

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université Abou-Bakr Belkaid – Tlemcen

Faculté des sciences de la nature, et de la vie et sciences de la terre et de l'univers

Département de Biologie

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédicale et à

L'Environnement LAMAABE

MEMOIRE

Présenté par

BOUZEROUATA ASMA

En vue de l'obtention

Diplôme de MASTER en Biologie

Option : MICROBIOLOGIE APPLIQUEE

Thème

**Application de *Bacillus* spp. mésophile
dans la lutte biologique**

Soutenu le 12 Juillet 2017 devant le jury composé de :

Présidente :	Mme Malek Fadila	MCA	Université de Tlemcen
Examineur :	Mme Brahimi-Kholkhal W.	MCB	Université de Tlemcen
Promotrice :	Mme Bensalah Fatima	MCB	Université de Tlemcen

Année universitaire : 2016/2017

Dédicace

Je voudrais remercier tous d'abord, Dieu tout clément et miséricordieux pour être mon meilleur confident et pour me permettre de réaliser mes rêves merci pour me guider et être toujours avec moi

Je dédie ce mémoire

A l'être le plus cher à mon cœur, à celle qui m'a guidée pour faire mes premiers pas et qui m'a appris mon premier mot, à celle qui fut toujours à mes côtés, qui a illuminé mes nuits sombres et a ensoleillé mes jours avec son inépuisable affection, à ma mère à qui je voue tous mes sentiments que son âme repose en paix.

A mon père notre gratitude et m'ont été d'un soutien extraordinaire.

A mes frères et ma sœur, que ce travail soit pour eux un exemple de persévérance dans la vie.

A mes cousins et cousines

A toute ma famille paternelle et maternelle

A tous mes collègues et amis(es).

A mes amis (es) et mes camarades de la promotion Master 2 (microbiologie appliquée)

REMERCIEMENTS

En guise de reconnaissance, je veux remercier toutes les personnes qui, par leurs conseils, leur collaboration ou leur soutien moral et leur amitié, ont contribué à la réalisation et à l'achèvement de ce travail je tiens à exprimer ma reconnaissance à Madame **BENSALAH FATIMA**, d'avoir accepté de m'encadrer qui m'a donné la chance de travailler sous sa direction, dont les encouragements et les conseils m'ont permis de réaliser ce travail.

Je remercie Mme **Malek Fadela** Maitre de conférences au département de biologie pour l'honneur qu'elle me fait en acceptant de présider ce jury.

Je remercie **Mme Brahim** Maitre de conférences au département de biologie d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Je remercie tous les enseignants de mon cursus universitaire qui ont contribué à ma formation.

Mes vifs remerciements vont, également, à tous les techniciens et ingénieurs du département de biologie pour leur aide et surtout pour leurs gentillesse.

Enfin, je remercie toute personne qui m'a aidé de près ou de loin.

Merci à tous

Liste des abréviations

%	Pourcent
°C	Degrés Celsius
PDA	Potatoes Dextrose Agar
mm	Millimètre
µm	Micromètre
pH	Potentiel d'hydrogène
GN	gélose nutritive
h	heure

Liste des figures

Figure 1 : Photographie de Fonte des semis de pin	3
Figure 2 : Photographie de Tubercule de pomme de terre atteint par le mildiou.....	4
Figure 3 : Photographie des Rouilles, Blanche sur abricotier	5
Figure 4 : Photographie de la Rouille, Blanche sur la salade.....	5
Figure 5 : Photographie qui montre L'apparition d'Oïdium sur les feuilles de melon	5
Figure 6 : Photographie des Anthracnoses sur feuilles d'haricots	6
Figure 7 : Photographie des symptômes d'alternariose sur les feuilles à gauche et en adroite sur les tubercules	7
Figure 8 : Photographie de la fusariose qui attaque les céréales	7
Figure 9 : Photographie des symptômes de la pourriture racinaire	8
Figure 10 : <i>Bacillus subtilis</i>	17
Figure 11 : <i>Bacillus cereus</i>	20
Figure 12 : Technique de microculture	26
Figure 13 : Observation macroscopique et microscopique de <i>Bacillus mésophile</i>	26
Figure 14 : Méthode de Confrontation directe entre l'agent pathogène et l'agent antagoniste sur milieu PDA.....	27
Figure 15 : Photographies de colonies de moisissures isolées de plantes infectées.....	30
Figure 16 : Observation microscopique des champignons pytopathogènes	32
Figure 17 : Croissance de <i>Fusarium sp.</i> en absence et en présence de <i>Bacillus mésophile</i>	33
Figure 18 : Croissance de <i>penicillium sp.</i> en absence et en présence de <i>Bacillus mésophile</i>	33
Figure 19 : Croissance d' <i>Aspergillus sp.</i> En absence et en présence de <i>Bacillus mésophile</i>	34
Figure 20 : Pourcentages d'inhibition des souches de moisissures phytopathogènes confrontées au <i>bacille mésophile</i>	34

Liste des tableaux

Tableau 1 : Mécanismes d'action de l'agent pathogène	13
Tableau 2 : Principales espèces de <i>Bacillus</i> utilisées en lutte biologique	23
Tableau 3 : Origine des échantillons prélevés des plantes infectées	24
Tableau 4 : Les résultats de l'isolement de l'agent pathogène à partir de plantes malades.	28

Table des matières

Liste des figures.....	I
Liste des tableaux.....	II
Liste des abréviations.....	III
INTRODUCTION	1
 CHAPITRE 1 : Etude bibliographique	
1. Les principales maladies cryptogamiques	3
1.1. Fonte des semis	3
1.2. Le mildiou.....	4
1.3. La Rouille Blanche.....	4
1.4. Les Oïdiums	5
1.5. Les Anthracnoses	6
1.6. L'alternariose	6
1.7. Les fusarioses	7
1.8. La pourriture racinaire.....	8
2. Moyen de lutte.....	8
2.1. Lutte chimique : Particularité des fongicide.....	8
2.1.1. Préventive.....	9
2.1.2. Curative	9
2.2. Lutte physique	9
2.3. Méthode culturale.....	10
2.4. Lutte biologique	10
3. La lutte biologique	11
3.1. Définition	11
3.2. Les Mécanismes de la lutte biologique	11
3.2.1. Compétition.....	11
3.2.2. L'antibiose.....	12
3.2.3. Parasitisme	12

3.2.4. Production des sidérophores.....	12
3.2.5. Induction des systèmes de résistance de la plante hôte	13
4. Caractéristique microbiologique des <i>Bacillus spp</i> mésophile.....	14
4.1. Définition	14
4.2. Habitat	14
4.3. Culture.....	14
4.4. Taxonomie.....	15
4.5. Classification.....	15
4.6. Le rôle	15
4.7. La production des agents antimicrobiens	16
4.7.1. Activité antibactérienne.....	16
4.7.2. Activité antifongique.....	16
4.8. Exemple de <i>Bacillus</i> mésophile	16
4.8.1. <i>Bacillus subtilis</i>	16
4.8.1.1. Classification.....	17
4.8.1.2. Structure et spécificité d'une spore	18
• Le manteau.....	18
• Le cortex	18
• Le protoplaste ou noyau.....	18
4.8.1.3. Intérêt de <i>Bacillus subtilis</i>	19
4.8.2. <i>Bacillus cereus</i>	19
4.8.2.1. Morphologie et composition	20
4.8.2.2. Ecologie et caractères d'identification	20
4.8.2.3. Le groupe <i>Bacillus cereus</i>	21
4.8.2.4. La température.....	21
4.8.2.5. Description	21
• L'escosporium.....	22
• Le cortex.....	22
• La tunique.....	22
• La membrane interne.....	22

CHAPITRE 2 : MATERIEL ET METHODES

1. Isolement d'agent pathogène	24
2. La purification	25

2.1. La purification de l'agent antagoniste	25
3. Identification des champignons pathogènes	25
3.1. Etude macroscopiques	25
3.2. Etude microscopiques	25
1. Observation directe	25
2. Méthode des microcultures	25
4. Test antagonisme	26
4.1. Souche d'antagonisme	26
4.2. Test d'antagonisme	27

CHAPITRE 3 : RESULTATS ET INTERPRETATION

1. Isolement d'agent pathogène	28
2. Identification des champignons phytopathogènes	29
2.1. Etude macroscopique	29
2.2. Etude microscopique	30
2.2.1. Agent pathogène	30
3. Effet antagonisme de la souche de <i>Bacillus mesophilus</i>	33
Discussion	35
Conclusion	37
Références bibliographiques	38
Annexes	

INTRODUCTION

Les maladies parasitaires des plantes sont causées par l'action d'agents pathogènes (virus, bactéries, champignons, protozoaires, les phanérogames parasites, etc...). Ces parasites sont généralement infectieux car ils envahissent l'hôte et s'y multiplient et sont contagieux, par leur transmission d'une plante infectée à une plante saine. Les champignons phytopathogènes sont responsables de maladies cryptogamiques et sont responsables de près de la moitié des maladies connues à ce jour chez les plantes cultivées (**Lepoivre, 2003**).

À l'instar des autres pays, les maladies dues aux champignons telluriques sont rencontrées en Algérie. D'après la (**F.A.O. 1999**), les maladies phytopathogènes réduisent de 12 à 14% la production agricole mondiale, 70% des dommages étant d'origine fongique (**Aouar, 2012**).

Les microorganismes pathogènes sont difficiles à contrôler car ils peuvent survivre dans le sol pour de longues périodes (**Tschen, 1985**). Pour lutter contre ces maladies, l'application illimitée de pesticides dans les sols peut entraîner la pollution de l'environnement et les eaux souterraines et l'apparition de souches pathogènes résistantes. Une recherche sérieuse est nécessaire pour identifier des méthodes alternatives pour la protection des végétaux, qui sont moins dépendantes des produits chimiques et sont plus respectueuses de l'environnement (**Prapagdee et al, 2008**).

Le contrôle biologique avec les microorganismes bénéfiques permet d'augmenter le rendement en supprimant directement l'inoculum pathogène et/ou en induisant la résistance des plantes. Plusieurs travaux ont été entrepris pour la sélection des antagonistes aux microorganismes phytopathogènes afin de les utiliser comme agents potentiels de lutte biologique.

Les bactéries appartenant au genre *Bacillus mésophile* sont fréquemment utilisées dans le processus de la lutte contre ces phytopathogènes, ce moyen alternatif de protection des plantes par des antagonistes bactériens semble être une solution à la fois élégante et respectueuse de l'environnement, elle répond aux exigences économiques et écologiques. Cette forme de bio-protection permet de réduire et ou d'inhiber la croissance et le développement des champignons phytopathogènes. (**Saidiet al, 2009**).

En outre, le genre *Bacillus mésophile* possède la possibilité de sporuler dans des conditions défavorables ce qui facilite sa production industrielle et sa formulation en un produit stable (Lolloo et al, 2010). Par ailleurs, le genre *Bacillus mésophile* a la capacité d'échapper au phénomène de résistance des ravageurs car il développe plusieurs mécanismes de biocontrôle, de biofertilisation et de phytostimulation comme la plupart des PGPRs (plant growth promoting rhizobacteria), pour augmenter le rendement des cultures agricoles (Ait Kaki, 2014).

Dans cette optique, le but de ce travail est de :

- Isoler des souches de champignons phytopathogènes à partir de plantes malades.
- Identifier les souches fongiques isolées.
- Etudier l'effet antagoniste de *Bacillus mésophile* par confrontation directe avec les agents phytopathogènes isolés.

ETUDE
BIBLIOGRAPHIQUE

1. Les principales maladies cryptogamiques

Les maladies cryptogamiques sont causées par des champignons phytopathogènes qui constituent un groupe d'organismes microscopiques hétérotrophes Ubiquistes, présentant des structures et des caractéristiques biologiques extrêmement diversifiées. (**Kirk *et al*, 2001**). Plusieurs genres de champignons telluriques sont capables d'infecter les racines de plantes sauvages et cultivées et de causer des dégâts importants. Il s'agit notamment des genres *Aspergillus*, les *Penicillium* et les *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria*, *Pythium*, *verticilium*... L'ensemble de ces microorganismes provoquent des maladies sur diverses cultures maraîchères, céréales, plantes, (**Agrios, 2005**).

1.1. Fonte des semis

Elle correspond à une altération des tissus du collet de la plantule accompagnée d'un rétrécissement en diamètre (Figure 1). La plantule s'affaisse comme cisailée à la base, puis flétrit. En pleine terre la maladie évolue de proche en proche formant des taches de mortalités caractéristiques de la fonte des semis, ce phénomène est causée par des champignons comme *pythium* (**Le poivre, 2003**).



Figure 1 : Photographie montrant la fonte des semis de pin (**Le poivre, 2003**).

1.2. Le mildiou

Cette maladie est considérée comme un ennemi de culture de la pomme de terre cassée par *phytophthora infestans*. L'agent pathogène attaque les feuilles et entraîne l'apparition de taches jaunes aqueuses de forme irrégulière, qui brunissent (figure 2), puis les tiges sont attaquées avec l'apparition des taches brunes. En présence de l'humidité et sur la face inférieure on peut observer l'apparition d'une moisissure blanche, la maladie peut évoluer rapidement, ces taches se réunissent entre elles et provoquent le dessèchement qui conduit à la mort de la plante, les décompositions s'accompagnent d'une odeur caractéristique (Fernandez-Acero, 2014).



Figure 2 : Photographie de tubercule de pomme de terre atteint par le mildiou (Fernandez-Acero, 2014).

1.3. La Rouille Blanche

Les symptômes induits par les *Albuginaceae*, qui sont des parasites obligatoires. Ces champignons provoquent des taches jaunes ou brunes sur les feuilles (figure 3). Au revers, des pustules d'environ 1 mm de diamètre remplies d'une poussière orangée, virant au brun selon les plantes, se développent (figure 4). Lorsque les taches sont nombreuses, le feuillage se dessèche et meurt. Cette maladie touche pratiquement tous les légumes du potager et certains arbres fruitiers. (Jérôme 2011)



Figure 3 : Photographie des Rouilles Blanche sur abricotier ((Blancard, 1997)



Figure 4 : Photographie de la Rouille Blanche sur la salade (Blancard, 1997)

1.4. Les Oïdiums

L'oïdium ou les blancs représentent un groupe de maladies très répandues qui affectent pratiquement toutes les espèces végétales. Les champignons en cause sont réunis dans l'ordre des *Erysiphales*, sont des parasites obligatoires se développant essentiellement sur les feuilles les boutons et les fruits. Cette maladie est caractérisée par la présence d'une poudre blanche à la surface des feuilles et des fruits (Figure 5) (Lichou 2001).



Figure 5 : Photographie qui montre L'apparition d'Oïdium sur les feuilles de melon (Loria et al, 1997).

1.5. Les Anthracoses

Se traduit par des taches brunes à noires sur les feuilles. Cette maladie peut être causée par *Cladosporium*. La maladie peut atteindre les fruits, sur lesquels apparaissent des taches rondes et brunes qui peuvent être auréolées de rouge-mauve et qui finissent par pourrir.

L'anthracnose peut affaiblir la plante en diminuant son capital chlorophyllien, et nuire à la production fruitière, mais ne menace pas directement la vie de la plante. (Figure 6). Cette maladie affecte de nombreuses espèces de plantes cultivées : des arbres et arbustes fruitiers, des arbustes d'ornement et des plantes potagères (maïs, fraisier, haricot, pois...) (**Chaux et Foury, 2003**)



Figure 6 : Photographie des Anthracoses sur feuilles d'haricots (**Chaux et Foury , 2003**)

1.6. L'alternariose

Cette maladie est causée par des espèces du genre *Alternaria*. Les premiers symptômes sur feuilles apparaissent en général après la floraison, sur les feuilles les plus âgées, et en bas de tige (Figure 7). Il s'agit de petites taches des structures plus ou moins circulaires, les lésions peuvent se détacher et faire place à des trous. Au départ de l'infection les taches sont petites (quelques 2 mm) mais quand la maladie progresse, ces taches grandissent et peuvent même gagner l'ensemble de la feuille. (**Ryckmans, 2009**).



Figure 7 : Photographie des symptômes d'alternariose sur les feuilles à gauche et en adroite sur les tubercules (Ryckmans ,2009).

1.7. Les fusarioses

Causées par les espèces du genre *Fusarium*. Elles provoquent généralement un flétrissement des organes. Des coupes transversales dans les rameaux révèlent fréquemment des brunissements des vaisseaux. Des symptômes foliaires asymétriques sont souvent observés, Ainsi que des changements de couleurs, des altérations d'organes (Figure 8), des modifications anatomiques et des altérations du métabolisme (Lepoivre, 2003).



Figure 8 : Photographie de la fusariose qui attaque les céréales ((Blancard, 1997)

1.8. La pourriture racinaire

Cette maladie est induite par les espèces du genre *Phytophthora* qui peut attaquer un grand nombre de végétaux. Le champignon provoque de nombreuses lésions brun rougeâtres humides, évoluant rapidement en pourriture suivit du développement d'un chancre brun sur la tige et le collet sous forme d'une flamme, suivit de la chute des feuilles (Figure 9) (Blancard, 1997).



Figure 9 : Photographie montrant les symptômes de la pourriture racinaire (Blancard, 1997)

2. Moyens de lutte

Pour aboutir à des cultures et des récoltes saines, quelle que soit la région, on doit faire appel à des méthodes de lutttes efficaces (champion et al, 2009).

2.1. Lutte chimique

La lutte chimique contre les maladies des plantes a commencé en 1865 avec l'utilisation de la bordelaise (fongicide à base de cuivre) contre l'Oïdium et le mildiou de la vigne. L'emploi d'insecticides (l'acidebenzoïque, le parathion) et d'herbicide (2.4.D : Dichloro-2 ,4 phénoxyacétique acide, MCPA : Chloro-4methyle -2 phénoxyacétique) n'a eu lieu qu'à la fin

de la seconde guerre mondiale. Avec ces produits débute une autre nouvelle aire celle des produits de l'agrochimie, phytosanitaire ou encore appelés pesticides, c'est l'ère de la phytopharmacie (**Richard et al, 2011**).

Des fongicides systémiques (thiabendazole, benomyl,...) utilisés pour traiter les plantes entières sont absorbées par le feuillage et les racines, et transportés par le xylème (**Erwin et Buchenauer, 2012**). Un mélange de l'acide aminé méthionine et de vitamine A semblé être un fongicide efficace contre des différentes champignons phytopathogènes dans la mesure où la luminosité est suffisante (**Tzeng, 2014**).

2.2. Particularités des fongicides

La particularité importante est la très haute activité spécifique vis-à-vis de sa cible. Ces produits ont deux actions :

2.2.1. Préventive : inhibe la croissance des tubes germinatifs du champignon qui ne peut plus pénétrer dans la feuille.

2.2.2. Curative : est l'encapsulation des haustoria par la plante elle-même. Les haustoria perdent leur fonction de nutrition du champignon à la surface de la feuille.

2.3. Lutte physique

Il faut empêcher la conservation des agents phytopathogènes dans l'environnement, les débris de plantes malades, sont susceptible de produire un inoculum capable d'attaquer les plantes cultivées saines placées dans un substrat sain. En vue de limiter ces sources, potentielles de contamination plusieurs méthodes préventives peuvent être utilisées notamment la destruction par le feu des débris végétaux infectés ou leur enfouissement dans le sol (**Vanderbergh 2015, Mechara et Acila, 2009**).

La désinfection du sol, soit par la solarisation ou traitement à la vapeur, semble la seule méthode de contrôle éprouvée. La solarisation consiste à bien mouiller le sol et à le recouvrir d'une toile plastique pendant les périodes les plus chaudes de l'été (**Skoudriadakis et Bourdos 1989**), la température sous la toile devient rapidement très élevée, ce qui détruit les organismes responsables des maladies des plantes tels que les champignons phytopathogènes, qui sont éliminés après 6 à 8 semaine (**Melero-Vara et al 2013**).

2.4. Méthodes Culturelles

Plusieurs techniques culturelles réduisent le risque des maladies avant ou pendant l'implantation de la culture (**Maufras, 2001, Hosford, 2012**) :

- Eviter les semis précoces et trop denses.
- Assurer un désherbage permettant d'éliminer les mauvaises herbes qui entretiennent un microclimat humide qui pourrait être un foyer de germes pathogènes.
- Eliminer les repousses de plantes.
- Respecter les assolements et les rotations (**Maufras, 2001, Hosford, 2012**).
- Une bonne fertilisation azotée peut également réduire les attaques des maladies foliaires.

2.5. Lutte biologique

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

En plus de son rôle dans la restauration de la biodiversité dans les écosystèmes, la lutte biologique présente un rôle important dans le contrôle des maladies phytopathogènes (**Emmert et Handelsman, 2003**) que l'utilisation des fongicides chimiques.

La lutte biologique est considérée comme une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques qui constituent un danger sur l'environnement et sur l'homme (**Cook, 2014, Benbrook et al, 2008**).

La lutte biologique a une efficacité relative et demande plus de connaissances et d'observations, mais à long terme, elle est beaucoup plus intéressante sur le plan environnemental et économique (**Corbaz, 2000, Toussaint, 2007**).

3. La Lutte biologique

3.1. Définition

La lutte biologique consiste à combattre une maladie causée par un organisme au moyen d'un autre organisme. Une autre définition plus large de la lutte biologique est parfois utilisée "Toute action mettant en jeu des organismes modifiant l'hôte, y compris les méthodes culturales, qui permettent de diminuer, par voie directe ou indirecte, les dommages causés par un parasite" (**Corbaz, 1990**). La lutte biologique est considérée comme une voie alternative à l'utilisation des produits chimiques qui constituent un danger pour l'environnement et pour l'homme. L'utilisation de plusieurs modes d'action par un seul agent antagoniste et sa capacité d'adaptation à la rhizosphère contribuent à ce que la lutte biologique devienne plus durable que les produits chimiques (**Benbrook et al, 1996**).

3.2. Les Mécanismes de la lutte biologique

La protection conférée par un microorganisme de lutte biologique s'appuie sur un ou plusieurs mécanismes d'antagonisme, est une interaction directe entre deux microorganismes partageant la même niche écologique (**Alabouvette et al, 2006**), tels que la compétition (pour éléments nutritifs, l'oxygène, l'espace), l'antibiose, le parasitisme et la production des sidérophores. L'étude de ces mécanismes d'action est une étape importante dans le développement de la lutte biologique (**Jijakli, 2003**).

3.2.1. Compétition

La compétition entre deux ou plusieurs microorganismes concerne soit l'élément nutritif, l'espace ou les autres facteurs environnementaux qui deviennent limitatifs pour la croissance. L'effet sélectif des exsudats racinaires sur la microflore serait le résultat de la compétition qui oppose des souches à croissance lente et des souches à croissance rapide, ces dernières sont particulièrement favorisées dans la rhizosphère (**Alabouvette et al, 2006**).

La compétition spatiale contribue aussi à la réduction des infections racinaires par les agents phytopathogènes. En effet, les microorganismes ayant la capacité de coloniser les racines comme les bactéries promotrices de la croissance des plantes (Plant Growth Promoting Bacteria, PGPB) protègent les racines et occupent les sites d'infection aux agents phytopathogènes (**Benítez et al, 2004**).

3.2.2. L'antibiose

La sécrétion de substances antibiotiques par les microorganismes est un phénomène fréquent. Certains métabolites sont capables d'interférer avec la germination, la croissance mycélienne et/ou la sporulation des agents phytopathogènes, D'autres entraînent l'ère largage de composés cellulaires suite à la perturbation de la perméabilité cellulaire, L'antibiose est le mode d'action le plus étudié chez les agents de lutte biologique (**Jijakli, 2003**).

3.2.3. Parasitisme

Ce mécanisme de lutte consiste en une interaction directe entre deux microorganismes ou les tissus vivants de l'un constituent une base nutritive pour l'autre (**Helluy et Holmes, 2005**). Il implique l'invasion des cellules de l'agent pathogène par le microorganisme Antagoniste (**Corbas, 1990**). L'agent antagoniste utilisera des enzymes lytiques tels que des glucanases, des chitinases et des lysozymes pour dégrader les parois de l'agent pathogène. (**Valueva et Mosolor, 2004**) ont montré que les enzymes utilisées par les antagonistes ont souvent une activité en mélange ou en synergie avec les antibiotiques. Par exemple, il a été démontré que les hyphes de l'agent pathogène *Rhizoctonia solani* et les spores de l'agent pathogène *Cochliobolus sp.* Peuvent être perforées dans le sol par des myxobactéries du genre *Polyangium*.

3.2.4. Production des sidérophores

Les sidérophores sont des molécules extracellulaires qui possèdent une grande affinité pour le fer ferrique (Fe^{3+}). Ce dernier est présent dans le sol à faible concentration sous forme de $Fe(OH)_3$. Les champignons et toutes les bactéries aérobies et anaérobies facultatives produisent une grande variété de sidérophores. Les sidérophores produits par *Bacillus subtilis* en séquestrant le fer ferrique au niveau de la rhizosphère peuvent causer l'inhibition des autres micro-organismes y compris les phytopathogènes dont l'affinité pour le fer est faible (**Jijakli, 2003**).

3.2.5. Induction des systèmes de résistance de la plante hôte

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

Tableau 1 : Mécanismes d'action de l'agent pathogène(**Errakhi, 2008**)

Agent de biocontrôle	Agents phytopathogènes cibles	Mécanisme (s) d'action
<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Roselliniana</i> spp.	Parasitisme
<i>Trichoderma koningii</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>	Parasitisme
<i>Pseudomonas</i> spp. DF-41 et PA-2	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Antibiose
<i>Streptomyces</i> sp. Di-944	<i>Rhizoctonia solani</i>	Antibiose
<i>Streptomyces</i> sp. 93	<i>Pythium, aphanomyces, Phytophthora, Rhizoctonia</i> et <i>Fusarium</i> spp.	Antibiose
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Aspergillus flavus, A. niger, Rhizoctonia bataticola, Rhizoctonia solani, Sclerotium rolfsii</i> et <i>Puccinia arachidis</i>	Antibiose Compétition
<i>Streptomyces diastatochromogenes</i> PonSSII	<i>Streptomyces scabies</i>	Antibiose Compétition
<i>Pseudomonas</i> spp.	<i>Gaeumannomyces graminis var. tritici, Pseudomonas tolaasii, Fusarium oxysporum f. sp. lini</i> et <i>Erwinia amylovora</i>	Antibiose Compétition
<i>Trichoderma</i> spp.	Plusieurs champignons phytopathogènes	Parasitisme Antibiose Compétition
<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Fusarium</i> spp.	Antibiose

4. Caractéristiques microbiologiques des espèces du genre *Bacillus*

4.1. Définition

Le genre *Bacillus* est hétérogène, aéro anaérobie facultatif à Gram positif, formant des spores, mobiles, C'est l'ensemble des micro-organismes aptes à se multiplier à l'air aux températures moyennes, plus précisément ceux dont la température optimale de croissance est située entre 20 et 40°C. Ils peuvent être des micro-organismes pathogènes ou d'altération (**Bougeois et Leveau, 2006**). Les bacilles appartiennent à la famille des Bacillaceae à l'ordre des Bacillales, à la classe Bacilles (Bacilli) (**Maughan et Van der Auwera, 2011**)

4.2. Habitat

Les *bacillus spp mésophile* sont des germes ubiquitaires de l'environnement car leurs spores leur confèrent une grande résistance. On en trouve dans le sol qui constituent le principale réservoir (**Yilmaz et al, 2006**), Dans l'eau de mer et sur les plantes, insectes, animaux, et de l'air (**Pignatelliet et al, 2009**), On en trouve également dans les aliments (cacao, sucre, épices, lait) et même dans les produits stérilisés alimentaires ou médicamenteux à cause de la thermorésistance des spores

4.3. Culture

Ils se cultivent bien sur milieux ordinaire (la gélose nutritive ou milieu phosphate tryptose et la croissance dans Mueller Hinton) (**Perez et al, 2007**), Dans de larges limites de température 12 à 45C°, Mais la plupart se développent plus vite à 30° à 37C°, Leur culture est abondante en 24h en bouillon comme en gélose

4.4. Taxonomies

Les bactéries du genre *Bacillus* font partie de la famille des Bacillaceae (**Delerras, 2007**)

Règne	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Famille	<i>Bacillaceae</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Genre	<i>Bacillus</i>
Espèces	<i>Bacillus spp</i>

4.5. Classification

La classification la plus utilisée se fonde sur la forme de la spore et distingue trois groupes (**Maughan et Van der Auwera, 2011**)

- *Bacillus* à spore ovale non déformante
- *Bacillus* à spore ovale déformante
- *Bacillus* à spore ronde déformante

4.6. Le rôle

Bien que, pour la plupart des espèces, ces bactéries ne soient pas dangereuses pour la santé, leur détection dans les aliments traduit une altération. Elle amoindrit la qualité intrinsèque de la denrée (goût, odeur, aspect). Leur nombre révèle avant tout que le procédé de préparation d'une denrée a été exécuté dans des conditions de bonnes pratiques de fabrication insuffisantes. (**Joanne, 2008**).

4.7. La production des agents antimicrobiens par les bacilles mésophiles

4.7.1. Activité antibactérienne

Une activité antimicrobienne est connue pour les bactéries mésophiles du genre *Bacillus*. En effet elles sont capables d'inhiber la croissance de différents types de bactéries pathogènes telles que : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* (Pereza et al, 1993)

4.7.2. Activité antifongique

Une activité antifongique est connue pour les *bacilles spp mésophiles*, En effet ils sont capables d'inhiber la croissance des champignons phytopathogènes *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia ozyzae*, *Aspergillus niger* (Pereza et al, 1993)

4.8. Exemple d'espèces mésophiles du genre *Bacillus*

4.8.1. *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis, connu aussi comme le bacille du foin ou le bacille de l'herbe, est une bactérie Gram-positif, catalase-positif, c'est surtout une espèce ubiquitaire. Sa longueur varie de 2 à 4 µm et sa largeur de 0,5 à 2 µm. Elle a pour forme cellulaire des bâtonnets droits à bout arrondis. Elle est mobile grâce à une ciliature péritriche (un système de flagelle qui recouvre tous les côtés de la surface d'une bactérie). Elle est aérobie stricte, sa température optimale est de 40 °C trouvée dans le sol. Peut former une endospore dure protectrice, classé comme un aérobie obligatoire (Bridier et al ,2010).

C'est une Bactérie antagoniste de nombreux champignons pathogènes et utilisé comme moyen de lutte biologique contre ceux-ci dans de nombreuses cultures et particulièrement contre la pourriture grise dans les vignes. (Sonenshein, 2001).

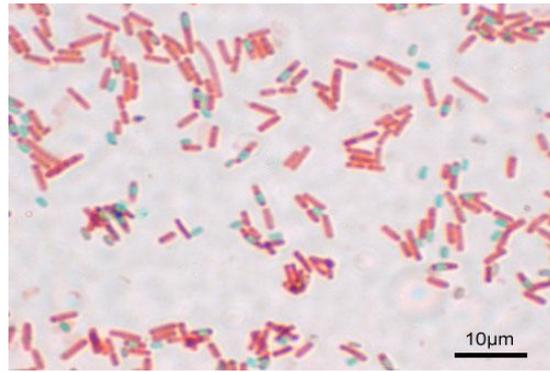


Figure 10 : Photographie de l'observation microscopique de *Bacillus subtilis* (Bridier et al ,2010).

4.8.1.1. Classification de *Bacillus subtilis*

Domaine: Bacteria

Phylum: Firmicutes

Classe: Bacilli

Ordre: Bacillales

Famille: Bacillaceae

Genre: *Bacillus*

Species: *B. Subtilis*

4.8.1.2. Structure et spécificité d'une spore mature

Certaines bactéries, appartenant aux genres *Bacillus*, *Clostridium* (bâtonnets) ou *Sporosarcina* (coques) sont capables dans des conditions défavorables, de produire une structure de résistance particulière : l'endospore. La sporulation est le processus qui conduira à la formation de cette forme cellulaire de résistance qui s'appuie sur une morphologie unique et remarquable.

❖ Le manteau (ou enveloppe)

Le manteau est constitué d'environ 30 à 80 protéines spécifiques différentes et est organisé en deux parties : l'enveloppe interne et l'enveloppe externe (**Setlow and Johnson, 2007; Leggett et al, 2012**). Dans les spores dormantes, le manteau représente une grande fraction du volume de la spore. En effet, son épaisseur est d'environ 77 nm pour un rayon total de la spore d'environ 577 nm (**Westphal et al, 2003**).

❖ Le cortex

Le cortex est constitué d'une forme de peptidoglycane (hétéropolymère de deux dérivés glucidiques, la N-acétyl-glucosamine (NAG) et l'acide N-acétyl-muramique (NAM) et de différents acides aminés) qui est similaire, mais non identique, au peptidoglycane des parois des cellules végétatives (**Westphal et al, 2003**).

❖ Le protoplaste ou noyau

Il s'agit de la structure centrale de la spore, contenant le matériel génétique, la plupart des enzymes synthétisées ainsi qu'une molécule en quantité très abondante et spécifique à la spore : l'acide pyridine-2,6-dicarboxylique ou acide dipicolinique (DPA) (**Storz and Hengge, 2011**).

4.8.1.3. Intérêt de *Bacillus subtilis*

Sa capacité à croître rapidement, à atteindre de hautes densités cellulaires et à sécréter un grand nombre de molécules en a fait un outil suscitant l'intérêt des industries agroalimentaires et sanitaires pour ses enzymes et les industries pharmaceutiques et cosmétologiques pour ses molécules à large spectre d'activités biologiques, notamment les antibiotiques. *Bacillus subtilis* est capable de produire des molécules peptidiques qui ne sont pas issues du dogme central de la biologie moléculaire qui est la synthèse peptidique non ribosomale NRPS (Boston, 2001)

L'industrie agroalimentaire, pharmaceutique et biochimique, s'intéresse aussi à *Bacillus subtilis*. Elle est, en effet, source d'enzymes industrielles telles les amylases, utilisées dans l'industrie du pain, ou encore des protéases et cellulases, dans l'industrie des détergents. Sa capacité à produire des antibiotiques, comme la bacitracine en fait un organisme d'intérêt également pour l'industrie pharmaceutique. (Kunst et al. 1997)

4.8.2. *Bacillus cereus*

Les espèces du genre *Bacillus* sont ubiquitaires et peuvent être isolés à partir d'environnement divers : l'eau douce, l'eau salée, sol, plantes, animaux et air, le métabolisme de *Bacillus* a été exploité en industrie pour la production des molécules telle que : riboflavine, B lactamases (Maughan et Van der Auwera, 2011)

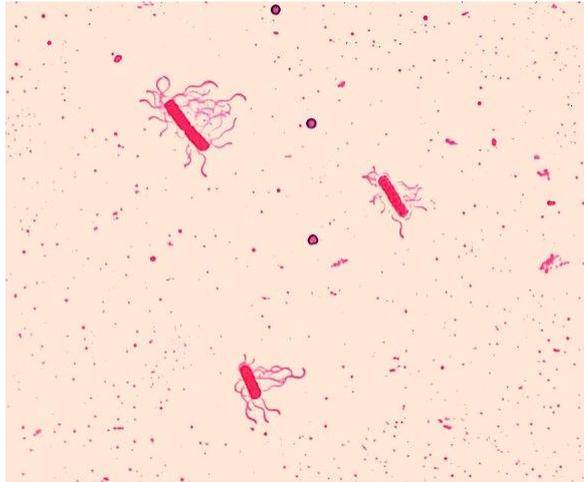


Figure11 : Photographie de l'observation microscopique *Bacillus cereus* (**Lekshmi et al, 2011**)

4.8.2.1.Morphologie et composition

Les spores contiennent un noyau cellulaire relativement déshydraté entouré par un peptidoglycane (le cortex), une couche externe protectrice contenant des couches protéiques (le manteau) et une couche extérieure appelée exosporium (**Lekshmi et al, 2011**), ce dernier se compose d'une couche basique soutenant une filamenteuse poilue (**Cybulski et al, 2009**).

L'exosporium se compose d'une couche saccharidique qui diffère d'une souche à une autre, des lipides et des protéines, ces derniers sont susceptibles d'avoir des interactions avec l'environnement (**Cybulski et al, 2009 ; Swiecki et al, 2006**)

4.8.2.2. Ecologie et caractères d'identification

Bacillus cereus est une espèce ubiquiste, vivant comme saprophyte dans le sol mais également trouvé dans les aliments en particulier les produits laitiers, c'est une bactérie anaérobie facultative, génératrice de spores, et mésophile, la plupart des souches de *Bacillus cereus* sont mobiles par l'intermédiaire de flagelles péritriches, se développent sous forme de colonies irrégulières, métabolisent le glucose comme source de carbone, hydrolysent l'amidon et la gélatine, montrent une activité hémolytique, sont résistantes à l'ampicilline, et montrent l'activité prononcée de lécithinase (**Vilas Boas et al, 2007**)

4.8.2.3. Le groupe *Bacillus cereus*

Bacillus cereus est un membre du genre *Bacillus* qui comprend six espèces étroitement liées : *Bacillus anthracis*, *Bacillus cereus sensu stricto*, *Bacillus mycoides*, *Bacillus pseudomycoïdes*, *Bacillus thuringiensis* et *Bacillus weihenstephanensis* (Carlin et al, 2010),

4.8.2.4. La température

La température optimale de croissance sont généralement situés entre 30°C et 37°C, cependant certains membres sont plus tolérants et sont capables de se développer à des températures très élevées 42°C ou très basses 7°C (Lechner et al, 1998)

Au cours de leur croissance, les bactéries du groupe *Bacillus cereus* sont présentes sous deux formes :

- ✓ La première est la forme végétative, elle est observée lorsque les conditions environnementales sont favorables à la multiplication *des bacilles*, les bactéries sont alors en forme de bâtonnet de 1 à 3 um de large pour 3 à 10 um de long isolées ou organisées en chaînettes plus ou moins longues.
- ✓ Lorsque les conditions environnementales sont défavorables (carences nutritionnelles), la bactérie entame la sporulation qui aboutit à la forme dormante résistante la spore

4.8.2.5. Description

La résistance des spores aux environnements défavorables est la conséquence directe de leurs structures, se composant d'un noyau déshydraté entouré par plusieurs couches protectrices (Abee et al, 2011)

Les spores du groupe *Bacillus cereus* partagent une même architecture, comportant les couches suivantes (Faille et al, 2010)

❖ L'exosporium

L'exosporium est la couche externe qui entoure toutes les autres couches de la spore, cette couche est composée principalement de glycoprotéine , de protéines et de lipides(**Henrique et Moran, 2007**) elle est couverte par des appendices (**Faille et al, 2010**).

❖ Le cortex

Le cortex qui peut occuper plus de la moitié de la spore et il est constitué en majorité de peptidoglycanes, cette couche permet une grande résistance aux variations de pression osmotique (**Prescott et al, 2003**)

❖ La tunique

La tunique qui est composée en majorité de protéine, cette couche confère à la spore son imperméabilité ainsi que sa grande résistance à différents agents chimiques ou environnementaux (**Driks 2007, Setlow, 2006**)

❖ La membrane interne

La membrane interne est composée de phospholipides ainsi que de protéine et recouvre complètement le protoplaste qui comporte toutes les structures intracellulaires de la spore par exemple les ribosomes ainsi que l'ADN (**Driks, 2007 ; Prescott et al, 2003 ; Setlow, 2003**)

Tableau2:Principales espèces de *Bacillus* utilisées en lutte biologique (Trotel, 2008)

Espèce	Mode d'action	Cible
<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>kurstaki</i>	Production d'endotoxines	Lépidoptères,coléoptères Larves de Diptères
<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>israelensis</i>		Coléoptères Lépidoptères
<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>galleriae</i>		<i>Plutellaxylostella</i> : teigne des brassicacées (chou, chou-fleur, colza, moutarde)
<i>Bacillus thuringiensis</i> <i>japonensis</i>		
<i>Bacillus sphaericus</i>		Toxines insecticides
<i>Bacillus subtilis</i>	Antibiotiques, fongicides	<i>Rhizoctonia</i> , <i>Fusarium</i> , <i>Phthophthora</i> , <i>Botrytis</i>

MATERIEL
ET METHODES

1. Isolement de l'agent pathogène

Un total de 23 échantillons des plantes malades ont été prélevés de différentes régions de l'ouest algérien au laboratoire.

Les échantillons sont découpés en petites fragments et déposés sur gélose PDA additionné de 1ml d'acide lactique pour inhiber la croissance bactérienne, l'incubation se fait à 25°C pendant 5 à 7 jours (Tsrer et al, 1998)

Tableau 3 : Origine des échantillons prélevés de plantes infectées.

Plante Hôte	Partie Prélevée	Lieux de prélèvement	Date de prélèvement
Tomate	Fruit	AinT'emouchen-Beni saf-	13/02/2017
Tomate	Feuille	Tlemcen	28/02/2017
Pomme de terre	Fruit	Ain Temouchent-Oulhaça-	15/02/2017
Pomme de terre	Feuille	Ain Temouchent-Bradj-	09/02/2017
Pomme de terre	Tige	Ain Temouchent-Rachgoun-	22/02/2017
Oignons	L'écorce d'oignon	Ain Temouchent-Beni saf -	13/02/2017
Oignons	Fruit	Ain Temouchent-Ain larbaa -	18/02/2017
ail	fruit	Ain Temouchent-E.Abd el kader-	20/02/2017
Betterave	Feuille	Ain Temouchent-Bradj-	09/02/2017
Betterave	Tige	Ain Temouchent-Bradj-	09/02/2017
L'olive	Tige	AinT'emouchent-Beni saf-	13/02/2017
L'olive	Fruit	Ain Temouchent-E.Abd el kader-	20/02/2017
L'olive	Feuille	AinT'emouchent -Beni saf-	13/02/2017
Les pois chiches	Feuille	Ain Temouchent-Bradj-	09/02/2017
Le navet	Fruit	Ain Temouchent-Bradj	09/02/2017
Le blée	Grain	Tlemcen	05/03/2017
Le persil	Fleur	AinT'emouchent -Beni saf-	13/02/2017
L'orange	L'écorce d'orange	Tlemcen	25 /02/2017
L'orange	Fruit	Ain Temouchent-E.Abd el kader-	20/02/2017
L'orange	Feuille	Ain Temouchent-Bradj-	09/02/2017
L'aubergine	Feuille	AinT'emouchent -Beni saf-	13/02/2017
L'aubergine	Fruit	AinT'emouchent -Oulhaça-	15/02/2017
Carotte	Feuille	Ain Temouchent-Bradj-	09/02/2017

2. La Purification

Après isolement les souches obtenues sont purifiées par des repiquages successifs sur milieu PDA. L'incubation se fait à 25°C pendant 7 à 10 jours

3. Identification des champignons pathogènes

L'identification de l'agent causal se base sur des observations macroscopiques et microscopiques :

3.1. Etude macroscopiques

Elle consiste à observer à l'œil nu ou à la loupe binoculaire l'aspect morphologique, la pigmentation et la couleur de la colonie.

3.2. Etude microscopique

3.2.1. Observation directe

Afin de prélever des spores et des filaments mycéliens de la souche fongique à identifier, un morceau de papier adhésif (scotch) est mis sur la culture puis déposé sur une lame contenant une goutte de bleu coton (lactophénol et bleu de méthylène) qui permet de gonfler les filaments de mycélium et donner une meilleure observation.

L'observation microscopique permet la visualisation de la forme du mycélium et les spores caractéristique des champignons pathogènes.

3.2.2. Méthode des microcultures

Elle est effectuée selon la méthode des microcultures (**Harris, 1989**). Elle consiste à ensemercer les bords d'un petit carreau d'une mince couche de milieu PDA par les spores de l'agent pathogène. Le carreau ensemençé est déposé sur une lame stérile être couvert par une lamelle. La lame est placée dans une boîte de Pétri stérile, contenant du papier filtre stérile, imbibé d'eau distillée stérile. Après 3 à 4 jours d'incubation, la lamelle à laquelle adhère le mycélium est transférée sur une autre lame contenant quelques gouttes de bleu de coton pour l'observation microscopique (Figure 12). L'identification au genre des champignons se fait en se référant au guide de Barnett

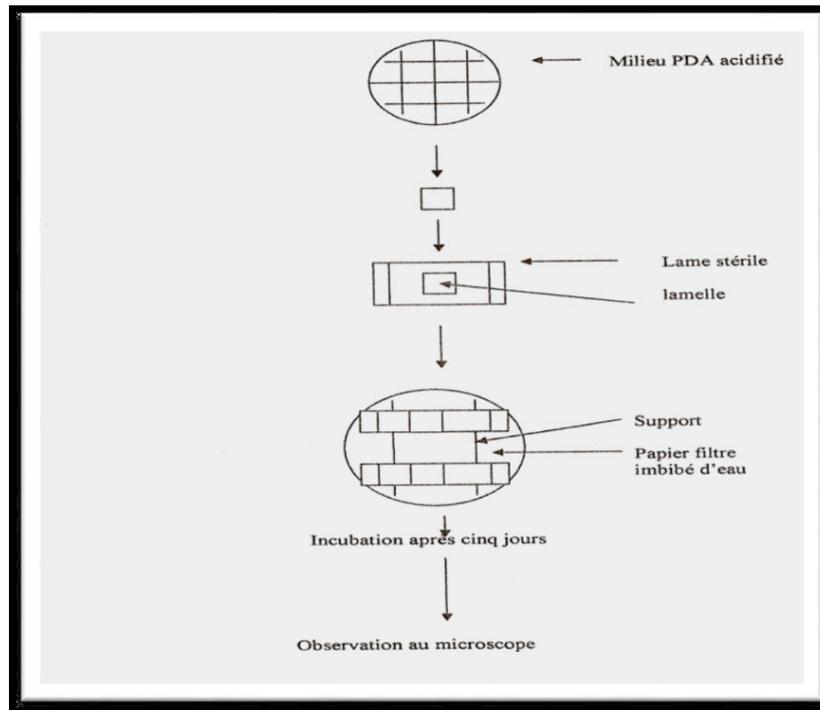


Figure 12: Technique de microculture (Harris, 1982).

4. Test d'antagonisme

4.1. Souche d'antagonisme

La souche utilisée pour le test d'antagonisme a été fournie par Dr Malek F. Maitre de Conférence au département de Biologie, Université de Tlemcen. Cette souche est une espèce mésophile appartenant au genre *Bacillus* (Figure 13) qui a été isolée dans la région d'Adrar. Le pouvoir antagoniste in vitro a été étudié par la méthode de co-culturing sur milieu PDA et GN (gélose nutritive) décrite par (El-Hassni et al, 2007)



Figure 13: Observation macroscopique et microscopique de *bacillus pp mésophile*

4.2. Test d'antagonisme

La souche de *Bacillus spp mésoophile* est ensemencée par une strie longitudinale sur le centre du milieu PDA. Après 48h d'incubation deux explants du champignon phytopathogène de 5mm de diamètre âgé de 7jours sont déposés sur les deux cotés de la strie de chaque bactérie a une distance de 2,5cm. Les boites témoins sont ensemencées avec les disques du champignon en absence de la bactérie antagoniste. Les boites sont incubées à 25°C pendant 7 à 10 jours.

Les diamètres de la croissance des champignons ont été mesurés et comparé par rapport au témoin.

Les pourcentages d'inhibition sont calculés selon la formule :

$$(T - d / T) \times 100$$

T= diamètre du témoin.

d= diamètre du test.

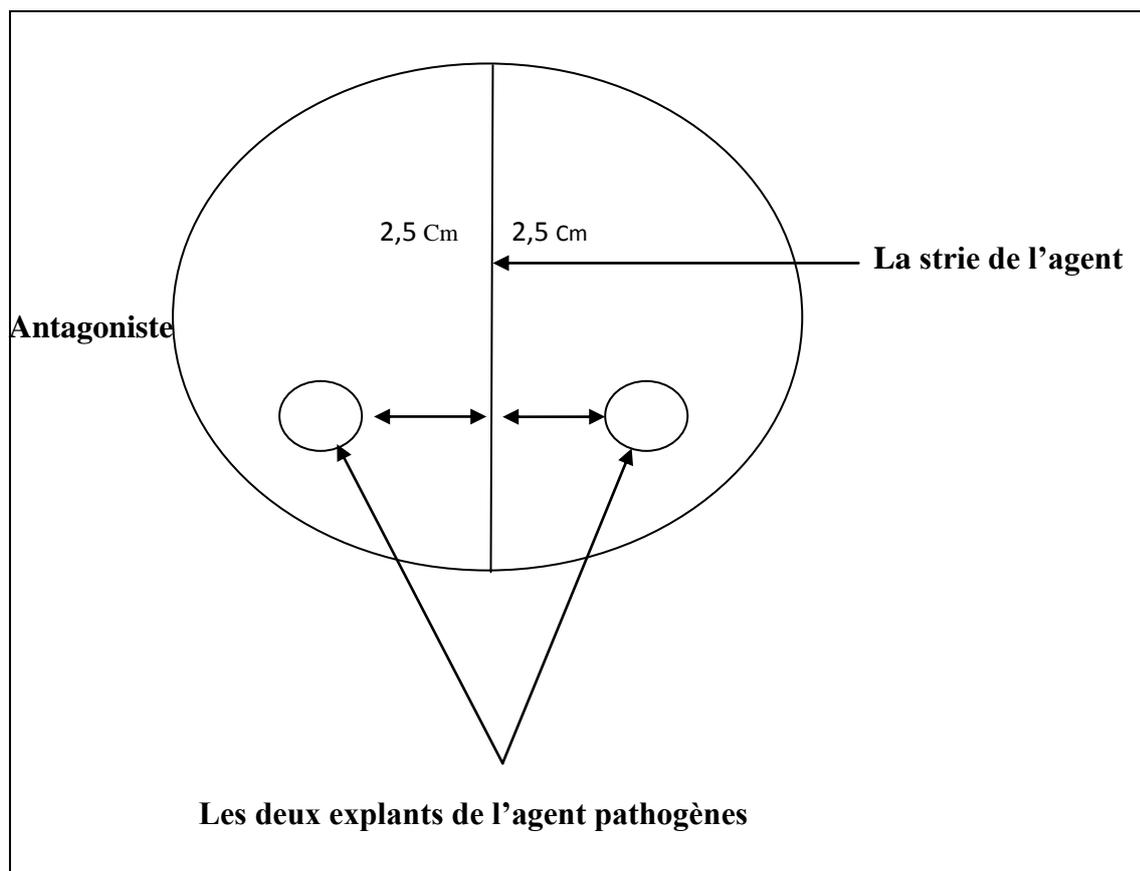


Figure 14 : Méthode de confrontation directe entre l'agent pathogène et l'agent antagoniste sur milieu PDA (Hibar et al, 2005)

RESULTATS ET INTERPRETATION

1. Isolement de l'agent pathogène

Les résultats de l'isolement à partir des plantes malades sont représentés dans le (tableau 3). On a pu isoler : 12 souches d'*Aspergillus*, 10 souches de *Penicilium*, 2 souches de *Fusarium*, 2 souches d'*Alternaria*.

Tableau 4: Les résultats de l'isolement de l'agent pathogène à partir de plantes malades

Plante Hôte	Partie Prélevée	L'agent Responsable
Tomate	Fruit	<i>Alternaria sp</i>
Tomate	Feuille	<i>Aspergillus sp</i>
Pomme de terre	Fruit	<i>Alternaria sp</i>
Pomme de terre	Feuille	<i>Penicillium sp</i>
Pomme de terre	Tige	<i>Aspergillus sp</i>
Oignons	L'écorce d'oignon	<i>Aspergillus sp</i>
Oignons	Fruit	<i>Penicillium sp</i>
ail	fruit	<i>Penicillium sp</i>
Betterave	Feuille	<i>Aspergillus sp</i>
Betterave	Tige	<i>Penicillium sp</i>
L'olive	Tige	<i>Fusarium sp</i>
L'olive	Fruit	<i>Penicillium sp</i>
L'olive	Feuille	<i>Aspergillus sp</i>
Les pois chiches	Feuille	<i>Aspergillus sp</i>
Le navet	Fruit	<i>Aspergillus sp</i>
Le blée	Grain	<i>Fusarium sp penicillium sp+Aspergillus sp</i>
Le persil	Fleur	<i>Penicillium sp</i>
L'orange	L'écorce d'orange	<i>Aspergillus sp</i>
L'orange	Fruit	<i>Penicillium sp</i>
L'orange	Feuille	<i>Aspergillus sp</i>
L'aubergine	Feuille	<i>Penicillium sp</i>
L'aubergine	Fruit	<i>Aspergillus sp</i>
Carotte	Feuille	<i>Penicillium + Aspergillus sp</i>

2. Identification

L'identification des souches de champignons phytopathogènes s'est basée sur l'étude macroscopique et microscopique. L'identification de ces souches étant basée essentiellement sur les clés de détermination des genres à savoir les caractères cultureux et la morphologie microscopique.

2.1 Etude macroscopique

L'aspect des colonies des souches de moisissures isolées à partir de plantes malades est représenté dans la (figure 15)

Après 4 à 5 jours d'incubation, des colonies de couleur blanche avec de longs filaments *mycéliens (hyphes)* dense plus ou moins cotonneux sont observés.

Après 7 jours de culture, la souche d'*Aspergillus* se présente sous forme de colonies jaunes qui deviennent noires avec un mycélium cotonneux. Le genre *Penicillium* présente un thalle de couleur verte qui envahit rapidement la boîte. Les colonies d'*Alternaria* sont de couleur noire verdâtres duveteuse et présentent une texture épaisse et dense. La souche de *Fusarium* présente au début un mycélium de couleur blanche qui devient après sporulation un thalle rose qui vire au violet.



Figure 15 : Photographies de colonies de moisissures isolées de plantes infectées.

a) *Aspergillus sp.*

b) *Penicillium sp.*

c) *Fusarium sp.*

d) *Alternaria sp.*

2. 2. Etude microscopique

2.2.1. Agents Pathogènes

L'observation microscopique des moisissures isolées à partir de plantes infectées sont représentées dans la (figure16)

- La souche d'*Aspergillus* est caractérisée par un *conidiophore* possédant une extrémité renflée (ou *vésicule*). Cette vésicule terminale est sphérique et porte des cellules *conidiogènes* fertiles (ou *phialides*), en forme de bouteille
Les *phialides* sont disposées sur tout le pourtour de la vésicule et sont portées par une

cellule stérile (ou *métule*) directement insérée sur la vésicule.

Les *conidiophores* sont lisses, hyalins ou brunâtres dans la partie supérieure, très longs. La tête *aspergillaire* est globuleuse et radiée, noire à maturité.

- La souche de *Penicillium* isolée est caractérisée par des *conidiophores* ramifiés qui possèdent une forme ressemblant à celle d'un pinceau. Les conidies sont disposées en longues chaînes
- *Le fusarium sp*, ce genre est caractérisé la présence de *macroconidies* fusiformes et cloisonnées. Les *phialides* sont portées par l'extrémité du *conidiophore*; elles sont étroites plus ou moins effilées, Les *microconidies* sont dispersées parmi le mycélium, elles sont de petite taille par rapport aux *macroconidies*.
- *L'Alternaria sp* se présente sous la forme de long filaments (*hyphes*) le mycélium est de type non cloisonné associé à la présence de conidies pluricellulaires en chaînes brunes irrégulières souvent en forme de massue, cloisonnées longitudinalement et transversalement.

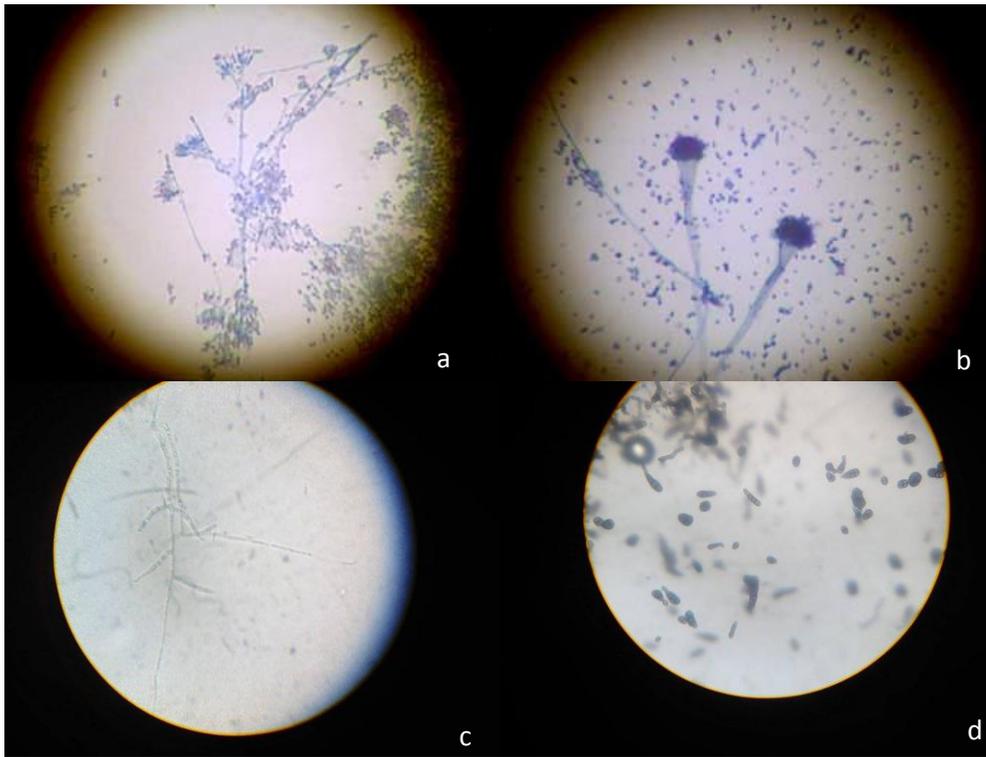


Figure 16 : Observation microscopique des champignons pytopathogènes(X100).

a) Penicillium sp.

b) Aspergillus sp

c) Fusarium sp.

d) Alternaria sp

3. Effet antagoniste de la souche *Bacillus spp mésoophile*

La souche *Bacillus spp mésoophile* a été confrontée avec trois souches fongiques pathogènes (*Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*) sur milieu PDA. Les figures (17), (18) et (19) illustrent la capacité de la souche *Bacillus spp.mésophile* à inhiber la croissance mycélienne des trois souches de moisissures pathogènes. Cette inhibition se traduit par la réduction du diamètre des colonies d'*Aspergillus*, *Penicillium* et *Fusarium*, par rapport au témoin.

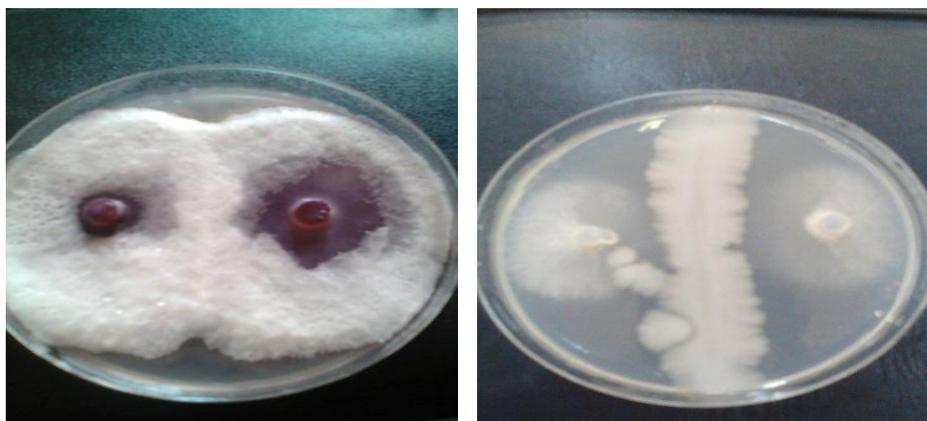


Figure 17 : Croissance de *Fusarium sp.* en absence (à droite) et en présence (à gauche) de *Bacillus spp.mésophile*

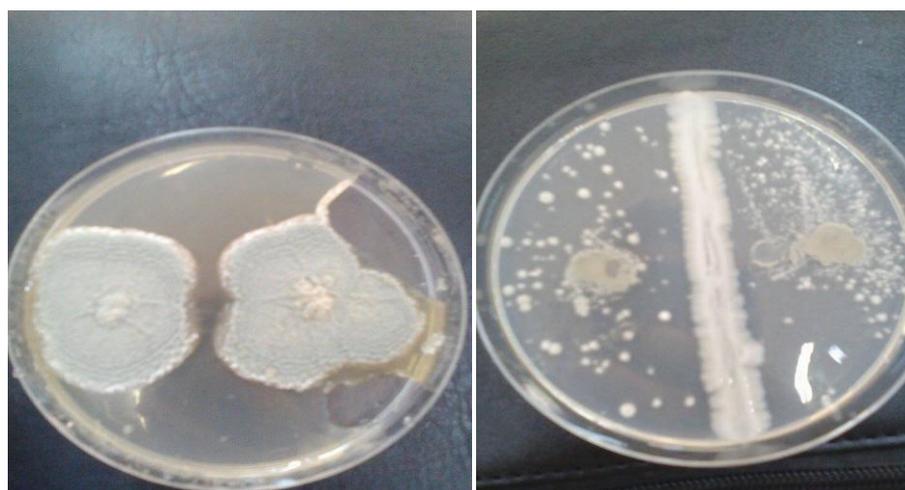


Figure 18: Croissance de *penicillium sp.* en absence (à droite) et en présence (à gauche) de *Bacillus spp.mésophile*

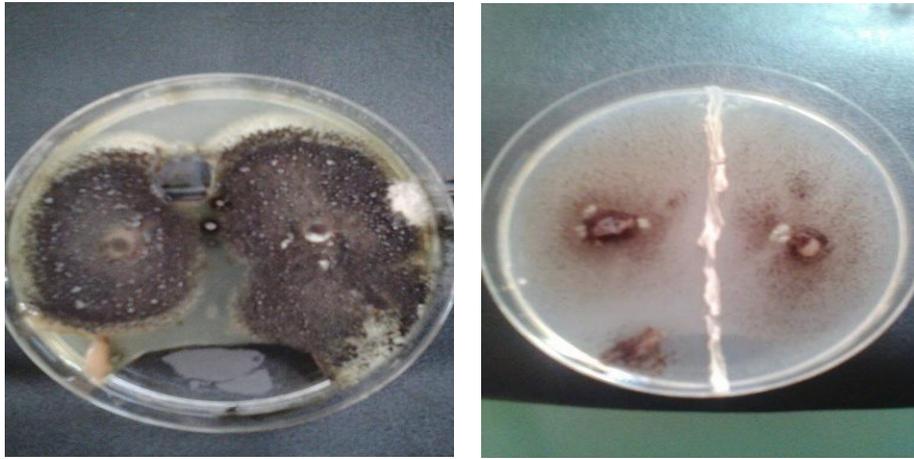


Figure 19 : Croissance d'*Aspergillus sp.* en absence (à droite) et en présence (à gauche) de *Bacillus spp.mésophile*

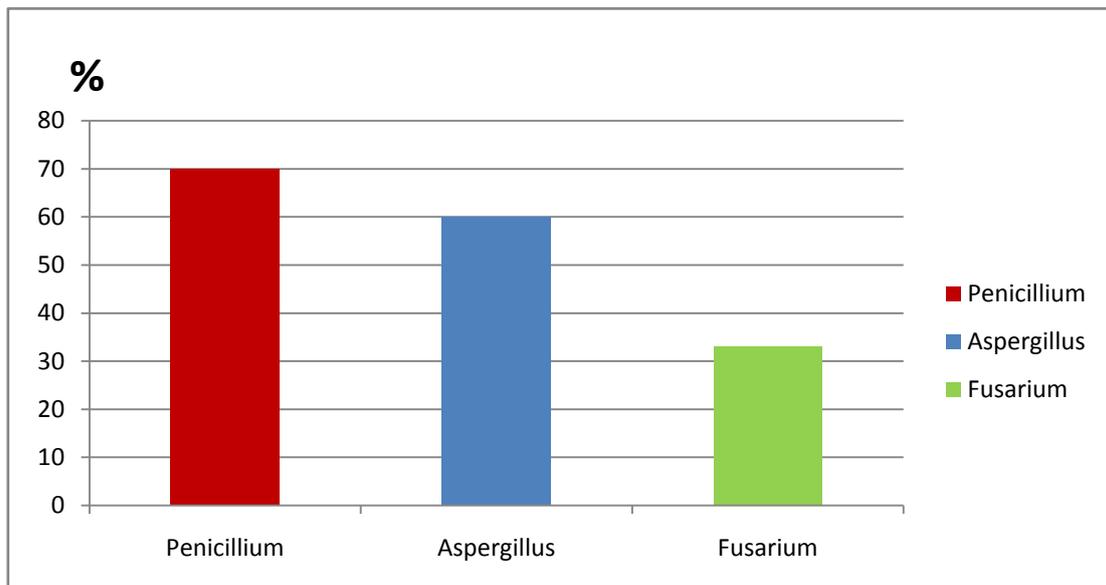


Figure 20 : Pourcentages d'inhibition des souches de moisissures phytopathogènes confrontées au *bacillus spp mésoophile*

D'après la figure (20), on remarque que le meilleur taux d'inhibition est celui de *Bacillus spp mésoophile* sur *Penicillium sp.* (70%) suivi d'*Aspergillus sp.* (60%). Le pourcentage d'inhibition de *Fusarium* par la souche antagoniste est de 33%.

Discussion

Parmi 23 d'échantillons de plantes infectées, on a pu isoler 12 souches d'*Aspergillus*, 10 souches de *Penicillium*, 2 souches de *Fusarium* et 2 souches s'*Alternaria*.

D'après, (**Ikhou, 2011**), les principaux agents responsables de la détérioration des fruits commercialisés en Algérie sont des souches appartenant aux genres : *Aspergillus*, *Alternaria* et *Fusarium*.

(**Aouar en 2012**) ainsi que (**Nyongesa et al, 2015**) ont signalé que les genres *Aspergillus* et *Penicillium* sont les plus dominants, ils sont dotés d'un grand pouvoir de dissémination

Les moisissures du genre *Aternaria* et *Fusarium* sont peu abondants ce qui peut être expliqué par leur faible pouvoir compétitif (**Serrhini et Zeroual, 1995**).

Les bactériens du genre *bacillus mésophile* ont été testés pour leur activité antifongique vis-à-vis de champignons phytopathogènes. Après avoir réalisé un test d'antagonisme *in vitro* entre ces microorganismes, les résultats obtenus ont montré des taux d'inhibition de la croissance mycélienne de *fusarium* 33 % et *penicillium* 70% et *Aspergillus* 60% (**Saidi et al, 2009**)

L'augmentation des taux d'inhibition avec le temps démontre que l'activité antifongique est proportionnelle à la durée d'incubation de la culture duelle, cela peut être dû à l'exposition prolongée aux métabolites secondaires produits et libérés dans le milieu par les souches testées et qui sont responsables du pouvoir antagoniste de ces dernières. (**Saidiet al, 2009**)

Selon (**Bonmatin et al ,2003**), les souches *Bacillus spp.mésophile* sont capables de produire des lipopeptides, de type fengycine et iturine, qui permettent d'augmenter l'effet protecteur des plantes contre les pathogènes. Ces substances sont impliquées dans l'induction du phénomène de résistance systémique

Selon (**trachuk et al ,2008**), les souches de *bacillus mésophile* peuvent parasiter les microorganismes phytopathogènes en dégradant leurs parois.

Plusieurs espèces du genre *bacillus* sont efficaces dans le biocontrôle de divers champignon phytopathogènes (**Williams et Asher, 1996**) et la plupart ont été capable d'inhiber la croissance de *Fusarium*, *Aspergillus*, et *Penicillium* (**Landa et al ,1997**).

La capacité des espèces de *Bacillus mesophile* à inhiber la croissance des champignons phytopathogènes peut être due à l'induction de la résistance de la plante malade (**Daayf et al, 2003**).

D'après les travaux de (**Essalmani et Lahlou, 2002**), les bactéries antagonistes de *Fusarium oxysporum*, *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, et *Pseudomonas* sont capables d'induire la défense du palmier dattier atteint de *fusariose*. Ces microorganismes entraînent l'accumulation des dérivés hydroxy cinnamiques qui sont connus pour leur rôle majeur dans la réaction du palmier dattier et d'exercer un effet fongitoxique sur *F. oxysporum*.

**CONCLUSION
ET
PERSPECTIVES**

Conclusion

Le but de notre travail était d'une part d'isoler des souches de champignons phytopathogènes à partir d'un grand nombre de plantes malades et d'autre part de tester le pouvoir antagoniste d'une souche de *Bacillus mésoophile* dans le cadre de lutte biologique. Parmi 23 échantillons de plantes malades on a pu isoler 12 souches d'*Aspergillus*, 10 souches de *Penicillium*, 2 souches de *Fusarium* et 2 souches d'*Alternaria*. La dominance des genres *Aspergillus* et *Penicillium* peut être due au grand pouvoir de dissémination et compétitif par rapport aux autres champignons. L'étude du pouvoir antagoniste du *Bacillus mésoophile* in vitro s'est basé sur sa capacité à inhiber la croissance mycéliennes des moisissures phytopathogènes. La meilleure activité antifongique est celle du *Bacillus mésoophile* sur *Penicillium* (70%). L'utilisation du *Bacillus mésoophile* a réduit également la croissance d'*Aspergillus* et *Fusarium*, les taux d'inhibition sont respectivement : 60% et 33%. La souche de *Bacillus mésoophile* est intéressante, elle peut être utilisée comme biopesticide. Il serait intéressant de :

- Rechercher d'autres souches de *Bacillus mésoophile* intéressantes
- Identifier Les souches pathogènes et antagonistes à l'espèce
- Rechercher les mécanismes d'action de cet agent antagoniste
- Tester le pouvoir antagoniste du *Bacillus mésoophile* in vivo en utilisant une plante hôte

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Adam, A. (2008). Elicitation de la résistance systémique induite chez la tomate et le concombre et activation de la voie de la lipoxygénase par des rhizobactéries non-pathogènes Elicitation of induced systemic resistance in tomato and cucumber and activation of the lipoxygenase pathway by non-pathogenic rhizobacteria

Agrios, G. N. "Plant diseases caused by fungi." *Plant pathology* 4 (2005).

Ait-Kaki, A., Kacem-Chaouche, N., Ongena, M., Kara-Ali, M., Dehimat, L., Kahlat, K., & Thonart, P. (2014). In vitro and in vivo characterization of plant growth promoting Bacillus strains isolated from extreme environments of Eastern Algeria. *Applied biochemistry and biotechnology*, 172(4), 1735.

Alabouvette C, Olivain C and Steinberg C (2006). Biological control of plant diseases : the European situation. *European Journal of Plant Pathology*, 114, 329-341

Albert I., Couvert O., De Buyser M-L., Denis C., Fail le C., Gohar M., Leguerinel I., Lereclus D., Nguyen-The C., Sorokine A., Torny D. Etude de l'émergence d'une bactérie pathogène dans les filières alimentaires. Le cas de *Bacillus cereus* dans les produits non stériles traités thermiquement. *Bulletin de la Société Française de Microbiologie* 24 N°4, 507-514 (2009)

Alippi, A. M., & Monaco, C. I. (1994). In vitro antagonism of Bacillus spp. against *Sclerotium rolfsii* and *Fusarium solani*. *Rev. Fac. Agron. Univ. Nac. La Plata*, 70, 91-95.

Andersson, A., Rönner, U. & Granum, P. E. What problems does the food industry have with the spore-forming pathogens *Bacillus cereus* and *Clostridium perfringens*? *International Journal of Food Microbiology* 28, 145–155 (1995).

Aouar Lamia, Sylvain Lerat, Ammar Ouffroukh, Abderrahmane Boulahrouf & Carole Beaulieu (2012). Taxonomic identification of rhizospheric actinobacteria isolated from Algerian semi-arid soil exhibiting antagonistic activities against plant fungal pathogens. « *Canadian Journal of Plant Pathology* ». 165-176.

Barbarous Ozer., Gulsun Akdemir-Evrendilek. (2014). Dairy Microbiology and Biochemistry: Recent Developments. CRC Press. p : 13.

Barjau, M. (1995). *Isolement, purification, et essai de détermination de la structure de la toxine issue d'un champignon: Colletotrichum gloeosporioides* (Doctoral dissertation, Aix-Marseille 3).

Baron, F. et al. Isolation and Characterization of a Psychrotolerant Toxin Producer, *Bacillus weihenstephanensis*, in Liquid Egg Products. *Journal of Food Protection* 70, 2782–2791. (2010)

Bautista-Baños, S., Hernández-López, M., Bosquez-Molina, E., & Wilson, C. L. (2003). Effects of chitosan and plant extracts on growth of *Colletotrichum gloeosporioides*, anthracnose levels and quality of papaya fruit. *Crop protection*, 22(9), 1087-1092

Belhacen, M. (2004). La verticilliose de l'olivier : étude épidémiologique et diversité génétique. Thèse de doctorat. Université d'Oran, 145p.

Benbrook C.M., Groth E., Halloran J.M., Hansen M.K. and Marquardt S. (2008). Pest management at the crossroads, Consumers Union, Yonkers. 272.

Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., & Codón, A. C. (2004). Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International microbiology*, 7(4), 249-260.

Blancard D (1997). Les maladies de la tomate : Observer, identifier, lutter. *Station de Phytopathologie Végétale*, 12, 170-179

Bolay, A. (2001). Les dépérissement des arbres fruitiers dus aux champignons du sol. *Vitic. Arboric. Hortic.*, 20, pp.2565-270.

Botton B. Breton, A., Fevre, M., Gauthier S., Guy P.H., Larpent J.P., Reymond P., Sanglier J.J., Vayssier Y., Veau P. (1990). Moisissures utiles et nuisibles importance industrielle. 2^{ème} édition. Maasson collection biotechnologies. p.34-42.

Bouquet, A., Pauquet, J., Adam-Blondon, A. F., Torregrosa, L., Merdinoglu, D., & Wiedemann-Merdinoglu, S. (2000). Vers l'obtention de variétés de vigne résistantes à l'oïdium et au mildiou par les méthodes conventionnelles et biotechnologiques. *Bulletin de l'OIV*, 73(833-34), 445-452.

Bridier A, Le Coq D, Dubois-Brissonnet F, Thomas V, Aymerich S, Briandet R. (2010). ; *The spatial architecture of Bacillus subtilis biofilms deciphered using a surface-associated model and in situ imaging.* PLoS One. 2011 Jan 18; 6(1):e16177. Epub 2011 Jan 18.

Challal, A., Attar, R.I. (2016). Antagonisme des bactéries à Gram positif vis-à-vis des champignons résistants aux fongicides du genre *Fusarium*. *Mémoire de master*. pp :25-32

Champion R, Ray Nal G. (2009). La carie commune du blé : une revenante. *Phytona*. la défense des végétaux. N450. P.12-20

Chen, L., Daniel, R. M. & Coolbear, T. Detection and impact of protease and lipase activities in milk and milk powders. *International Dairy Journal* 13, 255-275 (2004).

Cook R.J. (2014). Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 31, p. 53-80

Corbaz R. (1990). Principe de phytopathologie et de lutte contre les maladies des plantes. *Presse polytechniques et universitaires romandes*. d'actinomycètes antagonistes aux champignons phytopathogènes. Canada, pp56

Cuq et al., (1992) The characterization of obligatory thermophilic Bacillus, biological book p : 133-140

Daayf, F., Adam, L., & Fernando, W. G. D. (2003).Comparative screening of bacteria for biological control of potato late blight (strain US-8), using invitro, detached-leaves, and whole-plant testing systems. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 25(3), 276-284.

Daayf, F.2009. Réaction de la plante à l'infection. Thèse de doctorat, Univ, Montpellier II, science et technique du Languedon, Montpellier, France,202P.

Delarras, C. (2007). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire.

Drablos,F.,Nicholson,D.,Ronig,M.1999.EXAFS study of zinc coordination in bacitracin A. *Biochim. Biophys.Acta.*, 1431, pp. 433-442.

Drobniewski, F. A. Bacillus cereus and related species.*Clinical Microbiology Reviews.*6,324–338 (1993).

El Hassani, A. K., Dacher, M., Gary, V., Lambin, M., Gauthier, M., & Armengaud, C. (2008).Effects of sublethal doses of acetamiprid and thiamethoxam on the behavior of the honeybee (*Apis mellifera*). *Archives of environmental contamination and toxicology*, 54(4), 653-661.

El Hassni, M., El Hadrami, A., Daayf, F., Chérif, M., Barka, E. A., & El Hadrami, I. (2007). Biological control of bayoud disease in date palm: Selection of microorganisms inhibiting the causal agent and inducing defense reactions. *Environmental and experimental botany*, 59(2), 224-234.

Emmert E.A.B. et Handelsman J. ,(2003).Biocontrol of plant disease: a (Gram-) positive perspective.*FEMS. Microbiol.Lett.* P.171, 1-9.

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

Erwin,D,C.,Buchenauer,H,2012, The challenge and possibilities for control biological by application of systemic chemical. In : Proceeding of 1st Int.September 20-22 wyde College, England, pp.12-21

Essalmani, H., & Lahlou, H. (2011). Induction, par *Trichoderma harzianum*, de la résistance des plantes de lentille contre *Fusarium oxysporum* f. sp. lentis. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 24(1), 51-58.

Ferrandino,B. 2007. How pathogén affect yields of eggplants, tomato and potatoes .*Plant science*, 32,pp.2-5 ;

Flint et al.,(2015) Microbiologie.Editeur: De Boeck Supérieur. p : 142-836

- Francisco Javier Fernandez-Acero, Maria Carbu, Carlos Garrido, Inmaculada Vallejo et Jesus Manuel Cantoral**, « *Proteomic Advances in Phytopathogenic Fungi* », *Current Proteomics*, vol. 4, no 2, 2014, p. 79-88
- Guiraud., 2003**), Le préparateur en pharmacie - Guide théorique et pratique 2ème édition. Edition : Lavoisier. p : 276
- Handelsman,J.,Stabb, E.V. 1996**. Biocontrol of soilborne plant pathogens.*The Plant cel.*,8,pp.1855-1869
- Harris, A. W., Young, J. W., Bowell, E., Martin, L. J., Millis, R. L., Poutanen, M., ... & Zeigler, K. W. (1989)**. Photoelectric observations of asteroids 3, 24, 60, 261, and 863. *Icarus*, 77(1), 171-186.
- Hibar, K., Daami-Remadi, M., Khiareddine, H., & El Mahjoub, M. (2005)**.Effet inhibiteur in vitro et in vivo du *Trichoderma harzianum* sur *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. *Biotechnologie, agronomie, société et environnement*, 9(3), 163-171.
- Hosford Jr et Morrall R.A.A. (2012)** .the épidémiologie of leaf spot disease in a native prairie ;the progression of disease with time .*can.J.Bot* .53,pp :1040-1050
- Jijakly M.H. (2003)**. La lutte biologique en phytopathologie, *In : Phytopathology*. Lepoivre P. (Eds). De Boeck, Bruxelles
- Julien,J.2005**. La mort par apoplexie. *PHM-Revue Horticale*, 474, pp.44-47.
- Keen,N.T et al..2007**.Possible involvement of a pathogen-reproduced protein-Lipopolysaccharide complex. *Physiol. Plant pathol.*,2pp.317-331.
- Kempe, J., & Sequeira, L. (1983)**. Biological control of bacterial wilt of potatoes: attempts to induce resistance by treating tubers with bacteria. *Plant disease*, 67(5), 499-503.
- Kirk, W. W., Felcher, K. J., Douches, D. S., Coombs, J., Stein, J. M., Baker, K. M., & Hammerschmidt, R. (2001)**.Effect of host plant resistance and reduced rates and frequencies of fungicide application to control potato late blight. *Plant Disease*, 85(10), 1113-1118.
- Klein et al., (2010)** *Bacillus cereus*. Edition Lavoisier. p : 43
- Korolev N et katan T .(1997)**. Improved medium for selcting nitrate non utilising (nit) mutans of *verticilium dahliae*, *phytopathol*. Vol .87 :1067- 1070
- Kumari, Sraita, and prabir K. Sarkar, P. K (2014)**. In vitro model study for biofilm formation by *Bacillus cereus* in dairy chiling tanks and optimization of clean-in-place (CIP) regimes using response surface methodology. *Food control*, 36(1), 153-158
- Kunst, (1997)**, The complete genome of sequence of the gram-positive bacterium *bacillus subtilis*.

- Landa, B.B., Hervás, A., Bethiol, W., Jiménez-Díaz, R.M. 1997.** Antagonistic Activity of bacteria from the chickpea rhizosphere against *Fusarium oxysporum* f.sp.ciceris. *Phytoparasitica*, 25, pp. 305-318.
- Lepoivre P (2003).** *Phytopathologie*. 1st édition, De Boeck, Bruxelles (Belgium), pp111-159.
- Loria et al, The infectious pathology of plants.** 1st édition, p,17-20 (1997)
- Maufras, 2001,** The role of the cropping method in the elimination of hazardous fungicides (*Tilletia caries*). Mémoire d'ingénieur .IST.univ.Tebessa .70p.
- Mechara R. Et Acila S, .(2009)** .Etude de l'efficacité de quelque fongicides sur la carie du blé (*Tilletia caries*). Mémoire d'ingénieur .IST.univ.Tebessa .70p.
- Melero-Vara, Blanco-Lopez, M.A Bejarano-Alcazar. 2013.** the control of cotton by means of soil solarization and tolerant cultivars in southern Spain. *Plant pathol*, 44 pp.250-260
- Mercado-Blanco, J., Rodríguez-Jurado, D., Hervás, A., & Jiménez-Díaz, R. M. (2004).** Suppression of *Verticillium* wilt in olive planting stocks by root-associated fluorescent *Pseudomonas* spp. *Biological Control*, 30(2), 474-486.
- Michèle Reisdorf-Cren** spécificité de modes d'attaque des champignons phytopathogènes et réponse adaptée défensive de la plante (2009, 2012) p 201-203.
- Milner, J.L., Stohl, E.A., Handelsman, J. 1996.** Zwittermicin A resistance gene from *Bacillus Cereus*. *J.Bacteriol.*, 187, pp.4266-4272.
- MOHAMED, H. (2010).** *Effets antagonistes entre les souches d'actinomycètes et Verticillium dahliae* agent de la verticilliose de l'olivier (Doctoral dissertation, Université Ahmed Ben Bella d'Oran 1 Es Senia).
- Mongrain D, Couture L, Comeau A (2000).** Natural occurrence of *Fusarium graminearum* on adult wheat midge and transmission to wheat spikes. *Cereal Research Communications*, 28, 173-180
- Munimbazi, C., & Bullerman, L. B. (1998).** Isolation and partial characterization of antifungal metabolites of *Bacillus pumilus*. *Journal of Applied Microbiology*, 84(6), 959-968
- Nasraoui B (2006).** Les champignons parasites des plantes cultivées. 1st édition, Centre de publication universitaire, Tunis (Tunisia), pp 301-323

- Newman-Tancredi, A., Cussac, D., Audinot, V., Nicolas, J. P., De Ceuninck, F., Boutin, J. A., & Millan, M. J. (2002).** Differential actions of antiparkinson agents at multiple classes of monoaminergic receptor. II. Agonist and antagonist properties at subtypes of dopamine D2-like receptor and $\alpha 1/\alpha 2$ -adrenoceptor. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 303(2), 805-814.
- Nyongesa, B. W., Okoth, S., & Ayugi, V. (2015).** Identification Key for Aspergillus Species Isolated from Maize and Soil of Nandi County, Kenya. *Advances in Microbiology*, 5(04), 205
- Park, S., & Leppla, S. H. (2000).** Optimized production and purification of Bacillus anthracis lethal factor. *Protein expression and purification*, 18(3), 293-302.
- Pegg, G.F., Selman, I.W. 2000.** An Analysis of the growth response of young tomato plants to infection. *Ann. Appl. Biol.* ,47, pp.221-231.
- Peruch, L. A., Michereff, S. J., & Araújo, I. B. (2006).** Levantamento da intensidade da alternariose e da podridão negra em cultivos orgânicos de brássicas em Pernambuco e Santa Catarina. *Horticultura Brasileira*, 24(4), 464-469.
- Prapagdee B., Kuekulvong C. and Mongkolsuk S. (2008).** Antifungal potential of extracellular metabolite produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. *Int. J. Biol. Sci.* 4, 330-337.
- Rahman, M. A., Kadir, J., Mahmud, T. M. M., Rahman, R. A., & Begum, M. M. (2007).** Screening of antagonistic bacteria for biocontrol activities on *Colletotrichum gloeosporioides* in papaya. *Asian Journal of Plant Sciences*
- RANKIN, GOOD, 1959.** Effect of soil fumigation on the prevalence of southern blight on *Sci.*, 30, p. 5. Tomatoes. *Plant. Dis. Repr.*, 43, p. 444-5
- Rémi, C. (1997).** Identifier les champignons transmis par les semences. *INRA Editions*.
- Richard C., Dary J.L et Laffont J.M.(2011)** .produit phytosanitaires ,recherche,développement,homologation .(Edition de la nouvelle librairie).paris.96pp.
- Ronimus, R.S., Parker, L.E, Turner, N., Poudel, S., Rückert, A., & Morgan, H.W. (2003).** A RAPD-based comparison of thermophilic bacilli from milk powders. *International Journal of food microbiology*, 85(1), 45-61
- Saidi, N., Kouki, S., M'Hiri, F., Hajlaoui, M. R., Mahrouk, M., Ouzari, H., ... & Hassen, A. (2009).** Characterization and selection of Bacillus sp. strains, effective biocontrol agents against *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, the causal agent of Fusarium crown and root rot in tomato. *Annals of microbiology*, 59(2), 191-198.
- Satyanarayana, T. Rao, J.L Uma Maheswar.** Improving production of hyperthermostable and high maltose-forming α -amylase by an extreme thermophile *Geobacillus thermoleovorans* using response surface methodology and its applications « *Bioresource Technology* 98.2 (2007) : 345-352

- Serrhini, M. N. (1995).** La verticilosis del olivo en Marruecos. *Olivae*.(58): 58-61, 1995.
- Schallmeyer et al.,**The interest of thermophilic bacilli and its negative role in biotech. P : 344-351 (2004)
- Schmiedeknecht, G., Issoufou, I., Junge, H., & Bochow, H. (2001).**Use of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent. V. Biological control of diseases on maize and sunflowers. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 108(5), 500-512.
- Solanki, M. K., Kumar, S., Pandey, A. K., Srivastava, S., Singh, R. K., Kashyap, P. L., ...& Arora, D. K. (2012).** Diversity and antagonistic potential of *Bacillus* spp. associated to the rhizosphere of tomato for the management of *Rhizoctonia solani*. *Biocontrol science and technology*, 22(2), 203-217
- Swain,M.R,Ray,R.C. 2006.** Biocontrol and other beneficial activities of *Bacillus Subtilis* isolated from cowdung microflora, *Microbiological research*, doit : 10.1016/j.micres.2006.10.009.
- Sonenshein, (2001),**Tufts Univ Boston MA:ASM, *Bacillus subtilis* and its closest relatives.
- ToussaintV.(2007).**caractérisation d'un antibiotique produit par la souche d'actinomycète EF-76antagoniste à *Phytophthora Fragariae*var. *rubica*causant le pourridié des racines du framboisier. Mémoire de Maitrise des science. Université de Sherbrooke, Québec, Canada
- Triki, M. A., Hassaïri, A., & Mahjoub, M. (2006).** Premières observations de *Verticillium dahliae* sur olivier en Tunisie. *EPPO Bulletin*, 36(1), 69-71.
- 37.Trotel-Aziz, P., Couderchet, M., Biagiatti, S., & Aziz, A. (2008).**Characterization of new bacterial biocontrol agents *Acinetobacter*, *Bacillus*, *Pantoea* and *Pseudomonas* spp. mediating grapevine resistance against *Botrytis cinerea*. *Environmental and Experimental Botany*, 64(1), 21-32.
- Tschen, J. S. M., & Kuo, W. L. (1985).**Antibiotic inhibition and control of *Rhizoctonia solani* by *Bacillus subtilis*. *Chih wu pao hu hsueh hui hui kan= Plant protection bulletin*.
- Tsor L. , Erlich O., Amitai S.et Hasamousky M. (1998).** *Verticillium wilt* of paprika caused by a highly virulent isolate of *verticillium dahliae*. The American phytopathological society .plant Dis : 82 :437-439
- Tzeng, D.D.2014** Biological Activity of mixtures of methionine and riboflavine against plant pathogenic fungi and bacteria and possible modes of action. *Mycologia*, 81,pp.404-412
- Trotel P, (2008),** Characterization of new bacterial biocontrol agents, *Environnement Experimental*, 64, 91- 113.

Valueva, T. A., & Mosolov, V. V. (2004). Role of inhibitors of proteolytic enzymes in plant defense against phytopathogenic microorganisms. *Biochemistry (Moscow)*, 69(11), 1305-1309.

Vandenbergh, P.A.2015, Iron-chelating compounds produced by soil pseudomads : correlation with fungal growth inhibition. *Appl. environ. Microbiol*, 46 PP. 128-132.

Vanderweyen, A. (2001). Puccinia albescens, la rouille blanche de la moscatelline. *Revue du Cercle de mycologie de Bruxelles*, 1, 45-52.

Vos et al., (2011) Photomicrographs of Bacillus species visualized by microscopy. *Phase contrast* 14,155-161.

Zeroual, A. (1995). Modélisation paramétrique des processus solaires par les statistiques d'ordre 2 et les cumulants et identification des performances thermiques des capteurs solaires plans. *These de doctorat d'état, faculté des sciences, Marrakech, Maroc.*

Zhang, Q., Zhang, J., Yang, L., Zhang, L., Jiang, D., Chen, W., & Li, G. (2014). Diversity and biocontrol potential of endophytic fungi in Brassica napus. *Biological control*, 72, 98-108.

Annexes

Composition de milieu

Milieu PDA : potatos Dextrose Agar

Poudre 39g

Eau distillée 1000ml

Mode d'emploi

Préparation de milieu PDA

Préparé 39g de poudre PDA dans 1l d'eau distillée ,chauffer et bien mélanger avec l'agitation ,le milieux seront portés à l'autoclave pour une stérilisation à température 120c pendant de 20min pour éviter la contamination bactérienne ,le milieu PDA est soit acidifie jusqu'à un PH de 7 en lui ajoutant 1ml d'acide lactique par un flacon , soit on ajoute des antibiotique et on fait les coulage des biotes de pétri

Le taux d'inhibition de croissance des souches

Tableau 4: Les calculs de taux d'inhibition de croissance des souches

Souche	Diamètre du témoin	Diamètre du test	Taux d'inhibition
<i>Penicillium</i>	5 cm	1 ,5 cm	70%
<i>Aspergillus</i>	5 cm	2 cm	60 %
<i>Fusarium</i>	6 cm	4 cm	33%

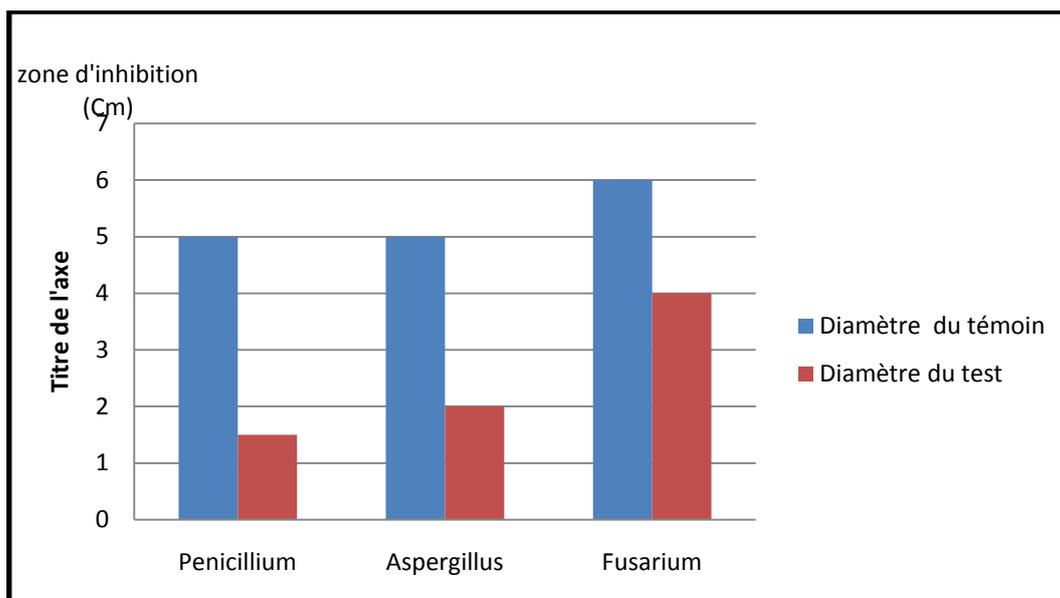


Figure 19: l'histogramme de la zone d'inhibition par rapport aux témoins

إن محاربة الكائنات الحية الدقيقة الممرضة للنباتات بمبيدات الحشرات لديها أضرار بالنسبة للإنسان و المحيط و يمكن لبعض الكائنات الحية الدقيقة أن تقدم عوامل ممتازة للمكافحة البيولوجية ضد الأمراض الفطرية

و الهدف من دراستنا هو عزل سلالات فطرية المسببة لأمراض النباتات و اختبار القدرة المضادة *Bacillus mésophile* داخل إطار المحاربة البيولوجية

ومن بين 23 عينة من النباتات المريضة تم عزل 12 سلالة من *Aspergillus* و 10 سلالات من *Penicillium* وسلالتين من *Alternaria* و *Fusarium* سيطرة كل من *Aspergillus* و *Penicillium* إن قدرة خصم البكتيريا *Bacillus mésophile* في المخبر استندت على قدرته على منع نمو الفطريات الممرضة للنبات. أفضل نشاط لمضاد الفطريات هو *Bacillus mésophile* على *Penicillium* بنسبة (70%). استعمال البكتيريا *Bacillus mésophile* يسعى كذاك إلى تخفيض نمو كل من الفطريات *Aspergillus* و *Fusarium* بمعدلات التثبيط و هي على التوالي : 60% , 33%

إن بكتيريا *Bacillus mésophile* هي جد مهمة يمكنها أن تستعمل كعامل جيد في مكافحة البيولوجية

كلمات البحث: الفطريات المسببة للأمراض، العسوية أليف الاعتدال، مكافحة الحيوية.

Résumé

Le contrôle des microorganismes phytopathogènes par des pesticides présentent des inconvénients pour l'Homme et l'environnement auxquels s'ajoute le risque d'apparition de nouveaux pathotypes résistants. Certains microorganismes peuvent servir d'excellents agents de lutte biologique contre les maladies cryptogamiques.

Le but de notre travail était d'une part d'isoler des souches de champignons phytopathogènes à partir d'un grand nombre de plantes malades et d'autre part de tester le pouvoir antagoniste d'une souche de *Bacillus mésophile* dans le cadre de lutte biologique.

Parmi 23 échantillons de plantes malades on a pu isoler 12 souches d'*Aspergillus*, 10 souches de *Penicillium*, 2 souches de *Fusarium* et 2 souches d'*Alternaria*.

La dominance des genres *Aspergillus* et *Penicillium* peut être due au grand pouvoir de dissémination et compétitif par rapport aux autres champignons.

L'étude du pouvoir antagoniste du *bacille mésophile* in vitro s'est basé sur sa capacité à inhiber à croissance mycéliennes des moisissures phytopathogènes.

La meilleure activité antifongique est celle du *Bacillus mésophile* sur *Penicillium* (70%).

L'utilisation du *bacille mésophile* a réduit également la croissance d'*Aspergillus* et *Fusarium*, les taux d'inhibition sont respectivement : 60% et 33%.

La souche de *Bacillus mésophile* est intéressante, elle peut être utilisée comme un bon agent de lutte biologique.

Mots clés : Champignons phytopathogènes, *Bacillus mésophile*, lutte biologique.

Abstract

The control of phytopathogenic microorganisms by pesticides has disadvantages for humans and the environment, to which is added the risk of the appearance of new resistant pathotypes. Some microorganisms can serve as excellent biological control agents against cryptogamic diseases.

The aim of our work was to isolate strains of phytopathogenic fungi from a large number of diseased plants and to test the antagonistic potency of a *mésophilic Bacillus* strain in the framework of biological.

Among 23 samples of diseased plants, 12 strains of *Aspergillus*, 10 strains of *Penicillium*, 2 strains of *Fusarium* and 2 strains of *Alternaria* could be isolated.

The dominance of the genera *Aspergillus* and *Penicillium* may be due to the great dissemination and competitive power over other fungi.

The study of the antagonistic potency of the *mésophilic bacillus* in vitro was based on its ability to inhibit mycelial growth of phytopathogenic fungi.

The best antifungal activity is that of *mésophilic Bacillus* on *Penicillium* (70%).

The use of the *mésophilic bacillus* also reduced the growth of *Aspergillus* and *Fusarium*, inhibition rates were 60% and 33%, respectively.

The *mésophilic Bacillus* strain is interesting, it can be used as a good biological control agent.

Key words: Phytopathogenic fungi, *mésophilic Bacillus*, biological control..