I
ملخص	II
Abstract	III
Dédicace	IV
Remerciements	V
Liste des tableaux	VI
Liste des figures	VII
Liste des abréviations	IX
Introduction	01
Partie I. Revue bibliographique	03
I.1. Généralités sur le blé	03
I.1.1. Historique et répartition géographique du blé	03
I.1.2. Le cycle biologique du blé	04
I.1.3. Importance de la culture de blé dur	05
I.1.4. Les contraintes de la production de blé dur en Algérie	07
I.1.5. La pourriture racinaire du blé dur causée par <i>Bipolaris sorokiniana</i> ...	09
I.1.5.1. La pourriture racinaire du blé dur	09
I.1.5.2. Symptomatologie	09
I.2. L'agent pathogène: <i>Bipolaris sorokiniana</i>	10
I.2.1. Morphologie	10
I.2.2. Taxonomie	11
I.2.3. Sources d'inoculum	11
I.2.4. Cycle biologique	11
I.2.5. Les méthodes de lutte	12
I.2.5.1. La lutte culturale	12
I.2.5.2. La lutte chimique	13
I.2.5.3. La lutte biologique	13
I.2.5.4. La lutte intégrée	13
I.3. Les Actinobactéries	14
I.3.1. Définition et caractéristiques	14
I.3.2. Taxonomie des actinobactéries	14

I.3.3. Propriétés générales des actinobactéries	15
I.3.4. Morphologie	15
I.3.5. Physiologie et écologie	16
I.3.6. Cycle de vie	17
I.3.7. Interaction Plante – actinobactéries	18
I.3.7.1. Les actinobactéries rhizosphériques	18
I. 3.7.2. Les actinobactéries endophytes	18
I.3.8. Mécanismes impliqués dans la biocontrôle et l'effet PGPB	18
I.3.9. Mécanismes impliqués dans le biocontrôle.....	18
I.3.10. Les microorganismes de lutte biologique les plus utilisés	20
I.3.11. Induction des systèmes de résistance de la plante hôte	21
I.3.12. Mécanismes impliqués dans l'effet <i>PGPB (Plant Growth Promoting Bacteria)</i>	21
I.3.13. Intérêt des actinobactéries	23
Partie II. Matériel et méthodes	27
II.1. Matériel Biologique	27
II.3. Etude des mécanismes impliqués dans le biocontrôle	28
II.3.1. Activité d'antibiose (Méthode des stries croisée)	28
II.3.2. Production des enzymes lytiques.....	29
II.3.2.1. Production des protéases	29
II.3.2.2. Production des cellulases	30
II.3.3. Production des sidérophores	30
II. 3.4. Production de l'acide cyanhydrique (HCN)	31
II.4. Etude de quelques mécanismes impliqués dans l'effet PGPB	31
II.4.1. Solubilisation des phosphates inorganiques	31
II.4.2. Production de phytohormones	32
II.4.2.1. Production de l'acide indole-3-acétique (AIA)	32
II.4.2.2. Production de l'acide gibbérellique (AG3).....	33
II.4.3. Libération de l'ammoniaque	33
II.4. Formulation des biofongicides et efficacité de biocontrôle et l'effet <i>PGPB</i> ...	34
II.4.1. Préparation des suspensions de spore	34
II.4.2. Inclusion des spores dans des billes d'alginate de sodium	35
II.4.3. Formulation des spores en poudre de talc	35

II.4.4. Application in vivo des biofongicides formulés	35
II.5. Analyses statistiques	36
Partie III. Résultats et discussion	38
III.1. Etude de quelques mécanismes impliqués dans le biocontrôle	38
III. 1.1. Activité d'antagonisme	38
III.1.2. Production des enzymes lytiques	40
III.1.3. Production des sidérophores	41
III.1.4. Production de l'acide cyanhydrique (HCN)	42
III.2. Etude de quelques mécanismes impliqués dans l'effet PGPB	44
III.2.1. Solubilisation des phosphates inorganiques	44
III.2.2. Production de phytohormones	45
III.2.2.1. Production de l'acide indole-3-acétique (AIA)	45
III.2.2.2. Production de l'acide gibbérellique (AG3)	47
III.2.3. Libération de l'ammoniaque	48
III.3. Efficacité de biocontrôle	50
III.3.1. Effet PGPB des biofongicides	52
Conclusion	56
Références bibliographiques	59

BENSALEM Amel

Thème : Essai de Biocontrôle de la pourriture racinaire du blé dur (*Triticum durum* Desf.) causée par *Bipolaris sorokiniana* par des actinobactéries endophytes.

Résumé :

Un total de 12 souches d'actinobactéries de différents genres ont fait l'objet d'une évaluation de leurs capacités à produire des enzymes lytiques, à solubiliser des phosphates inorganiques, à libérer l'ammoniaque, et à produire des phytohormones, ainsi que les principaux mécanismes impliqués dans le biocontrôle et l'effet PGPR. Les résultats montrent que la souche ML2 appartienne au genre *Streptomyces* sp. et la souche MB22 (*Nocardioopsis* sp). présentent une activité antagoniste, elles sont avérées les meilleures d'après leurs capacité à produire l'HCN et les enzymes lytiques.

La majorité des actinobactéries endophytes peuvent solubiliser les phosphates inorganiques. Les isolats ML2 et MB22 produisent le taux le plus élevé d'AG3 et AIA. Pour cette raison, ces derniers ont fait l'objet d'un essai d'inclusion des spores dans des billes d'alginate de sodium et en poudre de talc, afin d'évaluer leurs pouvoir de biocontrôle vis-à-vis des dommages occasionnés par *Bipolaris sorokiniana* sur les plantules du blé dur.

Les résultats du biocontrôle de cet agent phytopathogène *in vivo* en sol stérilisé et en sol non stérilisé ont permis de classer les isolats ML2 et MB22 comme les meilleurs agents de biocontrôle contre la pourriture racinaire. Ils ont montrés une action très prononcée sur la réduction des symptômes de cette maladie sur les plants, et ce, comparativement au fongicide chimique (Dividend). Les deux meilleures souches choisies ont prouvé leurs efficacités par la réduction de l'incidence de la maladie sur la culture du blé, ainsi que la capacité d'améliorer la longueur des plantules de blé et la longueur racinaire.

Les biofongicides les plus efficaces sont ceux formulés avec les spores de la souche MB22 sous forme de poudre de talc, et sous forme d'alginates de sodium, et la souche ML2 sous forme de poudre de talc.

Mots clé : Actinobactéries endophytes, *Triticum durum*, Biocontrôle, pourriture racinaire, *Bipolaris sorokiniana*, biofongicide.

عنوان المذكرة: اختبار المكافحة البيولوجية لتعفن جذور القمح الصلب بسبب *Bipolaris sorokiniana* باستعمال أكتينوبكتيريا ضمنية.

ملخص:

مجموع 12 عزلة أكتينوبكتيريا من أنواع مختلفة , بهدف تقييم قدرتها على إنتاج إنزيمات التحلل وإفراز الفوسفات غير العضوي, وتحرير الأمونياك, ولإنتاج الهرمونات النباتية, وكذلك الألبات الرئيسية المطبقة فالمكافحة البيولوجية وتأثير PGPB. أظهرت النتائج أن العزلة ML2 تنتمي إلى الجنس *Streptomyces* والعزلة MB22 (*Nocardiosis*) تقديم نشاط عدائي، هما الأفضل وفقا لدرتهما على إنتاج HCN والإنزيمات .

معظم الأكتينوبكتيريا الضمنية المدروسة يمكن أن تحلل الفوسفات الغير عضوي . العزلات MB22 و ML2 تنتج النسبة الأعلى من AIA و AG3. لهذا السبب ، كان هذا الأخير موضوع إختيار لإدراج الأبواغ في كرات ألجينات الصوديوم ومسحوق التلك من أجل تقييم قدرتها على المكافحة البيولوجية ضد *Bipolaris sorokiniana*.

نتائج المكافحة البيولوجية لهذا العامل الممرض للقمح في التربة المعقمة والغير معقمة تسمح بتصنيف العزلات ML2 MB22 كأفضل عامل معتمد في المكافحة البيولوجية ضد تعفن الجذور أظهرت تحركا ملحوظا جدا على الحد من إنتشار أعراض المرض على النبات بالمقارنة مع مبيد الفطريات الكيميائي Dividend . أثبتت العزلتين فعاليتهما من الحد من إنتشار المرض على زراعة القمح . كذلك أثبتنا القدرة على تحسين طول الجذور وطول شتلة القمح .

المبيدات الفطرية البيولوجية الأكثر فعالية هي تلك التي وضعت مع أبواغ العزلة MB22 بشكل مسحوق التلك وبشكل كرات ألجينات الصوديوم ، والعزلة ML2 بشكل مسحوق التلك.

الكلمات المفتاحية : أكتينوبكتيريا ضمنية ، القمح الصلب ، المكافحة البيولوجية، تعفن الجذور , *Bipolaris sorokiniana* , مبيد الفطريات البيولوجية .

BENSALEM Amel

Memory title: test of Biocontrol of common root rot of durum wheat (*Triticum durum Desf.*) caused by *Bipolaris sorokiniana* by endophytic actinobacteria strains.

Abstract:

A total of twelve isolates of endophytic actinobacterial of various kinds were the object of an evaluation of their capacities to produce lytic enzymes, to solubilize inorganic phosphates, to release ammonia, and to produce phytohormones, as well as the principal mechanisms implied in the biocontrôle and effect PGPR. The results show that isolate ML2 belongs to the kind *Streptomyces* sp. and MB22 (*Nocardiopsis* sp). Present an antagonistic activity, they are proven the best according to their capacity to produce the lytic enzyme, and HCN.

The majority of the actinobacteria endophytes can solubilize inorganic phosphates. Isolates ML2 and MB22 produce the highest rate of AG3 and AIA. For this reason, the latter were the object of a test of inclusion of the spores in sodium alginate balls and talc powder, in order to evaluate their power of biocontrôle with respect to the damage caused by *Bipolaris sorokiniana* on the seedlings of durum wheat.

The results of the biocontrôle of this agent phytopathogene *in vivo* in sterilized ground and ground not sterilized made it possible to classify isolate ML2 and MB22 like the best agents of biocontrôle against the Root rot. They showed an action very marked on the reduction of the symptoms of this disease on the seedlings, and this, compared to chemical fungicide (Dividend). The two best selected isolate proved their effectiveness by the reduction of the incidence of the disease on the culture of wheat, as well as the capacity to improve the length of the wheat seedlings and the length root.

The most effective biofungicides are those formulated with the spores of MB22 in the form of talc powder, and alginates sodium, and ML2 in the form of talc powder.

Keywords: Endophytic Actinobacteria , durum wheat , Biocontrol, root rot, *Bipolaris sorokiniana*, biofungicide.

Dédicace

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

Je Dédie ce modeste travail

A Ma chère Maman ..

Ma source de tendresse, Ma Lumière, un gros merci pour toi, pour tout ce que tu as fait pour moi, tu n'as pas cessé de me soutenir et de m'encourager. Puisse dieu plus puissant te protéger du mal,

A Mon Père.....

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Qu'Allah te protège et te de tout malheur.

A tous mes chères sœurs , que dieu vous protège.

A chères mes cousine.

A mes très chères amies.

Mes remerciements vont aussi à tous mes amis et mes collègues qui m'ont soutenu durant mon travail. A tous ceux qui ont participé à la réalisation de loin ou de près a ce travail.

B. Amel

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui m'a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Je remercie très chaleureusement Mme **GOUDJAL ZAMOUM M.** Maître de conférences "A" qu'elle trouve ici toute ma gratitude, pour avoir bien voulu m'encadrer, pour ces orientations avec plein d'humilité et transparence. Merci de votre confiance et reconnaissance, patience, gentillesse, et pour votre encouragement, ainsi que votre soutien moral, qui a constitué un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être menée au bon port. C'était un très grand honneur d'être une de vous étudiantes. Merci infiniment.

Mes sincères remerciements à Madame **Allali Khadidja** (co-encadreur), pour son aide inestimables et ses précieux conseils. Je tiens à exprimer ma très grande considération à Mlle **BOUKAYA Nassira** pour son aide et sa patience. Merci.

Mes remerciements s'étendent également à Monsieur **GOUDJAL YACINE**, Maître de conférences "A " à l'université Amar Telidji (Laghouat), pour leurs orientations pertinentes, ces conseils, et ces remarques pertinentes.

Pour la réalisation de ce travail, je voudrais remercier **M. Touati** responsable du Laboratoire de chimie des procédés.

Mes vifs remerciements vont également aux membres du jury d'avoir accepter d'examiner mon travail.

Je tiens également à remercier mes enseignants au département d'Agronomie.

Aux ingénieurs de laboratoires de département d'agronomie pour leur aide et soutien.

Enfin, je tiens également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Merci à tous ...

Liste des tableaux

N°	Titre	Page
01.	Les principales maladies de blé.	08
02.	Agents de la lutte biologique utilisés pour la lutte contre des agents phytopathogènes.	21
03.	Origine d'isolement des souches d'actinobactéries.	28
04.	Activité d'antagonisme des souches d'actinobactéries testées.	39
05.	Production des enzymes lytiques par les souches d'actinobactéries étudiées.	40
06.	Production des sidérophores par les souches d'actinobactéries étudiées.	51
07.	Production de l'acide cyanhydrique (HCN) par les souches d'actinobactéries étudiées.	43
08.	Résultats de la solubilisation des différentes sources de phosphates inorganiques par les isolats d'actinobactéries.	44
09.	Résultats de la production de l'acide indole-3-acétique par les isolats d'actinobactéries.	46
10.	Résultats de la production de l'acide gibbérellique (AG3) par les isolats d'actinobactéries.	48
11.	Résultats de la libération de l'ammoniaque par les isolats d'actinobactéries.	49

Liste des figures

N°	Figure	Page
01	Le cycle de développement du blé.	05
02	Production mondiale du blé dur 2017-2018.	06
03	Principaux symptômes de la pourriture racinaire. Lésions foliaires chez l'orge (A), blé (B), feuille étendard de blé (C), pourriture racinaire (D), pourriture des collets (E), points noirs chez les graines (F), graines saines (G).	10
04	Cycle de vie de <i>Bipolaris sorokiniana</i> .	12
05	Morphologie des hyphes en croissance dans le milieu liquide (A) et solide (B).	16
06	Cycle de développement des actinobactéries sur milieu solide.	17
07	Rôles de l'AIA dans l'amélioration de la croissance des plantes.	23
08	Aspect cultural d'une colonie de <i>Bipolaris sorokiniana</i> sur milieu PDA, B. spore de <i>B. sorokiniana</i> en germination bipolaire.	27
09	La méthode de stries croisées pour le test d'antibiose.	29
10	Photographie montrant le test de sidérophores chez les isolats MB22, ML2, PT2 et SG20.	30
11	Protocole expérimental de la production de l'HCN.	31
12	Photographies montrant les étapes expérimentales du test de production de l'acide indole-3-acétique (AIA) A : Ensemencement des actinobactéries. B : Incubation en shaker. C : Centrifugation (400 rpm) D: Addition du réactif de Salkowski ; E : Conservation à l'obscurité.	32
13	Protocol expérimental de la préparation de suspension des spores. A. Tapis de spore d'actinobactéries ; B. L'ajout de Tween 80 ; D. Raclage de la surface de culture ;E. Suspension des spores.	34
14	Photographie montrent les souches présentant un effet d'antibiose sur <i>Bipolaris sorokiniana</i> (A : MB22 et B : ML2), C : la mesure de la zone d'inhibition de la souche MB22 par ce pied à coulisse.	38
15	Photographie montrant la présence d'halo claire indiquant la production des sidérophores par les souches d'actinobactéries ML2 et MB22.	41
16	Production de HCN par les isolats d'actinobactéries, apparition d'une couleur rouge orange sur les extrémités de la bande indique une production de l'HCN.	42
17	Révélation de l'acide indole 3-acétique.	45

18	Résultat obtenu du test de la chromatographie sur couche mince de L'AIA produit par les deux souches ML2 et MB22.	47
19	Libération de l'ammoniaque indiquée par l'apparition de la couleur jaune brunâtre pour les souches d'actinobactéries testées.	49
20	Symptôme de la pourriture racinaire observé sur les plantules du blé après 6 semaines de culture causée par <i>Bipolaris sorokiniana</i> .	50
21	Incidence de la pourriture racinaire du blé dur causée par <i>B. sorokiniana</i> .	51
22	Effet des biofongicides formulés à base de spores de <i>Nocardiopsis sp.</i> MB22 et <i>Streptomyces sp.</i> ML2 sur la promotion de la longueur du plant (A), la longueur racinaire (B) et le poids sec (C) des plantules de blé dur cv. <i>Vitron</i> cultivées en sol stérilisé ou en sol non stérilisé.	53
23	Promotion de la croissance des plantules de blé par le biofongicide en poudre de talc et en billes d'alginate de sodium à base des spores de la souche MB22 (A,B) en comparaison avec le témoin négatif (-) (C).	54

LISTE DES ABREVIATION

%	Pourcent
AG3	Acide gibbérellique 3
AIA	Acide indole-3-acétique
AIM	Medal Iron Poor (Milieu pauvre en fer).
Al (Po4)2	Phosphates d'aluminium
ANOVA	Analyse de variance
°C	Degrés Celsius
Ca3(Po4)2	Phosphates tricalciques
CaCl2	Chlorure de calcium
CCM	Chromatographie sur couche mince
DO	densité optique
EP	Eau peptonée
Fe(PO4)	Phosphates ferriques
Fe3+	Chlorure de fer
HCN	Acide cyanhydrique
ISP2	International Streptomyces Project 2
ISP9	International Streptomyces Project 9
ISR	résistance systémique induite
Kg	Kilogramme
MA	Mycélium aérien
MT	Million de tonnes
mm	Millimètre
ml	Millilitre
MS	Mycélium du substrat
nm	Nanomètre
PDA	Potato dextrose agar
PGPB	Plant growth-promoting bacteria
PVK	Pykoveskaya agar
SMA	Skim Milk Agar
UFC g	Unité formant colonie par gramme
YT	Yeast extract-Tryptone

Introduction

Introduction

Les céréales constituent l'alimentation de base de la majorité des populations, elles occupent à l'échelle mondiale une place primordiale dans le système agricole (Slama *et al.*, 2005). Au cours des dernières années, la production mondiale du blé est estimée en 2017/2018 à 2 050 Mt. Dans ce contexte, le stock mondial est estimé en baisse de 2,4 %. (Olivia le Lamer *et al.*, 2017).

Au cours de sa croissance, le blé peut-être soumis à un certain nombre d'agressions de natures diverses, du semis jusqu'à la récolte. De nombreuses attaques parasitaires par une gamme assez large de ravageurs, de maladies fongiques, en affectant des pertes remarquables en rendement. Parmi les agents phytopathogènes qui causent beaucoup de dégâts aux cultures, les champignons responsables de la pourriture racinaire telles que *Bipolaris sorokiniana* sp (Singh *et al.*, 1994).

Face à cette situation, les producteurs de blé font recours à une panoplie de méthodes de lutte. Telles que les méthodes culturales, biologiques, et la lutte intégrée. La méthode la plus utilisée pour contrôler ces maladies est la lutte chimique qui s'avère très efficace. Cependant, ces produits chimiques, qui sont utilisés à l'heure actuelle présentent des inconvénients (Tunçw, et Sahinkaya, 1998). Cela justifie les recherches actuellement menées dans ce domaine, qui tendent à mettre au point de nouvelles méthodes de lutte biologique (Rahman *et al.*, 2007), impliquant des microorganismes vivants. Une alternative de lutte très efficace utilise des propriétés antimicrobiennes des actinobactéries (Tanaka et Omura, 1993).

A cet égard, l'objectif de ce travail est d'étudier les mécanismes impliqués dans le biocontrôle et dans l'effet PGPB (production des enzymes lytiques, des sidérophores, l'HCN, solubilisation des phosphates inorganiques, de l'AIA et l'AG3, et à libérer l'ammoniaque) des douzes souches d'actinobactéries. En outre, nous nous sommes intéressés à évaluer leur potentiel dans des essais de biocontrôle contre *Bipolaris sorokiniana*, l'agent causal de la pourriture racinaire, en testant quelques formulations de biofongicides à base des spores d'actinobactéries, sous forme des billes d'alginate et en poudre de talc.

Partie I.
Revue bibliographique

Partie I. Revue bibliographique

I.1. Généralités sur le blé

I.1.1. Historique et répartition géographique du blé

Depuis la naissance de l'agriculture, le blé est la base de la nourriture de l'homme (Ruel, 2006). La découverte du blé remonte à 15000 ans avant Jésus-Christ dans la région du croissant fertile, vaste territoire comprenant, la vallée du Jourdain et des zones adjacentes de Palestine, de la Jordanie, de l'Iraq, et la bordure Ouest de l'Iran (Feldman et Sears, 1981). Ceci correspond au début de la période du Dryas qui fut localement un épisode climatique de sécheresse et de refroidissement, qui a pu aboutir à l'arrêt progressif du mode de vie

« chasseur-cueilleur » et entraîner la domestication de certaines plantes dont les blés et, via le stockage alimentaire et la création de premières communautés villageoises (Wadley et Martin, 1993). En effet, l'histoire de l'homme est intimement liée à celle des céréales qu'il a très tôt appris à domestiquer, cultiver et sélectionner (Bonjean et Picard, 1991). La culture de blé dur a commencé à s'étendre au-delà du croissant fertile au cours du Néolithique, 5000 ans avant J. C, le blé avait atteint l'Ethiopie, l'Inde, la Grande-Bretagne, l'Irlande et l'Espagne, un millénaire plus tard, atteignit la chine (Feldman, 2001).

I.1.2. Le cycle biologique du blé

Le blé dur (*Triticum durum* Desf.) est une graminée annuelle de hauteur moyenne (Bozzini, 1988). Le cycle biologique de développement de blé dur s'élabore en trois périodes successives: végétative, reproductive et maturation.

➤ Période végétative

La période végétative comprend trois phases :

➤ Phase germination-levée

La germination de blé dur commence lorsque le grain a absorbé le quart de son poids en eau (Soltner, 1990). Le coléoptile qui est un étui protecteur de la première feuille apparaît 4-6 jours après la germination (Brink et Belay, 2006). La levée est notée lorsque 50 % des plantes émergent de terre (Henry *et al.*, 2000).

➤ Phase tallage

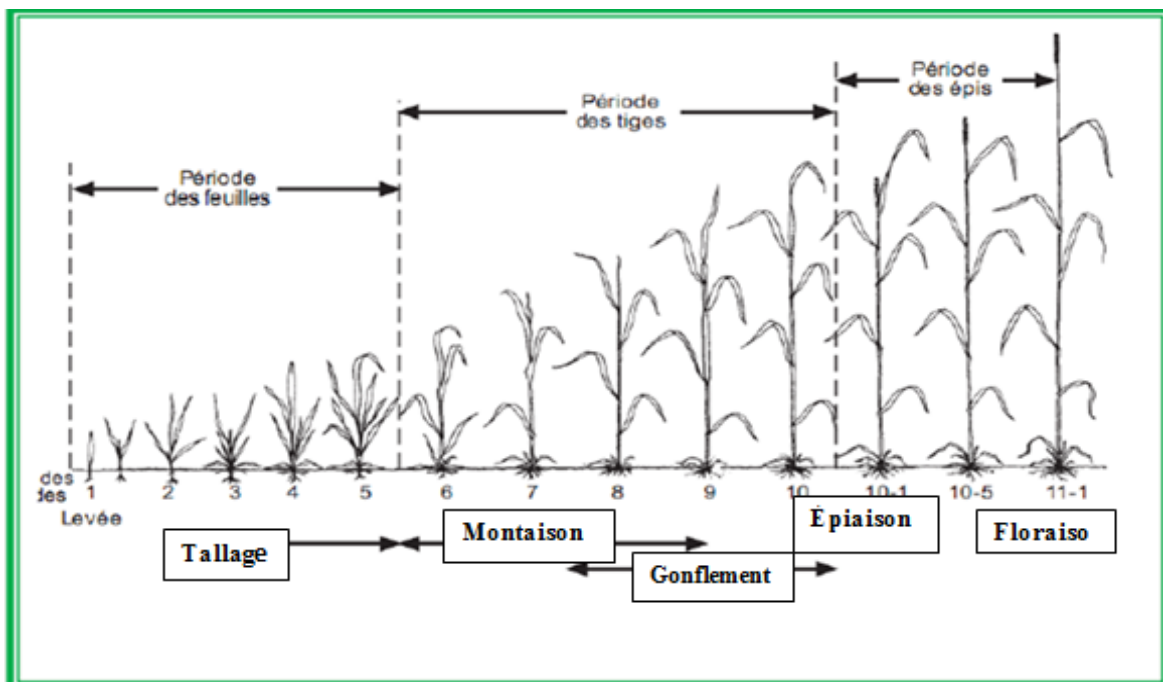
Le tallage commence après l'apparition de la troisième feuille (Figure1) (Kirby *et al.*, 1985). L'axe principal a émis de nouvelles feuilles et de nouvelles talles, et les premières talles filles se sont à leur tour ramifiées, l'empilement de nœuds rapprochés porteurs de talles successives est appelé «plateau de tallage » (Lafarge et Durand, 2011). Le nombre de talles productives dépend du génotype (Acevedo *et al.*, 2002).

➤ Montaison-gonflement-épiaison

Ce stade est repérable une fois l'ébauche de l'épi du brin-maître atteint 1 cm de hauteur à partir de la couronne ou plateau de tallage (Gate, 1995). Selon Baldy, (1984), la montaison constitue la phase la plus critique du développement du blé (Figure 01).

➤ Période formation de la graine et maturation

Pendant cette période, est élaborée la composante poids d'un grain (p), appréciée le plus souvent sous la forme du poids de 1 000 grains (Triboi, 1990). Ainsi que, les hydrates de carbone et de l'azote des feuilles sénescences sont accumulées dans le grain (Barbottin *et al.*, 2005).



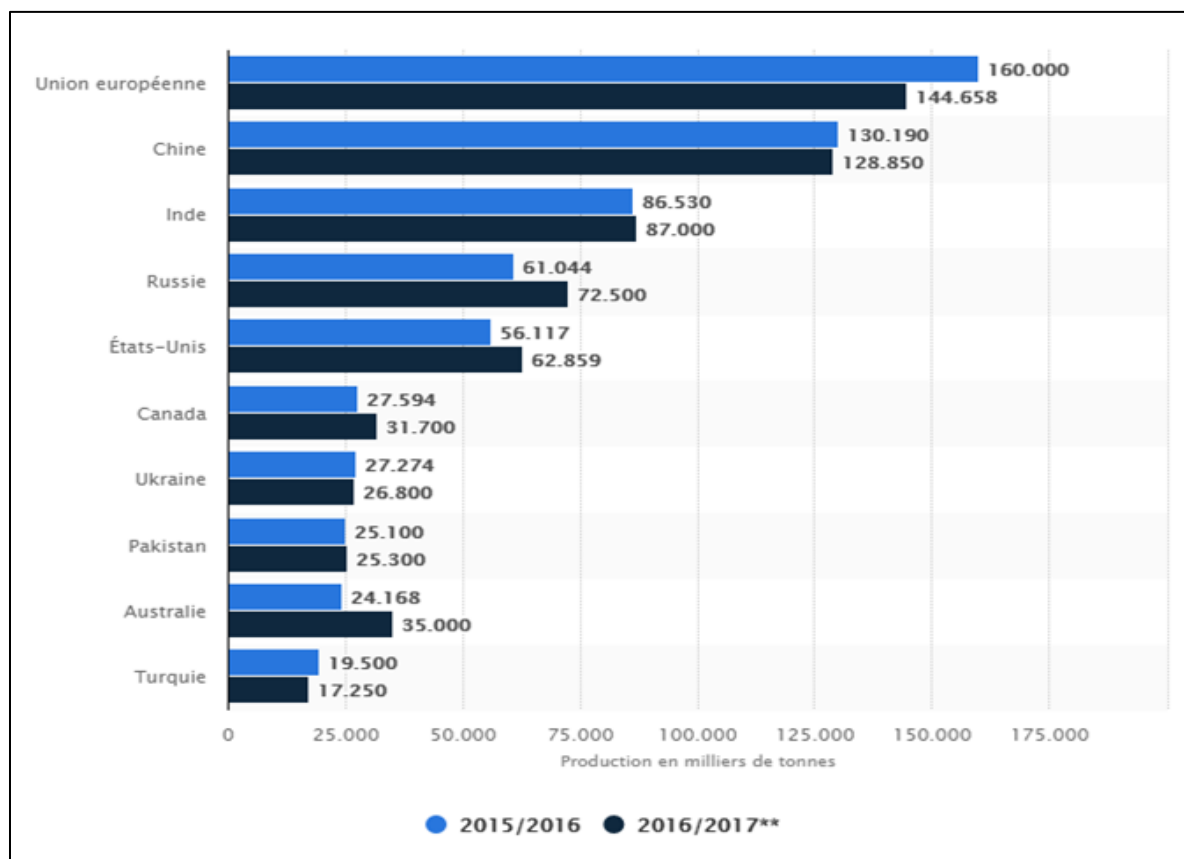
(Source Zadoks *et al.* (1974))

Figure 01. Le cycle de développement du blé.

I.1.3. Importance de la culture de blé dur

➤ Dans le monde

Le blé est la variété de céréale la plus cultivée dans le monde. Tout au long de l'année, occupent une place primordiale à l'échelle mondiale, ce dernier en particulier occupe une place importante dans la production agricole et constitue la nourriture de base pour 35% de la production mondiale (Kantety *et al.*, (2005). La production mondiale du blé a connu une augmentation pour la campagne 2015 à 2016 (figure 02), où elle atteint une valeur de 86.530 MT en l'Inde et 87.000 MT pour la campagne 2016-2017. Au Union européenne la production du blé dur a connaît un rendement très élevé avec 144.658 MT durant la campagne 2016-2017. La Russie représente une valeur très importante de 72.500 MT pour la campagne 2016-2017. Par contre certain pays tels que Turquie ont subi une chute de rendement, ceci en raison du fait que cette céréale est produite dans des zones et climats très variables, comme le bassin méditerranéen (Royo *et al.*, 2000).



(Source Statista, 2018).

Figure 02 : Production mondiale du blé dur 2017-2018.

➤ **En Algérie**

En Algérie, les produits céréaliers occupent une place stratégique dans le système alimentaire et dans l'économie nationale (Djermoun, 2009). La denrée alimentaire à base de blé dur fournit 60 % des calories dans la ration alimentaire journalière (Per Pinstrup, 1996). Ces raisons confèrent aux céréales le statut de cultures stratégiques. En Algérie, la production de blé dur depuis 2012 jusqu'à 2015 a été évaluée de 15606925.8 Quintaux.

La production céréalière en Algérie est extrêmement fluctuante et elle est caractérisée par l'extrême variabilité du volume des récoltes, car elle reste sous l'étroite dépendance des conditions climatiques mais cela démontre aussi l'insuffisante maîtrise de cette culture (Djaouti, 2010).

I.1.4. Les contraintes de la production de blé dur en Algérie

Quelle soit irriguée ou pluviale, la céréaliculture algérienne connaît de faibles rendements attribués entre autre à des facteurs de stress abiotiques et biotiques. Le déficit hydrique, l'irrégularité des précipitations et la salinité du sol représentent également des limites importantes pour la croissance des plantes en Algérie (Riah *et al.*, 2014). Il existe d'autres facteurs limitant liés à des mauvaises propriétés physiques du sol et à une faible fertilité des sols qui pourrait être dérivé à des pratiques culturelles inappropriées appliquées depuis plusieurs années (Habtegebrial *et al.*, 2007). De plus, il existe aussi les stress biotiques qui sont ceux causés par les organismes phytopathogènes. Les principales maladies fongiques de blé dur répandues en Algérie sont regroupées dans le tableau ci-dessous (Sayoud *et al.*, 1999).

Tableau 01 : Les principales maladies de blé

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

I.1.5. La pourriture racinaire du blé dur causée par *Bipolaris sorokiniana*

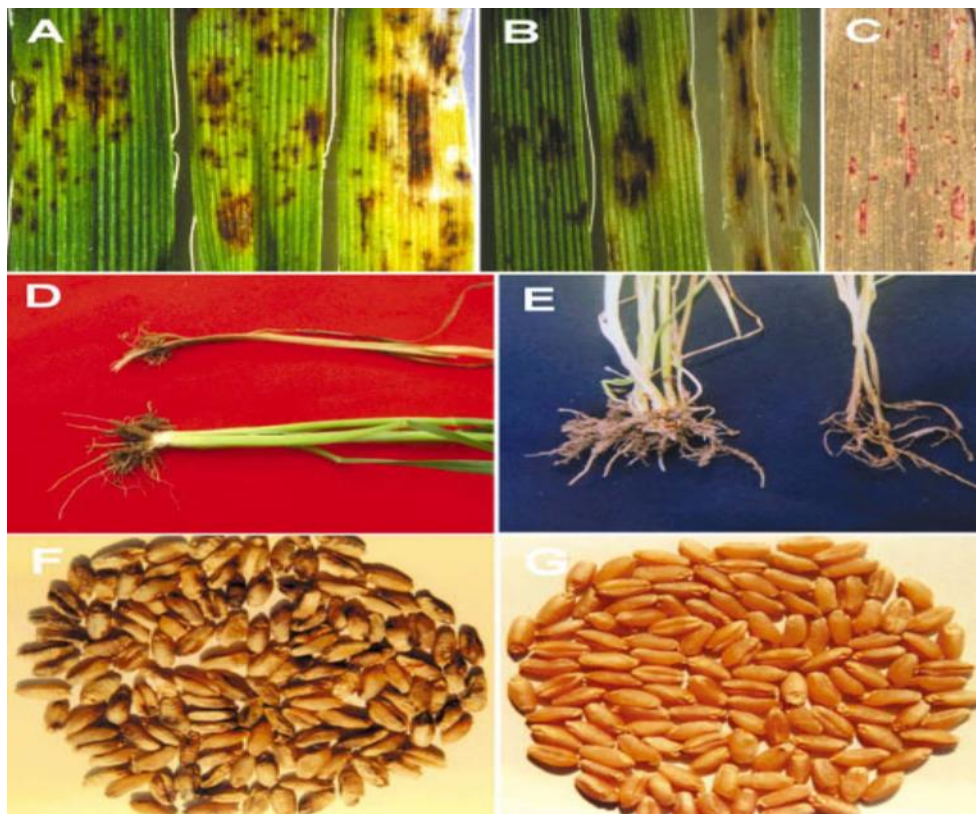
I.1.5.1. La pourriture racinaire du blé dur

Les pourritures racinaires constituent une contrainte sérieuse sur le rendement du blé. Cette maladie cause des milliards de dollars de pertes de récoltes dans le monde et ceci chaque année et conduise à des pénuries alimentaires dévastatrices. Elles sont à la fois causées par des champignons qui vivent dans le sol naturellement, et qui peuvent attaquer le blé depuis la mise en terre de la semence. Ces derniers s'associent pour attaquer le blé chaque fois que cette culture se trouve soumise à un stress hydrique. Parmi ces agents phytopathogènes, le complexe fongique du genre *Fusarium* (*Fusarium culmorum* ; *Fusarium graminearum*, *Fusarium avenaceum*) et *cochliobolus* (*Cochliobolus sativus*).

I.1.5.2. Symptomatologie

L'agent causal de la pourriture racinaire du blé dur peut entraîner de nombreux symptômes (Figure 3) selon l'organe attaqué. Il provoque des taches elliptiques, uniformément brun foncé, 2 à 10 mm de longueur et pouvant être bordées d'un halo jaune. Les lésions foliaires avaient une longueur de 1-2 mm ; plus tard ces lésions s'étendent rapidement et peuvent atteindre quelques centimètres (Acharya *et al.*, 2011). Si les conditions climatiques sont favorables, les lésions s'unissent en formant de large nécroses et induisent un dessèchement prématuré de la plante hôte et le rendement grain est alors réduit considérablement (Mathre, 1987).

Les infections des racines et du collet peuvent être très sévères lorsque les plantes infectées se dessèchent sans produire de graines. La pourriture des racines et des collets et l'infection des grains au niveau du germe qui est connue de « Black points » ou points noirs sont également les principaux symptômes de la maladie (Kumar *et al.*, 2002).



(Source : Kumar et al., 2002).

Figure 03. Principaux symptômes de la pourriture racinaire. Lésions foliaires chez l'orge (A), blé (B), feuille étendard de blé (C), pourriture racinaire (D), pourriture des collets (E), points noirs chez les grains (F), grains saines (G).

I.2. L'agent pathogène: *Bipolaris sorokiniana*

I.2.1. Morphologie

Dans la littérature plus ancienne, *B. sorokiniana* a été connu sous le nom de *Helminthosporium sorokiniana* (Sivanesan, 1990). Ce dernier a été divisé en trois genres anamorphes : *Bipolaris*, *Drechslera* et *Exherohilum* avec le stade téléomorphe (stade sexué), *Cochliobolus*, *Pyrenophora* et *Setosphaeria* respectivement (Krishnendu et al., 2011). Plusieurs synonymes de l'anamorphe ont été utilisé: *Helminthosporium sorokinianum*, *Drechslera sorokiniana* et *Helminthosporium sativum* (Maraite et al., 1998). Leur mycélium est composé des hyphes cotonneux de couleur blanche à noire grisâtre selon la souche (Kumar et al., 2002). Shoemaker (1959) a proposé le nom générique *Bipolaris* pour les espèces de *Helminthosporium* avec des conidies fusibles, droites, ou courbées germant par un tube de

germination dans chaque extrémité (germination bipolaire). Subramanian (1971) a proposé une clé d'identification des espèces de *Bipolaris*, dont la forme des conidiophore et des conidiospores représente le principal critère de d'identification de *B. sorokiniana*. *B. sorokiniana* est caractérisé par des colonies noires foncées dues à la présence de mélanine à paroi épaisse. La forme des conidies est ovale (60-120 µm × 12-20 µm) avec cinq à neuf cellules (Bashyal *et al.*, 2010).

I.2.2. Taxonomie

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

Règne: *Fungi*

Division: Ascomycotina,

Classe: Loculoascomycetes

Sous-classe: *Agaricomycetidae*

Ordre: Pleosporales

Famille: Pleosporaceae

Genre: *Bipolaris*

Espèce: *Bipolaris sorokiniana*.

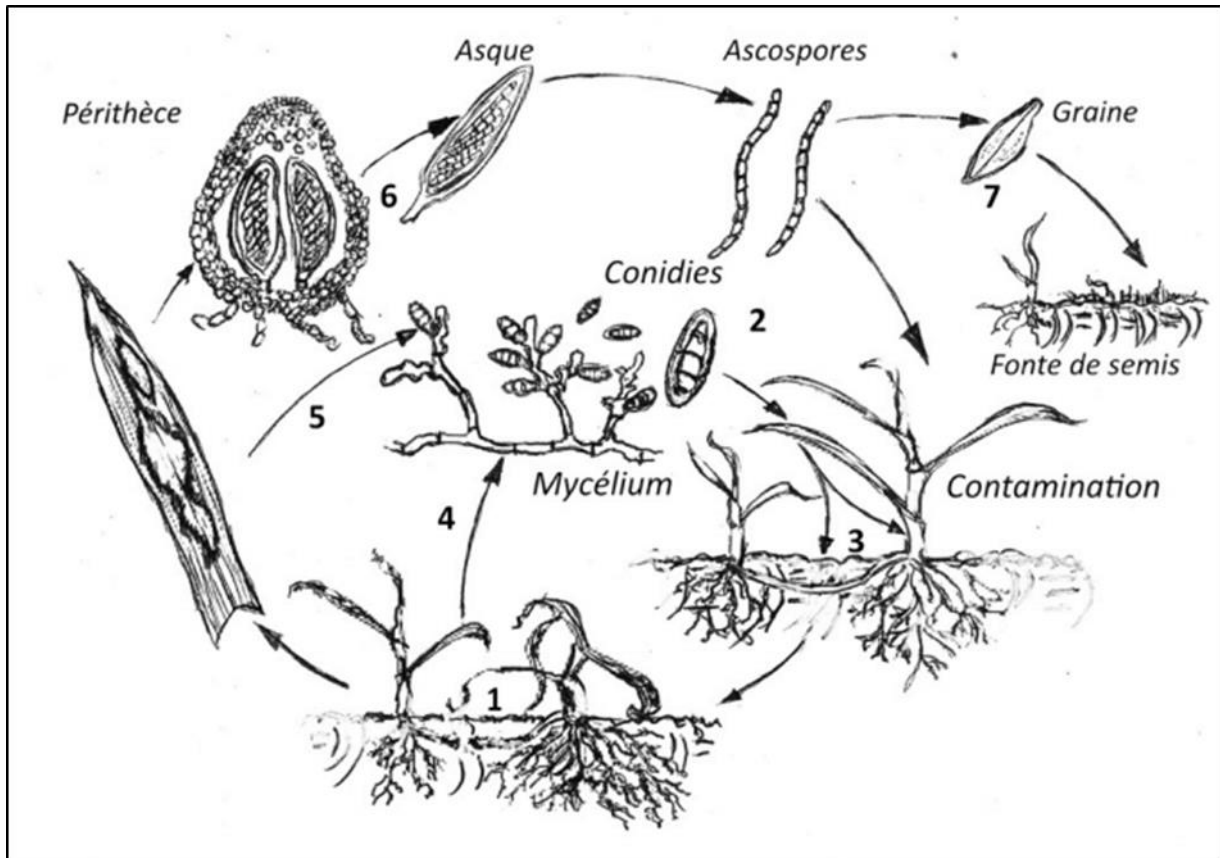
I.2.3. Sources d'inoculum

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

I.2.4. Cycle biologique

B. sorokiniana peut survivre primitivement sous forme des conidies bruns-noires (Acharay *et al.*, 2011). La phase sexuée n'est pas importante dans le cycle de la maladie. Le phytopathogène héberge à la fois sous forme de conidies à l'extérieur et sous forme de mycélium à l'intérieur des semences, des résidus de culture et sous formes des conidies dormantes libres dans le sol (Reis, 1991). Selon Shaner (1981), lors de la germination des semences infectées, l'agent causal devient actif, c'est le point de départ de la maladie. Il germe complètement en quatre heures, puis les hyphes à l'intérieure de cellules infectées passent immédiatement et se répartissent vers toutes les cellules adjacentes pendant 24 heures ce qui provoque la granularisation du cytoplasme de la cellule hôte (Bisen et Channy, 1983). Le

champignon se transmet plus tard vers le coléoptile avec une efficacité atteignant jusqu'à 87% (Reis et Forcelini, 1993). Le développement maximal des symptômes apparaît quand les feuilles restent humide plus que 18 heures avec une température dépassant 18°C (Couture et Sutton, 1978).



(Source : Dours, 2017).

Figure 04. Cycle de vie de *Bipolaris sorokiniana*.

I.2.5. Les méthodes de lutte

I.2.5.1. La lutte culturale

Cette lutte vise à limiter l'accroissement du taux de l'inoculum dans le sol, et protège les stades précoces du blé.

Selon Lacroix (2002), la rotation des cultures vise à diminuer l'inoculum primaire dans le sol. Elle est le moyen de lutte le plus utilisé contre les pourritures des racines et des collets du blé. Une rotation culturale où le blé alterne avec d'autres cultures non sensibles, aura un effet positif sur la diminution du risque d'une infection hâtive. L'utilisation des semences saines

(Caron, 2013) et L'élimination des résidus de culture par incinération ou enfouissement profond (Dill Macky *et al.*, 2000).

I.2.5.2. La lutte chimique

Le traitement des semences avec des fongicides reste l'une des méthodes les plus utilisées en agriculture pour traiter les semences. Ces derniers devraient être utilisés pour contrôler certaines maladies.

Parmi les fongicides chimiques utilisés en Algérie pour lutter contre le *Bipolaris sorokiniana*, le Dividend 030FS (Difénoconazole) qui est le plus répondu comme traitement de semence, Vitaflo 280 (Carbathiine, Thirame) et Raxil PRO MD (Tébuconazole, métalaxyl prothioconazole) (Index phytosanitaires, 2015).

I.2.5.3. La lutte biologique

La lutte biologique par l'utilisation de microorganismes antagonistes ou des substances naturelles connaît un intérêt important (Rahman *et al.*, 2007). Ces microorganismes utilisent différents mécanismes pour lutter contre les agents phytopathogènes du sol. Les bactéries, influencent de manières bénéfiques sur la plante en la protégeant contre des infections causée par les agents phytopathogènes appartiennent aux genres *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Streptomyces* et *Agrobacterium* (Haas et Defago, 2005). Salehpour (2005), a également travaillé sur la lutte biologique contre *B. sorokiniana* et les résultats obtenus étaient très intéressants. Des résultats prometteurs obtenus par Neched (2015) et Ouyed (2015) avec des traitements d'éthanol combinés aux ultrasons, mène à la réduction de la contamination par *B. sorokiniana* tout en maintenant la germination des grains. Des traitements en utilisant des substances naturelles ou composés commerciaux comme la chaux et l'extrait de graines de pamplemousse.

I.2.5.4. La lutte intégrée

D'après Bruno (1997), une lutte efficace contre la pourriture racinaire du blé doit combiner différentes méthodes culturales d'une façon raisonnée, l'utilisation des variétés résistantes, les traitements chimiques et l'utilisation d'éventuels agents de la lutte biologique. Ce type de lutte ne permet pas une éradication complète d'une maladie mais permet de maintenir celle-ci en dessous du seuil de nuisibilité.

I.3. Les Actinobactéries

I. 3.1. Définition et caractéristiques

Les actinobactéries sont des bactéries filamenteuses, à coloration de Gram positive (Nanjwad *et al.*, 2010). Ils ont longtemps été considérés comme des champignons primitifs, du fait de leur mycélium, souvent à la fois aérien et pénétrant dans le substrat nutritif, du fait également de la fructification par sporanges libérant des spores chez un grand nombre d'entre eux (Hasley et Leclerc, 1993 ; Horinouchi, 2002). La morphologie des différents groupes d'actinobactéries est très variable. Elle va de formes peu évoluées comme *Mycobacterium*, à des formes très évoluées comme celles du genre *Streptomyces* qui forme un véritable mycélium non fragmenté et sporulant (Smaoui, 2010). Ces microorganismes sont capables de coloniser la rhizosphère grâce à leurs caractères antagonistes et compétitifs vis-à-vis des autres microorganismes du sol. Certains sont connus pour leur production de sidérophores qui permettent de chélater le fer et l'individualiser des autres microorganismes (Coa *et al.*, 2005 ; Getha *et al.*, 2005).

De plus les actinobactéries sont connus par leur capacité de produire des antibiotiques qui leur permettent d'inhiber la croissance des agents phytopathogènes (El-Tarabily et Sivasithampar, 2006). Certains d'autres sont parasites de champignons en produisant des enzymes qui leur permettent de dégrader la paroi des cellules fongiques ; le parasitisme des mycélia de champignons par les actinobactéries a été décrit dans plusieurs travaux (El-Tarabily et Sivasithampar, 2006). Tréjo-Estrada *et al.* (1998) ont montré une corrélation entre la production d'antibiotiques dans le sol et l'efficacité des actinobactéries dans la lutte contre les agents phytopathogènes.

I.3.2. Taxonomie des actinobactéries

La classe des Actinobacteria est divisée en 5 sous-classes Chacune de ces sous classes est constituée d'un ou de plusieurs ordres eux-mêmes constitués d'une ou de plusieurs familles. Dans la sous-classe des Actinobacteridae, l'ordre des Actinomycetales est subdivisé en 10 sous-ordre (Stackebrandt *et al.*, 1997 ; Labeda et Kroppenstedt, 2000 ; Stackebrandt et Schumann, 2000), 193 genres et plus de 1 711 espèces. D'après Lechevalier et Lechevalier (1965), la classification du genre *Streptomyces* s'est établi comme suit :

Ordre	:	Actinomycetales.
Classe	:	Actinobacteria.
Sous- Ordre	:	Streptomycineae.
Famille	:	Streptomycetaceae.
Genre	:	Streptomyces.

I.3.3. Propriétés générales des actinobactéries

I.3.4. Morphologie

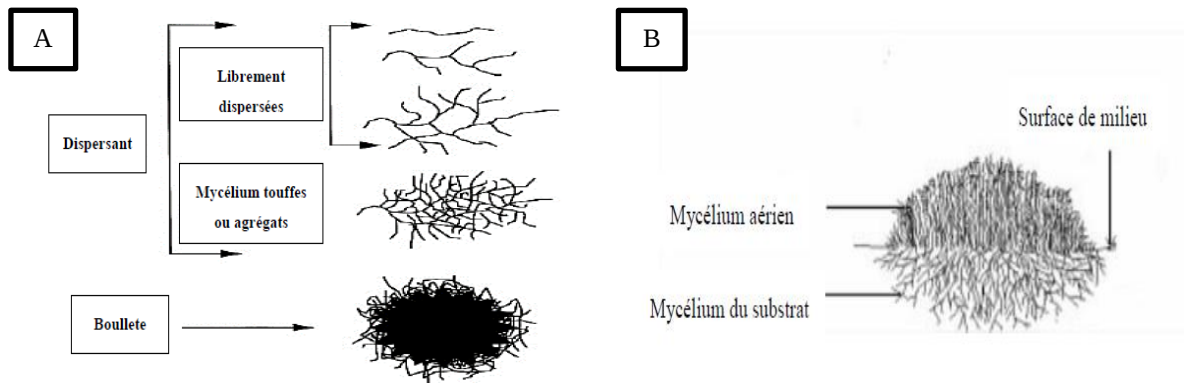
Les filaments mycéliens qui peuvent produire des spores, soit uniques (Micromonospora), soit en chaînes (*Streptomyces*), soit groupées dans des sporanges (Actinoplan). D'autres structures morphologiques sont observées chez certaines espèces d'actinobactéries à savoir: des sclérotés pour le genre *Chainia*, des synnemas (ou corémies) pour les *Actinosynnema* et des vésicules, différentes des sporanges, chez les *Frankia* et les *Dactylosporangium* (Neyra, 1992). L'analyse des hyphes des actinobactéries par imagerie révèle la présence de deux catégories de filaments, boulette et les hyphes dispersés. Les hyphes dispersées sont divisées en deux formes « Librement dispersées » et « Mycélium touffes ou agrégats » (Cox *et al.*, 1998). La première forme (pellet), est un agrégat de plusieurs hyphes enchevêtrés, leurs diamètres peuvent varier de plusieurs micromètres à plusieurs millimètres. La seconde forme des hyphes indépendants dispersés (Cox *et al.*, 1998).

➤ Mycélium aérien (MA)

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

➤ Mycélium du substrat (MS)

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



I.3.5. Physiologie et écologie

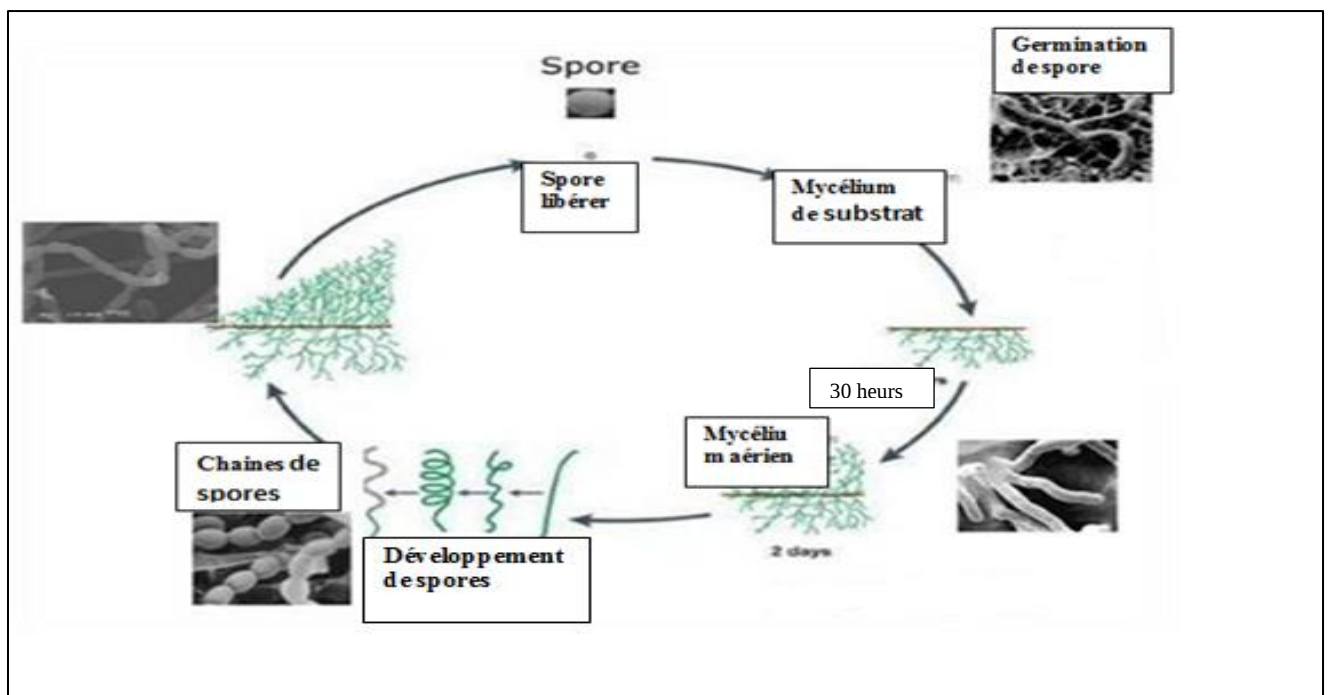
Physiologiquement et écologiquement, il existe deux groupes d'actinobactéries. En premier lieu, les formes fermentatives, anaérobies strictes ou facultatives, illustrées par le genre *Actinomyces*. Ces organismes sont des saprophytes obligés des cavités naturelles de l'homme et des animaux supérieurs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

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

I.3.6. Cycle de vie

Le cycle de vie de nombreuses actinobactéries commence par la germination des spores, processus qui nécessite la présence des ions de calcium. Cette germination donne naissance à un mycélium primaire ramifié (O'Gara *et al.*, 2008). Un mycélium aérien vient de se dresser au-dessus du mycélium de substrat. En effet ce dernier 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).

A l'extrémité du mycélium aérien se forme des spores asexuées à paroi fine appelées conidies ou conidiospores, ces spores naissent par séparation du mycélium primaire habituellement en réponse à un stress de l'environnement (manque de nutriment). 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).



(Source : Breton *et al.*, 1989).

Figure 6 : Cycle de développement des actinobactéries sur milieu solide.

I.3.7. Interaction Plante – actinobactéries

I.3.7.1. Les actinobactéries rhizosphériques

Dans le sol relativement sec, humique et calcaireux les actinobactéries représentent la fraction dominante de la microflore avec des cellules viables de l'ordre de 106/g sol (Goodfellow et Williams, 1983). Cependant dans les sols submergés, anaérobiques ou acides le nombre est relativement faible 102/g sol sec. 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%. Souvent, 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). 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). Le R: S des plantes sahariennes varie de 16 à 50 (Watson et Williams, 1974). Le pourcentage des actinobactéries producteurs d'antibiotiques est significativement plus élevé chez les isolats rhizosphériques, par comparaison avec ceux du sol avoisinant (Basil *et al.*, 2004).

I.3.7.2. Les 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. Certaines effets dans la promotion de la croissance des 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.*, 2003 ; 2005 ; 2006). Les actinobactéries libèrent les cytokinines (Kraigher *et al.*, 1991), des gibbérellines (Gogala, 1971) ou de l'éthylène (De Vries *et al.*, 1987).

I.3.8. Mécanismes impliqués dans la biocontrôle et l'effet PGPB

Dans le sol, l'activité microbienne est intense en particulier dans la zone sous l'influence des racines, la rhizosphère, qui contient plus d'un million de microorganismes par gramme de sol. Les micro-organismes trouvent en effet dans ce milieu les substrats énergétiques libérés par les racines et nécessaires à leur métabolisme: sucres, acides aminés, acides organiques, hormones, etc. Certains de ces micro-organismes, principalement des bactéries, sont capables de coloniser efficacement les systèmes racinaires et influencent de manière bénéfique la plante en stimulant sa croissance et/ou en la protégeant contre des infections par des agents phytopathogènes. Ces bactéries sont alors reprises sous le terme PGPB (*Plant-Growth-Promoting-Bacteria*) (Raaijmakers *et al.*, 2002 ; Cavaglieri *et al.*, 2005).

I.3.9. Mécanismes impliqués dans le biocontrôle

➤ Production des enzymes lytiques

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

➤ Production des sidérophores

Le fer est le microélément le plus important utilisé par les bactéries et il joue également le rôle de cofacteur de nombreuses enzymes et protéines (Djibaoui et Bensoltane, 2005). Il est abondant dans le sol et se présente sous forme d'oxydes de fer (Fe^{3+}) (Compant *et al.*, 2005), mais il demeure souvent un facteur limitant la croissance des bactéries et des plantes. Les sidérophores sont des molécules de faible poids moléculaire secrétées par de nombreux

champignons et bactéries, tel que les streptomycètes (Muller *et al.*, 1984), en réponse à la carence en fer (Pérez-Mirinda *et al.*, 2007). Ils solubilisent et transportent le fer vers la cellule microbienne à travers des récepteurs spécifiques (Cabrera *et al.*, 2001; Sridevi *et al.*, 2008).

➤ **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 un développement de son système racinaire et de sa résistance naturelle (Lemanceau, 1991).

➤ **Production d'antibiotiques**

Les actinobactéries sont considérées comme des candidats idéaux pour la recherche de divers composés intéressants en industrie pharmaceutique, alimentaire, agricole et autres. A titre d'exemple, Sanglier *et al.* (1993) signalent que, durant les années 1988-1992, plus d'une centaine de métabolites bioactifs ont été découverts. En effet, des composés aux propriétés très variées peuvent être synthétisés tels que les antibiotiques, Les actinobactéries occupent la première place comme fournisseurs de substances bioactives, Ces antibiotiques, dont 40% possèdent des activités antifongiques, ont des structures chimiques très variées, De plus, au sein du groupe des actinobactéries, le genre *Streptomyces* produit à lui seul plus de 7 600 composés bioactifs, soit environ 36% de toutes les molécules d'origine microbienne, et 80% de toutes les molécules d'origine actinobactérienne (Solecka *et al.*, 2012).

I.3.10. Les microorganismes de lutte biologique les plus utilisés

Plusieurs microorganismes ont été utilisés dans le contrôle des maladies phytopathogènes (Errakhi, 2008). Le tableau ci-dessous récapitule quelques agents de biocontrôle

Tableau 02. Agents de la lutte biologique utilisés pour la lutte contre des agents phytopathogènes (Errakhi, 2008).

Agent de biocontrôle	Agents phytopathogènes cibles	Mécanisme (s) d'action
<i>Streptomyces</i> sp.Di-944	<i>Rhizoctonia solani</i>	Antibiose
<i>Streptomyces</i> sp. 93	<i>Pythium</i> , <i>Aphanomyces</i> , <i>phytophthora</i> , <i>Rhizoctonia</i> et <i>Fusarium</i> spp.	Antibiose
<i>Streptomyces diastatochromogenes</i> pon SSII	<i>Streptomyces scabies</i>	Antibiose Compétition

I.3.11. Induction des systèmes de résistance de la plante hôte

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

Le microorganisme antagoniste peut consister en une souche avirulente occupant la même niche écologique qu'un agent pathogène. L'induction des systèmes de résistance se manifeste par des modifications au niveau de la composition des parois cellulaires ou la libération des éliciteurs. Ces derniers sont des substances qui stimulent les mécanismes de défense de la plante. Celle-ci produira alors des phytoalexines et des protéines PR qui lui confèrent une résistance systémique (Agrios, 1988; Toussaint, 1996).

I.3.12. Mécanismes impliqués dans l'effet *PGPB* (*Plant Growth Promoting Bacteria*)

➤ Solubilisation des phosphates inorganiques

Le phosphate est le deuxième élément nutritif le plus important à côté de l'azote. La fonction la plus importante du phosphate dans le système végétal est le stockage de l'énergie. Il existe dans la nature sous une variété de formes organiques et inorganiques insolubles. La disponibilité en phosphate dans le sol est faible en raison de la fixation sous forme de

phosphates insolubles de calcium, l'aluminium et le fer. Pour cette raison, la carence de phosphate est un symptôme très fréquent sur les plantes. Les actinobactéries solubilisant le phosphate sont les candidats potentiels pour la dissolution des phosphates inorganiques (Rodriguez et Fraga, 1999; Singh et Kapoor, 1994). Cependant, les informations sur les actinobactéries qui solubilisent le phosphate sont rares et la recherche est faite pour explorer les voies de solubilisation de phosphate par les actinobactéries.

➤ Libération de l'ammoniaque

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

➤ Production des phytohormones

Les actinobactéries sont capables de produire des phytohormones tel que les auxines, les gibbérellines ou l'éthylène (Ahmad *et al.*, 2005). Parmi les auxines, l'Acide Indole-3-Acétique (AIA) joue un rôle essentiel dans la croissance et le développement des plantes (Ghosh et Basu, 2006). L'AIA influence plusieurs paramètres physiologiques chez la plante, à savoir l'élongation et la division cellulaire, la dormance apicale, la différenciation des tissus vasculaires, la production d'éthylène, l'initiation racinaire (Keyeo *et al.*, 2011) et la prolifération racinaire aboutissant (Figure 07) ainsi à une meilleure disponibilité en eau et en nutriments (Ashrafuzzamann *et al.*, 2009). Selon Matsukawa *et al.* (2007), chez de nombreuses espèces de *Streptomyces*, l'AIA stimule la formation du mycélium et améliore également la production des antibiotiques.

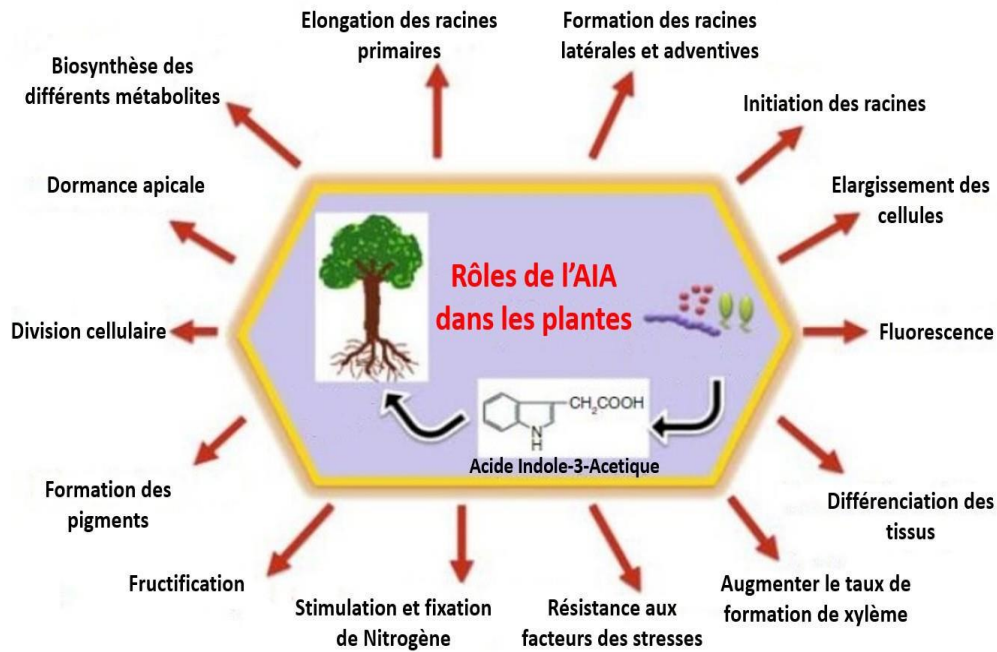


Figure 07. Rôles de l'AIA dans l'amélioration de la croissance des plantes (Khan *et al.*, 2009).

I.3.13. Intérêt des actinobactéries

➤ Intérêt des actinobactéries dans le domaine médical et vétérinaire

Les actinobactéries produisent de nombreuses molécules bioactives, en particulier les antibiotiques, utilisés en thérapie humaine et vétérinaire (Solanki *et 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).

➤ Intérêt des actinobactéries dans le domaine agronomique

Les actinobactéries jouent un rôle important dans la fertilisation des sols. Ils interviennent dans la biodégradation des composés organiques récalcitrants et difficilement ou non dégradables par les autres microorganismes comme les polymères complexes, les polysaccharides, les lignocelluloses et la chitine (Lechevalier, 1981; Goodfellow et Williams, 1983). Les actinobactéries sont connus aussi pour leur pouvoir PGPR (*Plant Growth Promoting Rhizobacteria*). Ils solubilisent quelques minéraux insolubles présents dans la rhizosphère tel que le phosphore et ils sont capables de produire certaines phytohormones (tel

que l'acide indole 3-acétique, AIA) et des sidérophores (Merckx *et al.*, 1987; Leong 1996; Khamna *et al.*, 2009; Solans *et al.*, 2011).

Le pouvoir antagonisme des actinobactéries peut être exploité dans le domaine agronomique pour remédier à certaines maladies de plantes. Ils sont efficaces pour la lutte biologique contre les agents phytopathogènes d'origine tellurique ou foliaire (Crawford *et al.*, 1993; El-Tarabily *et al.*, 2010; Toumatia, 2010) et leurs antibiotiques sont intéressants pour la lutte contre les maladies des plantes d'origine microbienne (Misato, 1982; Merrouche, 2000; Barakate *et al.*, 2002; Meklat, 2004; El- Tarabily et Sivasithampar, 2006).

➤ Les biopesticides microbiens

Tout comme les autres agents de lutte biologique, les biopesticides microbiens sont écologiquement beaucoup plus compatibles que les produits chimiques et ont une spécificité accrue vis-à-vis des pathogènes 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. 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 à cause d'une faible pression de sélection. Les biopesticides peuvent donc être complémentaires au traitement chimique (Adam, 2008).

➤ Exemples de quelques biofongicides à base d'actinobactéries

Les *Streptomyces* sont les candidats les plus potentiels pour l'utilisation en lutte biologique. Environ 60% des antifongiques naturels développés en agriculture ont pour origine des actinobactéries du genre *Streptomyces* (Tanaka et Omura, 1993). Nous citons ci-dessous deux types de biofongicides formulés à base de *Streptomyces*.

➤ Actinovate®

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

➤ **Mycostop®**

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

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

Partie II.

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

1. Matériel Biologique

➤ Blé

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

➤ L'agent phytopathogène

La souche de *Bipolaris sorokiniana* utilisée dans notre étude a été isolée préalablement à partir des collets infectés de blé présentant les symptômes typique, de *B. sorokiniana*. Après l'identification de *B. sorokiniana*, elle a été purifiée sur un milieu PDA (*Potato Dextrose Agar*) et conservée à 4°C (Tigari, 2017).

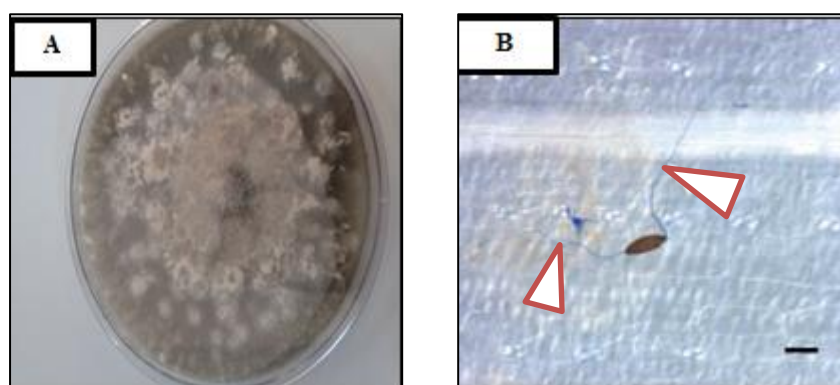


Figure 08. A. Aspect cultural d'une colonie de *Bipolaris sorokiniana* sur milieu PDA, B. spore de *B. sorokiniana* en germination bipolaire.

➤ Les souches d'actinobactéries

Douze souches d'actinobactéries sont utilisées dans notre étude. Ces dernières ont été isolées auparavant à partir des racines de plusieurs plantes spontanées sahariennes et à partir du sol saharien. Elles ont été purifiées sur milieu de culture ISP2 et identifiées au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université de Laghouat. Ces actinobactéries ont fait l'objet de plusieurs travaux de mémoires d'Ingénieurs d'Etat et de Master en agronomie. Le tableau ci-dessous représente l'origine d'isolement et le genre de ces souches d'actinobactéries.

Tableau 03. Origine d'isolement des souches d'actinobactéries.

Souche	Origine d'isolement	Genre
AP4	<i>Aristida Pungens</i>	<i>Streptomyces</i>
AR2	<i>Astragalus armatus</i>	<i>Streptomyces</i>
SN6	<i>Solanum nigrum</i>	<i>Streptomyces</i>
MB22	Sol saharien de Ghardaïa	<i>Nocardiosis</i>
ML1	<i>Medicago laciniata</i>	<i>Streptomyces</i>
ML2	<i>Medicago laciniata</i>	<i>Streptomyces</i>
PT2	<i>Panicum turgidum</i>	<i>Streptomyces</i>
SG20	<i>Sol saharien</i>	<i>Streptosporangium</i>
MB23	<i>Sol saharien</i>	<i>Nocardia sp.</i>
TL4	<i>Terfezia leonis</i>	<i>Streptomyces</i>
TL8	<i>Terfezia leonis</i>	<i>Streptomyces</i>
ZP1	Sol de Laghouat	<i>Streptomyces</i>

3. Etude des mécanismes impliqués dans le biocontrôle

3.1. Activité d'antibiose (Méthode des stries croisées)

L'activité antifongique des souches d'actinobactéries est évaluée par la méthode des stries croisées sur le milieu ISP2 décrite par (Zitouni et *al.*, 2005). Cette méthode consiste à ensemencer la souche d'actinobactérie en un seul trait à la surface du milieu solide et en bordure de la boîte de Pétri. Après incubation de l'actinobactérie, pendant 7 jours à 30°C, les trois champignons *Fusarium graminearum*, *F. culmorum* et *B. sorokiniana* ont été ensemencés en stries perpendiculairement à l'actinobactérie et ré-incubés à 25°C pendant 5 jours. La lecture des résultats se fait en mesurant la distance d'inhibition (absence de croissance du champignon) entre les bordures de la souche du champignon cible et de la souche d'actinobactérie à l'aide d'un pied à coulisse.

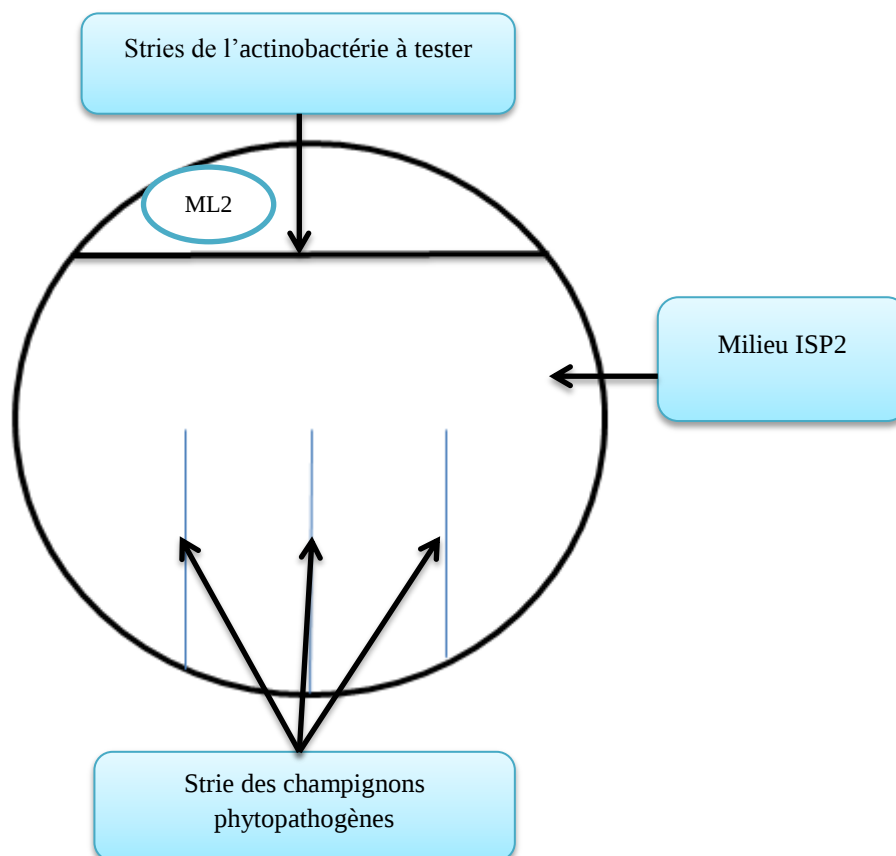


Figure 09 : La méthode de stries croisées pour le test d'antibiose.

3.2. Production des enzymes lytiques

Parmi les propriétés les plus significatives des actinobactérie leur aptitude à synthétiser de très nombreux métabolites bioactifs, parmi lesquels les enzymes, qui après les antibiotiques sont les produits les plus importants (Lopes *et al.*, 1999).

3.2.1. Production des protéases

Pour tester la capacité des souches d'actinobactéries à produire des protéases, la méthode décrite par Hariprasad et Niranjana (2009) a été suivie. Le principe de ce test consiste à déposer un disque gélosé de 6 mm de diamètre d'une culture active de chacune des souches étudiées à la surface du milieu de culture SMA (*Skim Milk Agar*). Les boîtes ont été ensuite incubées à 30°C pendant 5 jours.

L'activité protéolytique se traduit par la présence ou l'absence d'un halo clair autour des colonies.

3.2.2. Production des cellulases

Ce test permet de déterminer la capacité des souches d'actinobactéries à produire des cellulases en suivant la méthode décrite par Hendricks *et al.* (1995). Le test consiste à ensemencer un disque gélosé de 6 mm de diamètre d'une culture active de chacune des souches étudiées à la surface du milieu ISP9 (*International Streptomyces Project*) qui contient le CMC (*Carboxy-Methyl-Cellulose*) comme une seule source de carbone. Nous avons effectué la même manipulation comme décrit précédemment pour le témoin qui ne contient pas de CMC.

Le résultat positif qui concerne la production cellulolytique se traduit par un halo clair autour des colonies bactériennes.

3.3. Production des sidérophores

D'après la méthode décrite par Schwyn et Neilands (1997), deux milieux de culture ont été utilisés: AIM sans fer utilisé comme témoin et le milieu CAS-bleu agar (*Chrome Azurol S*) pour étudier la production des sidérophores par les souches d'actinobactéries.

Un disque gélosé de la culture active de 6 mm de diamètre déposé à la surface du milieu de culture (4 souches/ boîte), et incubé à 30°C pendant 5 jours. Après l'incubation, un changement de couleur du bleu à l'orange apparaît autour de la colonie productrice de sidérophores. Le changement de couleur est dû au transfert des ions ferriques du CAS vers les sidérophores.

La culture des actinobactéries sur milieu AIM permet de déterminer leur dépendance au fer. L'absence de croissance indique que l'actinobactérie dépend de fer pour sa croissance.

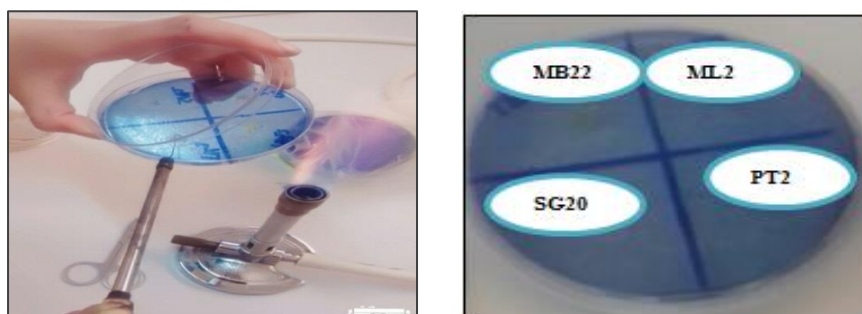


Figure 10. Photographie montrant le test de sidérophores chez les isolats MB22, ML2, PT2 et SG20.

3.4. Production de l'acide cyanhydrique (HCN)

La production de l'HCN est déterminée selon la méthode de Lorck (1948). Les isolats d'actinobactéries ont été ensemencés sur le milieu Bennett additionnée de glycine (4,4 g/l). Des feuilles de papier Whatman N°01 (bandelettes de 8 cm) ont été imprégnées d'une solution de picrate de sodium (5% d'acide picrique et de 2% de carbonate de sodium anhydre), déposés au fond du couvercle de la boîte. Celle-ci est scellée avec du papier parafilm et incubée à 30°C pendant 7 jours.

Le résultat positif se traduit par le virage du papier Whatman du jaune vers une couleur orange à marron.



Figure 11. Protocole expérimental de la production de l'HCN selon la méthode de Lorck (1948).

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

4.1. Solubilisation des phosphates inorganiques

La méthode décrite par Gaur (1990) permet d'évaluer la capacité des souches d'actinobactéries à solubiliser différentes sources des phosphates inorganiques sur milieu Pikovskaya (PVK) contenant du $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$, AlPO_4 ou bien le FePO_4 comme seules sources de phosphate inorganique (Pikovskaya, 1948). Des explants de 6 mm de diamètre d'une culture active de la souche étudiée sont ensemencés à la surface du milieu PVK puis incubé à 30°C pendant 5 jours. Le diamètre du halo transparent autour de la colonie indique la solubilisation des phosphates inorganiques par la souche d'actinobactérie.

4.2. Production de phytohormones

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

La production de l'acide indole acétique a été déterminée sur le milieu d'extrait de levure YT (Yeast Extract Tryptone Agar) additionné de L-tryptophane (1 g/l) (Penrose et Glick, 2003). Les isolats d'actinobactéries sont ensuiteensemencés dans des fioles d'Erlenmeyer de 250 ml contenant chacune 50 ml de bouillon YT avant de les mettre en une incubation à 30 C° pendant 05 jours sous agitation modérée en shaker (200 tours/mn).

Le dosage colorimétrique est réalisé selon la méthode de Loper et Scroth (1986). Les cultures sont centrifugées à 4000 tours pendant 20 min, 01 ml du surnageant est mélangé ensuite à 2 ml du réactif de Salkowski. L'apparition de la couleur rouge indique la production du groupe indole par la souche. La densité optique (DO) est mesurée à 530 nm à l'aide du spectrophotomètre.

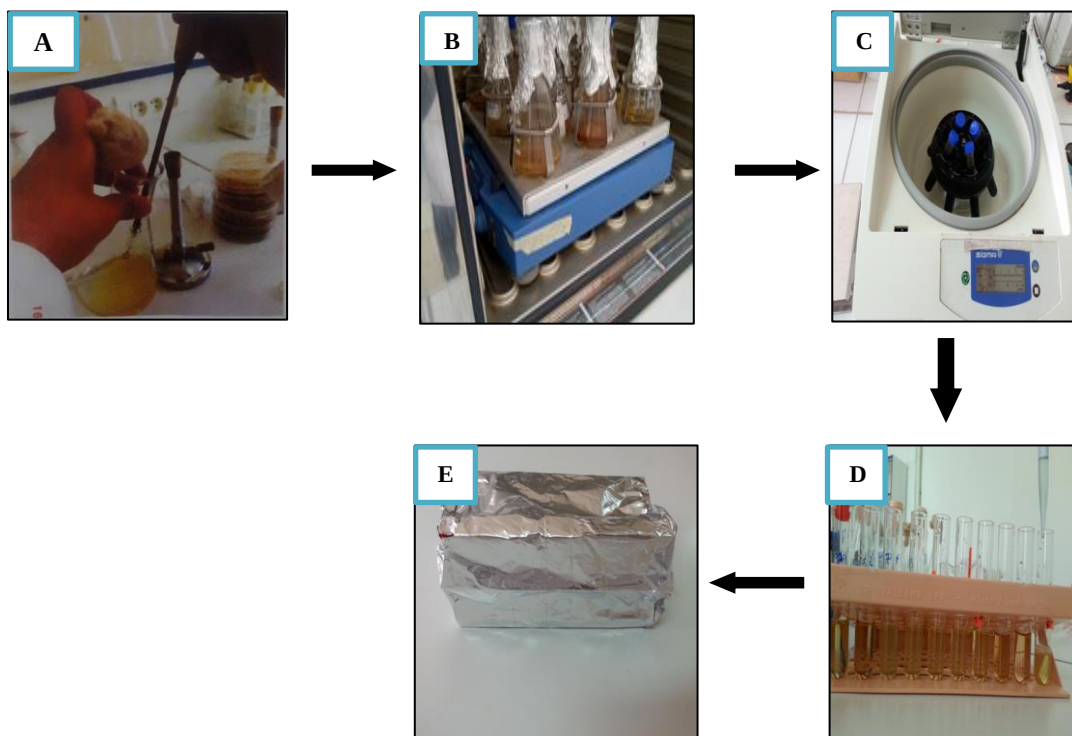


Figure 12. Photographies montrant les étapes expérimentales du test de production de l'acide indole-3-acétique (AIA) **A** : Ensemencement des actinobactéries. **B** : Incubation en shaker. **C** : Centrifugation (400 rpm)

D : Addition du réactif de Salkowski ; **E** : Conservation à l'obscurité.

Pour confirmer que les composés à groupement indole sont représentés par l'AIA, une chromatographie sur couche mince (CCM) sur plaque de gel de silice est effectuée. Des spots de 20 µl des extraits sont déposés parallèlement à un témoin représenté par l'AIA pur. La migration est effectuée dans un système de solvant composé d'acétate d'éthyle/chloroforme/acide formique (55/35/10, v/v/v). Après saturation des cuves, les plaques sont séchées à 60°C pendant 30 min et pulvérisées par le réactif d'Ehmann pour induire une fluorescence des taches d'AIA sous lumière UV (à 254 nm). Les taches d'AIA sont localisées par rapport à celle de l'AIA pur.

4.2.2. Libération de l'ammoniaque

Ce test est réalisé selon la méthode de Capuccino et Sherman (1992). Il consiste à ensemercer la suspension bactérienne dans 50 ml d'eau peptonée (EP). Les cultures sont mises en une incubation à 30°C pendant 7 jours en agitation permanente (200 tours/mn). Deux millilitres du réactif de Nessler dans chaque tube sont ensuite ajoutée. Le développement d'une couleur jaune brunâtre ou orange indique la libération de l'ammoniaque (NH₃). La densité optique (DO) est mesurée à 450 nm à l'aide du spectrophotomètre.

4.2.3. Production de l'acide gibbérellique (AG3)

La production de l'acide gibbérellique (AG3) est étudiée selon la méthode de Khamna *et al.* (2010). Il consiste à ensemercer la suspension bactérienne dans 50 ml de bouillon ISP2. Après incubation à 30°C pendant 7 jours en agitation permanente (200 tours/mn), les cultures sont centrifugées à 4000 tours durant 30 min et le surnageant obtenu est acidifié à pH 2,5 puis centrifugé à nouveau de la même manière. L'extraction de l'AG3 du surnageant des cultures est effectuée par un volume égal d'acétate d'éthyle dans une ampoule à décanter. Un dosage photométrique de l'AG3 contenu dans la phase organique est effectué. Un millilitre d'une solution d'acétate de zinc à 10% (m/v) et 1 ml d'une solution de ferrocyanide de potassium 1% (m/v) sont ajoutés à 7,5 ml à l'extrait de l'acétate d'éthyle avant d'être centrifugés 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.

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

Les deux meilleures souches sont retenues pour inclure leurs spores sous forme des biofongicides contre *B. sorokiniana* et pour voir leur effet *PGBP* sur les plantes de blé dur (Nia et Chouieb, 2012).

4.1. Préparation des suspensions de spore

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

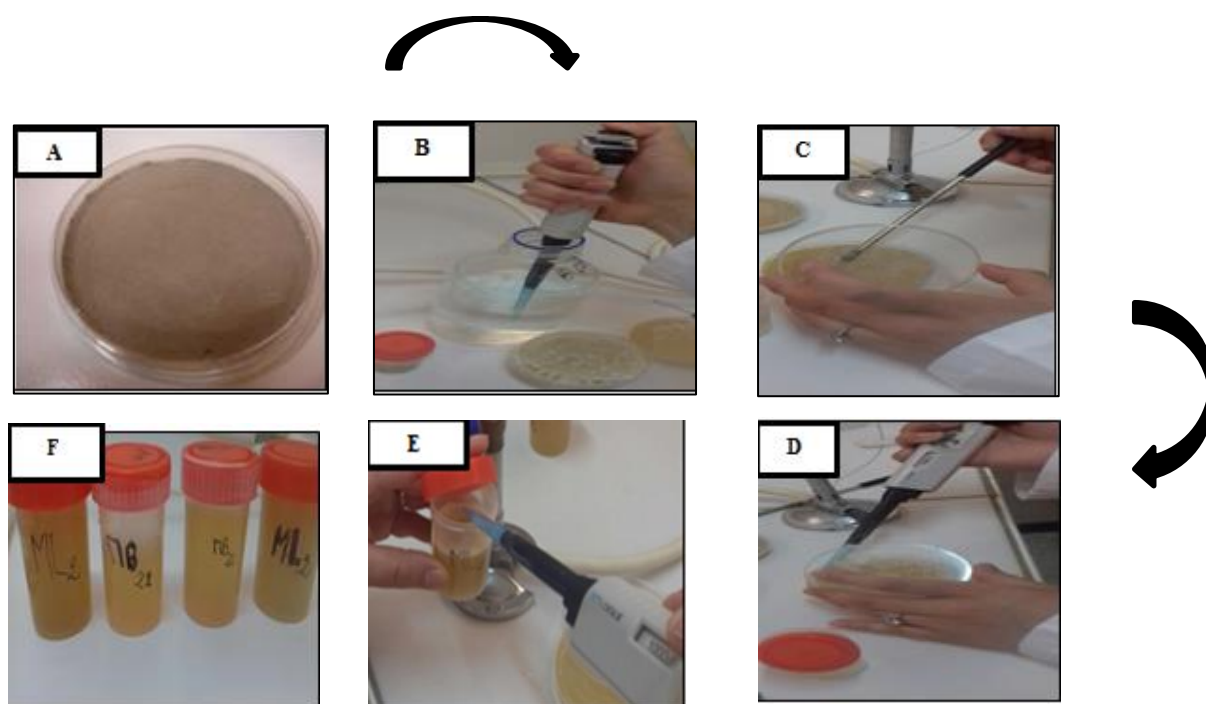


Figure 13. Protocol expérimental de la préparation de suspension des spores.

A. Tapis de spore d'actinobactéries ; **B.** L'ajoute de Tween 80 ; **D.** Raclage de la surface de culture ;
E. Suspension des spores ; suspension des spores.

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

Une solution d'alginate de sodium est préparée par dissolution de 4,66 g d'alginate de sodium dans 200 ml d'eau distillée stérile bouillante. Dix millilitres de la suspension de spores sont ensuite ajoutés aseptiquement à la solution d'alginate de sodium et homogénéisés délicatement. Le mélange est ensuite transformé en billes à l'aide d'une pompe péristaltique sur laquelle a été placée une aiguille de 0,6 mm de diamètre (Zaamom *et al.*, 2016).

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

4.3. Formulation des spores en poudre de talc

Seize grammes de poudre de talc et 4 g d'argile verte stériles sont mélangés avec 10 ml de la suspension de spores de l'actinobactérie. La "boue" obtenue est mélangée énergiquement à l'aide d'une baguette en verre pour homogénéiser la répartition des spores avant d'être séchées pendant 48 h sous hotte microbiologique à flux laminaire. Les grumeaux obtenus sont ensuite pilonnés dans un mortier en porcelaine stérile. La poudre contenant les spores de l'actinobactérie est récupérée par tamisage à un diamètre de 0,2 mm à l'aide d'un tamis pédologique stérile. Les spores ainsi formulées en poudre mouillable sont ensuite conservées à 4°C.

4.4. Application *in vivo* des biofongicides formulés

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

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

Les granules d'alginate de sodium et d'alginate de Na-argile verte, formulées sont ajoutés à raison de 1 g/Kg et 5g/Kg de sol respectivement puis homogénéisés à l'aide d'une hélice pédologique. Les traitements réalisés sont les suivants:

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

Après 6 semaines de culture, l'incidence de la pourriture racinaire et du collet causée par *B. sorokiniana* ainsi que les paramètres de croissance de l'effet PGPB sont évalués. L'incidence de maladie est évaluée par le système de notation selon une échelle de couleurs décrit par Khan *et al.* (2006): 0, pas de maladie; 1, nécrose brune très légère; 2, nécrose brune légère à modérée; 3, nécrose brune étendue et 4, nécrose noire étendue.

5. Analyses statistiques

L'analyse statistique des résultats obtenus dans notre étude a été faite par un logiciel CoStat version 6.400. Les figures sont réalisées par Excel 2007.

Partie III.

Résultats et discussion

Partie III. Résultats et discussion

Notre travail a pour objectif l'étude de la capacité de douze isolats d'actinobactéries à produire des enzymes lytiques, à solubiliser des phosphates inorganiques, à libérer l'ammoniaque, et à produire des phytohormones (AIA et AG3).

Nous nous sommes intéressés aussi à la préparation d'un biofongicide à base des spores des souches d'actinobactéries les plus intéressantes, et d'évaluer leur potentiel dans le biocontrôle de la pourriture racinaire, causée par *B. sorokiniana* et leur effet PGPB sur des plantules de blé dur.

1. Etude de quelques mécanismes impliqués dans le biocontrôle

1.1. Activité d'antagonisme

Les isolats d'actinobactéries ont été testés pour leur activité antagoniste contre trois champignons phytopathogènes (Figure 14). La capacité des souches étudiées à limiter la croissance d'éventuels phytopathogènes leur confère ainsi un avantage considérable. Le tableau 04 montre les résultats obtenus.

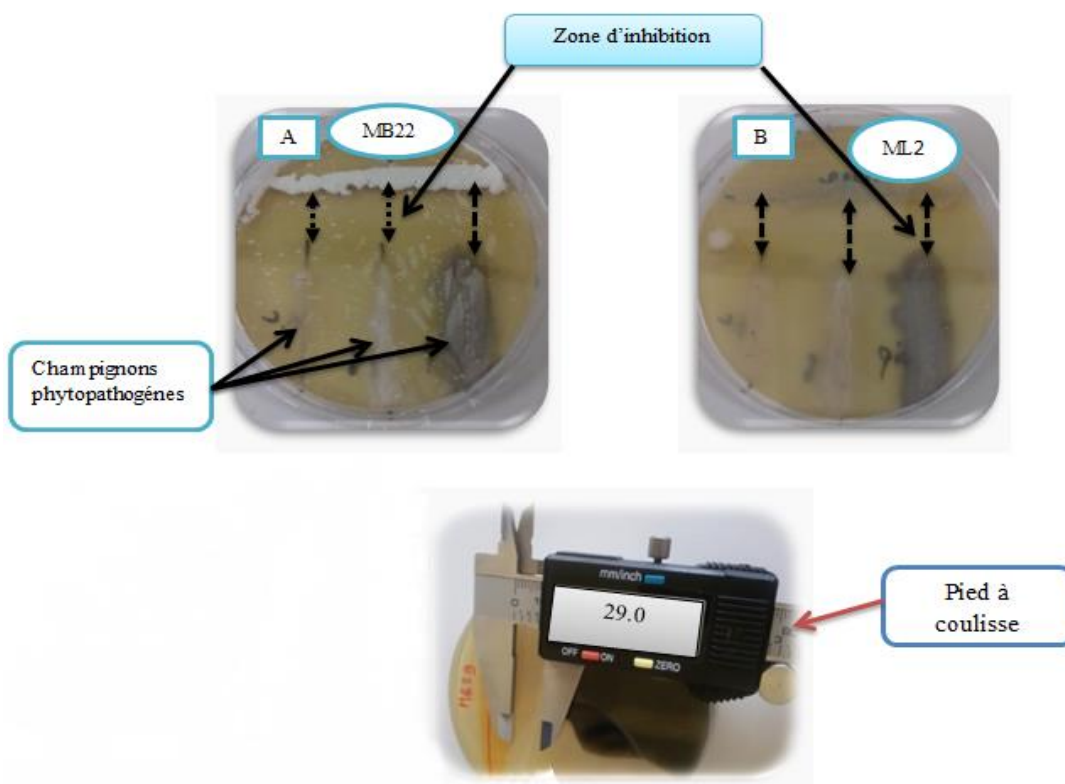


Figure 14. Photographie montrant les souches présentant un effet d'antibiose sur *Bipolaris sorokiniana* (A : MB22 et B : ML2), C : la mesure de la zone d'inhibition de la souche MB22 par le pied à coulisse.

Tableau 04. Activité d'antagonisme des souches d'actinobactéries testées.

Souche	Zone d'inhibition (mm) ^a		
	<i>B. sorokiniana</i>	<i>F. culmorum</i>	<i>F. graminearum</i>
AP4	18.1	4.0	00
AR2	7.0	6.0	00
CA13	25.0	6.0	00
MB23	15.0	17.0	15.0
MB22	29.0	17.9	10.2
ML1	00	00	00
ML2	26.0	15.0	19.0
PT2	20.0	11.0	16.0
SG20	19.0	22.0	20.1
TL4	00	00	00
TL8	00	32.0	6.0
ZP1	10.0	5.0	4.0

^a Moyenne de trois répétitions.

Les souches AP4, CA13, MB22, PT2, ML2 et SG20 ont une très bonne activité enregistrée (par mesure de la longueur des zones d'inhibition) contre les trois souches fongiques ciblées par ce test.

Les résultats des mesures de la longueur des zones d'inhibition de la croissance de *B. sorokiniana*, confronté aux souches d'actinobactéries testées, indiquent que les souches MB22 et ML2 ont significativement ($P < 0.05$) un bon potentiel d'inhiber la croissance de ce champignon, avec un avantage marqué pour la souche MB22 (MB22: 29.0, ML2: 26 mm). Les souches MB23, ML1, TL4 et TL8 n'inhibent pas la croissance de *B. sorokiniana*. Par contre, l'effet antagoniste de la souche TL8 contre *F. culmorum* est marqué.

Les actinobactéries sont bien connus pour leur capacité à produire des produits naturels de structures complexes et avec diverses activités biologiques (Abdelmohsen *et al.*, 2014). Les actinobactéries endophytes ML2, CA13 et PT2 du genre *Streptomyces* ont inhibé la croissance de *B. sorokiniana*. Les résultats de la présente étude corroborent plusieurs travaux qui ont indiqué l'inhibition de la croissance de *B. sorokiniana* par les *Streptomyces* (Aouar *et al.*, 2012 ; Minotto *et al.*, 2016 ; Monteiro *et al.*, 2017). En outre, l'activité antagoniste de *Streptomyces* a été illustrée contre une grande variété des agents phytopathogènes (Hamdali *et al.*, 2008; Toumatia *et al.*, 2015 ; Zamoum *et al.*, 2015). Dans notre étude, l'activité antagoniste la plus élevée a été marquée avec la souche MB22 (genre *Nocardiopsis*) ce qui est en accord avec les travaux de l'Aouar *et al.* (2012) dont la souche Vic 8 a pu montrer une activité antagoniste, inhibant la totalité des champignons phytopathogènes testé

s (*Fusarium oxysporum*; *Fusarium culmorum* ; *Bipolaris sorokiniana*). Intra *et al.* (2011) ont rapporté que *Nocardiosis* sp. 94N10-1 (EU196477.1) isolé de la rhizosphère de Cumin produit des agents antifongiques efficaces contre *Colletotrichum*.

1.2. Production des enzymes lytiques

L'évaluation de l'activité lytique des souches testées suggère une bonne capacité des souches dont il est question à attaquer de manière efficace la paroi fongique. Les activités protéolytiques et cellulolytiques sont étudiées; les résultats sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 05. Production des enzymes lytiques par les souches actinobactéries étudiées.

Souche	Protéase		Cellulase	
	Croissance	Ø de l'auréole (mm) ^a	Croissance	Ø de l'auréole (mm) ^a
AP4	±	9.0 h	-	00 f
AR2	++	22.0 d	+	14.0 d
CA13	++	18.0 e	-	00 f
MB23	±	7.0 i	±	10.0 e
MB22	+++	29.0 a	++	20.1 a
ML1	+	14.0 g	+	15.0 cd
ML2	++	24.0 c	++	18.6 b
PT2	++	23.0 c	+	16.0 c
SG20	+	10.0 h	-	00 f
TL4	+	10.0 h	-	00 f
TL8	+	16.0 f	-	00 f
ZP1	+++	27.0 b	-	00 f

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

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

La croissance des actinobactéries sur milieu CMC contenant la cellulose est variable selon les souches. Toutefois, nous n'avons observé que les souches : AP4, CA13, SG20, TL4, TL8 et ZP1 n'arrivent pas à croître dans le milieu. Cependant, les souches MB22 et ML2 présentent la meilleure production des enzymes lytiques. Les colonies d'actinobactéries sont entourées d'une auréole claire indiquant la production de ces enzymes.

Les enzymes lytiques dégradent la paroi fongique et les spores des champignons induisant ainsi à la mort de ces agents phytopathogènes (Tokala *et al.*, 2002; Hoster, 2005). Dans notre étude la plupart des souches ont synthétisé les enzymes lytiques étudiés (protéase et cellulase)

dont l'avantage est marqué par la souche MB22 suivie de ML2. Plusieurs travaux ont indiqué que la plupart des isolats du genre *Streptomyces* et *Nocardiosis* présentent une meilleure production des enzymes lytiques tel que les protéases et les cellulases (Kumar *et al.*, 2002 Meena *et al.*, 2013). La capacité des souches d'actinobactéries du genre *Nocardiosis* et *Streptomyces* à produire les enzymes lytiques confirment les résultats obtenus par Nia et Chouyeb (2012), Hamadouche (2016), Taibaoui (2016) et Tiggari (2017).

1.3. Production des sidérophores

L'étude de la capacité des 12 isolats d'actinobactéries à produire des sidérophores sur milieu *CAS-Bleu agar* a été testée (Figure 15). Les résultats sont représentés dans le tableau suivant.

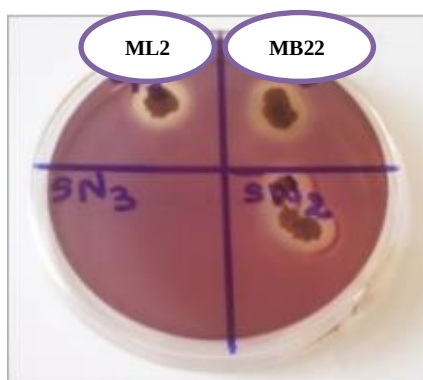


Figure 15 : photographie montrant la présence d'halo claire indiquant la production de sidérophores par les souches d'actinobactéries.

Tableau 06. Production des sidérophores par les souches actinobactéries étudiées.

Souche	Sidérophores		AIM sans Fer
	Croissance	Ø de l'auréole (mm) ^a	Croissance
AP4	±	8.0 e	-
AR2	-	00 f	/
CA13	+	13.0 d	-
MB23	++	23.0 a	+
MB22	+++	24.0 a	-
ML1	-	00 f	/
ML2	++	20.0 b	-
PT2	++	20.0 b	-
SG20	+	18.0 c	-
TL4	-	00 f	/
TL8	-	00 f	/
ZP1	+	00 f	/

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

Les résultats mentionnés dans le Tableau 06 montrent que sept des douze isolats sont capables de synthétiser les sidérophores. Les colonies d'actinobactéries sont entourées par des halos clairs indiquant la production de siderophores. La production maximale de siderophores a été observée par la souche MB22 et par la souche MB23, ML2 et PT2 respectivement. Les isolats d'actinobactéries productrices de siderophores ont subi un deuxième screening sur milieu AIM sans fer pour tester leur dépendance au fer. Nous avons remarqué que la souche MB23 n'est pas très dépendantes au fer ce qui est confirmé par leur pouvoir de croître en son absence.

La production des siderophores par les microorganismes est bénéfique pour les plantes, car ils inhibent la croissance des phytopathogènes (compatibilité) (Siddiqui, 2015). Nous avons remarqué que les souches qui produisent les siderophores en CAS bleu agar sont incapables de croître sur milieu AIM sans fer, à l'exception de la souche MB23, ce qui leur confère un rôle important comme des agents de lutte biologique par le phénomène de l'antagonisme au fer vis-à-vis des champignons phytopathogènes (Hamadouche, 2016). Le rôle des siderophores produits par les *Streptomyces* dans les activités antifongiques a été rapporté par plusieurs travaux de recherche (Cao *et al.*, 2005 ; Hamdali *et al.*, 2010 ; Monteiro *et al.*, 2016).

1.4. Production de l'acide cyanhydrique (HCN)

La capacité des souches d'actinobactéries utilisées dans notre étude à produire l'acide cyanhydrique a été testée (Figure 16). Les résultats de ce test sont mentionnés dans le tableau 07.

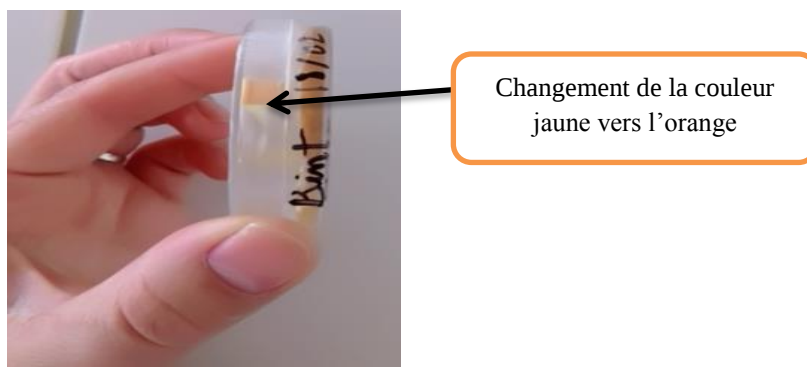


Figure 16 : Production de HCN par les isolats d'actinobactéries, apparition d'une couleur rouge orange sur les extrémités de la bande indique une production de l'HCN.

Tableau 07. Production de l'acide cyanhydrique (HCN) par les souches actinobactéries étudiées.

Souche	Production de l'HCN
AP4	+
AR2	+
CA13	-
MB23	+
MB22	+
ML1	-
ML2	+
PT2	+
SG20	+
TL4	-
TL8	+
ZP1	+

(-) : pas de changement de couleur, (+) : changement de couleur.

Les résultats obtenus ont montré que la majorité des souches d'actinobactéries sont capables de produire l'HCN, à l'exception des souches CA13, ML1 et TL4.

L'HCN est considéré comme un élément toxique pour les agents phytopathogènes (Voisard *et al.*, 1989). Bulmer et Hass (2000) ont confirmé que l'HCN inhibe le cytochrome C oxydase et autres matalloenzymes. Pal *et al.* (2000) ont conclu que l'HCN est probablement un agent de biocontrôle plus efficace contre les pathogènes fongiques. En outre, Ahmad *et al.* (2008) ont montré l'efficacité de *Streptomyces* productrices de l'HCN dans le biocontrôle de certains champignons phytopathogènes des sols (*Fusarium*, *Pythium* et *Rhizoctonia*) où le contact direct entre les deux microorganismes n'est pas nécessaire.

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

2.1. Solubilisation des phosphates inorganiques

Tableau 08. Résultats de la solubilisation des différentes sources de phosphates inorganiques par les isolats d'actinobactéries.

Souches	PVK - Ca ₃ (PO ₄) ₂		PVK - AlPO ₄		PVK - FePO ₄	
	Croissance	Ø de l'auréole	Croissance	Ø de l'auréole	Croissance	Ø de l'auréole
AP4	+	14.0 e	+	12.0 d	-	00
AR2	± à +	8.0 f	+	10.0 e	-	00
CA13	++	18.0 d	+	14.0 c	-	00
MB23	+	15.0 e	-	0 f	-	00
MB22	++	20.0 c	++	17.4 b	-	00
ML1	++	18.5 cd	+	13.5 c	-	00
ML2	++	17.5 d	+	12.9 cd	-	00
PT2	+++	23.0 b	++	20.0 ab	-	00
SG20	+++	25.0 a	++	21.4 a	-	00
TL4	++	18.0 d	++	18.0 b	-	00
TL8	+++	24.0 ab	+	11.0 e	-	00
ZP1	++	19.0 c	++	17.1 b	-	00

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

Toutes les souches se sont révélées solubilisatrices des phosphates sur milieu PVK, contenant les phosphates tricalciques et les phosphates d'aluminium, comme seules sources de phosphore, à l'exception de la souche MB23 pour le deuxième milieu. Le tableau 08 montre les résultats obtenus de la solubilisation des phosphates inorganiques sur le milieu.

Le traitement statistique des données a exhibé que les souches PT2, SG20 et TL8 ont significativement ($P < 0.05$) fait une bonne solubilisation des phosphates sur les milieux PVK - Ca₃(PO₄)₂ et PVK - AlPO₄. L'inaptitude des souches d'actinobactéries à solubiliser les phosphates a été signalée dans le milieu PVK - FePO₄.

La solubilisation des phosphates inorganique dans la rhizosphère est le meilleur mode d'action impliqué dans l'effet PGPR. Elle améliore la disponibilité des éléments nutritifs pour les plantes (Vessey, 2003). Tous les isolats d'actinobactéries ont pu solubiliser les phosphates sur le milieu tricalcique. Ces résultats sont similaires à ceux obtenu par Pérez *et al.* (2009). La difficulté de la solubilisation des phosphates ferriques a été déjà signalé par plusieurs travaux de recherche (Kim *et al.*, 2004; Taibaoui, 2016). Ceci peut être expliqué selon les mêmes auteurs par un éventuel effet de toxicité par le fer. (Sabarathman et al.2010) ont rapporté que les deux isolats MAD04 (*Nocardiosis* sp.) et MAD06 (*Streptomyces* sp.)

ont montré une puissante capacité de solubilisation des phosphates. Par contre, Aouar *et al.* (2016) n'a observé aucune solubilisation des phosphates inorganiques par l'isolat de *Nocardiopsis* sp.

2.2. Production de phytohormones

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

La vérification de la production de l'acide indole-3-acétique (AIA) a été réalisée avec les douze souches d'actinobactéries dans le milieu YT. Les souches productrices des métabolites indoles développent une coloration rouge (Figure 17) suite à l'addition du réactif de Salkowski, après 20 à 60 min d'incubation à l'obscurité. Les résultats de la production de l'AIA sont présentés dans le tableau ci-dessous.

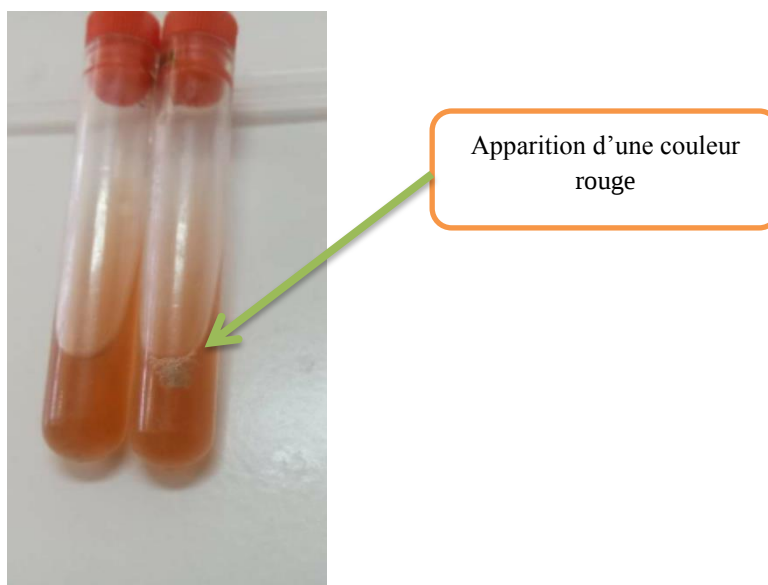


Figure 17 : Révélation de l'acide indole 3-acétique.

Tableau 09. Résultats de la production de l'acide indole-3-acétique par les isolats d'actinobactéries.

Souche	Production de l'AIA	
	Croissance	Concentration (µg/ml) ^a
AP4	+	27.5 f
AR2	+	16.0 h
CA13	+	20.0 g
MB23	+	58.14 d
MB22	++	109.83 a
ML1	-	00 j
ML2	++	99.8 b
PT2	++	97.3 c
SG20	±	11.6 i
TL4	-	00 j
TL8	+	17.2 h
ZP1	+	45.0 e

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

Les résultats du tableau 09 montrent que la majorité des souches d'actinobactéries ont pu produire l'AIA sur milieu YT, en présence de L-Tryptophane, à l'exception de la souche ML1 et TL4. La production maximale de l'AIA a été observée chez la souche *Nocardiopsis* sp.MB22 avec 109.83 µg.ml⁻¹. La souche ML2 a également produit une quantité importante d'AIA évaluée à 99.8 µg.ml⁻¹, néanmoins, les souches SG20 et AR2 présentent une faible production d'AIA de 11.6 et 16.0 µg.ml⁻¹ respectivement.

L'AIA est le plus important du groupe des auxines et quantitativement le plus produit par les bactéries PGPB (Ashrafuzzaman *et al.*, 2009). L'AIA augmente la longueur des 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 la croissance des plantes, en favorisant principalement un bon enracinement et une bonne nutrition de la plante. (Aldesuquy *et al.*, 1998), a signalé que *Streptomyces olivaceoviridis*, *S. rimosus*, et *S. rochei* produisent l'AIA et améliorent la croissance des plantules de blé. Le rôle de l'AIA dans la promotion de la croissance des plante a été rapporté par plusieurs études (El-Tarabily, 2008; Khamna *et al.*, 2010 ; Zamoum *et al.*, 2015).

Dans notre étude, la production de l'AIA la plus élevée a été significativement signalée avec la souche MB22. Ces résultats sont en accord avec ceux d'autres chercheurs (Legault *et al.*, 2011 ; Aouar *et al.*, 2016) dont les résultats ont porté sur le potentiel des souches du genre *Nocardiopsis* à produire d'AIA.

*Chromatographie sur couche mince (CCM)

La vérification qualitative de la production d'AIA ainsi que leur mise en évidence par CCM ont été réalisées chez les douze souches testées. Cette confirmation a été effectuée sur la plaque chromatographique et observée sous lumière UV à 254 nm. Cela nous a permis de confirmer que la souche *Streptomyces* sp.ML2 et la souche *Nocardioopsis* sp.MB22 ont produit l'AIA. Ce dernier avait un effet prometteur sur le taux de germination et la croissance racinaire des plantules du blé. La figure 18 montre le résultat obtenu de la chromatographie sur couche mince (CCM).

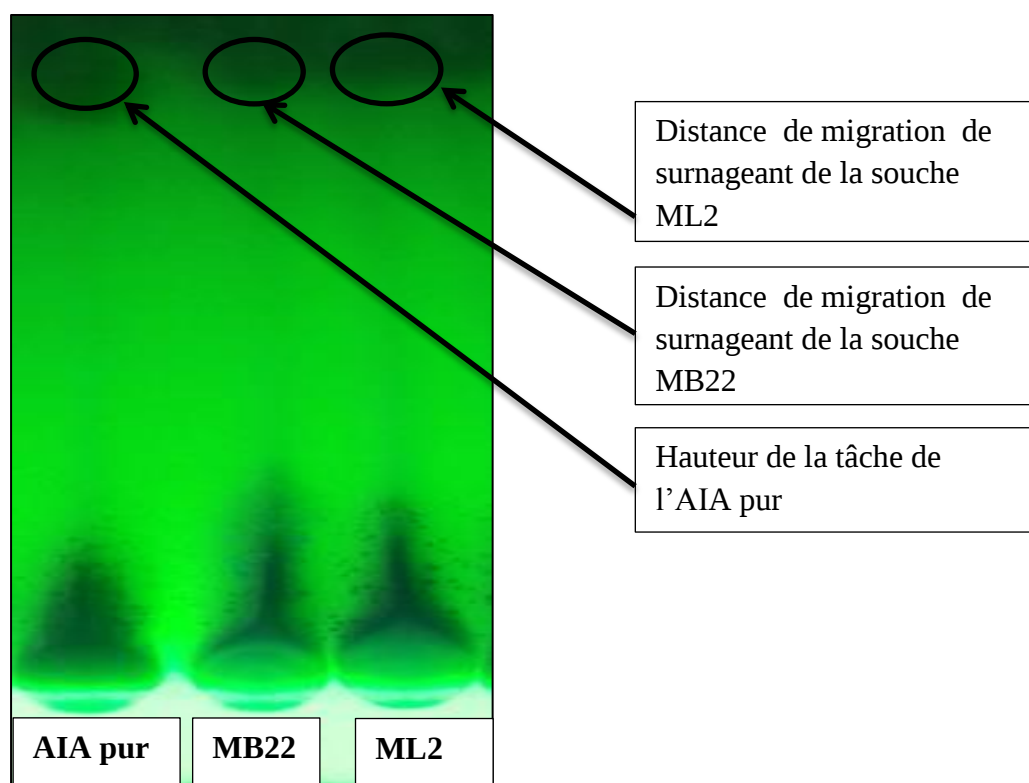


Figure 18. Résultat obtenu du test de la chromatographie sur couche mince de l'AIA produit par les deux souches ML2 et MB22.

2.4. Production de l'acide gibbéréllique (AG3)

La capacité des souches d'actinobactéries utilisées dans notre étude à produire l'acide gibbéréllique a été testée. Les résultats de ce test sont présentés dans le tableau suivant.

Tableau 10. Résultats de la production de l'acide gibbérellique (AG3) par les isolats d'actinobactéries.

Souche	Production de l'AG3	
	Croissance	Concentration (mg/ml) ^a
AP4	+	21.7 i
AR2	+	35.1 g
CA13	+	00 j
MB23	+	55.2 d
MB22	+	98.1 a
ML1	-	31.0 h
ML2	+	44.0 f
PT2	+	90.0 b
SG20	+	66.0 c
TL4	+	32.0 h
TL8	-	00 j
ZP1	+	49.0 e

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

Les souches MB22 et PT2 ont produit des quantités d'AG3 appréciables. 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 (El-Tarabily, 2008 ; El-Tarabily et al., 2009 ; De Oliveira et al., 2010 ; Toumatia, 2014). Les gibbérellines affectent la division et l'allongement cellulaire et sont impliquées dans plusieurs processus de développement, tels que la germination des graines, la floraison, la fructification et le retard de la sénescence dans de nombreux organes d'une large gamme d'espèces végétales (MacMillan, 2002 ; Bottini et al., 2004).

2.3. Libération de l'ammoniaque

Les isolats d'actinobactéries sont testés pour leur pouvoir de libérer l'ammoniaque. L'addition de réactif de Nessler aux surnageant de culture à révéler une réaction positive par l'apparition d'une couleur jaune brunâtre qui indique la présence de l'ammoniaque libéré à partir des peptones du milieu de culture (Figure 19). Les résultats de ce test sont indiqués dans le tableau 10.

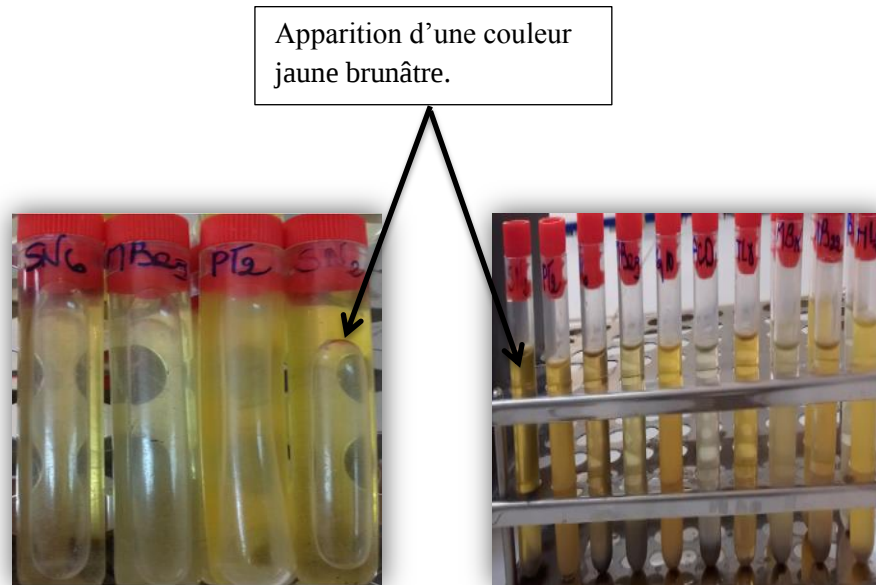


Figure 19. Libération de l'ammoniaque indiquée par l'apparition de la couleur jaune brunâtre pour les souches d'actinobactéries testées.

Tableau 11. Résultats de la libération de l'ammoniaque par les isolats d'actinobactéries.

Souche	Ammoniaque libéré	
	Croissance	Concentration (mg/ml) ^a
AP4	+	27.0 b
AR2	+	17.0 f
CA13	+	17.0 f
MB23	+	25.0 c
MB22	+	32.0 a
ML1	-	00 g
ML2	+	25.0 c
PT2	+	20.0 e
SG20	+	18.0 f
TL4	+	22.0 d
TL8	-	00 g
ZP1	+	21.0 de

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

La majorité des souches testées sont capables de libérer l'ammoniaque dans le milieu de culture liquide, à l'exception des souches ML1 et TL8. La quantité d'ammoniaque libre a été trouvée significativement ($P < 0.05$) plus élevée avec la souche MB22 (32 mg/ml).

L'ammoniaque libéré par les souches rhizobactériennes joue un rôle significatif dans l'interaction plante-PGPR (Chitra *et al.*, 2002). Dans la présente étude, la plupart des souches ont pu libérer l'ammoniaque qui pourra jouer un rôle important dans la promotion de la croissance des plantes ce qui est confirmé par Marques *et al.* (2010), ces chercheurs ont indiqués qu'il existe une corrélation positive entre la quantité d'ammoniaque libérée par les actinobactéries et la longueur des plantules de maïs.

3. Efficacité de biocontrôle

Les souches MB22 et ML2 formulés sous forme des billes d'alginate et en poudre de talc ont été testées *in vivo* dans un sol stérile et non stérile pour évaluer leur efficacité dans le biocontrôle de la pourriture racinaire du blé dur causée par *B. sorokiniana*.

Des symptômes caractéristiques de la maladie ont été observés sur les plantules de blé (Figure 20).



Symptôme de la pourriture racinaire sur le collet.

Figure 20. Symptôme de la pourriture racinaire observé sur les plantules du blé après 6 semaines de culture.

Les résultats de l'incidence de la pourriture racinaire et du collet, en sol stérilisé et en sol non stérilisé, sont représentés par la figure 21.

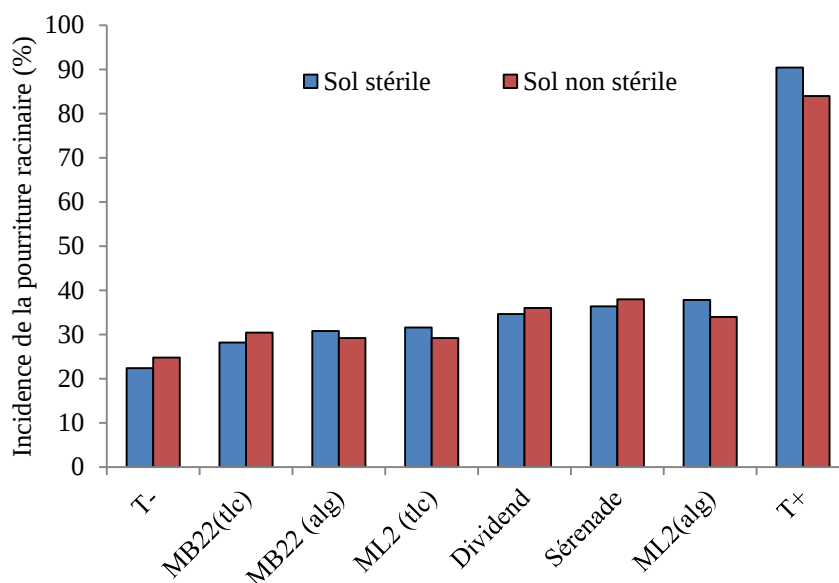


Figure 21. Incidence de la pourriture racinaire du blé dur causée par *B. sorokiniana*.

Les résultats de l'analyse de la variance ont montré que l'incidence de la pourriture racinaire est significativement ($P < 0.05$) plus élevée dans le témoin positif. Les autres traitements ont réduit significativement ($P < 0.05$) l'incidence de la maladie. Aucune différence significative n'a été observée entre les traitements de biofongicides, le témoin négatif et l'agent de lutte chimique.

Les traitements de biocontrôle les plus efficaces sont observés respectivement avec la souche MB22 sous forme de poudre de talc, sous forme d'alginate de sodium et la souche ML2 sous forme de poudre de talc. L'analyse de la variance montre qu'il n'existe pas de différence significative entre les deux sols (stérilisé et non stérilisé).

La pourriture racinaire causée par *B. sorokiniana* cause d'énormes dégâts provoquant des pertes de rendements de la culture de blé (Minotto *et al.*, 2016 ; Monteiro *et al.*, 2017). Il est admis maintenant que la lutte chimique a des conséquences néfastes sur l'environnement; entre autres, la toxicité de la chaîne trophique, la pollution des eaux de surface et souterraine (Vereijken et Viaux, 1990), et surtout la résistance acquise par les agents phytopathogènes (Knight et Norton, 1989). Pour cette raison, la lutte biologique reste une alternative très efficace tout en respectant l'environnement. La production des antibiotiques et des

métabolites toxiques par les actinobactéries endophytes et rhizosphériques a été rapporté comme un agent de biocontrôle contre les maladies des plantes (El-Tarabily *et al.*, 2000; Cao

et al., 2005). Actuellement, plusieurs biofongicides utilisés pour le biocontrôle des agents de la pourriture racinaire sont convenables comme des produits commerciaux à l'échelle internationale (Paulitz et Bélanger, 2001, Index, 2015). Les résultats de notre étude ont montré que les biofongicides à base de spores de la souche MB22 (poudre de talc et des billes d'alginate de sodium) et la souche ML2 (poudre de talc) sont plus efficaces dans le biocontrôle de *B. sorokiniana* dont les différences sont non significatives comparativement au Dividend. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus par Sabaratnam et Traquair (2002), Tamreihao *et al.* (2016) et Zamoum *et al.* (2017), qui ont indiqué et confirmé l'efficacité des biofongicides en poudre de talc à base de *Streptomyces*, dans le biocontrôle de *Rhizoctonia solani*. Les formulations solides ou en poudre, sont généralement préférées à celles qui sont liquides, car elles contiennent des propagules sèches qui ont tendance à mieux résister aux conditions environnementales extrêmes, de transport et d'entreposage (Lewis, 1991).

3.1. Effet PGPB des biofongicides

Nous avons étudié les paramètres de la croissance des plantules saines de blé qui ne sont pas inoculées par le champignon (longueur des plantes, longueur des racines, poids frais et poids sec) pour voir l'effet des biofongicides bioformulés dans la promotion de la croissance des plantes du blé. Les résultats sont représentés dans les histogrammes de la figure 22 et 23.

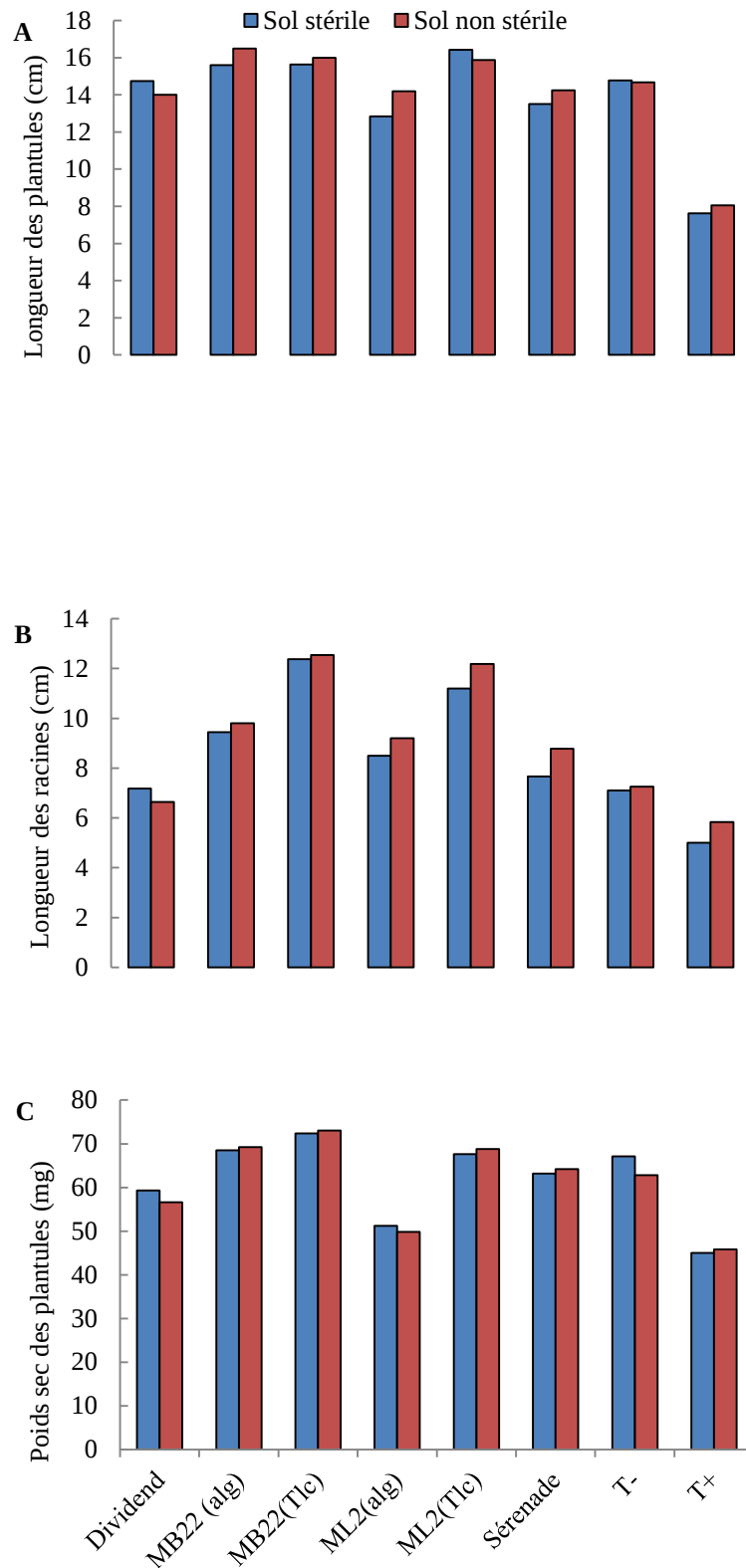


Figure 22. Effet des biofongicides formulés à base de spores de *Nocardiopsis* sp. MB22 et *Streptomyces* sp. ML2 sur la promotion de la longueur du plant (A), la longueur racinaire (B) et le poids sec (C) des plantules de blé dur cv. Vitron cultivées en sol stérilisé ou en sol non stérilisé.



Figure 23. Promotion de la croissance des plantules de blé par le biofongicide en poudre de talc et en billes d'alginate de sodium à base des spores de la souche MB22 (A,B) en comparaison avec le témoin négatif (-) (C).

Les résultats mentionnés dans les histogrammes de la figure 22 ont indiqué que les biofongicides sous forme de poudre de talc bioformulée des deux souches MB22 et ML2, ainsi que les billes d'alginate à base des spores de la souche MB22 ont amélioré la longueur des plantules de blé (Figure 23), la longueur racinaire des plantules et le poids sec des plantules comparativement au témoin négatif.

Les résultats obtenus dans notre étude, concernant l'effet PGPB des biofongicides se rapproche de ceux obtenus par Tamreihao *et al.* (2016), où ils ont rapporté que la poudre de talc à base de la souche UCR3-16 du genre *Streptomyces* améliore la croissance des plantules de riz dans des conditions contrôlées. Adhilakshmi *et al.* (2014), ont également constaté que des souches de *Streptomyces* améliorent significativement la croissance et le rendement des cultures et réduit la pourriture racinaire causée par *Macrophomina phaseolina*. De plus, l'ajout des agents bactériens proposés comme "PGPB" améliore la croissance des plantes. Les souches *Streptomyces griseoviridis* K61 et *Streptomyces lydicus* WYEC 108, ont montré leurs effets positifs sous forme d'un biofongicide Mycostop®, elles peuvent induire ont induit les mécanismes de défense des plantes en cas d'attaque par des phytopathogène. Le Sérénade® à base de *Bacillus subtilis* souche QST713 a induit des réponses nettement intéressantes contre plusieurs agents phytopathogènes notamment ceux responsables de la pourriture racinaire.

Conclusion

Conclusion

La pourriture racinaire, induite par le *Bipolaris sorokiniana*, constitue une contrainte sérieuse à la production du blé, et cause des pertes en rendement importantes. Cette contrainte biotique doit être jugulée par une méthode de lutte efficace et respectueuse de l'environnement.

Des tests d'activité d'antibiose sur milieu de culture ISP2, montrent que dix souches inhibent la croissance mycélienne de *Bipolaris sorokiniana*. Les souches *Streptomyces* sp.MB22 et ML2 avaient une activité d'antibiose élevée vis-à-vis ce champignon.

La majorité des souches d'actinobactéries est caractérisée par une activité protéolytique et cellulolytique contribuant à la mort de ce champignon.

La plupart des souches testées peuvent produire des sidérophores et l'HCN qui sont deux éléments très efficaces dans la suppression des phytopathogènes, avec une production très importante remarquée chez les souches ML2 et MB22.

Parmi les souches d'actinobactéries étudiées, deux d'entre elles sont capables de solubiliser les phosphates inorganiques sur le milieu Pikovskaya. De plus, elles sont capables de produire l'AIA et l'AG3 *in vitro*. La souche *Nocardiopsis* sp. MB22 se distingue par la production la plus importante, et présente un effet PGPR positif (une augmentation de la taille du plant, du poids frais et du poids sec).

La souche MB22 peut libérer par un taux assez important d'ammoniaque, qui contribue à la promotion de la croissance des plantes.

Les souches MB22 et ML2 ont données de très bons résultats. Pour cette raison, elles sont utilisées dans la formulation d'un biofongicide à base de spores des actinobactéries, en poudre de talc et sous forme des billes d'alginates.

Le potentiel de chaque souche en lutte biologique a été apprécié comparativement à un agent de lutte chimique (Dividend). Des biofongicides formulés ont permis de réduire significativement la maladie et ils ont également un effet PGPB positif sur les plantules de blé.

En perspectives, il serait intéressant d'étudier l'efficacité des souches sélectionnées, seules ou combinées, contre les maladies causées par d'autres agents phytopathogène, en étudiant les différents paramètres de conservation des spores des biofongicides formulées.

Il serait également intéressant d'étudier le pouvoir des actinobactéries dans l'induction de la résistance systémique acquise chez le blé.

Partie I.
Revue bibliographique

REFERENCE BIBLIOGRAPHIQUE

- **Abraham T.A. and 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, 281-285.
- **Abdelmohsen, U.R., Bayer, K., Hentschel, U., 2014a.** Diversity, abundance and natural products of marine sponge-associated actinomycetes. *Nat. Prod. Rep.* 31, 381–399.
- **Acharya K., Dutta A.K. and Pradhan P. (2011).** *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem.: The most destructive wheat fungal pathogen in the warmer areas. *Aus. J. Crop Sci.* 5(9), 1064-1071.
- **Ado, E., Silva, P., and Silva, H. 2002.** Wheat growth and physiology. In Curtis, B-C., Rajaram, S., and Gomez Macpherson, H. (Eds.). 2002. *Bread Wheat, Improvement and Production*. FAO Plant Production and Protection Series. p.3.
- **Adhilakshmi M., Paranidharan V., Balachandar D., Ganesamurthy K., Velazhahan R.** Suppression of root rot of mung bean (*Vigna radiata* L.) by *Streptomyces* sp. is associated with induction of peroxidase and polyphenol oxidase. *Arch. Phytopathol. Plant Prot.* 2014;47(5):571–583.
- **Agrios G.N. (1988).** *Plant Pathology*. Academic Press, San Diego, California. 801.
- **Ahmad F., Ahmad I. et Khan M. S. 2005.** Indole acetic acid production by the indigenous isolates of *Azotobacter* and fluorescent *Pseudomonas* in the presence and absence of tryptophan. *Turk. J. Biol.*, 29: p. 29-34.
- **Ahmad F., Ahmad I. et Khan M.S. 2008.** Screening of free-living rhizospheric bacteria for their multiple plant growth promoting activities. *Microbial Research.*, 163:p. 173-81.
- **Aldesuquy, H. S. Mansour, F. A. Abo-Hamed, S. A. 1998.** Effect of the culture filtrates of *Streptomyces* on growth and productivity of wheat plants. *Folia Microbiologica.* 43 (5), pp 465–470.
- **Almaris N. et Alonso. 2007.** Cellulose Degradation and Biofilm Formation in the Developmental Life Cycle of the cellulolytique actinomycetes *Thermobifida fusca*. UMI.134p.

- **Aouali S. et Douici-Khalfi A. (2009).** Recueil des principales maladies fongiques des céréales en Algérie : symptôme, développement et moyens de lutte ; ITGC, EL Harrach, Alger. 56P.
- **Aouar L ., Lerat S ., Ouffroukh, A., Boulahrouf A, and Beaulieu C.2012.** Taxonomic identification of rhizospheric actinobacteria isolated from Algerian semi-arid soil exhibiting antagonistic activities against plant fungal pathogens. Can. J. Plant Pathol. (2012), 34(2): 165–176.
- **Aouar, L., Lerat, S., Boulahrouf, A., & Beaulieu, C. (2016).** Bacterial antagonism and plant growth promoting traits of actinobacterial strains previously selected for their antifungal properties. Transylvanian Review, 10, 2408–2417.
- **Ashrafuzzamann M., Farid A. H., Ismail M. R., Hoque M. A., Islam M. Z., Shahidullah S. M. et Sariah M. 2009.** Efficiency of plant growth-promotion rhizobacteria (PGPR) of the enhancement of rice growth. Afr. J. Biotech. 08: p. 1247-1252.
- **BaldyC.,1984** - Utilisation efficace de l'eau par la végétation en climats méditerranéens. Bull .Soc.Boton .Fr 131 (2, 3, 4) (Actuel Boton) 491- 499.
- **Basil A.J., Strap J.L., Knotek-Smith H.M. and Crawford D.L. (2004).** Studies on the microbial populations of the rhizosphere of big sagebrush (*Artemisia tridentata*). J. Indus. Microbiol. Biotechnol. 31, 278-288.
- **Barbottin A, Lecomte C, Bouchard C, Jeuffroy M-H (2005).** Nitrogen remobilization during grain filling in wheat: genotypic and environmental effects. Crop Science 45: 1141- 1150.
- **B.M. Bashyal, R. Chand, C. Kushwaha, D. Sen, L.C. Prasad, A.K. Joshi** Association of melanin content with conidiogenesis in *Bipolaris sorokiniana* of barley (*Hordeum vulgare* L.) World J Microbiol Biotechnol, 26 (2010), pp. 309-316
- **Bacterial biocontrol agents.** Antonie van Leeuwenhoek. 81(1-4):537-547.
- **B. Meena, L.A. Rajan, N.V. Vinithkumar, R. Kirubakaran.** Novel marine actinobacteria from emerald Andaman and Nicobar Islands: a prospective source for industrial and pharmaceutical byproducts BMC Microbiol, 13 (2013), p. 145.
- **Benmati M., Ykhlef N., Belbekri N. et Djekoun A.** 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 C: 18-24 /2012.

- **Benbelkacem, A. 2014.** The history of wheat breeding in Algeria. Options méditerranéennes : Ciheam.
- **Bhandari D, Bhatta MR, Duveiller E, Shrestha SM (2003) Foliar blight of wheat in Nepal. In: Bisen BS, Channy B (1983) Some observations on the surface of wheat leaves during the early stages of infection by *Helminthosporium sativum*. J Indian Bot Soc 62(3):285-287.**
- **Bing, LA., Lewis, LC. (1991).** Suppression of *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae) by Endophytic *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin. Environmental Entomology. 20(4):1207-1211.
- **Bonjean et Picard, 1991** Les céréales à paille. Origine-histoire-économie-sélection. Ligugé ; Poitiers : Aubin imprimeur.(Evaluation de la tolérance à la sécheresse chez le blé dur (*Triticum durum* Desf.) par l'étude du bilan hydrique et des paramètres phéno-morpho-physiologiques).
- **Bozzini A. (1988).** « Origin, distribution, and production of durum wheat in the world ». Dans Fabriani G. et C. Lintas (éd). Durum: Chemistry and Technology. AACC (Minnesota), États-Unis. p. 1-16.
- **Bottini, R., F. Cassan et P. Piccoli (2004).** Gibberellin production by bacteria and its involvement in plant growth promotion. Appl. Microbiol. Biotechnol. 65:497–503.
- **Bruno G. 1997.** Lutte contre les maladies des plantes. Architecte Paysagiste. m/maladie/lutte.html, 1997 - rev 07/05/2004.
- **Breton A., Theilleux J., Sanglier J.J., Viobis G. 1989.** Organismes producteurs: biologie, taxonomie et écologie. In "Biotechnologie des Antibiotiques". Larpent J.P. et Sanglier J.J., Masson : Paris. Pp: 33-70.
- **Brink, M., & Belay, G. (2006).** Ressources végétales de l'Afrique tropicale 1. Céréales et légumes secs. Fondation PROTA, Wageningen, Pays-Bas/Backhys Publishers, Leiden, Pays/Bas/CTA, Wageningen, Pays-Bas, 328pp.
- **Braz J Microbiol, 43 (2012), pp. 205-214.**
- **Cappuccino J. C. et Sherman N. 1992.** Microbiology: A Laboratory Manual, third ed. Benjamin/cummings Pub. Co., New York, p. 125-179.
- **Caron D., (1993).** Les fusarioses. In Maladies des blés et orges (ITCF, ed.), 30- 39.
- **Cabrera G., Xiong A., Uebel M., Singh V. K. et Jayaswal R. K. 2001.** Molecular characterization of the iron-hydroxamate uptake system in *Staphylococcus aureus*. Appl. Environ. Microbiol. 67: p. 1001-1003.

- **Cao L, Qiu Z, You J, Tan H, Zhou S (2005).** Isolation and characterization of endophytic streptomyces antagonists of Fusarium wilt pathogen from surface-sterilized banana roots. FEMS Microbiol. Lett. 247:147-152.
- **Céréale**, conjoncture-indicateurs de suivi, analyse économique de France Agri Mer, Revue numéro 19/Avril/2017,P 1.
- **Chitra, T.R., H.S. Prakash, S.E. Albrechtsen, H.S. Shetty and S.B. Mathur, 2002.** Indexing of leaf and seed samples of tomato and bell pepper for tobamoviruses. Indian Phytopathol., 55: 84-86.
- **Cox P.W., Paul G.C. et Thomas C.R. 1998.** Image analysis of the morphology of
- **Compant S., Duffy B., Nowak J., Clément 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: p. 4951-4959.
- **DE Vries. H.E. Mudge. K.W et Lardner. J.P. (1987).** Ethylene production by several ectomycorrhizal fungi and effects on host root morphology. In: Mycorrhizae in the next decade. Proceedings of the 7th NACOM /D.M.Sylvia, L.L.Hung, J.H.Graham Eds. Gainesville :University of Florida. p.172.
- **Defago G., Haas D., Berling C., Burger U., Keel C., Voisard C., Wirthner P. et Wuthrich B. 1990.** Suppression of black root rot of tobacco and other root diseases by strains of Pseudomonas fluorescens: potential applications and mechanisms. In: Biological control of soil-borne plant pathogens (D Hornby, ed), CAB Int, p. 93-108.
- **Dill-Macky R. and Jones R.K. (2000).** The effect of previous crop residues and tillage on Fusarium head blight of wheat. Plant Disease, 84, 71–76.
- **Divya Teja D. N., Harsha S., Satya Vishala P. K. et Santhosha L. 2014.** Production of L-glutaminase from marine ecosystems and optimal conditions for maximal production by actinomycetes. Int. J. Adv. Res. 2 (1): p. 485-491.
- **Djibaoui R. et Bensoltane A. 2005.** Effect of iron and growth inhibitors on siderophores production by Pseudomonas fluorescens. Afr. J. Biotechnol. 04 (7): p. 697-702.
- **Djermoun, A. 2009.** La production céréalière en Algérie : les principales caractéristiques. Nat. Techn., (01),45-53.

- **Djaouti, M. 2010.** Renforcement des capacités des acteurs de la filière céréale en Algérie dans le cadre d'un partenariat Nord-Sud : Cas de la Wilaya de Sétif. Master of Science n° 106: IAMM, Montpellier. 120 p.
- **Dobermann, A. (2007)** Nitrogen Use Efficiency: Measurement and Management. In: Krauss, A., Isherwood, K. and Heffer, P., Eds, Fertilizer Best Management Practices, IFA, Paris, 1-28.
- **Dours O. 2017.** Réseau d'épidémio-surveillance. Bulletin d'alerte n°1 au 10 mars 2017.
- **Ducellier L. 1930.** Espèces et variétés de céréales cultivées en Algérie. Direction de l'Agriculture et de la Colonisation. 1-62.
- **El-Tarabily KA, Soliman MH, Nassar AH, Al-Hassani HA, Sivasithambaram K, McKenna F, Hardy GE St J (2000).** Biological control of *Sclerotinia minor* using a chitinolytic bacterium and actinomycetes. *Plant Pathol.* 49: 573-583.
- **El- Tarabily K.A. and Sivasithamparam K. 2006.** Non-streptomycete actinomycetes as biocontrol agents of soil-borne fungal plant pathogens and as plant growth promoters. *Soil Biology and Biochemistry*, 34,1 16.
- **El-Tarabily, KA. 2008.** Promotion of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) plant growth by rhizosphere competent 1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid deaminase-producing Streptomycete Actinomycetes. *Plant and Soil.* 308(1):161-174.
- **Erroux J et Lamount P., 1961.** Mémoire de la société d'histoire naturelle de l'Afrique du nord, 5,95 p.
- **Errakhi R. (2008).** Contribution d'actinomycètes (Actinobactéries) à la lutte biologique contre *Sclerotium rolfsii* et rôle de l'acide oxalique dans l'induction des mécanismes de défense. Thèse de Doctorat. Université Cadi Ayyad, Marrakech Maroc.
- **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.
- **FAO.2018.** Rapport de production mondial du blé. consulté le 1 Février.
- **Feldman et Sears, 1981** The Wild Gene Resources of Wheat, Vol. 244, No. 1, January 1981 ; Moshe Feldman and Ernest R. Sears Scientific American Vol. 244, No. 1 (January 1981), pp. 102-113 Published by: Scientific American, a division of Nature America, Inc.

- **Feldman M. 2001.** Origin of cultivated wheat. In: Bonjean AP, Angus WJ, eds. The world wheat book: a history of wheat breeding. Paris, France: Lavoisier Publishing, 3–56. filamentous micro-organisms. Microbiology. Vol 144. p: 817–827. fluorescent Pseudomonas and non-pathogenic Fusarium, Crop protection, 10, p. 279- 286.
- **Gaur A.C. (1990).** Phosphate solubilizing microorganisms as biofertilizers Omega Scientific Publishers, New Delhi (1990), p. 198
- **Gate, P. H. (1995).** Ecophysiologie du blé ; Technique et documentation : Lavoisier, Paris, 429 p.
- **Ghosh S. et Basu P. S. 2006.** Production and metabolism of indole acetic acid in roots and root nodules of Phaseolus mungo. Microbiol. Res., 161: p. 362-366
- **Gogala. N. (1971).** Growth substances in mycorrhiza of the fungus Boletus pinicola Vitt.and the pine tree Pinus sylvestris L. Razprave ,vol. 14. p. 123-202.
- **Goodfellow M. and Williams S.T. (1983).** Ecology of actinomycetes. Annu. Rev. Microbiol. 37, 189-216.
- **Haslay, C et Leclerc, H. (1993).** Microbiologie des eaux d'alimentation. France: Lavoisier TEC et DOC. 1993.
- **Hallman J., Quadt-Hallman A., Mahaffee W.F. et Kloepper J.W. 1997.** Bacterial endophytes in agricultural crops. Can. J. Microbiol., 43: p. 895-914.
- **Haas, D., et G. Defago (2005).** Biological control of soil- borne pathogens by fluorescent pseudomonads. Natra Rev. Microb. 1129.
- **Hasegawa S., Meguro A., Shimizu M., Nishimura T. et Kunoh. H. 2006.** Endophytic actinomycetes and their interactions with host plants. Actinomycetol. 20 (2): p. 72-81.
- **Habtegebrial, K., Singh, B-R., and Haile, M. 2007.** Impact of tillage and nitrogen fertilization on yield, nitrogen efficiency of tef (Eragrostis tef (Zucc.) Trotter) and soil properties. Soil Till. Res., n. 94, p. 55–63.
- **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. Applied Soil Ecology, 40, 510–517.
- **Hamel L, (2010).** Appréciation de la variabilité génétique des blés durs et des blés apparentés par les marqueurs biochimiques. Thèse de Magister en génomique et techniques avancées des végétaux. Université Constantine 1. 83 pages.

- **Hamadouch 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 Science, Univ. Amar Telidji, Laghouat. 81p.
- **Hendricks CW., Doyle JD. et Hugley B. 1995.** A new solid medium for enumerating cellulose-utilizing bacteria in soil. Appl Environ Microbiol. 61p.
- **Henry, Y; et B uyser, J.(2000).**L'origine du blé. Pour la Science,Hors série.26 :60-62. Appréciation de la variabilité génétique des blés durs et des blés apparentés par les marqueurs biochimiques.
- **Index phytosanitaires, 2015,** index des produits sanitaires à usage agricole, juillet 2015, Alger.
- **Jijakly M.H. (2003).** La lutte biologique en phytopathologie, In : Phytopathologie. Lepoivre P. (Eds). De Boeck, Bruxelles.
- **Kantety, R.V., Diab, A., Sorrells, M.E., (2005).** Contribution à la mise en place d'une approche intégrée de lutte contre la sécheresse chez le blé dur au Maroc In: Conxita.
- **KA El-Tarabily, AH Nassar, H Gestj, K Sivasithamparam. (2009).** Plant growth promotion and biological control of *Phythium aphanidermatum*, a pathogen of cucumber, by endophytic actinomycetes. J Appl Microbiol, 106. 13-26.
- **Tamreihao K. Debananda S. Ningthoujam, Salam Nimaichand, Elangbam Shanta, Singh, Pascal Reena Salam Herojeet Singh, Upendra Nongthomba. 2016.** Biocontrol and plant growth promoting activities of a *Streptomyces corchorusii* strain UCR3-16 and preparation of powder formulation for application as biofertilizers agents for rice plant.Microbiological Research. 192, 260-270.
- **Kempe J. and Sequeira L. (1983).** Biological control of bacterial wilt of potatoes: Attempts to induce resistance by treating tubers with bacteria. Plant Dis. 67, 499-501.
- **Keyeo F., Noor Ai'shah O. et Amir H. G. 2011.** The effects of nitrogen fixation activity and phytohormones production of diazotroph in promoting growth of rice seedlings. Biotech. 10: p. 1-7.
- **Khan M.R., Fischer S., Egan D. and Doohan F.M. (2006).** Biological control of *Fusarium* seedling blight disease of wheat and barley. Phytopathology, 96, 386–394.

- **Khan M. A., Shirazi M. U., Dali Khan M., Mujtaba S. M., Islam E., Mumtaz S., Shereen A., Ansari R. U. et Yasin Ashraf M. 2009.** Role of proline, K⁺/Na⁺ ratio and chlorophyll content in salt tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Pak. J. Bot.* 41 (2): p. 633-638.
- **Khamna S., Yokota A., Lumyong S. (2009).** Actinomycetes isolated from medicinal plant rhizosphere soils: diversity and screening of antifungal compounds, indole-3-acetic acid and siderophore production. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 25, 649–655.
- **Khamna S, Yokota A, Peberdy JF, Lumyong S (2010)** Indole-3-acetic acid production by *Streptomyces* sp. isolated from some Thai medicinal plant rhizosphere soils. *EurAsia J BioSci* 4:23–32.
- **Kirby EJM, Appleyard M, Fellowes G (1985)** Effect of sowing date and variety on main shoot leaf emergence and number of leaves of barley and wheat. *Agronomie* 5, 117-126.
- **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.
- **Knight, AL., Norton, GW. 1989.** Economic agricultural pesticide resistance in arthropods. *Annual Review of Entomology* 34 (1), 293-313.
- **Kraigher H, Agerer R, Javornik B (1995)** Ectomycorrhizae of *Lactarius lignyotus* on Norway spruce characterized by anatomical and molecular tools. *Mycorrhiza* 5:175–180.
- **Krishnendu A, Arun K. D and Prakash P. 2011.** *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoem.: The most destructive wheat fungal pathogen in the warmer areas. *Australian Journal of Crop Science*.5 (9). 1064-1071.
- **Kumar, J., P. Schafer, R. Huckelhoven, G. Langen, H. Baltruschat, E. Stein, N. Subramanian, K.H. Kogel, J. Kumar and S. Nagarajan. 2002.** *Bipolaris sorokiniana*, a cereal pathogen of global concern: cytological and molecular approaches towards better control. *Molecular Plant Pathology*, 3(4): 185-195
- **Lacey J. (1997).** Actinomycetes in composts. *Ann. Agr. Env. Med.* 4, 113-121.
- **Larpent J-P. and Larpent-Gourgaud M. (1985).** *Eléments de Microbiologie.* Hermann. Paris. 264.
- **Lacroix M.2002.** *Maladies des céréales et de la luzerne.pdf.*

- **Lamari L., Sterlkov SE., Yahyaoui A., Amedov M., Saidov M., Djunusova M. and Koichibayev M., 2005.** Virulence of *pyrenophora tritici-repentis* in the countries of the SILK Road, Canadian journal of plant pathologie. 27 (3), 383-388.
- **Lafarge, M et Durand, JL. 2011.** Apprendre à innover dans un monde incertain: Concevoir les futurs de l'agriculture et de l'alimentation .edition : Quae.184p.
- **Lechevalier M.P. (1981).** Ecological associations involving actinomycetes. In: Actinomycetes. Shaal and Pulverer (Eds.). Zentralblatt fur Bakteriologie : Supplement, 11, pp.159–166.
- **Lechevalier M.P. and Lechevalier H. (1985).** Biology of actinomycetes not belonging to genus *Streptomyces* In: Biology of industrial microorganisms. The Benjamen Cummings Publishing Company, Inc. 315-316.
- **Lemanceau P. et Alabouvette C. 1991.** Biological control of *Fusarium* diseases by fluorescent *Pseudomonas* and non-pathogenic *Fusarium*.
- **Legault, L., Gutsell, J. N., & Inzlicht, M. (2011).** Ironic effects of antiprejudice messages: How motivational interventions can reduce (but also increase) prejudice. *Psychological Science*, 22, 1472–1477.
- **Lorck H. 1948.** Production of hydrocyanic acid by bacteria. *Physiol. Plant.* p. 142-146.
- **Lopes A., Coelho R. R., Meirelles M. N. I., Branquinha M. H. et Vermelho A. B. (1999).** Extracellular serine-proteinases isolated from *Streptomyces alboniger*. Partial characterization and effect of aprotinin on cellular structure. *Mem Inst Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro*. 94, 763-770.
- **Mathre DE (1987) In:** Compendium of Barley Diseases. Am Phytopathol Soc, St. Paul, MN.
- **Maraite, H., Di Zinno, T., Longrée, H., Daumerie, V. and Duveiller, E. (1998)** Fungi associated with foliar blight of wheat in warmer areas. In: Proceedings of the International Workshop on *Helminthosporium* Diseases of Wheat: Spot Blotch and Tan Spot (Duveiller, E., Dubin, H.J., Reeves, J. and McNab, A., eds), CIMMYT, El Batán, Mexico, February 9– 14, 1997, pp. 293–300.
- **Mariat F. and Sebald M. (1990).** Actinomycètes. In: Bactériologie Médicale. Le Minor L. et Véron M. (Eds), 2ème édition, Flammarion. Paris. 935-949.

- **MacMillan, J.(2002).** Occurrence of gibberellins in vascular plants, fungi, and bacteria. *J. Plant Growth Regul.* 20, 387-442.
- **Matsukawa E., Nakagawa Y., Limura Y. et Hayakawa M. 2007.** Stimulatory effect of indole-3-acetic acid on aerial mycelium formation and antibiotic production in *Streptomyces* spp. *Actinomycetol.* 21: p. 32-39.
- **Macagnan D. 2008.** Romeiro, RDA. Pomella, AMV. DeSouza, JT. Production of lytic enzymes and siderophores, and inhibition of germination of basidiospores of *Moniliophthora* (ex *Crinipellis*) *perniciosa* by phylloplane actinomycetes. *Biol Control.* 309p.
- **Marques, J.T., Kim, K., Wu, P.H., Alleyne, T.M., Jafari, N., Carthew, R.W. (2010).** Loqs and R2D2 act sequentially in the siRNA pathway in *Drosophila*. *Nat. Struct. Mol. Biol.* 17(1): 24--30.
- **Mincer T.J., Jensen P.R., Kauffman C.A. and Fenical W. (2002).** Widespread and persistent population of a major new marine actinomycetes taxon in ocean sediments. *Appl. Env. Microbiol.* 68(10), 5005-5011.
- **Minotto E., Milagre, L.P, Spadari, C, Feltrin T., Ballarini A.E., Germani, J.C., Salamoni, S.P. Van Der Sand, S.T. 2016.** Screening endophytic actinobacteria with potential antifungal activity against *Bipolaris sorokiniana* and growth promotion of wheat seedlings. *African Journal of Microbiology Research.* Vol. 10(36), pp. 1494-1505, 28 September, 2016.
- **Moulin L., Munive A., Dreyfus B. et Boivin-Masson C. (2001).** Nodulation of legumes by members of the beta-subclass of Proteobacteria. *Nature.* Vol. 411, p. 948-950.
- **Monteiro, P, Borba, M.P and Van Der Sand, S.T.2017.** Evaluation of the Antifungal Activity of *Streptomyces* sp. on *Bipolaris sorokiniana* and the Growth Promotion of Wheat Plants. *Journal of Agricultural Science;* Vol. 9, No. 12; 2017.
- **Muller G., Matzanke B. F. et Reymond.K. N. 1984.** Iron transport in *Streptomyces pilosus* mediated by ferrichrome siderophores, rhodotorulic acid, and enantiorhodotorulic acid. *J. Bacteriol.* 160: p. 313-318.
- **Nanjwad, B. Chandrashehara, S. Goudanavar, P. S. Shamarez, A. M et Manvi, F. (2010).** Production of antibiotics from soil isolated actinomycetes and evaluation of their antimicrobial activities. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research.* vol.9, p. 373-377.

- **Neyra M. 1992.** Fichier technique de la fixation symbiotique de l'azote: légumineuse/rhizobium. Food & Agriculture Org. : 200p.
- **Neched, H. 2015.** Étude comparative des traitements de semences sans fongicide chez les céréales à l'aide de l'ozone et de l'oxygène pur. Thèse de Maitrise, Université Laval.
- **Nia M et choueb S. (2012).** Actinomycètes endophytes et hormone et croissance végétale acide indol-3acétique : production, partielle purification et promotion de la croissance des plantules de tomate. Mémoire d'ingénieur d'état en Agronomie : Université de Laghouat.71p.of endophytic streptomycetes antagonists of fusarium wilt pathogen from
- **O'Gara. F. Dowling. D. N, Boesten. B. 2008.** Molecular Ecology of Rhizosphere Microorganisms: Biotechnology and the Release of GMOs. John Wiley & Sons: Weinheim. Pp: 192.
- **Olivia le Lamer, 2017.** Céréales – conjoncture- indicateurs de suivi, analyse économique, Numéro 19 / avril 2017.
- **Oliveira, K. C. C. ; Faturi, C. ; Garcia, A. R. ; Nahúm, B. S. ; Lourenço Júnior, J. B. ; Joele, M. R. S. P., 2010.** Supplemental feeding for buffaloes with agroindustry by-products on silvopastoral system in Brazilian eastern Amazon. Revista Veterinaria, 21 (Suppl. 1): 802-804.
- **Ouyed (2015).** Rapport d'avancement remis au MAPAQ sous la direction du Pr Khaled Belkacemi.
- **Pal K. K., Tilak K. V., Saxena A. K., Dey R., Singh C. S. (2000).** Antifungal characteristics of a fluorescent Pseudomonas strain involved in the biological control of Rhizoctonia solani. Microbiol. Res. 155, 233–242.
- **Pauitz, TC., Belanger, R. 2001.** Biological control in greenhouse systems. Annual Review of Phytopathology. 39(1):103-133.
- **Per Pinstrup, A. 1996.** L'alimentation et l'agriculture au XXIe siècle. Perspective économique. USIA, vol.1. (Revue électronique).
- **Pérez-Miranda S., Cabirol N., George-Téllez L., Zamudio-Rivera L. S. et Fernández E. J. 2007.** O-CAS, a fast and universal method for siderophore detection. J. Microbiol. Methods.70: p. 127-131.

- **Pérez E M., Sulbarán P., Mora, M., Vargas B M M, Luis A. Yarzábal R. and Ali H. Bahsas B.2009.** Characterization of the mineral phosphate solubilizing activity of pantoea agglomerans MMB051 isolated from an Iron-Rich soil in southeastern Venezuela (Bolívar State). *Current Microbiology* 2009 Apr;58(4):378-83).
- **Piesse, L. 1862.** Iténiraire historique et descriptif de l'algérie. Hachette : Boulevard German. P. 725.
- **Prescott. L. M, Harley. J. P, Klein. D. A. 2003.** Microbiologie. De Boeck : Bruxelles. 2eme édition Pp : 1164.
- **Pujic, N. & Normand, P. (2009).** La symbiose racinaire entre la bactérie Frankia et les plantes actinorhiziennes. *Biofutur* 28(298): 26-29.
- **Raaijmakers, J.M. Vlami, M et de Souza, J.T. (2002).** Antibiotic production by
- **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): 503-507.
- **Reis EM (1991)** Integrated disease management: The changing concept of controlling head blight and spot blotch. In: Saunders DA, Hettel GP (eds) *Wheat in Heat- Stressed Environments: Irrigated, Dry Areas and Rice- Wheat Systems*. CIMMYT, Mexico DF, pp 165-177.
- **Reis EM, Forcelini CA (1993)** Transmissao de *Bipolaris sorokiniana* de sementes para orgaos radiculares e aereos do trigo. *Fitopatol Brasileira* 18: 76-81.
- **Reponen T.A., Gazenko S.V., Grinshpun S.A., Willeke K. and Cole E.C. (1998).** Characteristics of airborne actinomycete spores. *Appl. Environ. Microbiol.* 64(10), 3807-3812.
- **Riah, N., Béna, G., Djekoun, A., Heulin, K., de Lajudie, P., and Laguerre, G. 2014.** Genotypic and symbiotic diversity of *Rhizobium* populations associated with cultivated lentil and pea in sub-humid and semi-arid regions of Eastern Algeria. *Sys. Appl. Microbio.*, n. 37, p. 368-375.
- **Rodriguez H. and Fraga R.1999.** Phosphate solubilizing bacteria and their role in plant growth promotion. *Biotechnol Adv.*, 17,319-339.
- **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.
- **Ruel, T. (2006).** Document sur la culture du blé, édition Educagri (Mémoire Magister en agronomie Caractérisation morpho-physiologique et biochimique de quelques

générations F2 de blé dur (*Triticum durum* Desf.) sous conditions semi-arides. 22/04/2015.Sétif.

- **Ryu, R. et C.L. Patten. 2008.** Aromatic amino acid-dependent expression of indole-3-pyruvate decarboxylase is regulated by 4 TyrR in *Enterobacter cloacae* UW5. *Am. Soc. Microbiol.*, 19: 1-35.
- **Sabarathnam B., Manilal A, Sujith, S. Seghal Kiran, G., Selvin, J, Anto T and Ravji R.** Role of Sponge Associated Actinomycetes in the Marine Phosphorous Biogeochemical Cycles. *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 8 (3): 253-256.
- **Sabarathnam, S. and Traquair, J.A. (2002)** Formulation of a *Streptomyces* Biocontrol Agent for the Suppression of *Rhizoctonia* Damping-Off in Tomato Transplants. *Biological Control*, 23, 245-253.
- **Salehpour, M., H.R. Etebarian, A. Roustaei, G. Khodakaramian and H. Aminian, 2005.** Biological control of common root rot of wheat (*Bipolaris sorokiniana*) by trichoderma isolates. *Plant Pathol. J.*, 4: 85-90.
- **Sardi P., Saracchi M., Petrolini B., Borgonovi G.E. and Merli S. (1992).** Isolation of endophytic *Streptomyces* strains from surface-sterilized roots. *Appl. Env. Microbiol.* 58(8), 2691-2693.
- **Sanglier J.J., Haag H., Huck T.A. and Fehr T. (1993).** Novel bioactive compounds from Actinomycetes: a short review (1988-1992). *Research in Microbiology*, 144, 633–642.
- **Sayoud R., Ezzahiri B. et Bouzand Z., 1999.** Les maladies des céréales et des légumineuses alimentaires au Maghreb, Guide Pratique. Projet Maghrébin sur la surveillance des maladies et le développement de Germoplasme Résistant des céréales et des légumineuses Alimentaires. PNUD RAB/91/007 Maroc-Algérie- Tunisie. Trames Ed, Algérie.64P.
- **Schippers B., Bakker A.W., Bakker R. et Van Peer R. 1990.** Beneficial and deleterious effects of HCN-producing pseudomonads on rhizosphere interactions. *Plant Soil*, 129: p. 75- 83.
- **SCHWARZ, S., C. KEHRENBURG and T.R. WALSH, 2001:** Use of antimicrobial agents in veterinary medicine and food animal production. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 17, 431-437.
- **Schwyn et Neilands JB,** universal chemical assay for the detection and determination of siderophores, *anal biochem*, 60(1987) 47.

- **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 Actinomuces- Specific PCR of 16S rRNA genes. *FEMS Microbiology Ecology*. vol. 39, p. 23-32.
- **Shaner G (1981).** Effect of environment on fungal leaf blights of small grains. *Ann Rev Phytopathol* 19: 273-296.
- **Shoemaker, R.A. (1959)** Nomenclature of Drechslera and Bipolaris, grass parasites segregated from Helminthosporium. *Can. J. Bot.* 37, 879–887.
- **Sivanesan, A. (1990)** Lists of sets, index of species, and list of accepted names for some obsolete species names in CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria, sets 1–100, issued January 1964–March 1990. *Mycopathol.* 111, 91–108.
- **Singh, R.V., Singh, A.K., Singh, D., Singh, V.B. (1994).** Sreening of wheat genotypes against foliar blight caused by helminthosporium sativum. *Pl. Dis.Res.* 19(1): 88-90.
- **Siddiqui ZA (2005)** PGPR: prospective biocontrol agents of plant pathogens. In: Siddiqui ZA (ed) *PGPR: Biocontrol and Biofertilization*. Springer, Dordrecht, pp 111–142.
- **Slama A., Ben Salem M., Ben Naceur M. & Zid E.D. 2005.** Les céréales en Tunisi: production, effet de la sécheresse et mécanismes de résistance. Institut national de la recherche agronomique de Tunisie (Inrat). Univ. Elmanar. Tunisie. (http://www.john-libbeyeurotext.fr/fr/revues/agro_biotech/sec/e-docs/00/04/11/2E/telecharger.md).
- **Smaoui. S. 2010.** Purification et Caractérisation de Biomolécules à partir de microorganismes nouvellement isolés et identifiés. Thèse doc : Institut National Polytechnique de Toulouse (INP Toulouse). Pp : 207.
- **Solanki, R., M. Khanna and R. Lal, 2008.** Bioactive compounds from marine actinomycetes. *Indian J. Microbiol.*, 48: 410-431.
- **Solecka J., Zajko J., Postek M. and Rajnisz A. (2012).** Biologically active secondary metabolites from actinomycetes. *Central European Journal of Biology*, 7, 373–390.
- **Soltner D, 1990 :** Les grandes productions végétales céréalières, plantes sarclées- prairies 16ème Ed, collection sciences techniques agricoles. 464p.

- **Stackebrandt E., Rainey F.A. et Ward-Rainey N.L. (1997).** Proposal for a new hierarchic classification system, Actinobacteria classis nov. Int. J. Syst. Bacteriol., 47: 479-491.
- **Stackebrandt E. and Schumann P. (2000).** Description of Bogoriellaceae fam. nov., Dermacocaceae fam. nov., Rarobacteraceae fam. nov. and Sanguibacterceae fam. nov. and emendation of some families of the suborder Micromcoccineae. Int. J. Syst. Bacteriol. 50, 1279-1285.
- **Subramanian, C.V. (1971)** Bipolaris Shoemaker. In: Hyphomycetes: An Account of Indian Species, Except Cercosporae (Subramanian C.V., ed.). New Delhi: Indian Council of Agricultural Research. urfacesterilized banana roots. FEMS Microbiology Letters 247: 147-152.
- **Tanaka, Y. and Omura, S. (1993)** Agroactive Compounds of Microbial Origin. Annual Review of Microbiology, 47, 57-87.
- **Tarabily KA, Soliman MH, Nassar AH, Al-Hassani HA, Sivasithamparam K, McKenna F, Hardy GESTJ (2000).** Biological control of Sclerotinia minor using a chitinolytic bacterium and actinomycetes. Plant Pathol. 49:573-58.
- **Taibaoui 2016.** Mémoire de master, Etude de quelques mécanismes impliqués dans le biocontrôle des agents phytopathogènes et l'effet PGPB de certaines actinobactéries endosymbiotiques
- **Thumar J. T. et Singh. S. P. 2007.** Secretion of an alkaline protease from a salttolerant and alkaliphilic Streptomyces clavuligerus Strain MIT-1. Braz. J. Microbiol.38: p. 766-772.
- **Tiggari 2017.** Mémoire de master .Caractérisation de quelques isolats d'actinobactéries et biocontrôle de la pourriture racinaire du blé dur (Triticum durum Desf) causée par Bipolaris sorokiniana.
- **Tokala, R. K., Strap, J. L., Jung, C. M., Crawford, D. L., Salove, M. H., Deobald, L. A., Morra, M. J. (2002).** Novel plant-microbe rhizosphere interaction involving Streptomyces lydicus WYEC108 and the pea plant (Pisum sativum). Applied Environmental Microbiology, 68, 2161-2171. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.5.2161-2171.2002>
- **Toumatia O. 2010.** Actinomycètes sahariens producteurs d'Antifongiques : Isolement, Taxonomie, Caractérisation des antibiotiques et essais de lutte contre

contre les maladies de plantes. Mémoire de magister en Microbiologie appliquée : Ecole normale supérieure de Kouba-Alger. 139p.

- **Toumatia O. 2010.** Actinomycètes sahariens producteurs d'Antifongiques : Isolement, Taxonomie, Caractérisation des antibiotiques et essais de lutte contre les maladies de plantes. Mémoire de magister en Microbiologie appliquée : Ecole normale supérieure de Kouba-Alger. 139p.
- **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.
- **Triboï, E. (1990).** Modèle d'élaboration du poids du grain chez le blé tendre. *Agronomie*, 10 : 191-200.
- **Trejo-Estrada S.R., Paszczynski A. and Crawford D.L. (1998a).** Antibiotics and enzymes produced by the biocontrol agent *Streptomyces violaceusniger* YCED-9. *Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology*, 21, 81–90.
- **TUNÇW, I., SAHINKAYA, S., 1998.** Sensibilité de deux parasites à effet de serre à des vapeurs des huiles essentielles. *Entomologie expérimentale*.
- **V. Kumar, A. Bharti, Y.K. Negi, O. Gusain, P. Pandey, G.S. Bisht** Screening of actinomycetes from earthworm castings for their antimicrobial activity and industrial enzymes.
- **Verdera. (2009).** Mycostop® biofongicide biologique, un moyen de protection fiable sans danger contre les pathogènes de vos cultures. *Naturally Profitably*. 4p.
- **Vereijken P and Viaux P 1990.** Vers une agriculture intégrée. *La Recherche* 227, 22–25.
- **Vessey.J-K.2003.** Plant growth promoting rhizobacteria as biofertilizers. *Plant soil*.255; 571-586.
- **Voisard, C., Keel, C., Haas, D., Defago, G. (1989):** Cyanide production by *Pseudomonas fluorescens* helps suppress black root rot of tobacco under gnotobiotic conditions. *EMBO J.* 8, 351–358.
- **Watson E.T. and Williams S.T. (1974).** Studies on the ecology of actinomycetes in soil. VII. Actinomycetes in a coastal sand belt. *Soil Biol. Biochem.* 6, 43-52.
- **WADLEY G., MARTIN A., 1993.** The origins of agriculture – a biological perspective and new hypothesis. *Australian Biologist*, 6, 96-105.

- **Williams, S.T. and Wellington, E.M.H. (1982).** Actinomycetes. In: Methods of soil analysis, part 2, Chemical and microbiological properties, second ed. Page A.L., Miller R.H. and Keency O.R. (Eds). American society of agronomy/Soil science
- **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.
- **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, Mathieu F., Zitouni A.2017.** Development of formulations based on Streptomyces rochei strain PTL2 spores for biocontrol of Rhizoctonia solani damping-off of tomato seedlings. BIOCONTROL SCIENCE AND TECHNOLOGY,2017<https://doi.org/10.1080/09583157.2017.1334257>. [154.245.140.91].
- **Zermane, F. 2008.** Etude des caractéristiques culturelles des actinomycètes impliqués dans la biodegradation de la cellulose, des substances pectiques et des composés organiques de synthèse. Mémoire de magister. Université Mentouri Constantine.126 p
- **Zitouni A., Bennadji H., Lamari L., Badji B., Mathieu F., Lebrihi A. and Sabaou N. (2005).** Nocardiopsis and Saccharothrix genera in Saharan soils in Algeria: isolation, biological activities and partial characterization of antibiotics. Res. Microbiol. 156, 984-993.

عنوان المذكرة : اختبار المكافحة البيولوجية لتعفن جذور القمح الصلب بسبب *Bipolaris sorokiniana* باستعمال أكتينوبكتيريا ضمنية.
اللقب: بن سالم الاسم: أمل المؤطرة: زعموم ميادة

ملخص: مجموع 12 عزلة أكتينوبكتيريا من أنواع مختلفة , بهدف تقييم قدرتها على إنتاج إنزيمات التحلل وإفراز الفوسفات غير العضوي. وتحرير الأمونياك, ولإنتاج الهرمونات النباتية, وكذلك الألييات الرئيسية المطبقة فالمكافحة البيولوجية وتأثير PGPR. أظهرت النتائج أن العزلة ML2 تنتمي إلى الجنس *Streptomyces* والعزلة MB22 (*Nocardiopsis*) تقديم نشاط عدائي, هما الأفضل وفقا قدرتهما على إنتاج HCN والإنزيمات . معظم الأكتينوبكتيريا الضمنية المدروسة يمكن أن تحلل الفوسفات الغير عضوي . العزلات MB22 و ML2 تنتج النسبة الأعلى من AIA و AG3. لهذا السبب , كان هذا الأخير موضوع اختيار لإدراج الأبواغ في كرات الجينات الصوديوم ومسحوق التلك من أجل تقييم قدرتها على المكافحة البيولوجية ضد *Bipolaris sorokiniana*.
نتائج المكافحة البيولوجية لهذا العامل الممرض للقمح في التربة المعقمة والغير معقمة تسمح بتصنيف العزلات ML2 MB22 كأفضل عامل معتمد في المكافحة البيولوجية ضد تعفن الجذور أظهرت تحركا ملحوظا جدا على الحد من إنتشار أعراض المرض على النبات بالمقارنة مع مبيد الفطريات الكيماوي Dividend . أثبتت العزلتين فعاليتهما من الحد من إنتشار المرض على زراعة القمح . كذلك أثبتنا القدرة على تحسين طول الجذور وطول شتلة القمح .
المبيدات الفطرية الأكثر فعالية هي تلك التي وضعت مع أبواغ العزلة MB22 بشكل مسحوق التلك وبشكل كرات الجينات الصوديوم , والعزلة ML2 بشكل مسحوق التلك.
الكلمات المفتاحية: أكتينوبكتيريا ضمنية, القمح الصلب , المكافحة البيولوجية, تعفن الجذور, *Bipolaris sorokiniana*, مبيد الفطريات البيولوجية .

Memory title: test of Biocontrol of common root rot of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) caused by *Bipolaris sorokiniana* by endophytic actinobacteria strains.

Name: Bensalem

First name: Amel

Directed by: Zaamoum Miyada

Abstract: A total of twelve isolates of endophytic actinobacterial of various kinds were the object of an evaluation of their capacities to produce lytic enzymes, to solubilize inorganic phosphates, to release ammonia, and to produce phytohormones, as well as the principal mechanisms implied in the biocontrôle and effect PGPR. The results show that isolates ML2 belongs to the kind *Streptomyces* sp.et stock MB22 (*Nocardiopsis* sp). Present an antagonistic activity; they are proven the best according to their capacity to produce the lytic HCN and enzyme. The majority of the actinobacteria endophytes can solubilize inorganic phosphates. Isolates ML2 and MB22 produce the highest rate of AG3 and AIA. For this reason, the latter were the object of a test of inclusion of the spores in sodium alginate balls and talc powder, in order to evaluate their power of biocontrôle with respect to the damage caused by *Bipolaris sorokiniana* on the seedlings of durum wheat.

The results of the biocontrôle of this agent phytopathogene *in vivo* in sterilized ground and ground not sterilized made it possible to classify isolate ML2 and MB22 like the best agents of biocontrôle against the root rot. They showed an action very marked on the reduction of the symptoms of this disease on the seedlings, and this, compared to chemical fungicide (Dividend). The two best selected isolate proved their effectiveness by the reduction of the incidence of the disease on the culture of wheat, as well as the capacity to improve the length of the wheat seedlings and the length root. The most effective biofungicides are those formulated with the spores of MB22 in the form of talc powder, and alginates sodium, and ML2 in the form of talc powder.

Key words: Endophytic Actinobacteria, durum wheat, Biocontrol, root rot, *Bipolaris sorokiniana*, biofungicide.

Titre du mémoire : Essai de Biocontrôle de la pourriture racinaire du blé dur (*Triticum durum* Desf.) causée par *Bipolaris sorokiniana* par des actinobactéries endophytes.

Nom: Bensalem

Prénom: Amel

Encadreur: Zaamoum Miyada

Résumé Un total de 12 souches d'actinobactéries de différents genres ont fait l'objet d'une évaluation de leurs capacités à produire des enzymes lytiques, à solubiliser des phosphates inorganiques, à libérer l'ammoniaque, et à produire des phytohormones, ainsi que les principaux mécanismes impliqués dans le biocontrôle et l'effet PGPR. Les résultats montrent que la souche ML2 appartienne au genre *Streptomyces* sp.et la souche MB22 (*Nocardiopsis* sp). présentent une activité antagoniste, elles sont avérées les meilleures d'après leurs capacité à produire l'HCN et les enzymes lytiques. La majorité des actinobactéries endophytes peuvent solubiliser les phosphates inorganiques. Les isolats ML2 et MB22 produisent le taux le plus élevé d'AG3 et AIA. Pour cette raison, ces derniers ont fait l'objet d'un essai d'inclusion des spores dans des billes d'alginate de sodium et en poudre de talc, afin d'évaluer leurs pouvoir de biocontrôle vis-à-vis des dommages occasionnés par *Bipolaris sorokiniana* sur les plantules du blé dur. Les résultats du biocontrôle de cet agent phytopathogène *in vivo* en sol stérilisé et en sol non stérilisé ont permis de classer les isolats ML2 et MB22 comme les meilleurs agents de biocontrôle contre la pourriture racinaire. Ils ont montrés une action très prononcée sur la réduction des symptômes de cette maladie sur les plants, et ce, comparativement au fongicide chimique (Dividend). Les deux meilleures souches choisies ont prouvé leurs efficacités par la réduction de l'incidence de la maladie sur la culture du blé, ainsi que la capacité d'améliorer la longueur des plantules de blé et la longueur racinaire. Le biofungicides les plus efficaces sont ceux formulés avec les spores de la souche MB22 sous forme de poudre de talc, et sous forme d'alginates de sodium, et la souche ML2 sous forme de poudre de talc.

Mots clé : Actinobactéries endophytes, *Triticum durum*, Biocontrôle, pourriture racinaire, *Bipolaris sorokiniana*, biofungicide.