



République Algérienne Démocratique et Populaire.

Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique

Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen

Faculté SNV- STU

Département Ecologie et Environnement

Laboratoire de recherche: " Ecologie et Gestion des Ecosystèmes Naturels".

MEMOIRE

Présenté par Bekhaled Djahida

En vue de l'obtention

Diplôme de MASTER

En Ecologie et Environnement

Option : Ecologie Générale

Thème :

Valorisation des potentialités de la bactérie *Bacillus subtilis* dans la lutte contre la pollution aux produits phytosanitaires. (*Citrus sinensis*).

Président : Mr Mesli .L

Professeur

Université de Tlemcen

Encadreur : Mme Gaouar. Nassira

Professeur

Université de Tlemcen

Co- encadreur : Mr Kebdani .M

MCB

Université de Nâama

Examineur : Mr Mestari .M

MAA

Université de Tlemcen

Année Universitaire 2019-2020

Remerciements

Tout d'abord je remercie Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Mes sincères remerciements et mes respects vont à mon encadreur Mme Gaouar Nassira, Professeur au Département Ecologie et Environnement (Faculté SNV/STU), Université de Tlemcen, d'avoir accepté de diriger ce travail avec ses précieux conseils, encouragement, son aide durant toute la période du travail.

Mes profonds remerciements vont à mon Co-encadreur Mr Kebdani Mohamed, Maître de Conférences à l'Université de Nâama, d'avoir accepté de co-diriger ce travail par ses précieux conseils, pour sa patience, son aide, sa gentillesse et la richesse des informations scientifiques qu'il m'a prodigué.

Je remercie Monsieur Mesli Lotfi, Professeur au Département Ecologie et Environnement, Université de Tlemcen pour avoir accepté de présider le Jury de cette soutenance.

Je remercie également Monsieur Mestari Mohamed, enseignant au Département Ecologie et Environnement de m'avoir honoré en acceptant d'examiner ce travail.

Mes remerciements vont à tous les professeurs et les enseignants qui nous ont beaucoup encouragés.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

*Ceux qui sont toujours près de moi avec leurs invocations et leurs
encouragements*

À mon père qui est sans doute mon perpétuel amour,

À ma mère avec son bon cœur,

À mes chères sœurs qui sont le secret de mon bonheur,

À mes chers frères dont je suis fière d'être la sœur,

À mon agréable tante,

A ma chère grand-mère maternelle Mahiaoui Rahma,

Et à l'âme de ma chère grand-mère paternelle Lahoual Zahra.

*Sans oublier mes anges d'espoir : Habib Arrahmen, Khawla
Chahinez, Samaa Ghania, Bouchra, Houda, Mohammed Ali, Fatima
Zohra, Ahmed, Mona, Youssra, Mariam, Imran, Mohammed, Hala
Rayhana, Khalil Otman et Hanaa,*

À mes chères amies,

À tous ceux qui m'aiment et que j'aime.

Djahida

SOMMAIRE

Introduction	1
Présentation de la plante hôte <i>Citrus sinensis</i>	3
I. Botanique de <i>Citrus sinensis</i>	3
I.1 Systématique	3
I.2 Classification des Citrus	4
I.3 Morphologie de la plante.....	6
I.3.1 Les feuilles	6
I.3.2 Les fleurs.....	7
I.3.3 Les fruits	7
I. 3.4 Le Tronc et les branches.....	8
I.3.5 Les grains:	8
I.3.6 Le Système racinaire :	8
II. Les phytopathologies de <i>Citrus sinensis</i>	9
II.1. Les maladies bactériennes.....	9
II. 1.1 Huanglongbing (HLB) ou Citrus Greening:	9
II.1.2 La chlorose.....	9
II.1.3 Le Chancre bactérien:.....	10
II.1.4 Stubborn:.....	10
II.2 les ravageurs	10
II.2.1. Lépidoptères... ..	10
II.2.1.1. La mineuse des agrumes (<i>Phyllocnistis citrella</i>)	10
II.2.1.2 Teigne des agrumes (<i>Prays citri</i>)	10
II.2.2 Diptère	11
II.2.4. Les aleurodes	11
II.2.5. les acariens.....	11
II.2.6 Pucerons.....	11
II.2.7 Nématodes.....	11
III.3. Les maladies fongiques	11
III.3.1La gommose	11

1. Agent causal.....	11
2. Les symptômes de la gommose.....	11
3. Les symptômes de la pourriture brune des fruits.....	11
III.3.2. Mal secco.....	12
1. Agent causal.....	12
2. Les symptômes.....	12
III.3.3.L’anthracnose	13
Agent causal	13
Les symptômes.....	13
III.3.4 La fumagine.....	13
1. Agent causal	14
2. Les symptômes.....	14
III.3.5 Pourriture bleue et pourriture verte.....	14
1. Agent causal.....	15
2. Les symptômes.....	15
IV. Méthodes de lutte contre (les maladies cryptogamiques):	15
IV.1 Lutte physique.....	15
IV.2 Lutte cultural	15
IV.3 Lutte chimique.....	16
1.Herbicides.....	16
2. Insecticides.....	16
3. Fongicides	17
IV.3.1 L’impact des produits phytosanitaires chimiques sur l’environnement.....	17
IV.3.1.1 Les eaux.....	18
IV.3.1.2 Le sol.....	18
IV.3.1.3 L’air.....	18
IV.3.2.L’impact sur la santé humaine.....	19
IV.3.3 L’impact sur la biodiversité.....	19
IV.4.Lutte biologique.....	20
IV.4.1.Définition	20
IV.4.2.Types de lutte biologique.....	21
IV.4.2.1.Parasitisme	21

IV.4.2.2	Compétition	21
IV.4.2.3.	Antagonisme.....	21
IV.4.3.	La lutte biologique par des agents d'origine microbienne.....	22
	Présentation de l'agent de contrôle:<i>Bacillus subtilis</i>	22
I.1.	Caractéristiques microbiologiques.....	22
I.2.	Classification.	23
I.3.	Taxonomie:	23
I.4.	Historique des bactéries du genre <i>Bacillus</i> dans la lutte biologique.....	24
II.	<i>Bacillus subtilis</i>	25
II.1.	Caractéristique de <i>Bacillus subtilis</i>	25
II.2.	L'activité antifongique de <i>Bacillus subtilis</i> :	26
II.3.	Lipopeptides de <i>Bacillus subtilis</i>	26
II.3.1	Les fengycines.....	27
II.3.2	La surfactines	27
II.3.3	Les iturines.....	27
II.3.3.1.	La biosynthèse de la mycosubtiline	28
II.4.	Quelques souches de <i>Bacillus subtilis</i>	28
	Revue de la littérature	30
	Conclusion et perspectives:	39
	Les références bibliographiques:	41

Liste des figures et des tableaux

Les Figures :

Figure 1 : L'arbre d'un *Citrus sinensis* (www.alamyimage.fr).

Figure 2 : Les feuilles d'un oranger (<http://thierrymartincoutin.free.fr>)

Figure 3 : Fleur d'un *Citrus sinensis* (www.aujardin.info).

Figure 4 : une orange (www.intrfel.com).

Figure 5 : Le tronc de *Citrus sinensis* (www.flickr.com).

Figure 6 : Craquellement de l'écorce avec exsudation de gomme (www.itafv.dz).

Figure 7 : une feuille touchée par Mal secco

Figure 8 : Feuille recouverte de fumagine.

Figure 9 : Clémentine infectée par *Penicillium digitatum* (Taqaort, 2008).

Figure 10 : Photos microscopique de la bactérie *Bacillus sp* (Wékipédea)

Figure 11 : Photographie de l'observation microscopique de *Bacillus subtilis* (Bridier et al., 2010).

Figure 12 : Test d'activité antifongique de *Bacillus subtilis* contre *Fusarium oxysporium*.

Figure 13 : L'effet antifongique de *B. subtilis* sur de croissance des mycéliums de *Fusarium*.

Figure 14 : L'effet inhibition de La bactérie *Bacillus subtilis* contre propagation de la maladie fongique.

Figure 15: Effet du traitement du sol naturellement infecté par *Sclerotonia sclerotiorum*, avec la suspension (10^7 spores/ml) de la souches et *B. subtilis* sub sp. *spizezenii* (23SRTS) sur la taille et le taux de maladie des plantes de pois-chiche (variété: *CV.Flipe 13 90*), après un mois de semis.

Figure 16 : L'isolement des champignons des mangues altérées et inoculées sur des mangues saines

Figure 17 : Le test antagoniste de la bactérie *Bacillus subtilis* contre *Penicillium sp*

Figure18 : Le test antifongique sur la croissance d'*Alternaria alternata*

Figure19 : Larves de *P. citrella* traitées par *Bacillus subtilis*.

Figure 20 : Histogramme représentatif de la mortalité des larves de *P. citrella* inoculées par les solutions bactériennes

Les tableaux :

Tableau 1 : Les caractères des espèces de chaque groupe des agrumes (Esclapon, 1975).

Tableau 2 : Classification des *Bacillus* selon Wang W et Sun M (2009), quelques exemples de bactéries appartenant aux autres groupes (de II à IX) mentionnés.

Tableau 3 : L'activité antifongique in vitro de *B.subtilis* J9 contre les champignons phytopathogènes sur le milieu PDA.

Introduction

Les maladies causées par les phytopathogènes sont une source de déséquilibre, avec des répercussions parfois graves sur l'économie en générale.

Les champignons sont eux seuls responsables de 70% des pathologies végétales. En effet, sur les 100.000 espèces fongiques décrites dans la littérature, 8000 sont des pathogènes de plantes. Les maladies qu'elles provoquent sont qualifiées de cryptogamiques (**David et Diane, 1993**).

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 provoque des maladies sur diverses cultures maraîchères, céréales, plantes (**Agrios, 2005**).

Les cultures d'agrumes sont très sensibles aux maladies cryptogamiques et aussi à beaucoup de ravageurs, qui causent des dégâts énormes et influent sur la rentabilité des vergers d'agrumes (**Biche, 2012**).

L'agrumiculture algérienne vit une situation très difficile, généralement par l'instabilité où les rendements n'ont pas progressé depuis l'indépendance. A cette régression des rendements, s'ajoute une diminution de la qualité qui rend nos agrumes non compétitifs, contrairement à ceux des autre pays méditerranéens (**Boudi, 2005**).

Pour cela nous avons choisi les agrumes comme un modèle biologique afin de mettre en évidence le degré de nuisibilité des bioagresseurs notamment fongiques sur le rendement des cultures fruitières.

L'application illimitée des pesticides dans les sols peut entraîner la pollution de l'environnement et des eaux souterraines. En outre, l'efficacité des fongicides chimiques est souvent compromise par l'émergence de pathogènes résistants. En raison de l'aggravation des problèmes en matière de contrôle des maladies fongiques, 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**).

Les mesures de contrôle alternatif telles que l'utilisation d'antagonistes sont nécessaires et ont besoin d'être explorées. La lutte biologique contre les pourritures des fruits en utilisant des microorganismes antagonistes s'est déjà révélée comme une alternative aux fongicides de synthèse. En effet, des résultats très encourageants ont été rapportés sur plusieurs types de fruits tels que les agrumes (**Chalutz et Wilson, 1990 ; El-Ghaouth et al., 2000a**).

De nombreuses souches de *Bacillus sp* sont exploitées pour la production de lipopeptides ; des surfactines (**Kakinuma et al., 1969 ; Kowal et al., 1998**), des fengycines (**Vanittanakom et Loeffler, 1986**) et des iturines (**Besson et al., 1977**) qui sont les trois familles les plus connues.

L'objectif principal de notre travail est de mettre en évidence l'importance de l'utilisation des agents bactériens, notamment ceux qui font partie du groupe *Bacillus*, dans la lutte biologique contre les phytopathologies d'origine microbienne, afin de proposer dans l'avenir des programmes de lutte qui pourront minimiser les problèmes de pollution causés suite à l'utilisation illimitée des produits phytosanitaires chimiques et ce, à travers une revue de la littérature qui portent sur l'utilisation de la bactérie *Bacillus subtilis* comme agent de lutte contre les germes causaux d'altérations de différentes cultures à travers le monde.

Notre travail comporte deux parties :

-La première consacrée à la présentation d'une plante parmi celles des plus attaquées par les bioagresseurs microbiens qui est le Citrus ainsi que ses principales phytopathologies d'une part, d'autre part à une description détaillée de l'agent de contrôle biologique et ses métabolites secondaires responsables des activités antimicrobiennes.

- La deuxième partie consiste en une revue de la littérature réalisée sur les avancées scientifiques dans le domaine de la lutte biologique et l'utilisation de la bactérie *Bacillus subtilis* isolée à partir de différents biotopes à travers le monde, comme alternative aux produits phytosanitaires chimiques, nocifs pour la santé humaine, la biodiversité et l'environnement.

Synthèse

bibliographique

Présentation de la plante hôte *Citrus sinensis*

Agrume dans les pays méditerranéens et Citrus dans les pays anglo-saxons, ces mots font référence à la famille des arbres à feuilles persistantes qui mûrissent leurs fruits en hiver, dont les plus connus sont l'oranger et le citronnier.

Les agrumes se distinguent par la grande diversité de leurs familles et de leurs ordres. L'agrumiculture des pays du Bassin méditerranéen est diversifiée, au niveau des variétés cultivées (Oranges, Mandarines, Thomson, Clémentines, Pomelos, Citrons, Limes, Pamplemousses pour ne citer que les plus courants), ce qui reflète d'une certaine manière la richesse et la variabilité de ces arbres, du fait de l'extension de cette culture (Virbel-Alonso, 2011).

I. Botanique de *Citrus sinensis* :

I.1 Systématique :

Le groupe des agrumes appartient à la famille des Rutaceae ; sous-famille des Aurantioideae ; tribu des Citreae et sous tribu des Citrinae. Les agrumes se répartissent en plusieurs genres dont Poncirus ; Fortunella et Citrus qui sont les trois genres les plus cultivés à travers le Monde (Barboni, 2006).

Selon Swingle et Reece (1967) ; Guignard(2001) ; Barboni (2006) et Hellal (2011) la systématique des agrumes est connue comme suit :

Règne : Végétal

Embranchement : Spermaphyte

Sous embranchement : Angiospermes

Ordre : Eudicotylédones

Classe : Rurales

Sous classe : Rosidées

Famille : Rutacées

Sous famille : Aurantoideae

Tribu : Citreae

Sous tribu : Citrinea

Genre : *Citrus* ; *Poncirus* ; *Fortinulla*.

I.2 Classification des Citrus :

La classification des espèces de *Citrus* est basée sur les caractères botaniques propres à ces diverses espèces, dont les trois principaux genres de la sous famille des Aurantioidées (*Poncirus* ; *Citrus* ; *Fortunella*) (**Esclapon, 1975**) ont été rattachés aux groupes qui sont présentés dans le tableau 01 suivant :

Tableau 01 : Les caractères des espèces de chaque groupe des agrumes (Esclapon, 1975).

Groupes	Caractères	Espèces
Groupe I	Les espèces de ce groupe ont quelques caractères en communs comme de jeunes pousses vertes, des fleurs blanches, des feuilles avec un limbe caractérisé par la présence d'un pétiole plus ou moins important (pétiole ailé). Persistantes, et fruit généralement de forme sphérique.	<p>Oranger amer (<i>Citrus aurantium</i> ou <i>C. bigaradier</i>).</p> <p>Oranger doux (<i>Citrus sinensis</i>).</p> <p>Mandarinier (<i>Citrus Reticulata</i> et <i>Citrus unshui</i>).</p> <p>Clémentinier (hybride : mandarinier*bigaradier).</p> <p>Pamplemoussier (<i>Citrus grandis</i>).</p>
Groupe II	Comme pour le premier groupe les espèces ont des caractères en communs comme les jeunes pousses violacées, et fleurs blanches, rose violacé en dehors. Des feuilles à pétiole non ailé et persistantes, les fruits jaunes pâles et allongés à écorces adhérentes à la pulpe	<p>Citronnier (<i>Citrus limon</i>).</p> <p>Cédratier (<i>Citrus medica</i>).</p> <p>Limettier (<i>Citrus latifolia</i>).</p>
Groupe III	Les jeunes pousses sont vertes, les fleurs entièrement blanches, les feuilles trifoliées et caduques, les fruits petits, globuleux et jaunes pâles à écorce rude et non comestible.	<p>Oranger trifolié (<i>Poncirus trifoliata</i>)</p>

I.3 Morphologie de la plante :

L'oranger est un petit arbre sempervirent, pouvant atteindre 10 mètres de haut, avec des branches épineuses et des feuilles de 4 à 10 cm de long(**Fig.01**). Le fruit du *Citrus sinensis* est appelé orange douce pour le distinguer de l'orange amère, les fleurs desquelles on tire l'essence de néroli et l'eau. Tous les fruits d'agrumes sont considérés comme des baies, parce qu'ils sont charnus, contiennent de nombreuses graines et dérivent d'un ovaire unique.



Figure 01 : L'arbre d'un *Citrus sinensis* (www.alamyimage.fr).

I.3.1 Les feuilles :

Les feuilles ou folioles sont habituellement minces, non coriaces, dont les veines principales sont peu nombreuses et le réseau de veines secondaires ne ressort pas sur le limbe. Le pétiole est plus ou moins ailé et articulé avec le limbe (**Fig. 02**) (Swingle, 1948).



Figure 02 : Les feuilles d'un oranger (<http://thierrymartincoutin.free.fr>)

I.3.2. Les fleurs :

Les fleurs apparaissent à l'aisselle des feuilles, elles sont solitaires ou en petites grappes colymbiformes, parfaites ou mâles par avortement plus ou moins complet du pistil (**Fig.03**) (**Swingle, 1948**).



Figure03: Fleur d'un *Citrus sinensis* (www.aujardin.info)

I.3.3. Les fruits :

Les fruits d'après **Swingle (1948)** sont formés de segments contenant les graines placées dans l'angle intérieur, le reste de l'espace est rempli de poils vésiculaires pédonculés, fusiformes, composés de grosses cellules à contenu très aqueux. Les segments sont entourés d'un endocarpe blanc à l'extérieur duquel se trouve une écorce à très nombreuses glandes à essence, devenant jaune ou rouge à maturité (**Fig. 04**).



Figure 04 : une orange (www.intrfel.com).

I. 3.4. Le Tronc et les branches :

La taille des branches est variable mais elle est limitée à 3 ; 4 ou 5m par la taille de formation, elles prennent naissance sur le tronc. Elles se divisent en sous-charpentières qui à leur tour porteront les rameaux végétatifs et les rameaux fructifères. C'est au niveau du tronc que se situe la ligne de greffe résultant de l'association de la variété et du porte-greffe (**Fig. 05**) (Loussert, 1987).



Figure 05 : Le tronc de *Citrus sinensis* (www.flickr.com)

I.3.5 Les grains :

Les graines de *Citrus* sont aborales, aplaties, plus ou moins anguleuses. Elles contiennent un ou plusieurs embryons blancs ou verts (Swingle, 1948).

I.3.6 Le Système racinaire :

Chez les agrumes, le système racinaire occupe plus de 70% de la taille de l'arbre et possède

un pivot qui peut dépasser 2m en dessous de la surface. Ces racines fibreuses s'étendent généralement bien au-delà de la canopée (Walter et Sam, 2002).

II. Les phytopathologies de *Citrus sinensis* :

II.1. Les maladies bactériennes :

II. 1.1 Huanglongbing (HLB) ou Citrus Greening:

Le HLB est considéré comme une des maladies des plus destructives pour la production d'agrumes au niveau mondial (Bové, 2006) ;(Zhang et al., 2010) ;(Hall et al., 2013).

Le HLB est une maladie provoquant un déclin progressif provoqué par le pathogène systémique *Candidatus Liberibacter spp* dont la période de latence est très longue (Gottwald, 2010).

II.1.2 La chlorose :

Cette maladie est causée par *Xylella fastidiosa* qui bloque les vaisseaux du xylème de la plante. Elle se transmet à d'autres vergers d'oranges par le biais de jeunes arbres contaminés et d'insectes (Ayress, 2001). Cette grave affection des Citrus est dénommée Citrus-canker par les Anglo-Saxons (Brun, 1971).

II.1.3 Le Chancre bactérien :

Le chancre bactérien des agrumes est une maladie pathogène causé par *Xanthomonas asconopodis pv. citri* (Bull et al., 2001) ;(Schaad et al., 2006).

II.1.4. Stubborn :

Cette maladie est causée par le *Spiroplasma citri*, mollicute phytopathogène qui se multiplie exclusivement dans les tubes criblés du phloème (Ouldfied, 1988).

Les symptômes du « Stubborn disease » se développent lentement mais, au terme de leur évolution, ils aboutissent souvent à la mort de l'arbre. Au cours de cette évolution, la maladie modifie considérablement la physionomie de la plante :

1. Les branches émettent une multitude de bourgeons qui sont à l'origine de nouveaux rameaux courts et coudés vers le sol ;
2. Les feuilles augmentent en largeur, au détriment de leur longueur qui diminue : elles prennent l'aspect de « feuilles de saule ». Si l'attaque est sévère, les feuilles deviennent chlorotiques et tombent ;

-
3. La floraison: L'arbre atteint porte des fleurs et des fruits, à tous les stades de leur développement, et ceci quelle que soit la saison.

II.2 Les ravageurs de l'oranger :

Des insectes, nématodes et acariens divers s'attaquent aux agrumes, dans certains cas pour se nourrir, dans d'autres pour accomplir une partie de leur cycle biologique. Ces attaques sont à l'origine de dégâts qui ont lieu directement par la destruction de différentes parties de l'arbre ou indirectement par la transmission de certaines maladies (**Ouedraog, 2002**).

II.2.1. Lépidoptères :

II.2.1.1. La mineuse des agrumes (*Phyllocnistis citrella*) :

La mineuse des feuilles des agrumes *Phyllocnistis citrella* est l'une des principales contraintes de la production des agrumes. C'est un micro-lépidoptère originaire du Sud-est Asiatique (**Biche, 2012**).

II.2.1.2 Teigne des agrumes (*Prays citri*) :

C'est une chenille de micro lépidoptère du groupe des "Teignes", mesure 2.8 à 3.2 mm de long et de 10 à 12 mm d'envergure, de couleur gris terne, les antennes sont relativement courtes avec des ailes fortement frangées (**Quillici, 2003**).

II.2.2 Diptères :

II.2.2.1 Cératite des agrumes (*Ceratitis capitata*) :

Communément appelée «Mouche méditerranéenne des fruits», et considérée comme étant l'insecte le plus redoutable sur les agrumes. C'est un Diptère qui appartient au groupe des *Schizophora*, à la famille des *Tephritidae* et à la tribu des *Ceratitidini* (**White et Elson-Harris, 1992**).

II.2.3 Les cochenilles des agrumes

Les cochenilles constituent un groupe de ravageurs particulièrement dangereux pour les agrumes tant par les dépréciations qu'elles causent aux fruits que par les affaiblissements qu'elles entraînent sur les arbres où elles pullulent (**Loussert, 1989**).

II.2.4. Les aleurodes :

Les aleurodes sont des mouches blanches microscopiques qui attaquent le dessous des feuilles à la belle saison. Les aleurodes sont des insectes grégaires, ce qui explique la densité des attaques. Ils secrètent un miellat qui favorise le développement de la fumagine, ce qui provoque le dessèchement et de chute des feuilles (**Baillet, 2011**).

II.2.5. les acariens :

Les acariens constituent l'un des groupes de ravageurs les plus importants. Ce sont des arachnides de très petite taille, se distinguant par un corps composé de deux parties distinctes, quatre paires de pattes et une tête dotée d'un rostre qui sert à prélever la sève de l'hôte, provoquant son dépérissement (**Praloran, 1971**).

II.2.6. Pucerons :

Ils apparaissent le plus souvent sur la face inférieure des feuilles et sur les jeunes pousses des agrumes. Sous leur action, les jeunes pousses s'enroulent, puis la partie la plus tendre des feuilles prend une forme incurvée.

II.2.7. Nématodes :

189 espèces ont été signalées dans la rhizosphère des agrumes. Pour seulement onze d'entre elles, le parasitisme a été prouvé, parmi celles-ci, six sont réellement pathogènes dont deux « *Radopholus similis*, *Tylenchulus semipenetrans* » ont une importance économique certaine et sont responsables de la maladie "slow décline" des citrus (**Sweellam et Abou-Taka, 1989**).

III.3. Les maladies fongiques :

III.3.1. La gommose :

C'est l'attaque se développant au niveau des organes des agrumes qui est habituellement appelée gommose, gommose à *Phytophthora*, pourriture du pied, du collet ou de la base du tronc (**Graham et Timmer, 2003**).

1. Agent causal :

La gommose est due à diverses espèces de champignons du sol appartenant au genre *Phytophthora*. *Phytophthora nicotiana* (syn. *Phytophthora parasitica*) affecte les parties souterraines des arbres (racines, collet) (**Bové, 2000**).

Deux types de gommoses peuvent exister dans les vergers, la gommose du bois et la pourriture brune des fruits :

2. Symptômes de la gommose :

Le symptôme le plus typique est l'apparition de gouttes d'exsudat brun à la surface du tronc ou des charpentières infestées. Ce symptôme fait suite à une pourriture des tissus conducteurs de sève et de l'écorce. L'écorce nécrosée sèche, se craquelle et laisse apparaître des lésions brunes. En saison sèche, des fragments d'écorce chutent progressivement (**Leblanc et al., 1998**).

En début d'attaque, aucun symptôme foliaire n'est visible. En revanche, dès que la zone nécrosée s'étend, et avec un certain retard, le feuillage jaunit, l'arbre fleurit à contre-saison et se couvre de fruits. Lorsque la nécrose ceinture tout le tronc, l'arbre sèche, les feuilles tombent les premières, suivies par les fruits. (Fawcett, 1936) ; (Klotz, 1973).



Figure 06: Craquellement de l'écorce avec exsudation de gomme (www.itafv.dz)

3. Les symptômes de la pourriture brune des fruits :

La pourriture brune progresse entre Juillet et Décembre, l'inoculum souterrain peut être envoyé par splash sur les fruits les plus bas. Des pluies continues, une humectation des fruits pendant plus de 18 heures et des températures optimales de 28 à 30°C induisent le développement de la maladie. Il apparaît alors une décoloration de l'épiderme, généralement autour des cicatrices florales, puis des taches brunes lorsque les fruits arrivent à maturité. Les fruits infestés tombent rapidement au sol. Lors de précipitations, l'inoculum secondaire présent sur les fruits est progressivement projeté dans les parties supérieures de la frondaison. Certains fruits infestés peuvent ne montrer aucun signe de pourriture brune à la récolte. Les symptômes apparaissent au cours du stockage (Leblanc et al., 1998).

III.3.2. Mal secco :

1. Agent causal :

La maladie du mal secco, dont l'agent causal est le champignon *Phomatracheiphilaque* se développe dans les tissus conducteurs et entrave la circulation de la sève (Loussert, 1989d). La contamination se produit au niveau des plaies des végétaux qui sont provoquées par le vent, les pratiques culturales ou la grêle. Le champignon peut rester plusieurs années en latence, le végétal ayant une apparence saine (Mauty, 2011).

2. Symptômes :

Les principaux symptômes apparaissent sur un secteur de l'arbre où les feuilles et les petits rameaux se dessèchent. La maladie progresse ensuite vers le bas provoquant le dessèchement des grosses branches et le dépérissement total de l'arbre en un an ou deux. Si la contamination de la maladie s'effectue à partir du sol, sur les racines, le dépérissement peut être foudroyant (en une quinzaine de jours) (Loussert, 1989d).



Figure 07: une feuille touchée par Mal secco (wikipédia).

III.3.3.L'anthracnose :

Le terme anthracnose est couramment appliqué à toute lésion sur fruit qui contient des acervules. *Colletotrichum gloeosporioides* est un envahisseur commun sans symptômes de la peau d'agrumes et n'engendre généralement pas de nécrose. L'anthracnose n'apparaît habituellement que sur les fruits endommagés par d'autres agents tels que les pulvérisations de produits chimiques sur les parasites et sur les fruits qui sont trop mûrs ou conservés trop longtemps (Timmer et al., 1988).

1. Agent causal :

Colletotrichum est un genre asexué, classé parmi les champignons imparfaits. Il appartient aux *Coelomycètes*, produisant ses conidies dans les acervules (Dean et al., 2012).

2. Les symptômes :

Les symptômes sur les feuilles se présentent initialement comme une petite tache angulaire, brune à noire, qui peut coalescer pour former de grandes lésions étendues sur la feuille. Ceci est particulièrement commun autour des bords des feuilles et le niveau avancé mène à une large plage nécrotique des feuilles. Dans des conditions favorables, le champignon peut envahir les rameaux et causer le dépérissement (Nelson, 2008).

Les symptômes s'observent sur les tissus juvéniles (feuilles, inflorescences, petit fruits noués) Et plus tardivement sur les fruits après récolte pouvant provoquer des pertes importantes (Côte et al., 2011).

III.3.4 La fumagine :

Elle se caractérise par une fine croûte noirâtre ressemblant à de la suie. Le miellat, quant à lui, est une substance luisante, collante et sucrée sécrétée principalement par certains insectes dits « suceurs piqueurs » de sève : pucerons, cochenilles, aleurodes, thrips, psylles, cicadelles... Ces insectes sucent la sève contenant des sucres et d'autres éléments fabriqués lors de la photosynthèse. Après digestion, ils rejettent les sucres en excès et forment alors le miellat qui se dépose sur les feuilles. Ces insectes sont donc les vecteurs de la fumagine (Dupuis, 2013).

1. Agent causal :

Cette maladie est généralement la conséquence d'une forte attaque de cochenille et de puceron ou d'aleurode. En effet, ces insectes rejettent sur les feuilles et les rameaux, un miellat sur lequel le champignon responsable de la fumagine (*Capnodium citri*) trouve un milieu favorable à son développement.

2. Les symptômes :

La fumagine réduit le développement et la croissance de la plante en diminuant la lumière, donc la photosynthèse établie par les feuilles, donc le processus vital de la plante. Les feuilles finissent par s'asphyxier sous l'obstruction des « pores » nécessaires à la photosynthèse : elles jaunissent puis tombent (Dupuis, 2013).

Des taches noirâtres sur l'épiderme et une déformation due à une mauvaise photosynthèse déprécient alors la qualité des fruits (Ondet, 2007).



Figure 08 : Feuille recouverte de fumagine (wikipédia)

III.3.5 Pourriture bleue et pourriture verte :

1. Agent causal :

La pourriture verte à *Penicillium digitatum* et la pourriture bleue à *Penicillium italicum*. Ces deux pourritures restent les maladies des agrumes les plus fréquentes en post-récolte dans plusieurs pays agrumicoles (Palou et al.,2002).

2. Les symptômes :

Au cours du développement de *P.italicum*, l'épiderme du fruit atteint s'éclaircit, devient mou.

La maladie due à *Penicillium digitatum* est dite « la pourriture verte », en référence à la couleur verte marquée de ces spores qui s'observent que se soit sur les fruits infectés (Brown et Eckert, 1988).



Figure09 : Clémentine infectée par *Penicillium digitatum* (Taqaort, 2008)

IV. Méthodes de lutte contre (les maladies cryptogamiques) :

L'agriculteur et l'arboriculteur utilisent des techniques et des méthodes naturelles ou artificielles pour un bon rendement et moins de dommages sur les fruits dans le principe d'éliminer ou réduire les pathogènes, des ravageurs et les champignons qui causent des maladies cryptogamiques. Parmi ces moyens de lutte on peut citer : **la lutte culturale ; la lutte physique ; la lutte chimique et la lutte biologique.**

IV.1 Lutte physique :

Cette méthode consiste essentiellement à empêcher la conservation des agents phytopathogènes dans l'environnement ; les débris de plantes malades sont susceptibles 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 (**Mechara et Acila, 2009 ; Vanderbergh, 2015**).

IV.2 Lutte culturale :

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

La prophylaxie est un élément clé de la protection des cultures sous abris, parmi les mesures disponibles, on peut noter (**Jarvis, 1992**) :

- l'utilisation de plants sains pour installer la culture en début de saison (plants indemnes de viroses ou d'infections latentes de champignons ou bactéries et ne portant pas de larves ou d'œufs de ravageurs).
- des précautions pour éviter les contaminations lors des très nombreuses interventions culturales pratiquées sous serre (palissage des plants, effeuillages, ébourgeonnages, récoltes en continu): désinfection des instruments de taille, des mains des opérateurs ; choix des méthodes d'effeuillage posant le moins de risque d'infection des plaies de taille (**Decognet et al., 1998**).

IV.3 Lutte chimique :

La lutte chimique contre les maladies des plantes a commencé en 1865 avec l'utilisation de la bouillie bordelaise (fongicide à base de cuivre) contre l'oïdium et le mildiou de la vigne. Elle se définit par l'utilisation de fongicides pour détruire, affaiblir ou réprimer le champignon.

Un pesticide est une substance chimique; souvent utilisé en agriculture pour protéger les cultures et lutter contre les organismes considérés comme nuisibles, tels que les insectes (insecticides), les maladies fongiques (fongicides) et les mauvaises herbes (herbicides) (**Mamane, 2017**).

1. Herbicides : Les herbicides sont des substances chargées de ralentir la croissance ou de détruire les plantes cibles, nommées adventices ou mauvaises herbes.

2. Insecticides : Les insecticides sont des substances actives ayant la propriété de tuer les insectes, leurs larves et/ou leurs œufs. Les insecticides organiques de synthèse sont des molécules carbonées, synthétisées, et se distinguent des insecticides inorganiques ou minéraux.

On distingue :

- a. **Les organochlorés (OC)**
- b. **Les organophosphorés (OP)**
- c. **Les carbamates**
- d. **Les pyréthrenoïdes de synthèse**

3. Fongicides : les fongicides agricoles permettent de combattre les champignons phytopathogènes susceptibles de provoquer des dégâts sur les plantes cultivées et les récoltes.

a. **Les fongicides minéraux** : parmi les fongicides minéraux on trouve :

a.a **Les fongicides à base de cuivre**

a.b **Les fongicides à base de soufre** :

- 1. Les soufres triturés.
- 2. Les soufres sublimés.

a.c **Les fongicides à base de permanganate de potassium**

b. **Les fongicides organiques**

b.a **Les carbamates.**

b.b **Les dérivés du phénol.**

b.c **Les amides et amines.**

b.d **Les anilinopyrimis.**

IV.3.1 L'impact des produits phytosanitaires chimiques sur l'environnement :

Les substances et les molécules issues de produits phytosanitaires sont susceptibles de se retrouver dans l'air, le sol, les eaux, ce qui induit de grands problèmes de pollution à long terme.

IV.3.1.1. Les eaux :

Les produits chimiques et leurs résidus se retrouvent dans les eaux de surfaces (cours d'eau et étendues d'eau) ainsi que dans les eaux souterraines et marines. La pollution des eaux souterraines due aux pesticides chimiques est un problème mondial. Une fois que les eaux souterraines sont polluées par des produits chimiques toxiques, la contamination peut prendre plusieurs années pour se dissiper ou être nettoyée.

IV.3.1.2. Le sol :

Un traitement important des sols avec des molécules chimiques peut entraîner une baisse des populations de microorganismes du sol bénéfiques. Selon la scientifique du sol **Elaine Ingham** : " Si nous perdons les bactéries et les champignons, le sol se dégrade".

IV.3.1.3. L'air :

La dissémination des produits phytosanitaires dans l'atmosphère se produit soit au moment de l'épandage, notamment lorsqu'ils sont pulvérisés, soit par évaporation, à partir des plantes l'air devenant pollué.

IV.3.2. impact sur la santé humaine :

Différentes études épidémiologiques conduites au niveau international auprès de populations du secteur agricole mettent en évidence des relations entre les expositions aux produits phytopharmaceutiques et certaines pathologies. Parmi les pathologies concernées figurent notamment certains cancers (cancers de la prostate, hémopathies malignes, tumeurs cérébrales, sarcomes de tissus mous...), certaines maladies neurologiques (maladie de Parkinson, maladie d'Alzheimer, troubles cognitifs...), et certains troubles de la reproduction et du développement. D'autres pathologies suscitent également des interrogations telles que les maladies respiratoires, les troubles immunologiques, les pathologies endocriniennes.

- **Exemples sur les effets nocifs des produits phytosanitaires sur la santé des humains :**

La méta-analyse de Van Maele-Fabry et al. de 2012 sur les études et cohortes portées sur la maladie de Parkinson chez les utilisateurs de produits phytopharmaceutiques professionnels conclut que l'exposition aux produits phytopharmaceutiques est un facteur de risque concernant la maladie de Parkinson (**Van Maele-Fabry et al., 2012**).

Le rôle des produits phytopharmaceutiques sur la maladie d'Alzheimer - pourtant la maladie neurodégénérative la plus répandue - demeure peu étudié. Tout comme la maladie de Parkinson, des biomarqueurs de stress oxydatif ont été retrouvés chez les patients atteints de la maladie d'Alzheimer au niveau des zones cérébrales atteintes (**Migliore et Coppedè, 2009**).

Plusieurs études de terrain ont montré une altération de l'ADN chez les agriculteurs utilisateurs de produits phytopharmaceutiques (**Fenner-Crisp et al., 1993 ; Bagchi et al., 1995 ; Lebailly et al., 1998 ; (Debarh et al., 2002 ; Calviello et al., 2006 ; (Kisby et al., 2009)**).

La cohorte AgriCan (est l'une des associations au monde à se pencher sur la santé du milieu agricole) est l'une des plus récentes et la seconde plus importante en effectif. Mise en place à partir de 2005, elle est spécialisée sur l'apparition de cancers chez les agriculteurs de douze départements. Outre la spécificité française d'AgriCan, cette étude se distingue par sa focalisation sur les cancers chez les agriculteurs, alors que les autres études (notamment l'AHS) portent sur diverses pathologies de l'agriculteur et de son entourage (**Alavanja et al., 1996**).

IV.3.3. L'impact sur la biodiversité

En prenant l'exemple des oiseaux, 1211 espèces d'oiseaux (12 % du total) sont considérées comme étant menacées dans le monde et 86 % de celles-ci sont menacées par la destruction ou la dégradation de leur habitat.

Pour 187 espèces d'oiseaux menacées dans le monde, la première source de pression est la pollution chimique, comprenant les produits phytosanitaires chimiques et les métaux lourds pénétrant les eaux de surface et l'environnement terrestre (**Berny et al., 1997**).

Les morts de mammifères imputables aux pesticides chimiques sont généralement la conséquence de l'ingestion d'une nourriture contaminée. Les prédateurs accumulent des quantités de résidus plus élevées que les herbivores. On a noté des mortalités massives lors de grandes opérations de lutte menées avec des organo-chlorés (**Madhun et Freed, 1990**).

Les mortalités de poissons étant les plus spectaculaires. **Pimentel et coll(1993)** estiment qu'entre 1977 et 1987, aux États-Unis, 6 à 14 millions des poissons sont morts, chaque année, à cause des produits chimiques.

IV.4. Lutte biologique :

La lutte biologique connaît une forte expansion qui s'explique par les dégâts

environnementaux et autres problèmes de santé publique causés par les produits phytosanitaires chimiques. On estime que le chiffre d'affaires du secteur de la lutte biologique va atteindre près de 9 milliards de dollars d'ici à 2022, soit 10% du marché phytosanitaire mondial.

IV.4.1. Définition :

Le terme "lutte biologique" recouvre différents concepts selon les disciplines impliquées dans la protection des cultures **(Nordlund, 1996)**.

La lutte biologique se définit comme une méthode de lutte contre un ravageur, une maladie ou une plante adventice, en utilisant des agents naturels antagonistes de ceux-ci bactéries, levures, champignons. Elle a fait l'objet de nombreuses études afin de mettre au point des méthodes alternatives pour inhiber le développement fongique dans les fruits et les légumes **(Meng et Tian, 2009)**.

La lutte biologique est l'une des alternatives les plus prometteuses aux fongicides synthétiques impopulaires et les recherches sur le biocontrôle post-récolte ont augmenté au cours des dernières décennies **(Droby et al., 2009)**.

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

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)**.

IV.4.2. Types de lutte biologique :

IV.4.2.1. Parasitisme :

Ce mécanisme de lutte consiste en une interaction directe entre deux microorganismes où les tissus vivants de l'un constituent une base nutritive pour l'autre **(Helluy et Holmes, 2005)**. Il

implique l'invasion des cellules de l'agent pathogène par le microorganisme antagoniste (Corbaz, 1990).

IV.4.2.2. Compétition :

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

Outre la compétition nutritionnelle, la compétition spatiale contribue aussi à la réduction des infections racinaires par les agents phytopathogènes (Benítez et al., 2004). En effet, les microorganismes ayant la capacité de coloniser les racines comme les bactéries promotrices de la croissance des plantes (Plant Growth Promoting Bacteria, PGPB) protègent les racines et occupent les sites d'infection aux agents phytopathogènes (Benítez et al., 2004 ; Campant et al., 2005).

IV.4.2.3. Antagonisme :

L'antagonisme se manifeste généralement soit par une compétition, un hyper parasitisme, une production de sidérophones ou une antibiose (Soufiane ,1998).

Une même espèce, voire une même souche, d'agent de lutte biologique peut posséder plusieurs modes d'action :

1. Hyperparasitisme
2. L'antibiose
3. L'occupation de la même niche écologique
4. La compétition
5. La modification de milieu
6. L'induction de résistance chez plante hôte.

IV.4.3. La lutte biologique par des agents d'origine microbienne :

La lutte biologique à l'aide de microorganismes ou lutte microbiologique apparaît comme très fructueuse grâce à la grande diversité des microorganismes présents dans tous les écosystèmes. La plupart des microorganismes sont très spécifiques de leur cible et sont donc inoffensifs pour les organismes non hôtes (Jourdeuil et al., 1991).

Les micro-organismes utilisés en lutte microbiologique appartiennent à plusieurs taxons à savoir les virus, les bactéries, les microchampignons, les nématodes et les protozoaires. À ce jour, plusieurs milliers de micro-organismes entomopathogènes et pathogènes des mauvaises herbes ont été décrits et plus d'une centaine d'espèces sont utilisées en champs (**Ignoffo, 1970 /1973**).

La lutte microbiologique par l'utilisation de micro-organismes souvent conditionnés comme des insecticides, appelés également insecticides microbiens ou « biopesticides ».

Présentation de l'agent de contrôle:(*Bacillus subtilis*)

I. Le genre *Bacillus spp* :

Les bactéries du genre *Bacillus* sont hétérotrophes et en forme de bâtonnets. Ces bactéries à Gram positif ubiquistes sont naturellement présentes dans la rhizosphère (**Nakano et Zuber, 1998**).

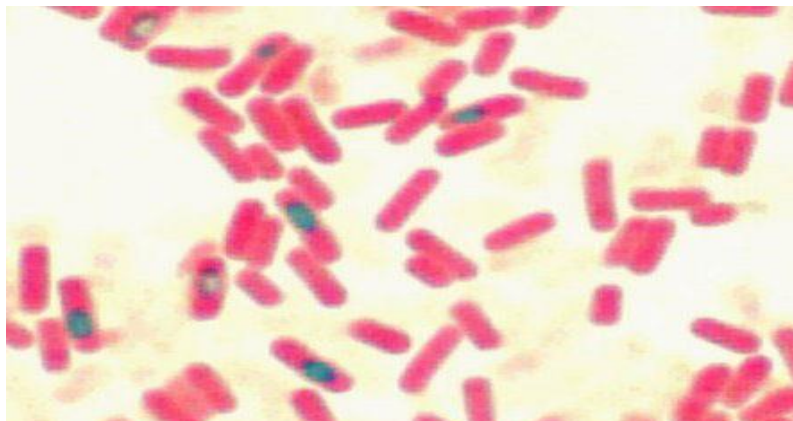


Figure 10 : Photos microscopique de la bactérie *Bacillus sp* (**Wékipédea**).

I.1.Caractéristiques microbiologiques :

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 (**Bougeois et Leveau, 2006**).

Ils se cultivent bien sur milieux ordinaires (gélose nutritive ou milieu phosphate tryptose) (**Perez et al., 2007**). Leur culture est abondante en 24h en bouillon comme en gélose.

I.2. Classification :

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

1. Bacillus à spore ovale non déformante ;
2. Bacillus à spore ovale déformante ;
3. Bacillus à spore ronde déformante.

Tableau 02 : Classification des *Bacillus* selon Wang et Sun (2009), quelques exemples de bactéries appartenant aux autres groupes (de II à IX) ont été mentionnés.

Groupes	Espèces
I	<i>B.pumilus</i> , <i>B.subtilis</i> , <i>B.safensi</i> , <i>B.lichenformis</i> , <i>B.mojavensis</i> , <i>B.amyloliquefaciens</i> , <i>B.altitudinis</i> , <i>B.aerophilus</i> , <i>B.sonorensis</i> .
II	<i>B.anthraxis</i> , <i>B.cereus</i> , <i>B.thuringiensis</i> et <i>B.megaterium</i>
III	<i>B.bataviensis</i>
VI	<i>B.infernus</i>
V	<i>B.indicus</i> et <i>B.litoralis</i>
IV	<i>B.macyae</i>
VII	<i>B.arsericus</i> , <i>B.berbericus</i>
VIII	<i>B.saliphilus</i> ,
IX	<i>B.salaricus</i> , <i>B.halophilus</i>

I.3. Taxonomie :

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

Domaine : Bacteria

Embranchement : Firmicutes

Classe : Bacilli

Ordre : Bacillales

Famille : Bacillaceas

Genre : Bacillus

Espèce : *Bacillus spp*

I.4. Historique des bactéries du genre Bacillus dans la lutte biologique :

En général, les *Bacillus* sont plus efficaces contre les agents pathogènes affectant les racines qu'envers ceux affectant la partie aérienne des plantes, leur efficacité serait améliorée par l'application répétée préventive, particulièrement en serre, où les modes de dispersion des endospores des bactéries (vent, insecte, pluie) sont plus limités (Wei et al., 2016 ; Islam et al., 2017).

Le *Bacillus* est également un produit commercial important dans le secteur agricole *B.thuringiensis*, *B.popilliae* et *B.lentimorbus* sont depuis longtemps reconnus comme des sources importantes de 320 manuels pratiques de microbiologie, deuxième édition biopesticides naturels efficaces contre un large éventail d'insectes ravageurs (Schnep et al., 1998 ; Schllmey et al., 2004 ; Elbendary, 2006).

En particulier, différentes espèces de *Bacillus* excrètent des peptides et des lipopeptides au milieu de culture, comme la fengycine, l'iturine, la bacillomicine et d'autres, ayant des propriétés antifongiques (Katz et Demain, 1977 ; Jacques et coll, 1993 ; Zuber et al., 1993 ; Lebbadi et coll, 1994 ; Eshita et al., 1995 ; Kajimura et coll, 1995 ; Yakimov et al., 1995 ; Yu et al., 2002 ; Chitarra et al., 2003 ; Cho et al., 2003).

Ces peptides antifongiques inhibent la croissance d'un grand nombre de champignons, dont *Aspergillus*, espèces *Penicillium* et *Fusarium* (Munimbazi et Bullerma, 1998).

De nombreuses espèces de *Bacillus* dont *B. subtilis*, *B. licheniformis*, *B. pumilus*, *B. amyloliquefaciens*, *B. cereus*, *B. mycooides* et *B. thuringiensis*, sont connus pour supprimer la croissance de plusieurs champignons phytopathogènes tels que *Rhizoctonia*, *Fusarium*, *Sclerotinia*, *Sclerotium*, *Gaeummanomyces*, *Nectria*, *Pythium*, *Phytophthora* et *Verticillium*. Leur propriété principale d'antagonistes est le produit des antibiotiques antifongiques (Zhang et al., 2009) ; (Khan et al., 2011) ; (Cadena et al., 2012)

II. *Bacillus subtilis* :

Bacillus subtilis est une bactérie du sol à Gram positif, mobile par des flagelles péritriches, aérobie, mais dans le cas de la présence de glucose et de nitrate, une croissance anaérobie peut se produire. Cette bactérie est capable de produire une endospore ayant une haute résistance aux conditions défavorables (Priest et al., 1987).

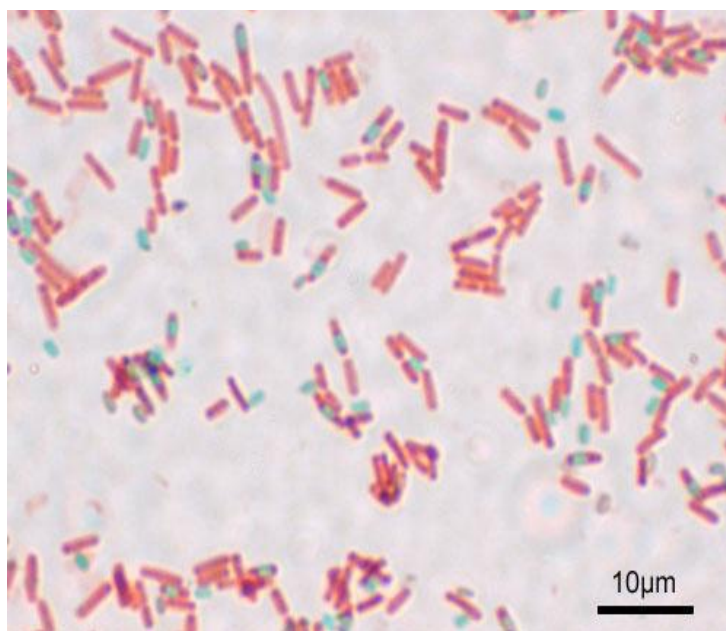


Figure11 : photographie de l'observation microscopique de *Bacillus subtilis* (Bridier et al., 2010).

II.1. Caractéristique de *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. Il peut former une endospore dure protectrice, il est classé comme un aérobie obligatoire (Bridier et al., 2010).

II.2. L'activité antifongique de *Bacillus subtilis* :

Il existe un certain nombre de rapports sur le potentiel de *Bacillus subtilis* comme agent de lutte biologique contre les pathogènes fongiques (Cubeta et al., 1985);(Seifert et al., 1987);(Fravel,1988) ;(Ferreira et al., 1991).

Bacillus subtilis est le plus étudié, elle a été rapporté comme promoteur de croissance et antagoniste d'une variété d'agents pathogènes notamment fongiques tels que *Phytophthora cactorum*, *Sclerotiumcepivorum*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Alternaria carthami*, *Phytophthora capsici* et *Fusarium solani* parmi d'autres, dans différentes cultures et évalués in vitro, en serre et sur le terrain (Yuen et al., 1985 ; Lucas-Garcia et al., 2004). Les lipopeptides produits par *B.subtilis* sont considérés comme les principaux composés impliqués dans sa lutte biologique (Ongena et Jacques, 2008). Les lipopeptides de *B. subtilis* sont des métabolites secondaires amphiphiles produits par des peptidases synthétases composées d'un peptide cyclique fragment (hydrophile) lié à une chaîne d'acide gras (hydrophobe) (Stein, 2005 ; Jacques, 2011 ; Cochrane et Vederas, 2014).

Bacillus subtilis dédie environ 5% de son génome à la synthèse d'antibiotiques et produit plus d'une vingtaine de composés antimicrobiens aux structures différentes (Ongena et Jacques, 2008).

La biosynthèse de molécules lipopeptidiques est l'un des mécanismes d'action majeurs de *B.subtilis* lui permettant la colonisation du milieu. Cette bactérie est actuellement utilisée comme agent de biocontrôle et les lipopeptides qu'elle produit font partie des plus connus (Jacques et al., 2014).

II.3. Les lipopeptides de *Bacillus subtilis* :

Les lipopeptides cycliques appartiennent à trois grandes familles, à savoir la surfactine, l'iturine et la fengycine (ou plipastatine). La plupart des métabolites secondaires produits par *Bacillus spp* sont des antibiotiques peptidiques (Haidar et al., 2016).

Les lipopeptides des familles de l'iturine et de la fengycine sont bien connus pour leur large spectre d'activité antifongique, alors que les membres de la famille des surfactines présentent un surfactant et les capacités antivirales (Stein, 2005).

Selon leur séquence d'acides aminés, les lipopeptides cycliques (CLP) sont classés en trois familles distinctes :

1. Fengycine (fengycine et plipastatine) ;
2. Iturine (iturine, mycosubtiline, bacillomycine et mojavensine) ;
3. Surfactines (lichénysine et pumilacidine) (**Ongena et Jacques, 2008 ; Jacques, 2011**).

II.3.1. Les fengycines :

Les membres de la famille des fengycines présentent une hétérogénéité à la 6^{ème} position dans la fraction peptidique ainsi que dans la longueur de la chaîne de l'acide gras β -hydroxy. Les fengycines ont été classées en deux classes, à savoir la fengycine A et la fengycine B (**Kim et al., 2004**).

Les fengycines sont des lipopeptides antifongiques à large spectre, elles sont particulièrement efficaces contre plusieurs espèces de champignons et agissent à de faibles concentrations. Ils sont antagonistes contre les champignons pathogènes de plusieurs cultures et ont été suggérés pour l'agriculture (**Ongena et Jacques, 2008**).

II.3.2. Les surfactines :

La famille des surfactines englobe les variantes héptapeptidiques d'esperine, la lichenysine, la pumilacidine et la surfactine. Le cycle héptapeptidique est directement lié à une longue chaîne hydrocarbonée (C12-C16) (**Korenblum et al., 2012**).

Les surfactines sont reconnues comme ayant des propriétés antibactériennes, antivirales, antitumorales, hypocholestérolémiantes, antifongiques, antimycoplasmiques et inductrices des mécanismes de résistance des plantes contre les pathogènes (**Vollembroich et al., 1997 ; Peypoux et al., 1999 ; Ongena et al., 2007 ; Cawoy et al., 2014**).

II.3.3. Les iturines :

Les iturines sont des heptapeptides cycliques également reliés par une liaison amide à une chaîne d'acide gras β -aminée composé de 14 à 17 carbones. Contrairement aux autres lipopeptides, les iturines sont neutres ; ce sont également des biosurfactants. Six autres membres de la famille des iturines ont ensuite été décrits : iturine C, la bacillomycine D, F, L, Lc et la mycosubtiline (**Bonmatin et al., 2003**).

L'iturine présente des propriétés antifongiques à large spectre, y compris une activité contre *Rhizoctonia*, *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium* et *Pyricularia spp* (**Seung et al., 2013**).

Il est mentionné dans la littérature (**Walton et Woodruff, 1949**) que la mycosubtiline était le premier composé antifongique de *Bacillus subtilis*. En 1968, la mycosubtiline s'est avéré pour la première fois être un puissant agent antifongique avec des activités bactériennes contre les souches *de micrococcus* et *de sarcina* (**Kakinuma et al., 1968**).

II.3.3.1. La biosynthèse de la mycosubtiline

La mycosubtiline appartient aux iturines et se compose de sept acides aminés liés à un acide aminé unique en C16 ou C17 avec linéaire ou chaîne acyle ramifiée (iso ou antiso). Cette structure confère des propriétés biologiques intéressantes à ce métabolite secondaire, en particulier l'activité antifongique, qui augmente avec l'atome de carbone de la chaîne acyle (**Ongena et Jacques, 2008**).

La mycosubtiline a la capacité d'inhiber la croissance de plusieurs champignons phytopathogènes (**Leclère et al., 2005 ; Mejri et al., 2017**).

II.4. Quelques souches de *Bacillus subtilis* :

Plusieurs souches de *Bacillus* commercialisées ; comme la souche *B. subtilis* QST 713 présente dans le Serenade, ont démontré la capacité de réduire de 50% la sévérité de plusieurs maladies racinaires et des parties aériennes, comme la fonte des semis causée par *Rhizoctonia solani*, la moucheture bactérienne causée par *Pseudomonas syringae* et le blanc poudreux causé par divers champignons de l'ordre des *Erysiphales* chez plusieurs plantes incluant la tomate et le concombre (**Islam et al., 2017**).

Une autre souche de *B. subtilis*, GA1 a démontré la capacité de protéger des pommes endommagées après leur récolte contre *B. cinerea* (**Toure et al., 2004**).

B. subtilis PTB185, ont été testés pour leur capacité à contrarier la croissance mycélienne et la germination des conidies de *B. cinerea* et à lutter contre la moisissure grise.

Ce qui est très important compte tenu du fait que la germination des conidies et la pénétration du mycélium chez l'hôte sont des étapes clés dans le cycle d'infection chez *B. cinerea* (**Romanazzi et Feliziani, 2014**).

Pour cette raison, il est suggéré que *B. subtilis* puisse être incorporé à la gestion intégrée des maladies des plantes notamment fongiques, où ces souches peuvent être utilisées comme agent de lutte biologique ainsi que comme biofertilisant.

*Revue
de la
littérature*

Dans le secteur agricole, pour faire face aux dégâts occasionnés par les agents phytopathogènes microbiens, plusieurs méthodes de lutte sont employées, dont la plus répandue actuellement est la lutte chimique. Cette méthode, malgré tous les avantages qu'elle offre aux agriculteurs, elle reste nocive pour l'homme, la biodiversité et l'environnement.

La lutte biologique, par l'utilisation des microorganismes qui peuvent contrôler leurs agents pathogènes d'une façon ciblée et par différents mécanismes à savoir ; l'antibiose, le mycoparasitisme, la compétition pour les nutriments, la production des métabolites secondaires et l'induction de résistance chez la plante, semble la meilleure alternative qui peut nous éviter les dégâts occasionnées par l'utilisation des produits phytosanitaires chimiques.

Parmi les agents microbiens de la lutte biologique, les souches de *Bacillus subtilis* sont les plus étudiées.

C'est dans ce cadre que nous avons réalisé une analyse d'un ensemble de travaux scientifiques qui portent sur l'étude des effets antimicrobiens de plusieurs bactéries qui font partie du genre *Bacillus* sur les champignons phytopathogènes tout en visant à mettre le point sur la valorisation des potentialités de quelques souches qui appartiennent à l'espèce *Bacillus subtilis*, isolées à partir de différents biotopes à travers le monde.

Au Maroc en **2007**, une étude a été réalisée par **Majda El Hassini** sur la lutte biologique contre la maladie du bayoud chez le palmier dattier, causée par *Fusarium oxysporium* f. sp. *albedinis*. Le but de ce travail c'était la sélection des microorganismes inhibant l'agent causal et induisant des réactions de défense contre la maladie.

Une bactérie de l'espèce *Bacillus subtilis* isolée de la rhizosphère de la pomme de terre a été utilisée contre le *Fusarium oxysporium* f. sp. *albedinis*. Le protocole utilisé in vitro dans cette étude a consisté à mettre l'agent de contrôle et le champignon dans la même boîte de Pétri qui porte le milieu PDA. Le test a montré un taux d'inhibition considérable de la croissance mycélienne par la bactérie *B.subtilis* qui correspond à 15%. In vivo, une inoculation des racines du palmier dattier avec 10 µL de l'antagoniste à raison du 10⁸ UFC/ml a induit des réactions de défense sans causer la mortalité des racines ou des semis.

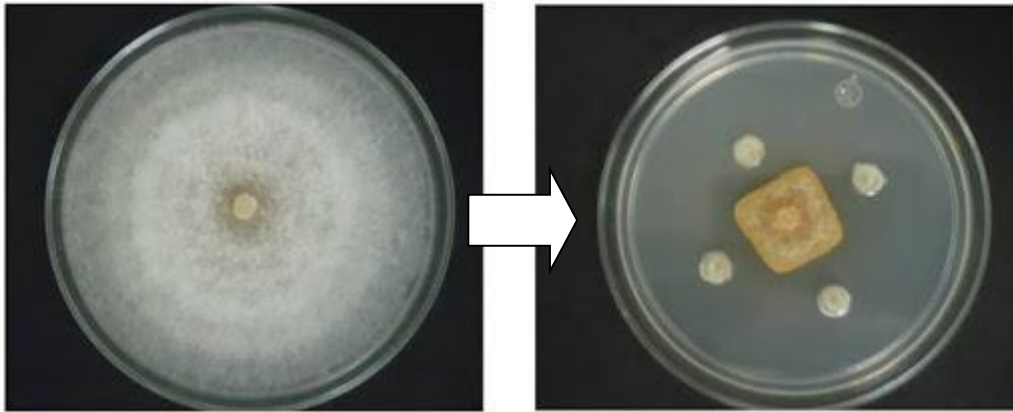


Figure 12: Test d'activité antifongique de *Bacillus subtilis* contre *Fusarium oxysporium f al* (El Hassini, 2007).

Aussi, en Tunisie en 2011, une recherche de **Badiaa Essghair** sur l'évaluation de l'activité antifongique d'une souche halotolérante de *Bacillus subtilis* J9 (EF471915), isolée à partir d'un Sebkhia située dans la région Nord-Est de la Tunisie a été réalisée sur les champs de fraiser (*Fragaria*), contre les moisissures suivantes: *Fusarium sp*; *Phytophthora*; *Alternaria sp* et *Penicillium sp* in vivo et in vitro.

Les auteurs ont réalisé trois tests In vivo sur un champ de culture de fraiser pendant la période de mars à avril 2008, sous température de sol comprise entre 17,8°C et 22,5°C et une humidité relative de 30 à 71%, dont le premier a été réalisé par une suspension à base de la bactérie en question, le deuxième par une molécule chimique fongicide (Scala) et le troisième (témoin) par de l'eau.

Les résultats de la première partie de ce travail ont montré une bonne efficacité fongicide de la souche de *B.subtilis* utilisée, représentés en pourcentages d'inhibition importants de la croissance des champignons (46,3% à 44,3%) par rapport au traitement chimique à base de (Scala).

En ce qui concerne les tests In vitro, des confrontations directes en boîtes de Pétri ont été effectuées entre la souche de *Bacillus subtilis* J9 (EF471915) et les champignons cités précédemment. Le suivi de la croissance mycélienne de ces champignons a révélé que la bactérie avait un potentiel d'inhibition de croissance qui arrive jusqu'à 95,7% pour *Penicillium sp*, 95,3% pour *Phytophthora*, 96,5% pour *Alternaria sp* et 35% pour *Fusarium sp* ce qui reflète sa forte activité ainsi que son large spectre fongicide (**tableau03**) .

Vu les pourcentages d'inhibition importants obtenus dans cette étude, il serait très intéressant de faire un criblage des molécules fongicides qui sont à l'origine de ces fortes potentialités de la souche *Bacillus subtilis* J9 (EF471915)

Tableau 3 : Résultats des tests antifongiques *in vitro* de la *B.subtilis* J9 contre les champignons phytopathogènes sur le milieu PDA.

Les champignons	Taux d'inhibition par <i>B.subtilis</i> J9
<i>Penicillium sp</i>	95.7%
<i>Alternaria sp</i>	96.5%
<i>Fusarium sp</i>	35 %
<i>phytophthora</i>	95.3%

Une autre recherche scientifique menée en **2013** en Mexique par **Hernández F.D.** et al sur le contrôle biologique de l'agent pathogène *Fusarium oxysporium* du melon (*Cucumis melo*) par des bactéries du genre *Bacillus spp* isolées et identifiées à partir d'un sol de champs de melon.

Dans cette étude, les auteurs ont révélé des potentialités antifongiques d'un ensemble de souches de *Bacillus sp* contre *Fusarium oxysporium*, dont la plus intéressante était celle de *Bacillus subtilis* *in vitro* (**Fig.13**). Dans le même travail et dans le but d'étudier la possibilité de remplacer les antifongiques chimiques (Chlorothalonil, iprodione, propiconazole, thiabendazole), utilisés contre ce champignon phytopathogène par des bactéries qui font partie du groupe *Bacillus sp*, les auteurs ont aussi prouvé à l'aide des tests *In vivo* (**Fig.14**), une différence énorme entre les pourcentages d'inhibition obtenus suite aux utilisations des deux types d'agents de contrôle cités, dont la souche *Bacillus subtilis* était la plus performante.

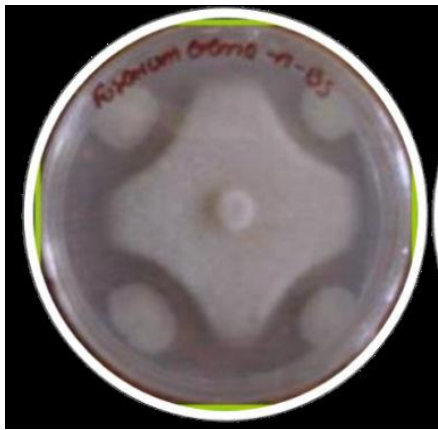


Figure 13: L'effet antifongique de *B. subtilis* sur la croissance de mycélium de *Fusarium* (Hernández al., 2013).



Figure 14 : L'effet inhibition de La bactérie *Bacillus subtilis* contre propagation de la maladie fongique (Hernández et al., 2013)

En Algérie, dans une étude réalisée par **Asma ait kaki** en **2014** dans la région de Constantine sur l'intitulé « recherche de nouvelles potentialités de bactéries du genre *Bacillus sp* pour l'agriculture et l'agroalimentaire, des tests in situ de l'activité antifongique de 39 souches isolées de divers environnements de l'est d'Algérie (lac salé de Ain M'lila ,oued al Athmania , et la rhizosphère de la plante *Calendula officinalis* » ont été effectués sur une culture de pois chiche (variété: CV.Flipe 13 90).

Dans des conditions des pots, des graines lavées avec l'eau distillé et séchées par des papiers de filtre ont été traitées par 10ml d'une suspension bactérienne à concentration de (10^7 spores/ml) et semées dans un sol, infecté naturellement par l'un des champignons pathogènes suivants : *Alternaria alternata*, *Aspergillus niger*, *Botrytis cinerea*, *Cladosporium cucumerinum*, *Fusarium oxysporium*, *Sclerotonia sclerotiorum* et *Fusarium sp*.

Des traitements dans plusieurs lots du sol ont été réalisés en pulvérisant la même suspension bactérienne, à savoir: ST-GT (sol traité- graines traitées); ST-GNT (sol traité, graines non traitées); SNT-GT (sol non traité- graines traitées); SNT-GNT (sol non traité, graines non traitées= Contrôle).

Le contrôle du développement des symptômes de la maladie fongique ainsi que la taille de la plante, après 30 jours, ont montré de très bonnes efficacités d'un nombre important des souches utilisées, dont les plus importantes étaient celles obtenues dans les pots avec les conditions «sol traité-graines traitées » (Fig.15). La meilleure croissance de la plante

enregistrée dans ces derniers était de 14 cm par rapport le témoin où la croissance était de 10cm et le meilleur taux d'inhibition de la maladie était de 60%.



Figure 15 : Effet du traitement du sol naturellement infecté par *Sclerotonia sclerotiorum*, avec la suspension (10^7 spores/ml) de la souche et *B. subtilis* sub sp. *spizezenii* (23SRTS) sur la taille et le taux de maladie des plantes de pois chiche (variété: *CV.Flipe 13 90*), après un mois de semis.

Dans une recherche scientifique réalisée par **Alloue-Boraud et al. (2015)**, sur la promotion de l'utilisation de *Bacillus subtilis* GA1 pour la lutte contre les germes d'altération de la mangue en Côte D'ivoire, où le genre *Penicillium* sp a marqué une prédominance par rapport à l'ensemble des germes fongiques phytopathogènes isolés à partir de la culture de la mangue dans la région d'étude, les auteurs ont testé l'activité antifongique d'une souche de *B.subtilis* nommée GA1 (CWBI-B637), contre les phytopathologie d'origine fongique du mangue in vitro.

Le protocole consistait à inoculer des fruits sains par des champignons isolés à partir des mangues altérées puis ré-isoler les champignons (**Fig.16**) avant de tester leurs pouvoirs de pousser sur le milieu PDA en présence de la souche de *B.subtilis*.

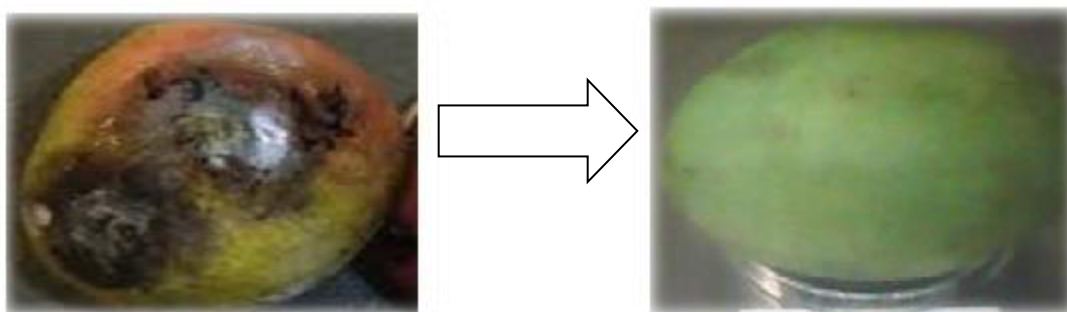


Figure 16: Inoculation des champignons des mangues altérées sur des mangues saines (**Alloue-Boraud et al., 2015**).

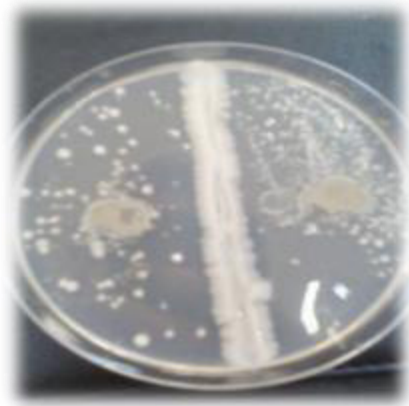


Figure 17 : Le test d'antagonisme de la bactérie *Bacillus subtilis* contre *Penicillium sp.*

Les résultats ont révélé des activités antifongiques importantes de la souche de *B.subtilis* vis-à-vis les champignons isolés de la mangue notamment celle enregistrée contre *Penicillium sp* et qui correspond à 62%.

En 2018, un autre travail a été réalisé en Turquie, par **Nasibe Tekiner**, sur la détermination de certains agents de lutte biologique contre la pourriture alternarienne du coing, telle que la bactérie *Bacillus subtilis* (isolée à partir d'un sol de verger de framboise), pour lutter contre *Alternaria alternata*.

Après l'isolement et l'identification du champignon *Alternaria alternata* à partir du coing, des tests in vitro ont été réalisés au laboratoire afin d'étudier la potentialité antifongique de la souche *B.subtilis* (TV 17C) à l'encontre de ce champignon phytopathogène. Les résultats obtenus montrent le taux d'inhibition important de la croissance du mycélium de champignon par *B.subtilis* qui est de 60% (**Fig.18**).

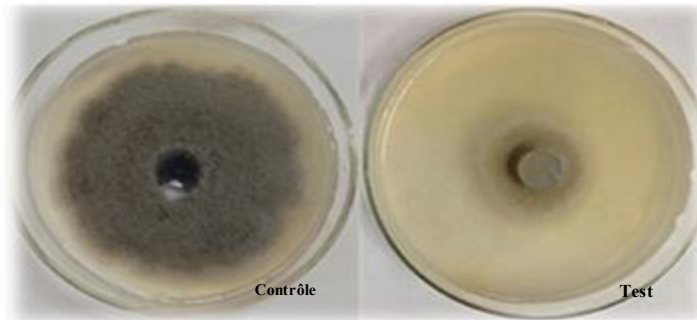


Figure 18 : Le test antifongique sur la croissance d'*Alternaria alternata*

Par conséquent et en raison de sa forte potentialité contre la croissance du champignon *Alternaria alternata*, la bactérie *Bacillus subtilis* (TV 17C) peut remplacer efficacement les moyens de lutte chimiques utilisés contre la maladie fongique en question.

A cet égard, une étude a été menée au Maroc en **2020** par **Mohammed El Guilli** dans la région de Casablanca sur l'application de la bactérie *Bacillus subtilis* ZH2 qui a été isolée à partir des agrumes, dans la lutte contre *Penicillium italicum* et *Penicillium digitatum* afin de réduire leurs impact sur le rendement de la culture de l'oranger dans la région d'étude.

Des oranges inoculées par des champignons du genre *Penicillium sp* isolés à partir des oranges altérées, ont été soumises à deux traitements, le premier, chimique à base d'Imazalil et le deuxième à base de la bactérie de *Bacillus subtilis*.

Les résultats obtenus révèlent des taux d'inhibition importants de la croissance des moisissures sur les fruits par la souche *B. subtilis* (ZH2) qui étaient de 50% pour la moisissure bleue et de 69% pour la moisissure verte, tandis que le traitement chimique avait des résultats trop limités (10% contre *Penicillium digitatum* et 0% contre *P.italicum*).

Dans le cadre du contrôle biologique des insectes phytopathogènes des agrumes et qui sont en même temps des agents transmissibles des maladies fongiques des plantes.

En **2010**, **Farida Saiah et al.**, ont réalisé une recherche scientifique sur l'isolement et l'identification de bactéries entomopathogènes à partir de *Phyllocnistis citrella* dans l'Ouest Algérien, cette étude a traité la possibilité de l'utilisation des bactéries du genre *Bacillus subtilis* comme un biopesticide contre les agents transmissibles des maladies fongiques dans

les vergers d'agrumes dans le but de réduire les dégâts occasionnés par les pesticides sur l'environnement .

Des larves de 02^{eme} et 03^{eme} stade ont été inoculées par la bactérie *Bacillus subtilis* isolée et identifiée à partir des nymphes de la saison précédente, avec une concentration de 10^5 UFC, juste au-dessus de la tête. Puis, des feuilles d'agrumes contenant les insectes préalablement traitées ont été mises dans des boîtes de pétri contenant du coton humidifié, 20 larves par traitement sont retenues y compris pour le témoin(**Fig.19**).



Figure 19 : Larves de *P. citrella* traitées par *Bacillus subtilis* (**Farida Saiah et al., 2010**).

24h après le traitement, les auteurs ont remarqué des mortalités importantes qui arrivent jusqu'à 80 % et ils ont constaté que la bactérie *Bacillus subtilis* présentait une forte toxicité par rapport aux autres bactéries utilisées pour le même objectif.

Cette étude a permis de mettre en évidence un pouvoir pathogène marquant de la bactérie *Bacillus subtilis* qui était naturellement présente dans le site d'étude, sur les larves de la mineuse des agrumes.

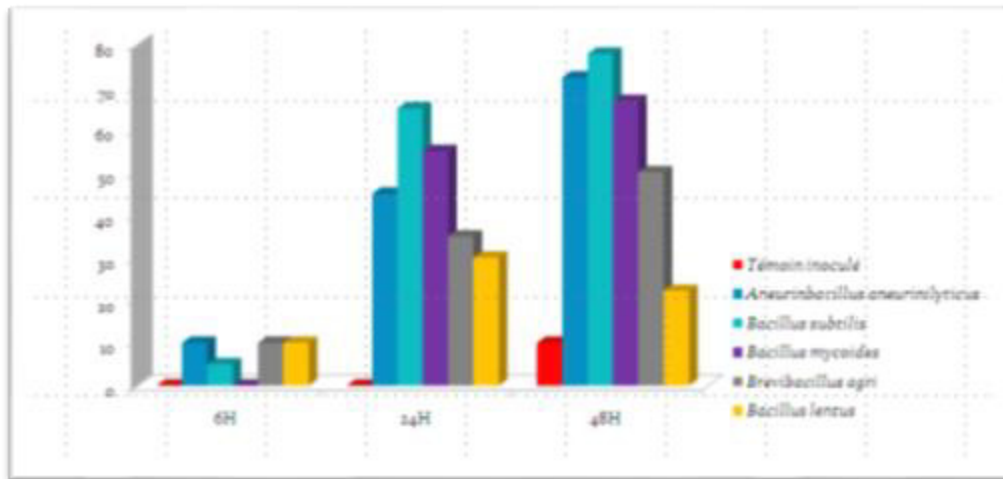


Figure 20: Histogramme représentatif de la mortalité des larves de *P. citrelli* inoculées par les solutions bactériennes (Farida Saiah et al., 2010).

En conclusion, l'ensemble des travaux scientifiques cités dans cette revue de la littérature ont conclu que la bactérie *Bacillus subtilis* a des capacités antimicrobiennes et entomopathogènes importantes ; ce qui montre qu'une application des programmes de lutte biologique en Algérie, à base de cette bactérie dans l'avenir, sera plus avantageuse par rapport aux traitements chimiques des phytopathologies, sur le plan socioéconomique ainsi que sur le plan environnemental.

Conclusion et perspectives :

Dans notre travail nous avons fait une analyse des recherches scientifiques sur l'application des bactéries du genre *Bacillus sp* dans la lutte biologique comme une méthode alternative à l'utilisation des produits chimiques dans l'agriculture, afin de réduire l'impact de ces derniers sur l'équilibre biologique et environnemental.

Les potentialités antifongiques exprimées en taux d'inhibition de la croissance mycélienne, de l'ensemble des souches de l'espèce *Bacillus subtilis* utilisées contre les champignons phytopathogènes, notamment ceux qui sont responsables d'altérations des agrumes tels que: *Fusarium sp*, *Penicillium sp*, *Alternaria alternata*, et *Aspergillus niger*, varient entre 15% et 95%.

Pour cette raison, nous suggérons que plusieurs souches bactériennes qui appartiennent au genre *Bacillus sp* en général et à l'espèce *Bacillus subtilis* en particulier, puissent être incorporées dans différents programmes de gestion intégrée des maladies fongiques des plantes, en tant que biofertilisants, phytostimulants ou agents de bio-contrôle.

En perspectives, il serait très intéressant d'isoler et d'identifier des souches locales de *Bacillus subtilis* et d'explorer leurs richesses en molécules responsables d'activités antifongiques, dans le but de proposer des programmes de lutte biologique qui peuvent remplacer l'utilisation massive des produits chimiques dans l'agriculture.

Références bibliographiques

1. **Alloue-Boraud W.A Mireille, Louis Ban Koffi, Dadie.A , Thomas, DjeK. Marcellin et Ongena Marc., 2015.** Utilisation de *Bacillus subtilis* GA1 pour lutter contre l'altération de la mangue en Côte d'Ivoire. Journal of Animal and Plant Sciences. V25N°3, pp3954-3965. Disponible à l'adresse : <http://www.m.elewa.org/JAPS>
2. **Araba Oum Hani et Bouchmel Hanane, 2016.** Contribution à l'étude de la biodiversité entomologique dans un verger d'agrumes dans la région de Guelma. Université 8 Mai 1945 Guelma .73p
3. **Asma Ait Kaki, 2014.** Recherche de nouvelles potentialités de bactéries du genre *Bacillus* pour l'agriculture et l'agroalimentaire. Université Constantine1 en collaboration avec l'Université de Liège (Belgique).98 p
4. **Ayress A.J, 2001.** Le contrôle des maladies des agrumes au Brésil. Symposium sur les agrumes chine/FAO 2001, pp 109-117
5. **Badiaa Essghaier et al., 2011.** In vivo and in vitro evaluation of antifungal activities from a halotolerant *Bacillus subtilis* strain J9. African Journal of Microbiology Research. V6N°19, pp 4073-4083. Disponible à l'adresse : <http://www.academicjournals.org/AJMR>.
6. **Baillet J.M, 2011.** Les ravageurs des agrumes. Institut océanographique Paul Ricard. Journée biologique du parc Phoenix, 113p. Promenade des anglais nice, pp9-13.
7. **Biche. M, 2012.** Guide pratique Les principaux insectes ravageurs des agrumes en Algérie et leurs ennemis naturels. Guide conçu grâce au financement de la FAO Algérie. Régional Integrated Pest Management Programme in the Near East. 36p
8. **Bounoua Mohammed Djellel, 2008.** Des essais d'utilisation de psodomonas de *Bacillus spp* dans le contrôle de *Fusarium oxysporium f.sp lycopersici* sur tomate et *verticilium dahliae* sur l'olivier. Université é d'Oran. 61p
9. **Bouzerouata Asma, 2017.** Application de *Bacillus spp* mésophile dans la lutte biologique. Université Abou Bakr Belkaid Tlemcen. 45p
10. **Bové. J, 2000.** Originalités biologiques et pathologiques des agrumes : de la gommose à *Phytophthora* à la chlorose variéguée. C.R Acad Agric Fr. V86 N°8, pp 226-227

11. **Brown. G.E, Eckert and J.W., 1988.** Compendium of Citrus diseases. Whiteside, J.O Granesy, S.M. et Timmer L.M. (Edits). American Psychopathological Society, pp 32-38.
12. **Christine Feignier, Fraçoise Besson by et Georges Michel., 1995.** Studies on lipopeptide biosynthesis by *Bacillus subtilis*: Isolation and characterization of iturin-, surfactin+ mutants .WMS Microbiology Letters .V127, pp 11-15.
13. **D. Lafleche et J.M. Bové ,1970.** Mycoplasmes dans les agrumes atteints de "Greening ", "Stubborn " ou de maladies similaires. Fruits.V 25.N° 6, pp.455-465.
14. **D. Romero, A .de Vicente, J.L, Olmos, J.C. Davila and Perez-Garcia., 2007.** Effect of lippeptides of antagonistic strains of *Bacillus subtilis* on the morphology and ultra structure of the cucurbit fungal pathogen *Podosphae rafusca*. The Society for Applied Microbiology.V 1N° 3, pp969–976.
15. **Dorothee Batsch, 2011.** L’impact des pesticides sur la santé humaine. Université Henri Poincaré - Nancy 1. Faculté de pharmacie.
16. **E. Laville, 1974.** Les maladies à phytophtoria des agrumes en Corse (IFAC). Fruits.V 29N°4, pp 297-301.
17. **E. M. Sonnenfeld, Arthur.L, Koch and Ronald J. Doyle., 1985.** Cellular Location of Origin and Terminus of Replication in *Bacillus subtilis*. Journal of Bacteriology .V163 N° 3, pp 895-899
18. **Emilie Gauvry, 2017.** Modélisation de la sporulation de *Bacillus subtilis* BSB1 et liens physiologiques avec les cinétiques de croissance. Université de Bretagne. 218p.
19. **Erwin H. Duitman et al., 1999.** The mycosubtilinsynthetase of *Bacillus subtilis* ATCC6633: A multifunctional hybrid between a peptide synthetase, an amino transférase, and a fatty acid synthase. V96 N°23, pp13495-13499.
20. **Esclapond.R, 1975.** Les agrumes. Ed. La Somivac, Corse N° 68. 12p
21. **Farida Saiah, Boubekour Seddik Bendahmane, Mokhtar Youcef Benkada, Abdallah Berkani and Abdelhamid Gacemi., 2011.** Isolement et identification de bactéries entomopathogènes à partir de *Phyllocnistiscitrella* Stainton 1856 dans l'Ouest algérien. Entomologie Entomology.V63 N°3, pp 121-123.
22. **Handaji .N, Benyahia.H, Arsalane N, Ben Azouz .A et Gaboun F., 2013.** Evaluation pomologique et organoleptique de 34 variants d’orangers (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) issus

- de semis apomictique en essai dans la région du Gharb au Maroc. Al AwamiaV127, pp 47-70
- 23. Hassani Fayçal, 2003.** Etude comparative de l'infestation de trois variétés d'agrumes par la mouche méditerranéenne des fruits *Ceratitis capitata* (wied) (Diptera :Tephritidae) dans la région de Tlemcen.128p
- 24. Hernández F, D.Castillo, Castillo F. Reyes, Gallegos. G, Morales, Rodríguez .R, Herre.ra and C. Aguilar., 2013.** Biological Control of Root Pathogens by Plant-GrowthPromoting *Bacillus spp.* Intech. V3, pp80-103. Disponible à l'adresse :<http://dx.doi.org/10.5772/54229>.
- 25. Imane Bouaraba et Esma Hamaimi, 2018.** Évaluation de l'effet insecticide et fongicide sur les bioaersseurs des cultures marraichères. Université Yahya Rares Médéa faculté des sciences
- 26. J. Brun, 1974.** Le chancre bactérien des citrus. Fruits. V26 N° 7-8, pp533-540
- 27. J.R. Plimmer.** Les produits chimiques dans l'agriculture, Alimentation et agriculture, https://www.iaea.org/sites/default/files/26205481316_fr.pdf
- 28. Jacques Ponchet, 1982.** Réalités et perspectives de la lutte biologique contre les maladies des plantes. Agronomie EDP Sciences.V 2 N°4, pp305-314
- 29. Jovana Deravel, François Krier et Philippe Jacques.,2014.** Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique).BiotechnolAgron.Soc. EnvironV18N°2,pp220-232.
- 30. Kebdani Mohammed, 2017.** Identification des souches locales de *Bacillus thuringiensis* en vue d'une lutte biologique contre *Ceratitis capitata* et autres pathogènes de l'oranger *Citrus sinensis*. 130p.
- 31. Klotz L.J et Fawcett H.S, 1952.** Maladies des Citrus. Société d'édit. Techn. Coloniales.152p
- 33. Leblanc F, Fournier.P et Etienne.J., 1998.** Phytophthora (*Phytophthora citrophthora* et *Phytophthora parasitica*). Fiche actualisée en 2005 par F. Le Bellec (Cirad).
- 34. Leila Monteiro, Rosa de Lima Ramos Mariano and Ana Maria Souto-Maior.,2005.** Antagonism of *Bacillus spp* Against *Xanthomonas campestris pv Campestris*. V48 N°1, pp 23-29

- 35. Loussert R, 1987.** Les agrumes ; production. V 2. Edition scientifiques universitaires Mkulles, Mar. Paris France. p9.
- 36. Loussert. R, 1989a.** Les agrumes production. Ed Sci. Univ Liban .V2.280p.
- 37. Loussert R, 1989b.** Les agrumes, arboriculture. Ed Technique agricoles méditerranéennes. Paris.113p
- 38. Loussert R, 1989d.** Les agrumes : production. V2. Ed. Lavoisier, Paris, France. 125p
- 39. M. Tanget al., 2016.** Improved catalytic and antifungal activities of *Bacillus thuringiensis* cells with surface display of Chi9602DSP. Journal of Applied Microbiology Journal of Applied Microbiology .V 122, pp 106-118.
- 40. Marc Lateur, 2002.** Perspectives de lutte contre les maladies des arbres fruitiers à pépins au moyen de substances naturelles inductrices d'une résistance systémique. Biotechnol. Agron . Soc. Environ. V 6N°2, pp 67–77.
- 41. Mathieu Bouchard-Rochette, 2020.** *Bacillus pumilus* et *Bacillus subtilis* pour lutter contre la pourriture grise chez la tomate et le concombre de serre. Université Laval. 77p
- 42. Mauty A, 2011.** Ravageurs. Bulletin n°16 de santé du végétal- Provence Alpes Côte d'Azur. Ed Fredon paca. p4.
- 43. Mathieu Bouchard-Rochette, 2020.** *Bacillus pumilus* et *Bacillus subtilis* pour lutter contre la pourriture grise chez la tomate et le concombre de serre. Université Laval. 77p
- 44. Mauty A, 2011.** Ravageurs. Bulletin n°16 de santé du végétal- Provence Alpes Côte d'Azur. Ed Fredon paca. p4.
- 45. MerghidManel, Debbache Meriem et Foughali Imane, 2017.** Impacts des pesticides utilisés dans la plasticulture sur la santé humaine en Algérie (Etude de cas la wilaya de Constantine). Université de Constantine.101p
- 46. Meziane Malika, 2013.** Assainissement et régénération des plants des agrumes par l'embryogèse somatique à partir de culture stigmaté et style. Université El-Harrach Alger.102p
- 47. Mohammed El guili, M. Haissam Jijakli et RachidLahlali., 2020.** Pilot testing of two biofungicide formulations for the control of Citrus blue and green mold in two Moroccan packinghouses. Moroccan Journal of Agricultural Sciences.V1N°4. pp215-220.

- 48. Mouna Kahia, 2019.** Lutte biologique contre deux pucerons ravageurs en serre (*Aphisgossypii* et *Aulacorthum solani*) par l'utilisation des microorganismes du sol. Université laval. 83p
- 49. Naima Taqarort, Lahcen Bouzerda, Hassan Boubaker, Abdellah Ait Ben Aoumar et El Hassan Boudyach., 2008.** Lutte biologique contre la pourriture verte des agrumes en post-récolte par l'utilisation de levures antagonistes. Acta Botanica Gallica. V155 N°2, pp 235-244. Disponible à l'adresse : <https://doi.org/10.1080/12538078.2008.105161>
- 50. Nasibe Tekiner, Recep Kotan, Elif Tozlu et Fatih Dadaşoğlu Alinteri., 2018.** Determination of Some Biological Control Agents Against *Alternaria* Fruit Rot in Quince Turkey. Alinteri Jof AgrSci. V34 N°1, pp25-31.
- 51. Navpreet Kaur Walia and Swaranjit Singh Cameotra, 2015.** Lipopeptides: Biosynthesis and Applications. Journal of Microbial & Biochemical Technology. V7 N°2, pp103-107
- 52. Ouedraogo S, 2002.** Etude diagnostique des problèmes phytosanitaires du manguier (*Mangifera indica* L.), de l'oranger (*Citrus sinensis* L.) et du mandarinier (*Citrus reticulata* Blanco) dans la province du Kéné Dougou. Université de Burkina Faso. 153 p.
- 53. Ondet S, 2007.** Limiter le développement de fumagine sur miellat de metcalfapruinosa. Test d'huiles essentielles sur fumagine en culture in vitro. Edition GRAB. Arboriculture 2006 (fiche 3.02.02.15 AB) A06PACA/03
- 54. P.J. Fiddaman and S. Rossall, 1993.** The production of antifungal volatiles by *Bacillus subtilis*. Journal of Applied Bacteriology 1993. V74, pp119-126
- 55. Palou J.L, Smilanick J et L. Droby S., 2008.** Alternatives to conventional fungicides for the control of Citrus postharvest green and blue moulds. Stewart Postharvest Review. V4, pp1-16.
- 56. Parloran J.C, 1971.** Les Agrumes. Collection technique agricole et productions tropicales. Ed. Maisonneuve. Larose. 565p
- 57. Patrick Fickers et al., 2009.** High-Level Biosynthesis of the Anteiso-C17 Isoform of the Antibiotic Mycosubtilin in *Bacillus subtilis* and Characterization of Its Candidacidal Activity. Applied and Environmental Microbiology. V 75 N°13, pp 4636–4640.

- 58. Pauline Loison.,** Etude de la spore de *Bacillus subtilis* : caractérisation des structures impliquées dans sa résistance. Université de Bourgogne .Ecole Doctorale Environnement - Santé - STIC - N°490. 183p
- 59. Prapagdee, B.Kuekulvong and Mongkolsuk S., 2008.** Antifungal potential of extracellular metabolite produced by *Streptomyces hygroscopicus* against phytopathogenic fungi. Int. J Biol Sci. V4 ,pp330-337
- 60. Quilici. S, 2003.** Analyse du risque phytosanitaire (ARP) organisme nuisible (*Parlatoria ziziphi*) sur les agrumes. 28 p
- 61. Romain Boissonnot, 2014.** Risques sanitaires et perception chez les agriculteurs utilisateurs de produits phytopharmaceutiques. thèse de doctorat. Université Cnam. 280p
- 62. Samara Mejri, 2018.** Efficacités et modes d'action de nouveaux simulateurs de défenses des plantes sur le pathosystème blé-*Zymoseptoria tritici*. Université du Littoral Côte d'Opale. 195p
- 63. Sennad Faiza, 2016.** Essais d'application du Bore sur la fécondation et la nouaison de la clémentine. Université de Chlef. 71p.
- 64. Soraya Bouhairi, 2017.** *Bacillus subtilis* caractère et application. Université Rabat. 100p
- 65. Svetlana Milijašević-Marčić, Vesna Todorović, Olja Stanojević, Tanja Berić and Slaviša Stanković., 2018.** Antagonistic potential of *Bacillus* spp. Isolates against bacterial pathogens of tomato and fungal pathogen of pepper. Phytomed (Belgrade). V 33 N°1, pp 9–18. Disponible à l'adresse : <https://doi.org/10.2298/PIF1801009M>
- 66. Swingle. W.T, 1948** – Citrus industry chap. IV (the botany of Citrus and its wild relatives of the orange Subfamily). Univ. Of California Press, Berkeley and Los Angeles. 605p.
- 67. Swingle W.T and Reece P.C, 1967.** The botany of Citrus and Relatives in The citrus Industry. Univ of California Berkeley W Reuther L D. Batchelor and Webber H.G.
- 68. Sweelam M.E and Abo Taka., 1989.** Biology and reproduction of Citrus nematode (Tyle. Semip). Indian Journal of Afric Sciences. V59 N°6, pp 374 - 376.
- 69. U. Ahlborgetal., 1991.** L'utilisation des pesticides en agriculture et ses conséquences pour la santé publique.

- 70. V. Yanez-Mendizabal, IVinas, J. Usall, R. Torres, C. Solsona, M. Abadias and N.Teixido., 2012.** Formulation development of the biocontrol agent *Bacillus subtilis* strain CPA-8 by spray-drying. *Journal of Applied Microbiology*. V112, pp 954–965.
- 71. White. I.M et Elson- Haris M.M, 1992.** Fruit Flies of Economic Significance: their identification and bionomics. C.A.B. ACIAR. 601p
- 72. Yssad Halima et Medaour Zahra, 2018.**Caractérisation morphologique de *Colletotrichum gleosporioides* et *colletotrichum* sp responsables de l'antracnose des agrumes à Mostaganem et spécialisation parasitaire du pathogène. 85p
- 73. Y. Toure, M.Ongena, P. Jacques, A. Guiro and P. Thonart., 2004.**Role of lipopeptides produced by *Bacillus subtilis* GA1 in the reduction of grey mould disease caused by *Botrytis cinerea* on apple.*Journal of AppliedMicrobiology*.V 96, pp1151–1160
- 74. Zahir Ilham, Babouchi Meryem, Boulanour Hajar et El louyti L Mustapha., 2018.** Effets des microorganismes isolés à partir des biotopes Marocains. *Revue Agrobiologia* .V 8N°2, pp971-983
- 75. Zihalirwa kulimushil Parent ,2017.** Potentiel de *Bacillus amyloliquefaciens* pour lutter contre les maladies fongiques endémiques du maïs au sud Kivu: efficacité et mode d'action. Université de Liège Gembloux Agro.Bio.Tech.161p

Résumé :

L'agriculture est un secteur important en Algérie. Néanmoins, elle est menacée par les agents phytopathogènes tels que les champignons qui s'attaquent aux arbres fruitiers en général et aux agrumes en particulier, entraînant ainsi de grandes pertes économiques. A l'heure actuelle, le contrôle chimique reste la principale mesure pour le traitement des plantes infectées par l'utilisation des produits phytosanitaires. Cependant, cette méthode conventionnelle a un impact sur l'environnement, la biodiversité la santé humaine, ainsi que les agents pathogènes qui développent des mécanismes de résistances vis-à-vis des pesticides chimiques utilisés d'une manière irrationnelle et répétée et non homologuée. Devant cette situation, la recherche d'autres alternatives non nuisibles et capables d'éliminer les phytopathogènes est devenue une nécessité, parmi lesquelles figure la lutte biologique par l'usage des microorganismes, considérés comme une source très intéressante de principes actifs à effet antimicrobien. Ainsi, la présente revue bibliographique est réalisée en citant des articles scientifiques publiés entre 2007 et 2020 qui sont menés essentiellement sur l'application des souches de *Bacillus sp* isolés à partir des biotopes algériens, marocains, tunisiens, turcs, mexicains, et de Côte-D'ivoire, comme des agents de lutte biologique contre les altérations des champignons phytopathogènes. Cependant, l'utilisation de la souche *Bacillus subtilis* a permis d'inhiber la croissance de plusieurs champignons donc elle mérite d'être appliquée dans les vergers d'agrumes pour leur utilisation éventuelle en tant que un biopesticide.

Les mots clés: phytopathologies, *Citrus sinensis*, Lutte biologique, *Bacillus subtilis*, produits phytosanitaires, l'environnement.

Abstract:

Agriculture is an important sector in Algeria. Nevertheless it is threatened by phytopathogenic agents such as fungi which attack fruit trees in general and citrus fruits in particular, thus causing great economic losses. At present, chemical control remains the main measure for the treatment of plants infected by the use of chemicals pesticides. However, this conventional method is polluting the environment and has a detrimental effect on human health as well as phytopathogens develop resistance mechanisms vis-à-vis the chemical pesticides used irrationally and repeatedly and non-homologous. In view of this situation, the search for other non-harmful alternatives capable of eliminating phytopathogens has become a necessity among which biological control by the use of microorganisms, considered as a very

interesting source of antimicrobial active substances. Thus, the present review is carried out by citing by articles published between 2007 and 2020 in the title of the application of *Bacillus sp* strains isolated from Algerian, Moroccan, Tunisian, Turkish, and Côte-D'ivoire biotopes and inhibiting the growth of phytopathogens. However, the use of *Bacillus subtilis* strain has made it possible to inhibit the growth of several fungi, so it deserves to be applied in citrus orchards for their possible use as a biopesticide.

Key words: Phytopatology, *Citrus sinensis*, *Bacillus subtilis*, lutte biologique, phytosanitary products, environment

ملخص

الزراعة قطاع مهم في الجزائر، إلا أنه مهدد من قبل العوامل الممرضة للنبات مثل الفطريات التي تهاجم أشجار الفاكهة بشكل عام والحمضيات بشكل خاص، مما يتسبب في خسائر اقتصادية كبيرة. في الوقت الحاضر، تظل مكافحة الكيمائية هي الإجراء الرئيسي لعلاج النباتات المصابة من خلال استخدام منتجات الصحة النباتية. ومع ذلك، فإن هذه الطريقة التقليدية لها تأثير على البيئة والتنوع البيولوجي وصحة الإنسان حيث أن استعمال المبيدات الكيميائية بطريقة غير منطقية ومتكررة وغير متجانسة. في مواجهة هذا الموقف أصبح البحث عن بدائل أخرى غير ضارة قادرة على القضاء على مسببات الأمراض النباتية ضرورية بما في ذلك مكافحة البيولوجية من خلال استخدام الكائنات الحية الدقيقة، التي تعتبر مصدرًا مثيرًا للاهتمام للغاية ومكوناتها ذات تأثير كبير مضاد للميكروبات. وبالتالي، يتم إجراء هذه المراجعة البيولوجية من خلال الاستشهاد بالمقالات العلمية المنشورة بين 2007 و 2020 والتي تتم بشكل أساسي حول تطبيق سلالات *Bacillus sp* المعزولة من الأحياء الجزائرية والمغربية والتونسية والتركية والمكسيكية و ساحل العاج، كعوامل تحكم بيولوجية ضد تغيرات الفطريات الممرضة للنبات، فإن استخدام سلالة *Bacillus subtilis* قد جعل من الممكن منع نمو العديد من الفطريات لذا فهي تستحق أن تطبق في بساتين الحمضيات من أجل استخدامها كمبيد بيولوجي الكلمات المفتاحية: علم امراض النباتية، البرتقال، باسيلوس سبتيليس، مكافحة البيولوجية، المبيدات الكيميائية، البيئة.