

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

جامعة مولاي الطاهر، سعيدة

Université MOULAY Tahar, Saïda



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master

En Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Et Biochimie

Évaluation de l'efficacité antifongique des isolats de *Bacillus* sp. et d'Actinomycètes dans la lutte contre certaines espèces fongiques pathogènes affectant les cultures de tomates

Présenté par :

- Mlle: Belkadi Safia
- Mlle: Djebbar Hanane

Soutenu le : 23/12/2024

Devant le jury composé de :

Président	Mr. ALLALI KOUIDER	MCB Université Saïda
Examineur	Mr. BENABBOU TAHA AHMED	MCA Université Saïda
Encadrant	Mr. HALLA NOUREDDINE	MCA Université Saïda
CO-encadrant	Mr. BENREGUIEG MOKHTAR	Pr. Université Saïda
CO-encadrant	Mr. MEZIANE ABDEL KADER	MCA Université Saïda
Invité	Mme. BELGACEM HABIBA	MCB Université Saïda

Année universitaire 2023/2024

Dédicaces

En premier lieu, nous exprimons notre profonde gratitude et reconnaissance à **Dieu Tout-Puissant**, qui nous a accordé la patience, la force et la capacité d'atteindre cet objectif académique. C'est grâce à Sa grâce infinie que nous avons surmonté les défis et réalisé ce travail.

Nous adressons également nos remerciements sincères à nos **chers parents** pour leur amour inconditionnel, leur soutien indéfectible et leurs prières constantes qui nous ont porté tout au long de notre parcours. Leur sacrifice et leur encouragement nous ont donné la motivation nécessaire pour aller de l'avant.

Nous exprimons notre profonde reconnaissance à nos **sœurs et frères** pour leur soutien affectif et leur présence bienveillante à chaque étape. Leur réconfort et leurs encouragements ont été une source de force constante pour nous.

Nous souhaitons exprimer toute notre gratitude à nos **enseignants et encadrants**, dont le dévouement et l'expertise ont contribué à enrichir notre réflexion et notre travail :

Monsieur Mziyan, pour ses conseils éclairés et son accompagnement précieux dans l'approche économique de notre recherche ;

Monsieur Halla, pour sa guidance exceptionnelle dans le domaine de la biochimie, et ses idées novatrices qui ont grandement enrichi notre démarche ;

Monsieur Benreguieg, pour son expertise et ses précieux conseils en microbiologie, qui ont donné une direction claire à cet aspect du projet.

Un **remerciement particulier** à **Madame Belgacem**, dont le soutien pratique et moral a été un pilier tout au long de notre travail. Son accompagnement dévoué nous a inspirés et a permis d'atteindre nos objectifs avec confiance.

Nous souhaitons également exprimer notre reconnaissance au **Dr Taybe**, pour son aide cruciale dans la réalisation des analyses statistiques, dont la qualité et la précision ont renforcé notre travail.

Enfin, nos remerciements vont à **Monsieur Ehmoda Ibrahim**, pour son assistance précieuse et son soutien dans la conception de notre présentation. Sa disponibilité et son savoir-faire ont contribué à faire de cet aboutissement un véritable succès.

Ce travail représente le fruit d'un effort collectif, mais également le témoignage d'une immense reconnaissance envers ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à sa réalisation.

Merci infiniment à tous.

Remerciement

Avant tout, nous exprimons notre profonde gratitude à **ALLAH**, Le Tout-Puissant, pour Son aide infinie qui nous a permis de surmonter les défis rencontrés au cours de notre parcours académique. Ces quelques lignes ne sauraient traduire pleinement nos sentiments les plus sincères.

Nous tenons à adresser nos remerciements les plus respectueux à **Monsieur le Président du Jury, Mr. ALLALI KOUIDER**, pour avoir accepté de présider ce jury, et pour ses observations éclairées qui ont enrichi ce travail.

Nous exprimons également notre reconnaissance à **Mr. BENABBOU TAHA AHMED**, examinateur, pour sa lecture attentive, ses critiques constructives et ses recommandations précieuses.

Nos sincères remerciements vont à **Mr. HALLA NOUREDDINE**, notre encadrant, pour son suivi constant, ses conseils pertinents, et son soutien moral tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nous sommes également profondément reconnaissants envers **Mr. BENREGUIEG MOKHTAR** et **Mr. MEZIANE ABDEL KADER**, nos Co-encadrants, pour leurs orientations techniques, leurs observations précieuses et leur disponibilité.

Nous tenons aussi à exprimer notre gratitude à **Mme. BELGACEM HABIBA**, membre invité, pour sa contribution enrichissante à ce travail et pour ses commentaires éclairés lors de l'évaluation.

Nos remerciements s'étendent à l'ensemble des enseignants et techniciens du département de Microbiologie de l'Université de SAIDA, pour leur assistance précieuse et leurs efforts constants dans l'accompagnement des étudiants.

Enfin, nous remercions chaleureusement nos familles, en particulier nos parents, pour leur soutien sans faille, leur patience et leur encouragement tout au long de ces années d'étude. Leur confiance et leur amour nous ont permis de persévérer jusqu'à l'aboutissement de ce travail.

À toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire, nous adressons nos remerciements les plus sincères et notre reconnaissance infinie

Liste des abréviations

ALS - Arysta Life Science (nom d'une entreprise).

CE - Conductivité Électrique.

UFC/mL - Unités formant colonie par millilitre (Colony Forming Units per Milliliter).

CMV - Cucumber Mosaic Virus (Virus de la mosaïque du concombre).

DAPG - Diacétylphloroglucinol.

USD - Dollar américain (United States Dollar).

IAA - Acide d'Indole-3-Acétique (Indole-3-Acetic Acid).

IMP - Integrated Pest Management (Gestion intégrée des parasites).

GIA - Global Industry Analysts (nom d'une entreprise ou d'un rapport de marché).

HPLC-MS : High-Performance Liquid Chromatography - Mass Spectrometry
(Chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse).

MALDI-TOF : Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-Of-Flight
(Désorption/ionisation laser assistée par matrice avec analyseur de temps de vol).

RMN : Résonance Magnétique Nucléaire.

GPR - Rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria).

Qx - Quintaux

SPSS - Statistical Package for the Social Sciences (logiciel d'analyse statistique).

TSWV - Tomato Spotted Wilt Virus (Virus de la maladie bronzée de la tomate).

TMV - Tomato Mosaic Virus (Virus de la mosaïque de la tomate).

TYLCV - Tomato Yellow Leaf Curl Virus (Virus du jaunissement et feuille en cuillère de la tomate).

ToCV - Tomato Chlorosis Virus.

FTIR-Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (Spectroscopie infrarouge à transformée de Fourier).

Liste des tableaux

Tableau 01 : Composition de la tomate fraîche	06
Tableau 02 : Évolution de la tomate maraîchère en Algérie entre 2001 et 2009.	10
Tableau 03 : La classification systématique de <i>Lycopersicum esculentum</i>	11
Tableau 04 : Présentation générale des causes de maladies chez les plantes	15
Tableau 05 : Les maladies cryptogamiques de la tomate.	20
Tableau 06 : Les maladies cryptogamiques de la tomate	22
Tableau 07 : Les maladies virales de la tomate	24
Tableau 08 : Les caractéristiques des souches Code utilisé dans notre pratique:	37
Tableau 09 : Inoculation des feuilles	42
Tableau 10 : La façon dont les groupes étaient répartis	43
Tableau 11 : Résultats de l'examen macroscopique des souches <i>Actinomycètes</i> .	46
Tableau 12 : Résultats de l'examen macroscopique des souches <i>Bacillus</i> .	47
Tableau 13 : Résultats de la coloration de Gram des souches <i>Bacillus</i> .	48
Tableau 14 : Résultats de l'activité antifongique <i>d'actinomycètes</i> .	64
Tableau 15 : Résultats de l'activité antifongique de <i>Bacillus</i> .	65
Tableau 16 : Développement mycélien de la souche fongique <i>Fusarium oxysporum</i> testé contre différentes concentrations des extraits.	66
Tableau 17 : Développement mycélien de la souche fongique <i>Aspergillus flavus</i> testé contre différentes concentrations des extraits.	67

Liste des figures

Figure 01 Etapes du cycle infectieux standard d'un agent pathogène adapté d'Agrios.....	16
Figure 02: Mildiou sur la tomate.....	17
Figure 03 : Alternariose sur tomate.....	17
Figure04: Botrytis sur la tomate. A : sur le fruit, B : sur la tige.....	18
Figure 05 : Oïdium sur feuilles de tomate.....	18
Figure 06 : Anthracnose sur le fruit de la tomate.....	19
Figure 07 : Jaunissement et flétrissement du à la fusariose.....	19
Figure 08: Chancre bactérien sur la tomate, A : sur les feuilles de tomate, B : sur le fruit de la tomate.....	20
Figure09 : Moucheture bactérienne sur tomate.....	21
Figure 10 : Molle noire sur tomate.....	21
Figure 11 : Schéma montrant que les PGPR affectent directement et indirectement la croissance des plantes.....	31
Figure12 : schéma qui représente les défèrent étape de partie expérimentale.....	38
Figure13: Traitement et inoculation des feuilles de tomate avec une suspension fongique	42
Figure14: Plantes de tomate utilisées pour le test d'antagonisme.....	44
Figure15: Aspect macroscopiques des souches <i>Actinomycètes</i>	46
Figure16 : Aspect macroscopiques des souches <i>Bacillus</i>	47
Figure 17 : Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus niger</i>	49
Figure 18: Aspect macroscopique de <i>Fusarium oxysporum</i>	50
Figure 19 : Aspect macroscopique d' <i>Aspergillus flavus</i>	50
Figure 20 : Aspect macroscopique de <i>Penicillium notatum</i>	50
Figure 21 : Aspect microscopique d' <i>Aspergillus niger</i>	51
Figure22 : Aspect microscopique de <i>Fusariumoxysporum</i>	51
Figure23 : Aspect microscopique d' <i>Aspergillus flavus</i>	52

Figure 24 : Aspect microscopique de <i>Penicillium notatum</i>	52
Figure 25 : Activité inhibitrice de nos <i>actinomycètes</i> contre 4 souches fongiques.....	53
Figure 26 : résultat de la technique de cylindre d'agar de l'actinomycète.....	54
Figure27 : Activité inhibitrice de nos <i>Bacillus</i> contre 4 souches fongiques.....	56
Figure 28 : résultats de la technique de cylindre d'agar de <i>Bacillus</i>	57
Figure29 : Diamètres de croissance mycélienne en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique brut de la souche B2. FU- <i>Fusarium oxysporum</i> ; AF- <i>Aspergillus flavus</i>	60
Figure 30 : Diamètres de croissance mycélienne en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique brut de la souche B2. FU- <i>Fusarium oxysporum</i> ; AF- <i>Aspergillus flavus</i>	61
Figure 31 : Diamètres de croissance mycélienne en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique brut de la souche Aa. FU- <i>Fusarium oxysporum</i> ; AF- <i>Aspergillus flavus</i>	62
Figure 30 : Diagramme représentant la croissance des plantes traitées et les témoins après 5 semaines de pulvérisation	74

Résumé

Cette étude a évalué le potentiel des isolats bactériens de la rhizosphère, appartenant aux genres *Bacillus* et *Actinomycètes*, en tant qu'agents de biocontrôle contre quatre champignons pathogènes majeurs : *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium notatum* et *Fusarium oxysporum*. Parmi les sept souches testées, B6 a montré une activité antifongique remarquable, avec des zones d'inhibition atteignant 60 mm contre *A. flavus* et *P. notatum*. Les concentrations minimales fongicides (CMI) pour B6 variaient de 2 à 8 mg/ml.

Les expériences in vivo sur des plants de tomate ont confirmé que les souches B6, B2, Aa, et G réduisaient significativement les symptômes causés par *F. oxysporum* et *A. flavus*. Un test statistique de comparaison des moyennes a révélé que ces souches ont contribué de manière très hautement significative à l'augmentation du taux de croissance des plantes par rapport au témoin (T). Ces bactéries ont également stimulé la phytomasse aérienne des plants. Les tests d'inoculation foliaire ont montré une réduction marquée des symptômes fongiques grâce aux suspensions bactériennes, confirmant leur double effet comme bio-stimulants et agents de biocontrôle.

Ces résultats soulignent le potentiel biotechnologique des isolats de *Bacillus* et *d'Actinomycètes* pour développer des stratégies de lutte biologique durable contre les maladies des cultures de tomates.

Mots-clés : rhizosphère, antifongique, bio-stimulants, champignons pathogènes, biocontrôle, *Bacillus*, *Actinomycètes*, tomate.

Abstract

This study assessed the potential of bacterial isolates from the rhizosphere belonging to the genera *Bacillus* and *Actinomycetes*, as biocontrol agents against four major pathogenic fungi: *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium notatum*, and *Fusarium oxysporum*. Among the seven strains tested, *B6* demonstrated remarkable antifungal activity, with inhibition zones reaching 60 mm against *A. flavus* and *P. notatum*. The minimum fungicidal concentrations (MIC) for *B6* ranged from 2 to 8 mg/ml.

In vivo experiments on tomato plants confirmed that the strains *B6*, *B2*, *Aa*, and *G* significantly reduced symptoms caused by *F. oxysporum* and *A. flavus*. A statistical comparison test revealed that these strains contributed highly significantly to the increase in plant growth rates compared to the control (T). These bacteria also stimulated the aerial phytomass of the plants. Foliar inoculation tests showed a marked reduction in fungal symptoms due to bacterial suspensions, confirming their dual role as bio-stimulants and biocontrol agents.

These results highlight the biotechnological potential of *Bacillus* and *Actinomycetes* isolates to develop sustainable biological control strategies for tomato crop diseases.

Keywords: rhizosphere, antifungal, bio-stimulants, pathogenic fungi, biocontrol, *Bacillus*, *Actinomycetes*, tomato.

المخلص

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم إمكانات عزلات بكتيرية مستخرجة من جذور النباتات (منطقة الجذور أو الريزوسفير)، والتي تنتمي إلى جنسي *Bacillus* و *Actinomycetes*، كمضادات حيوية حيوية ضد أربعة أنواع رئيسية من الفطريات الممرضة *Aspergillus niger*، *Aspergillus flavus*، *Penicillium notatum*، و *Fusarium oxysporum*.

أظهرت السلالة B6 من بين السلالات السبع التي تم اختبارها نشاطاً مضاداً للفطريات مميزاً، حيث بلغ قطر مناطق التثبيط 60 ملم ضد *A. flavus* و *P. notatum*- تراوحت تراكيز القتل الفطري الأدنى (CMI) للسلالة B6 بين 2 و8 ملغ/مل.

أكدت التجارب الحقلية على شتلات الطماطم أن السلالات B6 و B2 و Aa و G قللت بشكل كبير من الأعراض المرضية الناتجة عن *F. oxysporum* و *A. flavus*.

أظهر اختبار إحصائي لمقارنة المتوسطات أن هذه السلالات ساهمت بشكل كبير جداً في زيادة معدل نمو النباتات مقارنةً بالمجموعة الشاهدة. علاوةً على ذلك، حفزت هذه البكتيريا الكتلة الحيوية للنباتات (الجزء الهوائي من النبات). وأظهرت اختبارات التلقيح الورقي تقيلاً ملحوظاً في الأعراض الفطرية باستخدام المعلقات البكتيرية، مما يؤكد دورها المزدوج كمنشطات حيوية وعوامل مكافحة بيولوجية.

تؤكد هذه النتائج الإمكانيات البيوتكنولوجية لعزلات *Bacillus* و *Actinomycetes* في تطوير استراتيجيات مستدامة للمكافحة البيولوجية للأمراض التي تصيب محاصيل الطماطم.

الكلمات المفتاحية: الريزوسفير، مضادات الفطريات، منشطات حيوية، فطريات ممرضة، مكافحة البيولوجية، *Actinomycetes*، *Bacillus*، الطماطم.

Table des matières

Remerciements

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Abréviation

Résumé

Introduction générale¹

Chapitre I : Généralités sur la tomate

I.1.Importans de tomate	06
I.2.Composition de la tomate fraiche	06
I.3. Exigences édapho-climatiques de la tomate.....	06
I.3 .1 .Température.....	06
I.3.2 .Humidité.....	07
I.3.3. Lumière.....	07
I.3.4. Le sol	07
I.3.5 .Le pH:.....	07
I.3.6.Salinité.....	07
I.3.7.Eau.....	08
I.4. Les types de tomates	08
I.4.1. Tomate de table	08
I.4.2 .Tomate industrielle	08
I.5 .Importance économique de tomate.....	09
I.5.1. Au niveau mondial.....	09
I.5.2 .Tomate en Algérie.....	09
I.6. Classification de la tomate.....	10

II.6.1. Classification botanique.....	10
I.7.Les contraintes de la culture de la tomate	11
I.7.1. Les contraintes abiotiques.....	11
I.7.2.Les contraintes biotiques.....	12

Chapitre II : Les Maladies De La Tomate

II.1 Introduction sur les maladies des plants.....	15
II.2. Les classification de maladies.....	15
II.2.1 Les maladies non infectieuses.....	15
II.2.2 Les maladies infectieuses.....	15
I.3 Cycle infectieux d'un agent pathogène.....	16
I.4 Principales maladies de la tomate:.....	16
I.4.1 Maladies cryptogamiques.....	16
II.4.2Maladies bactériennes.....	20
II.4.3Les maladies virales:.....	22

Chapitre III: Les Moyens De Lutte Contre Les Maladies Des Plantes

III.1 Les moyens de lutte contre les maladies des plantes.....	26
III.1.1 Lutte curative.....	26
III.1.1.2 La lutte biologique.....	26
III.1.1.3 Les avantages et les inconvénients de la lutte biologique.....	29
III.2.1 Définition de PGPR.....	29
III.2.2 Les trois caractéristiques	30
III.2.3 Rôle de PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobactéria).....	30
III.3 Mécanismes d'action des bactéries impliquées dans la lutte biologique.....	31

Chapitre IV: Matériels Et Méthodes

Matériels et méthode.....	35
IV. Objectif.....	36
IV.2 Les souches bactériennes utilisées.....	37
IV.2.1 Les caractéristiques des souches	37
IV.3 L'étude des souches microbiennes.....	38
IV.3.1 Revivification des souches	38
IV.3.2 Les germes cibles.....	38
IV.3.3 .Repiquage des souches fongique.....	39
IV.3.4 La Coloration et l'observation microscopique des souche.....	39
IV.3.5 La Conservation des souches bactériennes.....	39
IV.4 Évaluation du potentiel antifongique.....	39
IV.4.1 Activité antifongique	39
IV.4.2 Fermentation sur milieu liquide	40
IV .2.3. L'extraction.....	40
IV.2.4. Tests de l'activité antifongique des l'extraits CMI	40
IV .3. Les Tests In Vivo.....	41
IV3.1. La préparation de Mcfarland.....	41
IV .3.2. Inoculation des feuilles.....	41
IV 3.3. Evaluation de l'effet antagoniste in vivo.....	42
IV .3.4. Analyse statistique.....	44

Chapitre IV : Résultat et discussion

V. Résultat et discussion	46
V.1 Revivification des souches bactériale :.....	46
V.1.1. Aspect macroscopique.....	46
V.1.1.2 .Aspect microscopique.....	48
V. 2 Résultats des critères morphologiques des souches fongiques.....	49
V. 2 .1. Aspects macroscopiques.....	49
V. 2 .1.1. <i>Aspergillus niger</i>	49
V. 2 .1.2 <i>Fusariumoxysporum</i>	49

V. 2 .1.3 <i>Aspergillus flavus</i>	50
V. 2 .1.4 <i>Penicillium notatum</i>	50
V. 3 Aspects microscopique.....	51
V. 3.1 <i>Aspergillusniger</i>	51
V. 3.2 <i>Fusarium oxysporum</i>	51
V. 3.3 <i>Aspergillus flavus</i>	52
V. 3.4 <i>Penicillium notatum</i>	52
V.3. Mise en évidence de l'activité antifongique des souches.....	53
V.3.1. <i>Actinomycètes</i>	53
V.3.2. <i>Bacillus</i>	56
V. 4. Calcul des concentrations de suspensions bactériennes	59
V. 5. Test antifongique de l'extrait brut des souches B6 et B2 et Aa.....	60
V. 6. Résultats de l'antagonisme in vivo	66
V. 6.1.Stimulation de la croissance des plantes :.....	66
V. 7. les résultats de l'inoculation des feuilles :.....	70
V. 7.1 Test de comparaison de moyennes:.....	72
VI. Conclusion :.....	77
VII. Référence bibliographique :.....	80
VIII. Annexe :.....	90

PARTIE I. INTRODUCTION

Introduction

La production de tomates sous ses diverses formes a triplé dans le monde au cours des trois dernières décennies. Cela traduit une demande croissante pour ce produit (sous forme fraîche ou transformée) en raison de l'augmentation rapide de la population mondiale (Costa et al., 2018).

D'autre part, la consommation moyenne mondiale de tomates a augmenté, passant de 9,1 kg/habitant/an en 1965 à 24 kg/habitant/an en 2021. La tomate transformée joue également un rôle clé dans cette dynamique mondiale. La région méditerranéenne ne fait pas exception, car les principaux pays producteurs de tomates transformées, par ordre décroissant, sont : la Turquie, l'Égypte, l'Italie, l'Espagne, l'Algérie, le Maroc et la Tunisie (Benmehaia et al., 2024).

Selon l'Algérie Presse Service (APS), la production industrielle de tomates a dépassé les 23 millions de quintaux en 2021, enregistrant une croissance de plus de 17 % par rapport à l'année précédente. Cela a permis à l'Algérie d'assurer son autosuffisance en double concentré et triple concentré de tomates.

Cependant, malgré ces avancées dans la production, les cultures de tomates restent gravement menacées par divers facteurs phytopathologiques. Ces derniers représentent une préoccupation majeure en raison des pertes considérables qu'ils entraînent, estimées à environ 30 % des légumes frais à l'échelle mondiale, principalement causées par des microorganismes phytopathogènes (Benaïssa et al., 2021). Parmi ces causes, les champignons agricoles sont considérés comme l'un des plus gros problèmes menaçant les cultures, L'humidité et la teneur en nutriments des graines au cours de leur développement intermédiaire créent des conditions optimales pour la croissance des champignons et la production de toxines (De Lucca et al., 2007).

Le genre *Aspergillus* est constitué de saprophytes présents dans le sol, les produits fourragers, les produits alimentaires, la poussière, les débris organiques et la matière en décomposition à travers le monde. Bien qu'ils soient considérés comme des pathogènes faibles des plantes, deux espèces, *Aspergillus flavus* et *Aspergillus parasiticus*, produisent des toxines puissantes (aflatoxines) sur certaines cultures (De Lucca et al., 2007).

D'autres agents comme *Fusarium oxysporum*, un champignon ascomycète vivant libre, sans état sexuel connu. *Fusarium oxysporum* est une espèce complexe composée de

pathogènes des plantes ubiquistes transmis par le sol, avec environ 120 formes spéciales (*ff. spp.*) basées sur la spécificité de l'hôte. (Arie et al., 2010). *Fusarium oxysporum* cause des pertes économiques importantes sur de nombreuses cultures, y compris la tomate, qui est l'une des cultures maraîchères les plus cultivées au monde (Debbi et al., 2018).

Les dommages causés par ces phytopathogènes de même que l'impact économique négatif sur la production de la tomate dans le monde sont des causes qui conduisent certains producteurs à abandonner la production ou à faire l'usage intensif des pesticides chimiques dans leurs plantations (Louissaint et al., 2012).

Même avec des applications importantes de pesticides, les agriculteurs se heurtent à des obstacles dans la lutte contre ces organismes nuisibles, se trouvant ainsi dans l'incapacité à limiter leurs dégâts, et dans le même temps les risques de pollution restent importants (Louissaint et al., 2012).

De plus, l'utilisation intensive des pesticides présente un impact négatif évident sur l'environnement, en particulier lorsqu'ils se déplacent au-delà du site d'application. Les pesticides sont non seulement toxiques pour les organismes visés, mais aussi pour d'autres espèces, comme les insectes bénéfiques, la faune aquatique et les plantes non ciblées. Cette contamination peut affecter le sol, l'eau, la végétation environnante, et nuire à la biodiversité. Bien que les pesticides devraient idéalement être biodégradables et n'affecter que les organismes nuisibles, ce n'est pas le cas pour la plupart des produits utilisés, dont la majorité est non spécifique et entraîne des conséquences écologiques désastreuses. Il est estimé que seulement 0,1% des pesticides atteignent les organismes ciblés, tandis que le reste contaminent l'environnement immédiat, mettant ainsi en danger la sécurité écologique (Soudani et al., 2020).

En raison de la valeur économique de la tomate et des défis liés aux ravageurs et à l'utilisation excessive de pesticides, la recherche se tourne vers des alternatives phytosanitaires, notamment l'utilisation de bio pesticides. Cette étude évalue l'activité antifongique de certaines souches de *Bacillus* et d'Actinomycètes, visant à offrir une solution durable et respectueuse de l'environnement contre les maladies fongiques affectant les cultures de tomates.

L'objectif principal de ce travail est l'étude de l'effet antagoniste des souches bactériennes des genres *Bacillus* et *Actinomycètes* sur quatre agents phytopathogènes :

Fusariumoxysporum, *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger* et *Penicillium notatum*, et ceci par des confrontations in vitro. Une deuxième série d'essais a été effectuée in vivo afin d'apprécier l'effet protecteur des souches bactériennes des genres *Bacillus* et *Actinomycètes* vis-à-vis des plantes tests (tomate) infectées par *Fusariumoxysporum* et *Aspergillus flavus*.

PARTIE II. Synthèse Bibliographique

CHAPITRE I. *GENERALITE*
SUR TOMATE

I.1 Importance de la Tomate

La tomate (*Lycopersicon esculentum*) est l'un des fruits et légumes le plus cultivé au monde pour son utilisation dans de nombreux mets. C'est aussi un produit agricole riche en éléments nutritifs, notamment le lycopène, dont des études épidémiologiques ont montré qu'il lutte contre l'apparition de certaines maladies dégénératives telles que le cancer de la prostate (Liu et al., 2000).

En Algérie, la tomate occupe une place privilégiée dans le secteur maraîcher (Ferrero,2009). La production de tomate en Algérie est de 7,9 millions de tonnes en 2012 et elle est cultivée sur 23 500 ha (Anonyme, 2013).

I.2.Composition de la tomate fraîche

La composition biochimique des fruits de tomate fraîche dépend de plusieurs facteurs, à savoir la variété, l'état de maturation, la lumière, la température, la saison, le sol, l'irrigation et les pratiques culturales (Salunkhe et al., 1974).

Le jus représente la majeure partie des constituants physiques de la tomate. La tomate est constituée de 94 à 96 % de jus, 1 à 1.5 % de pépins et 1,5 à 2,5% de pelures et fibres. Les sucres contenus dans la tomate sont essentiellement des sucres réducteurs, le glucose représente 0,88-1,25%, et le fructose 1,08-1,48%.

Tableau 01 : Composition de la tomate fraîche (Cotte, 2000)

Eau (%)	Glucides (%)	Substance azotées (%)	Lipides (%)	Cendres (%)
93,5	3,6	0,95	0,30	0,74

I.3.Exigences édapho-climatiques de la tomate

I.3 .1 - Température

La tomate est exigeante en ce qui concerne les températures, dont l'optimum se situe entre 13 et 20°C pendant la nuit et entre 20 et 27°C pendant la journée (Nyabyenda, 2006).

Selon (Caburet et al .,2003), la tomate a une croissance maximale vers 25°C. Les périodes sèches et fraîches sont plus favorables à la production que la saison pluvieuse et chaude. Au-dessus de 30°C, le lycopène, pigment responsable de la

couleur rouge du fruit ne se forme plus. C'est le pigment β carotène qui se forme, donnant ainsi une coloration jaune-orange au fruit.

I.3.2 Humidité

Une humidité élevée favorise les infestations de ravageurs, les maladies et la pourriture des fruits. C'est pourquoi la production de la tomate se fait plutôt sous les climats secs (Doorenbos et al., 1987).

I.3-3- Lumière

La tomate est peu sensible au photopériodisme, mais est exigeante en énergie lumineuse. Un faible rayonnement lumineux réduit le nombre de fleurs par bouquet, affecte la fécondation et conduit à l'avortement des fleurs et des fruits (Caburet et al., 2003).

I.3.4- Le sol

Structure et texture

La tomate n'est pas très exigeante en ce qui concerne les sols, pourvu qu'ils soient fertiles et bien drainés. Elle ne craint pas les bas-fonds et les marais, pourvu qu'ils soient bien drainés (Nyabyenda, 2006).

La couche superficielle du terrain doit être perméable. Une profondeur de sol de 15 à 20 cm est favorable à la bonne croissance d'une culture saine. Dans les sols d'argile lourd, un labourage profond permettra une meilleure pénétration des racines (Naika et al., 2005).

pH

Selon (De Lannoy., 2001), la tolérance de la tomate à l'acidité du sol est moyenne (6,5 à 7,5) et le rendement varie peu avec les variations du pH.

Cependant, sur des sols à pH basique, certains micro-éléments restent peu disponibles à la plante (Fe, Mn, Zn, Cu). Dans ce cas, une correction ferrique par apport d'engrais foliaire ou en fertigation est nécessaire.

Salinité

Atteste que la tomate est classée parmi les plantes à tolérance modérée vis-à-vis de la salinité. Le taux moyen de sensibilité se situe entre 1.5 à 03 g/l. (Laumonier., 1979).

Eau

La tomate est la culture la plus exigeante en eau en particulier après sa transplantation, pendant la floraison et enfin lors du développement des fruits.

Les mêmes auteurs ajoutent que le stress causé par une carence en eau fait tomber les bourgeons et les fleurs et provoque le fendillement des fruits. Par contre, lorsque les averses sont très intenses et l'humidité est très élevée, la croissance des moisissures et la pourriture des fruits seront plus importantes (Naika et al., 2005)

I.4 Les type de tomates

I.4.1Tomate de table

Elles sont grosses, elles sont moins rouges que les tomates industrielles, elles contiennent beaucoup de pépins et d'eau, leur peau est peu résistante. Elles sont utilisées pour la salade ou transformées en purée pour sauce. Leur rendement à l'hectare est faible comparé à la tomate industrielle ; elles ne peuvent donc pas faire l'objet d'une transformation industrielle (Mtcthg, 2009).

I.4.2 Tomate industrielle

De dimensions souvent plus petites et parfois allongées, aspect très rouge désiré pour les sauces, elles ont un taux de matières sèches plus élevées aussi elles ont une peau résistante. Ce sont ces tomates qui se prêtent à une transformation industrielle comme leur nom l'indique. Sa culture est inconnue des paysans mais pratiquée, par quelques rares maraîchers. C'est dire donc que toute action tendant à résoudre le problème de la conservation doit tenir compte de la variété de tomates produites. Or les variétés produites (tomates de tables) ne répondent pas du tout aux techniques actuelles de conservation ou de transformation. Il faut résoudre un premier problème qui est agronomique en changeant de variétés de tomates. Les avantages sont évidents :

- Meilleur rendement pour la culture
- Possibilité de transformer la production (Mtcthg, 2009).

5 Importance économique de tomate

I.5.1Au niveau mondial

La tomate est l'une des principales productions légumières dans le monde, et particulièrement dans les pays tropicaux et les pays du bassin méditerranéen, elle est cultivée dans plus de 130 pays sur une surface avoisinante 2,5 millions ha (Blancard, 2009).

La production mondiale est estimée à 159.03 millions de tonnes en 2011 cultivé sur une surface d'environ 4,73 millions Ha (Fao, 2011).

I.5.2Tomate en Algérie

La production nationale de la tomate fraîche s'est établie à 13,72 millions de quintaux(qx) durant la campagne 2017-2018, a indiqué le ministère de l'Agriculture, du développement rural et de la pêche dans un communiqué.Le rendement a été de 428 qx/hectare pour la tomate plein champ et 1.225 qx/hectare pour la tomate sous serre, a précisé la même source.

Les plus grandes wilayas productrices de la tomate fraîche sont Biskra avec une production de 2,33 millions de qx, Mostaganem avec une production de 1,33 million de qx, Tipaza avec 1,04 million de qx et Ain Defla avec 728.250 qx.

Outre la tomate fraîche, la production de la tomate industrielle (destinée à la transformation), elle a été de 15,4 millions de qx durant la campagne 2017-2018, avec un rendement de 651 qx/hectare.

Les plus grandes wilayas productrices de la tomate industrielle sont Skikda avec une production de 4,65 millions de qx, Tarf avec 3,5 millions de qx, Guelma avec 2,06 millions de qx et Ain Defla avec 1,68 million de qx. (Radio Algérie 31/10/2018)

Tableau 02 : Evolution de la tomate maraichère en Algérie entre 2001-2009 (Anonyme, 2009).

	Superficies Ha	Production/Qx	Rendement Qx/Ha
2001	16760	3735340	22,87
2002	17820	4013640	225,20
2003	18650	4569330	245,00
2004	19432	5121950	263,60
2005	19655	5137280,4	243,60
2006	20436	5489336	268,60
2007	20079	5673134	282,50
2008	20789	55924941	284,50
2009	21089	6410343	308,40

I.6 Classification de la tomate

La tomate est une plante herbacée annuelle à port buissonnant appartenant à la famille des solanacées elle est classée selon des critères différents liés à l'aspect botanique, la composition génétique et le type de croissance (Gallais et al, 1992).

II.6.1.Classification botanique

Tout d'abord le nom scientifique *Solanum lycopersicum* L. a été proposé pour remplacer *lycopersicum esculentum* Mille. Utilisée depuis de nombreuses décennies. En effet, les éléments historiques montrent que *Solanum lycopersicum* a été proposé par Linné en 1753, un an avant la proposition de Miller d'associer la tomate au genre *lycopersicum*. Des études phylogénétiques appuient l'idée que la tomate et ces cousins les *lycopersicum* sauvages doivent être placés dans le genre *Solanum*.

Les deux noms continuent à être utilisés dans la littérature (Blancard, 2009).

Tableau 03 : La classification systématique de *Lycopersicum esculentum* (Benton, 2008).

Niveau Taxonomique	Taxon
Règne	<i>Plantae</i>
Sous-règne	<i>Tracheobionia</i>
Division	<i>Magnoliophyta</i>
Classe	<i>Magnoliopsida</i>
Sous-classe	<i>Asteridae</i>
Ordre	<i>Solanales</i>
Famille	<i>Solanaceae</i>
Genre	<i>Lycopersicum</i>
Espèce	<i>Lycopersicum esculentum</i>

I.7 Les contraintes de la culture de la tomate :

I.7.1. Les contraintes abiotiques :

Nécrose apicale :

Les fruits de la tomate peuvent être sujets à diverses atteintes, liées à des carences physiologiques. On a des phénomènes climatiques : c'est le cas des nécroses apicales parfois appelées maladies de cul noir, qui se manifestent par des plages de nécrose à base du fruit du côté opposé au calice vite envahie par des champignons saprophytes. Elles sont dues à un taux de calcium insuffisant dans le fruit, insuffisance qui peut être induite par un arrosage irrégulier. (Chougar, 2011).

Les coups du soleil :

Consistent en des brûlures de la peau des fruits qui se manifestant par une lésion déprimée liégé claire latérale (Blancard, 1997).

Chlorose :

Se manifeste par la décoloration des feuilles et les fruits sont petits. La cause de cette maladie c'est la carence en éléments nutritifs. Pour lutter, il faut apporter régulièrement de l'engrais (Chougar, 2011).

Eclatement des fruits de la tomate :

Les symptômes se manifestent par l'éclatement du fruit du fruit en murissant : la cause c'est l'arrosage excessif pendant les périodes sèches. (Chaux et al, 1994)

L'asphyxie racinaire :

Elle est due à un excès d'eau dans le sol, et peut se produire à la plantation, ou en court de culture (Matallah et al, 1983). Dans le cas le plus grave, la plante flétrit, les racines asphyxiées étant incapables d'alimenter la plante (Messian et al, 1991).

Stress thermique :

La tomate est une espèce exigeante en chaleur pour sa croissance et son développement. Par conséquent elle est donc très sensible au froid. Il y a lieu de noter qu'un abaissement progressif de la température produit moins de dégât qu'un abaissement brutal. Acquart (1995) a noté que le zéro de végétation de la tomate est de 10°C, mais elle peut supporter pendant quelques heures aussi bien des températures basses (5 à 8 °c) que des températures supérieures ou égales à 35°C sans compromettre le rendement. Pour cela, il faut choisir des espèces et des variétés résistantes.

Stress salin :

La salinité est un facteur environnemental très important qui limite la croissance et la productivité (Allakhverdiev et al., 2000). La tomate est classée parmi les plantes à tolérance modérée vis-à-vis de la salinité. La chute de rendement est imperceptible pour une conductivité électrique de 2,50 mmhos/cm. Une baisse de rendement, peut être de 10% à une (CE) égale à 9,3 mm hos/cm et de 100% (maximale) quand la (CE) est de 12,5 mm hos/cm. La phase de sensibilité la plus importante au sel correspond à la germination et à la levée des jeunes plantules. (Doorenbos et al 1980).

I.7.2.Les contraintes biotiques :**I.7.2.1. Les ravageurs :****Les Nématodes :**

Parmi les espèces de Nématodes le genre *Meloidogyne* est le plus représenté. Il comprend quatre espèces les plus répandues. *M. halpa*, *M. incognita*, *M. javanica*, *M. arenaria*. Ce sont des parasites dangereux qui peuvent provoquer des baisses de rendement considérables (Cadet et al, 1998).

Les acariens :

Sur Solanacées, on peut rencontrer des acariens du genre *Tetranychus*, l'espèce la plus répandue est *T. urticae* (Alba et al., 2008), mais récemment une autre espèce invasive a été découverte dans la région de Mostaganem en 2008, il s'agit de *T. evansi* (Guenauoui, 2010). La face inférieure des folioles devient brune à bronzée. En s'alimentant, les acariens bouchent les stomates, entraînant un ralentissement de la transpiration et de la photosynthèse

(Lambert et al., 2006). Des attaques importantes par cet acarien sont observées sur tomate sous abris dans le sud-est de la France (Migeon et al., 2005).

Les pucerons sur tomate sont essentiellement :

Myzus persicae (Sulzer), *M. certus* (Walker), *Aulacorthum solani* (Kaltenbach), et *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas). *Aphis fabae* (Scopoli), *A. frangulae* (Kaltenbach), et *A. gossypii* (Glover) sont les espèces les plus fréquentes sur tomate (Csizinszky et al., 2005).

Les thrips :

Les thrips sont des petits insectes de l'ordre des Thysanoptères famille des Thripidae qui causent des dommages sur les feuilles et peuvent leur transmettre des maladies virales très importantes comme le Tomato Spotted Wilt Virus (TSWV). Deux espèces sont rencontrées sur tomate en serre il s'agit de *Thrips tabaci* (Lindeman) et *Frankliniella occidentalis* (Pergande) (Boucher, 2008).

La noctuelle de la tomate :

Helicoverpa armigera (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) est l'espèce la plus importante sur tomate, mais en Algérie, ses attaques sont sporadiques (Guentaoui, 2010). Les dégâts causés par les chenilles se traduisent par des trous dans les tomates. Ces attaques, qui passent inaperçues, entraînent des pertes commerciales très élevées lorsque la production est destinée à la conserverie (INRA, 2008).

La mineuse de la tomate *Tuta absoluta* :

T. absoluta est un ravageur exclusif des solanacées, mais il attaque préférentiellement la tomate. Cette espèce s'est introduite récemment en Algérie. Ce microlépidoptère provoque des pertes de rendement de la tomate car ses larves peuvent se nourrir sur toute la plante (feuilles, tiges, fleurs, et fruits) (Guentaoui, 2010).

Les aleurodes :

Les aleurodes (Homoptera : Aleyrodidae) sont des insectes qui peuvent causer des dégâts importants sur tomate. Selon la plante hôte, on peut observer une simple chlorose jusqu'à la déformation des fruits (Arno et al., 2008 ; Legemble, 2009). On rencontre deux espèces : *Bemisia tabaci* (Gennadius) et *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood).

Chapitre II

Les maladies de la tomate

II.1 Introduction sur les maladies des plantes

La phytopathologie peut être définie comme l'étude des maladies des plantes au cours de leur croissance, mais aussi les altérations des produits végétaux après leur récolte (Lepoivre ., 2003). Une maladie se définit comme une anomalie dans la structure ou la fonction d'une plante causée par un facteur irritant continu (Schiffers et al., 2011).

Les maladies des plantes peuvent réduire la valeur économique, esthétique et biologique de toutes les espèces.

II.2. Les classification de maladies

Les maladies peuvent être divisées en deux principaux groupes : les maladies non infectieuses (ou abiotiques) et les maladies infectieuses (ou biotiques) (tableau 04).

Tableau 04 : Présentation générale des causes de maladies chez les plantes (Lepoivre ., 2003).

Agents non infectieux (physiques-chimiques) (maladies abiotiques)	
Climat	Déséquilibres, carences, excès, pH, salinité, toxiques naturels.
Pollution	Atmosphère (SO ₂ , F, etc.), sols, eaux (nitrate, pesticides), poussières industrielles
Agents infectieux (maladies biotiques)	
Molécules	Virus, viroïdes.
Cellules ou organismes pluricellulaires	Bactéries, phytoplasmes, protozoaires, champignons, phanérogames.

II.2.1 Les maladies non infectieuses

Elles sont causées par des conditions environnementales inadéquates telles que les carences ou les excès de nutriments, les conditions défavorables du sol et du climat et les polluants (Lepoivre, 2003). Ces maladies ne peuvent être transmises à des plantes saines.

II.2.2 Les maladies infectieuses

Elles sont causées par des micro-organismes tels que les champignons, les bactéries, les virus et les viroïdes (Lepoivre, 2003). Elles peuvent être transmises par divers vecteurs (vent, eau, contacts entre végétaux, insectes, homme etc.) à d'autres plantes saines, ou être présents dans le sol, provoquant ainsi la maladie chez les nouveaux hôtes sensibles.

Selon Schiffers et Moreira (2011), les maladies infectieuses des plantes ne se développent que si les trois conditions suivantes sont remplies.

II.3 Cycle infectieux d'un agent pathogène

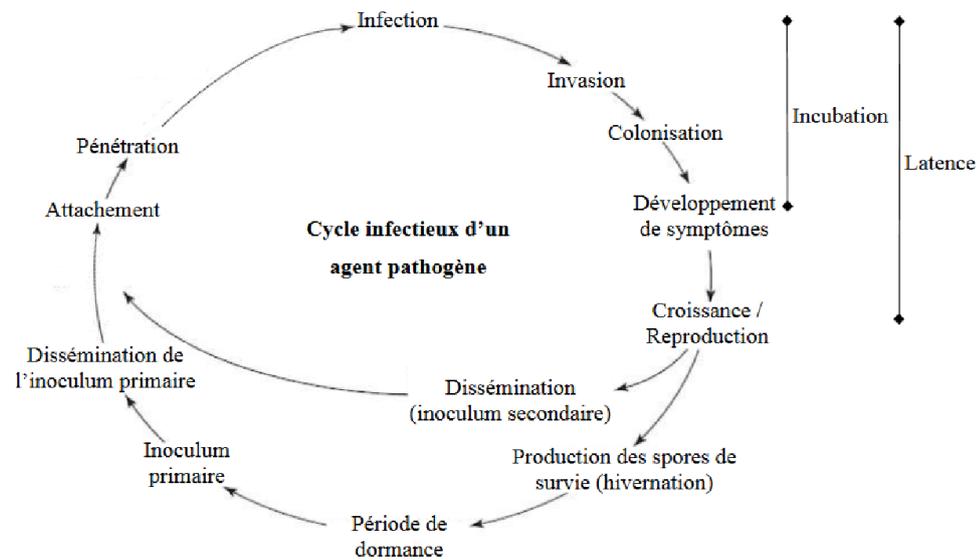


Figure 01 Etapes du cycle infectieux standard d'un agent pathogène, adapté d'Agrios (2005)

II.4 Principales maladies de la tomate

La culture de tomate peut être affectée par plusieurs maladies : maladie cryptogamiques, bactériennes, virales et physiologiques.

II.4.1 Maladies cryptogamiques

Mildiou

Le mildiou est causé par *Phytophthora infestans*, anciennement classé parmi les mycètes. Cette maladie peut dévaster les cultures de tomates durant les périodes fraîches et pluvieuses. Le mildiou peut s'attaquer à tous les organes aériens de la plante. Il se manifeste par des taches nécrotiques, irrégulières, d'extension rapide, entourées d'une marge livide. Sur les tiges on voit des plages brunes pouvant les ceinturer. Les fruits sont mildioués, bruns marbrés, irrégulièrement bosselés en surface (Figure 05) (Blancard et al., 2009)



Figure 02: Mildiou sur la tomate (Anonyme, 2015)

Altérnariose

L'altérnariose est une maladie causée par *Alternaria solani*, elle apparaît surtout en conditions de climat chaud et sec, mais elle est très accentuée en culture irriguée. Elle est favorisée par la sénescence des plants et des températures, variant entre 20 et 25°C. La rosée pendant la nuit conditionne l'infection et l'alternance des périodes humides et ensoleillées favorise la formation des conidies et la sporulation (Figure 03) (Bouhroud, 2011).



Figure 03 : Alternariose sur tomate (Anonyme, 2015).

Moisissure grise ou *Botrytis*

La moisissure grise est causée par *Botrytis cinerea*, la pourriture grise est une maladie répandue dans les cultures de tomate sous abris. Les symptômes observables sur fleurs, fruits, tiges, et feuilles se traduisent généralement par un pourrissement des tissus infectés, suivi par l'apparition d'un feutrage gris due à une production importante de spores. *Botrytis cinerea* peut entraîner des pertes de rendements importantes, en affaiblissant les plantes et en les détruisant (Figure 04) (Williamson et al., 2007).



Figure04: Botrytis sur la tomate. A : sur le fruit, B : sur la tige (Anonyme 2, 2013)

Oïdium

L'oïdium est causé par *Oïdium neolycopersici* qui provoque des taches sur feuilles assez caractéristiques des oïdiums. Celle-ci sont poudreuses et blanches et couvrent plutôt la face supérieure des folioles de tomate. Les tissus touchés deviennent chlorotiques, brunissent localement et finissent par se nécroser. Des taches comparables peuvent être observées sur la tige, les fruits ne semblent pas être affectés (Figure 05) (Blancard et al., 2009).



Figure 05 : Oïdium sur feuilles de tomate (Anonyme 2, 2013)

Anthracnose

L'anthracnose est causée par *Colletotrichum cocodes*. Les symptômes se manifestent sur les fruits mûrs, ou arrivant maturation sous forme de petite tâches rondes creusées dans la peau. Lorsque ces tâches s'étendent, leur centre prend une couleur sombre ou développe des anneaux concentriques mouchetés produisant des spores (Figure 06) (Ruocco et al., 2011)



Figure 06 : Anthracnose sur le fruit de la tomate (Anonyme 2, 2013).

Fusariose

La fusariose est provoquée par *Fusarium oxysporum*. Ce dernier ne s'attaque qu'à certains cultivars. Les plantes infectées présentent un jaunissement des feuilles et un flétrissement se propageant à partir de la base de la tige. Au départ, les symptômes ne sont visibles que sur une seule moitié de la surface des feuilles, des branches ou des plantes, avant de se propager à l'ensemble de la plante (Figure 07) (Messiaen et al., 1993).



Figure 07 : Jaunissement et flétrissement dus à la fusariose (Anonyme, 2013).

Tableau 05 : Les maladies cryptogamiques de la tomate (Snoussi, 2010).

Maladies	Agents causals	Symptome et dégates
Mildiou	<i>Phytophthora infestans</i>	Grands tache brunes sur les feuilles et les tiges
Alternariose	<i>Alternaria salani</i>	Tavhes noirs de taille variables sur les feuilles
Fusariose	<i>Fusarium oxysporum f.sp lycopersici</i> <i>Fusarium oxysporum f.sp radices lycopersici</i>	Flétrissement des feuilles avec brunissement des vaisseaux et pourriture des racines
Verticilliose	<i>Verticillium albo-atrum</i> <i>Verticillium dahliae</i>	Flétrissement des feuilles accompagné d'un jaunissement. Unilatéral Suivi de dessèchement des feuilles de la base
Anthracnose	<i>Collectotrichum</i> <i>Coccodes</i>	Tâches circulaires de 05 à10 mm sur les fruits rouges
Oidium	<i>Oidium neolycopersici</i>	Feutrage blanc sur feuilles
Pourriture grise	<i>Botrytis cinerea</i>	Feutrage grise sur les feuilles et sur les fruits

II.4.2 Maladies bactériennes

Chancre bactérien

Le chancre bactérien est causé par le *Clavibacter michiganensis*. C'est une maladie importante et répandue, causant des pertes économiques graves dans les cultures de tomates dans le monde, qu'elles soient en serre ou en plein champ (Figure 08) (Gartemann et al., 2003).



Figure 08: Chancre bactérien sur la tomate, A : sur les feuilles de tomate, B : sur le fruit de la tomate (Anonyme, 2015).

Moucheture bactérienne

La bactérie responsable de la moucheture bactérienne est *Pseudomonas syringae* (Boosse-Platiere, 2008). Il ya apparition des taches noires de contours irréguliers, entourées d'un halo jaune.

Les taches peuvent se joindre et former une plage nécrotique brune-sombre, ainsi les folioles se dessèchent et tombent et sur le fruit sont observé des taches brunes nécrotiques (Figure09) (Allal, 2009).



Figure 09 : Moucheture bactérienne sur tomate (Anonyme 2, 2013)

Gale bactérienne

La bactérie responsable de la gale est *Xanthomonas campestris*. Il ya apparition de taches brunâtres relativement régulières entourées d'un halo jaune sur les feuilles et de petits chancres pustuleux, qui prennent un aspect liégeux sur le fruit (Allal, 2009).

Moelle noire

Lors de la moelle noire, la tige est molle colorée en brun (Snoussi, 2010), une coupe longitudinale de la tige montre une moelle noire remplie de vacuoles, les vaisseaux demeurent intacts, contrairement à ce qui se passe dans le cas d'une maladie vasculaire (Figure 10) (Allal, 2009).



Figure 10 : Molle noire sur tomate (Anonyme, 2015).

Tableau 06 : Les maladies bactériennes de la tomate (Snoussi, 2010)

Maladies	Agents causals	Symptomes et dégats
Moucheture bactérienne	<i>Pseudomonas Syringae Pv.tomato</i>	Petits points noirs habituellement inférieurs à 2mm de diamètre entourés d'une auréole jaune et par des taches rarement supérieures à 1mm de diamètre entourées parfois d'un halo vert foncé sur les fruits (BLANCARD ,2009)
Gale bactérienne	<i>Xanthomona.Spp</i>	Sur feuilles,tiges et pétoiles de tomate.les lésions se présentent sous forme des zones circulaires (1-5mm)saturées d'eau .d'abord vertes puis brunes des nécrosées .Les fruits de tomat portent des taches subérisées de 2à 10 mm de diamètre circulairs et à marges saturées d'eau (BLANCRD.2009)
Chancre bactérien	<i>Clavibacter michigamensis sub sp.Michiganensis</i>	Petit taches chancreuses sur les folioles de couleur blanc marron .Jaunissement de la moelle en bordure des vaisseaux sue les tige présence de petit tache blanches brunes au centre sue les fruits (BLANCARD ,2009)
Le flétrissement Bactérien	<i>Ralstonia solanacearum</i>	Flétrissement irréversible sur la partie aérien de plants qui survient après blocage par la bactérie de la circulation de l'eau dans la plants

II.4.3 Les maladies virales

Tomato mosaic virus (TMV)

Le symptôme dépendra de la variété, l'âge de la plante au moment de l'infestation, et l'état de l'environnement. Le virus provoque : marbrures et rugosité des feuilles, nanisme. des rendements réduits et roussissement des fruits (Benton, 2008). La transmission se fait par des pucerons (Trottin-Caudal ,2011).

Virus de la mosaïque du concombre (CMV)

La plante est caractérisée par un raccourcissement marqué des entre-nœuds, des pousses apicales qui lui confère un aspect compact et buissonnant. Leurs folioles sont petites et roulée vers le haut.

Les vieilles feuilles sont de taille normale et présentent une mosaïque légère. Les rendements sont considérablement réduits et les fruits sont peu nombreux, petits et maturité inégal (Gallitelli, 2000). le CMV peut être acquis et transmis par plus de 80 espèces de pucerons des plantes infectées vers les plantes saines (Gallitelli, 2000).

Virus de la maladie bronzée de la tomate (TSWV)

Les symptômes du TSWV sont très variés. Sur les feuilles, on peut observer un symptôme de mosaïque vert clair à vert foncé, des taches chlorotiques à nécrotiques, parfois en anneaux, apparaissant sur les faces supérieures puis inférieures, des plages rouge brun, plus nombreuses et confluentes à la base des folioles, qui deviennent légèrement enroulées (Marchaux et al., 2008).

Le principal agent de transmission de TSWV est le thrips. Neuf espèces de cet insecte ont été rapportées vecteurs de ce virus. (Marchaux et al., 2008)..

Virus de du jaunissement et feuille en cuillère de la tomate (TYLCV)

Les plantes atteintes ont une croissance ralentie ou même bloquée leurs conférant un aspect chétif : réduction des entre nœuds, aspect buissonnant, folioles de petites taille qui jaunissent et deviennent incurvé (cuillère). Et parfois filiforme. Les fruits sont petits et peu nombreux. Si l'infection est précoce la récolte est nulle (Trottin-Caudal ,2011). Transmis par les aleurodes (Benton, 2008).

ToCV (Tomato Chlorosis Virus)

Le ToCV est transmis par plusieurs espèces d'aleurodes selon le mode de semi persistant, on peut observer des marbrures chlorotiques irrégulières, un jaunissement et une nécrose de limbe. Des déformations foliaires sont également visibles, notamment un enroulement du limbe. Les plantes affectées précocement sont peu vigoureuses, la production en fruit peut être fortement réduite (Blancard et al., 2009). Développe à des températures de 18 à 24°C avec plus de 80% d'humidité, et est favorisée par des périodes climatiques humides et un apport d'azote (Allali, 2022).

Dans les plants de tomates, diverses maladies bactériennes peuvent affecter différents organes : tige (nécrose centrale), feuilles (taches bactériennes), fruits (marbrures et pourriture dusommet), et tiges (pourriture aqueuse et flétrissement bactérien) (Kolomiets et al, 2011).

Tableau 07 : Les maladies virales de la tomate (Snoussi, 2010)

Maladies	Symptômes et dégâts
CMV Cucumber Mosaic Virus	Lorsque l'infection est précoce on peut observer une stérilité ou une mal formation des fruits
TICV :Tomato Infectious Chlorosis Virus	Une jaunisse généralisée et un retard du développement de la plante. Apparition de nécroses ce qui entraine de grandes pertes de rendement.
TMV :Tobacco Mosaic Virus	Virus de la mosaïque du tabac ce dernier est caractérisé par une mosaïque verts ou blanche .des folioles gaufrés devenant filiformes et ont tendance à s'enrouler, les fruits encore verts présentent une surface légèrement bosselée avec des plages nécrotique brunes .Les fruits murs sont parsemés de plages vertes.
ToCV :Tomato Chorosis Virus	Virus de la jaunisse de la tomate un jaunissement généralisé à l'ensemble des folioles d'une feuille et un retarde du développement de la plante.
TSWV :Tomato Spotted wilt Viruse ou virus de la maladie bronzée de la tomate	Il est à observer des mouchetures en mosaïque avec une décoloration des feuilles. Sur les tiges et pétioles ,il y a apparition des taches nécrotique par contre sur les flours on observe un nanisme une déformation et une décoloration la maladie peut entrainer un rabougrissement du plant.
TYLCV :Tomat Yellow Leaf Curl Virus ou maladie des feuilles jaunes en cuillères de la tomate.	La croissance des plantes atteintes et fortement perturbée. Les feuilles sont de tailles réduites et présentent un jaunissement et ou un enroulement en forme de cuillères.En cas d'infection précoce,les palntes sont naines et ne produisent plus de fruits

Chapitre III

Les moyens de lutte contre les maladies des plantes

III.1 Les moyens de lutte contre les maladies des plantes

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).

III.1.1 Lutte curative

La lutte chimique

Les traitements chimiques sont largement utilisés pour combattre les maladies bactériennes. Les quelque 120 matières actives antiparasitaires disponibles sont dans leur grande majorité des molécules organiques de synthèse, avec toutefois quelques substances minérales dont le soufre élémentaire et des produits cupriques, ainsi que des antibiotiques autorisés dans certains pays (mais interdits dans d'autres) contre des bactéries phytopathogènes (Iepoiver, 2003).

La plupart des molécules antibactériennes utilisables en agriculture agissent directement sur les agents pathogènes. Sur la base de leur mode d'action, il est possible de classer les matières actives en deux catégories principales selon qu'elles possèdent plusieurs sites d'action (multisites) ou qu'elles perturbent spécifiquement une seule voie métabolique (unisites).

A côté des substances antiparasitaires à effets directs, il est possible de protéger les plantes de manière indirecte à l'aide de composés qui, soit inactivent des médiateurs émis par les parasites et indispensables à leur pathogénicité (Enzymes, toxines), soit stimulent les réactions de défense des plantes (inducteurs) (Leroux et Gardan , 2003).

l'agriculture biologique ou organique qui demande une production complètement exempte d'intrants chimiques (engrais, pesticides, antibiotiques ...). Cependant la lutte biologique peut devenir une composante importante de systèmes de production intégrée ou biologique.

III.1.1.2 La lutte biologique

La biosynthèse de l'IAA est largement répandue parmi les bactéries associées aux plantes (Pattenal, 1996 ; Giickmann et al., 1998). Les bactéries peuvent utiliser cette phytohormone pour interagir avec les plantes dans le cadre de leur stratégie de colonisation, y compris la phytostimulation et les mécanismes de défense basale des plantes. L'IAA peut également être une molécule de signalisation dans les bactéries et peut donc avoir un effet direct sur la physiologie bactérienne (Spaepen et al., 2007)

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, 2003). 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).

Dans le sens écologique strict, l'application de la lutte biologique peut être considérée comme une stratégie pour restaurer la biodiversité dans les agro-écosystèmes par l'addition des antagonistes naturels (parasite ou prédateur) (Amer., 2017).

Principes de la lutte biologique

Les techniques de lutte biologique font appel à deux principes :

La réduction de l'inoculum infectieux pendant la phase de conservation ou de survie du pathogène ; et/ou l'interférence avec le processus d'infection de la plante hôte.

Le contrôle biologique des agents pathogènes qui s'exerce en détruisant l'inoculum infectieux, en l'inactivant ou réduisant sa virulence (Toua, 1996).

Agents de lutte biologique

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 (Si Amar, 2017)

Les bios pesticides microbiens

Un bio pesticide est formé de « pesticide » qui veut dire « tuer les pestes » et du préfixe « bio » qui signifie « vie » en grec. L'antinomie de ces deux termes souligne que les biopesticides s'inscrivent dans la lutte contre les organismes fléaux et sont basés sur l'utilisation d'agent ou facteurs liés à la vie.

Les bio pesticides peuvent être définis comme des produits phytosanitaires dont le principe actif est un organisme vivant ou un de ses dérivés, ils peuvent donc être constitués d'organismes (plantes, insectes, nématodes), ou des micro-organismes (Bactéries, levures, champignons, virus) exerçant une activité protectrice sur les plantes vis-à-vis d'agents phytopathogènes, mais aussi des substances d'origines naturelles telles que des extraits végétaux (Thakore, 2006).

Les bio pesticides microbiens sont écologiquement beaucoup plus compatible que les produits chimiques et ont une spécificité accrue vis-à-vis des pathogènes contre lesquels ils sont

dirigés. Ils sont par conséquent moins dommageables pour les organismes non cibles de la microflore endogène qui exerce une action bénéfique sur les plantes. De plus sont souvent efficace en faible quantité et leurs activités protectrices peuvent relever les mécanismes multiples et déclenches donc rarement des phénomènes de résistance chez le pathogène à cause d'une faible pression de sélection. En outre, ils peuvent compléter les pesticides conventionnels une fois utilisés dans les programmes intégrés de la gestion des parasites (IMP) (Fravel, 2005 ; Thakore, 2006), les biopesticides peuvent donc être complémentaires au traitement chimique mais peuvent aussi être utilisés dans des situations pour lesquelles aucune solution de contrôle utilisant des produits de synthèse n'est actuellement disponible. Ces agents microbiens sont utilisés à travers le monde dans les champs et dans les serres (Ji et al., 2006; Lee et al., 2006; Minuto et al., 2006; Saravanakumar et al., 2007), pour combattre un grand nombre des maladies causées par des pathogène du sol, foliaires ou de post-récoltes (Akram, 2008).

Le marché des biopesticides

En 2000, le marché des biopesticides était à l'état embryonnaire, la proportion des biopesticides vendus versus les pesticides chimiques n'atteignait que 0,25%. Après cinq ans, le marché des biopesticides représentait 2,5% du marché global des pesticides qui était équivalent d'environ 26,7 milliard USD. En 2006, Arysta life science (ALS) a estimé que ce marché était de 541 millions \$ alors qu'en 2008 il a atteint 750 million USD (3% du marché global des pesticides) selon Global Industry Analysts (GIA). Le marché mondial des biopesticides est évalué à 1,3 milliards \$ en 2011 et devrait atteindre 3,2 milliards USD d'ici 2017. L'Amérique du Nord a dominé le marché mondial des biopesticides représentant environ 40% de la demande de biopesticide mondial en 2011. L'Europe devrait être le marché à forte puissance dans un avenir proche en raison de la réglementation stricte pour les pesticides et la demande croissante des produits biologiques. Le marché de biopesticides est très en dessous de celui des produits phytosanitaires chimiques. Cependant il est en constante croissance. En 2008 aux USA et en Europe de l'ouest il a été estimé à 594,5 millions de dollars. Avec un taux de progression annuel de 8% il est prévu que ce marché atteindra 1082,0 millions de dollars d'ici 2015. En Europe de l'ouest le prix des biopesticides est en général 25 fois plus important que celui des produits sanitaires chimiques. Selon les économistes cette différence devrait s'accroître car une baisse des prix des produits conventionnels est prévue alors que les prix de vente des biopesticides microbiennes stagneraient (Deravel et al., 2013)

III.1.1.3 Les avantages et les inconvénients de la lutte biologique

Les avantages

La lutte biologique présente de nombreux avantages des points de vue environnementaux, sociaux et économiques (Lefort, 2010), elle est :

- Efficace.
- Permet de restreindre ou d'éliminer l'utilisation des pesticides chimiques.
- Moins toxique que les pesticides chimiques.
- Utilisable en serre.
- Permet de diminuer les risques d'apparition de résistances aux produits chimiques.
- Plus grande spécificité d'action.
- Faible coût de développement.
- Amélioration de la qualité de vie et de la santé des travailleurs agricole.
- Pas de délai de traitement avant la récolte.
- Non contamination des produits (pas de résidus chimiques).
- Dégradation rapide des biopesticides, diminuant les risques de pollution (Lefort, 2010).

Les inconvénients (des limites)

- Lutte souvent faite en prévention et moins efficaces lorsque curative.
- Effet moins drastique que les pesticides (plus d'application).
- Effet différé.
- Efficacité pas toujours constante d'une production à l'autre.
- Efficacité relative aux conditions climatiques.
- Activité restreinte lors d'une grande pression du ravageur.
- Conditions d'entreposage des produits biologiques (demi- vie et températures plus fraîche).

III.2.1 Définition de PGPR

Les rhizobactéries favorisant la croissance des plantes (PGPR), un groupe diversifié de bactéries du sol, sont des composants clés des systèmes sol-plante, où elles sont engagées dans un réseau intense d'interactions dans la rhizosphère, affectant ainsi la croissance et le rendement des plantes. Ce sont (Kloepper et Schroth 1981) qui ont inventé le terme de rhizobactéries favorisant la croissance des plantes pour désigner ces microbes bénéfiques. Il s'agit de nombreuses espèces de bactéries du sol qui prospèrent dans la rhizosphère des

plantes, mais qui peuvent se développer dans, sur ou autour des tissus végétaux, et qui stimulent la croissance des plantes par une multitude de mécanismes (Vessey, 2003).

Les PGPR sont des outils potentiels pour l'agriculture durable et une tendance pour l'avenir ; elles assurent non seulement la disponibilité des nutriments essentiels pour les plantes, mais améliorent également l'efficacité de l'utilisation des nutriments (Khalid et al., 2009).

Les effets bénéfiques des PGPR impliquent de stimuler des processus physiologiques clés, notamment l'absorption d'eau et de nutriments, la photosynthèse et les relations source-puits qui favorisent la croissance et le développement (*Illangumaran et Smith, 2017*)

L'un des mécanismes par lesquels les bactéries sont adsorbées sur les particules du sol est l'échange d'ions. Un sol est dit naturellement fertile lorsque les organismes du sol libèrent des nutriments inorganiques à partir des réserves organiques à un rythme suffisant pour soutenir la croissance rapide des plantes (Goswami et al., 2016). Gray et Smith (2005) ont montré que les associations de PGPR varient en fonction du degré de proximité bactérienne avec la racine et de l'intimité de l'association.

III.2.2 Les caractéristiques Distinctes des PGPR

Sont les suivantes :

- les doivent être capables de coloniser la racine,
- elles doivent survivre et se multiplier dans les microhabitats associés à la surface de la racine, en concurrence avec d'autres microbiotes, au moins pendant le temps nécessaire pour exprimer leurs activités de promotion/protection de la plante
- elles doivent favoriser la croissance de la plante (Kloepper, 1994; Lucy et al., 2004)

III.2.3 Rôle de PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobactéria)

Les effets bénéfiques des rhizobactéries sur la croissance végétale résultent de différents mécanismes exercés par les PGPR dont les modes d'action sont directs ou indirects, bien que la différence entre les deux ne soit pas toujours évidente. Les mécanismes indirects sont, en général, ceux qui se produisent en dehors de la plante, tandis que les mécanismes directs sont ceux qui se produisent à l'intérieur de la plante et affectent directement leur métabolisme. Ces mécanismes pouvant être actifs simultanément ou séquentiellement à différentes étapes de la croissance des plantes, ces mécanismes sont :

1- La solubilisation des phosphates, la fixation de l'azote et les minéraux nutritifs, rendant ces aliments disponibles pour la plante.

2- La production de phytohormones telles que l'acide d'indole-3-acetic (IAA).

3- La répression des microorganismes pathogènes du sol (par la production du cyanure d'hydrogène, de sidérophores, d'antibiotiques, et/ou de la concurrence pour les nutriments (Gupta et al., 2000).

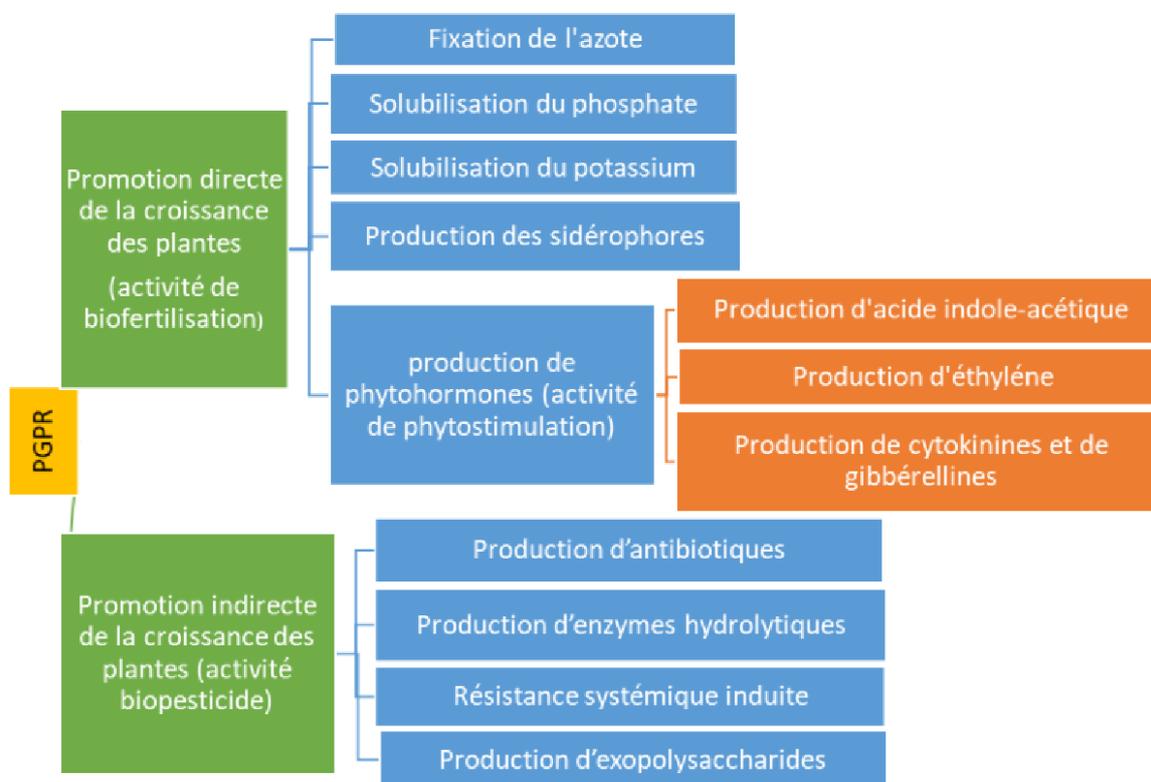


Figure 11 : Schéma montrant que les PGPR affectent directement et indirectement la croissance des plantes (Gupta et al. 2015)

III.3 Mécanismes d'action des bactéries impliquées dans la lutte biologique

La protection conférée par un microorganisme de lutte biologique (PGPR) s'appuie sur un ou plusieurs mécanismes d'action tels que la compétition (pour éléments nutritifs, l'espace), l'antibiose et l'induction de la résistance chez la plante. L'étude de ces mécanismes d'action est une étape importante dans le développement de la lutte biologique (Jijakli, 2003).

III.3.1. Compétition pour l'espace et nutriments

Dans certains cas une réduction de la maladie peut être associée à une colonisation importante des racines par les bactéries bénéfiques ce qui réduit le nombre des sites habitables pour les microorganismes pathogènes et par conséquent leurs croissances (Piano et al., 1997). Dans certains cas les rhizobactéries à croissance rapide peuvent éliminer le pathogène fongique par une compétition pour le carbone et les sources d'énergies. Les PGPR doit être présent sur les racines en nombre suffisant pour avoir un effet bénéfique et être capable d'instaurer une

compétition pour les nutriments dans la rhizosphère (Haas et al, 2005). Outre la vitesse de croissance intrinsèque, les autres propriétés renforçant la colonisation racinaire sont la mobilité (Jofré et al., 2004), le chimiotactisme et la faculté d'utilisation des composés excrétés par les racines en tant que sources de carbone et d'azote (Berggren et al., 2001 ; Gupta Sood, 2003).

Un cas particulier de compétition pour nutriment concerne la compétition pour le fer ; les microorganismes ont la capacité de synthétiser des composés s'appropriant les ions ferriques présents dans la rhizosphère et les rendent indisponibles pour les champignons pathogènes entraînant une diminution de sa croissance (Cherif, 2018).

III.3.2. Antibiose et parasitisme

L'antibiose est le mécanisme le plus connu et peut être le plus important utilisé par les PGPR pour limiter l'invasion de pathogène dans les tissus de la plante hôte, il consiste en une inhibition directe de la croissance de pathogènes via la production des métabolites aux propriétés antifongiques et/ou antibiotiques (Cherif, 2018). Ces métabolites secondaires sont des molécules bioactives à faible poids moléculaire tels que le 2,4-diacétylphloroglucinol (DAPG), et la phénazine qui agissent comme des facteurs contre l'attaque des pathogènes.

De même certaines souches de lutte biologique peuvent produire des enzymes telles que protéase, glucanase, cellulase et lipase pouvant lyser les cellules fongiques (Kenneth et al., 2019).

III.3.3. La résistance systémique induite

Lors de phénomène appelé « résistance systémique induite », des bactéries non pathogènes peuvent confère à la plante un certain degré de protection à des attaques ultérieures par un phytopathogène via la stimulation des mécanismes de défense systémique. Cette immunité s'initie suite à la perception par la plante des molécules dites « elicitrices » produites par le microorganisme bénéficiaire. Ce phénomène fait appel séquentiellement à la reconnaissance par l'hôte d'eliciteurs produits par l'agent inducteur, à l'émission d'un signal requis pour propager l'état induite de manière systémique et à l'expression des mécanismes sensu stricto qui permettent de limiter la pénétration du pathogène dans les tissus de la plante.

Les événements moléculaires associés à RSI sans de mieux en mieux connus. Ainsi, la transmission du signal émis suite à la perception de l'agent infectieux repose sur différentes voies dans lesquelles l'acide salicylique, l'acide jasmonique et l'éthylène jouent un rôle crucial (Glazebrook et al., 2003).

Cependant ces voies s'interpénètrent et agissent avec d'autres mécanismes pour former un réseau de régulation modulable permettant à la plante d'initier une réponse défensive spécifique en fonction de la nature du pathogène (Devos et al., 2005).

Partie Expérimentale

Chapitre IV

Matériel ET Méthodes

V.1. Objectif :

L'objectif de ce travail consiste à étudier les propriétés de protection des plantes et les propriétés PGPR (Plant Growth-Promoting Rhizobacteria) de quelques bactéries isolées du sol rhizosphérique, pour cela nous avons procédé à :

- Des tests in vitro et in vivo de pouvoir antifongique des souches bactériennes isolées vis-à-vis de quelques espèces pathogènes de la plante de tomate (*Fusariumoxysporum*, *Aspergillus flavus*, *Penicillium notatum*, et *Aspergillus niger*).
- Un suivi de l'évolution de la croissance de la plante infectée en présence et en absence de l'effet protecteur de souches isolées.

Ce travail a été réalisé au niveau de laboratoire pédagogique N°4 à l'université de Saida Dr. Moulay Tahar et laboratoire de Biotoxicologie, Pharmacognosie et Valorisation biologique des Plantes durant la période de Février à juillet 2024.

IV.2 Les souches bactériennes utilisées

Les micro-organismes utilisés dans cette étude sont fournies par notre Co Encadrant Dr. Benreguieg Mokhtar, il s'agit des espèces bactériennes :

- *Bacillus atrophaeus*
- *Bacillus subtilis*
- 4 Isola appartenant au genre *Bacillus sp*
- *Streptomyces lasiicapitis*
- *Actinomycètes*

IV.2.1 Les caractéristiques des souches

Les informations sur les souches bactériennes figurent dans le tableau 7, et pour l'identification elles appartiennent au genre *Bacillus* et *Actinomycètes* et elles sont en cours d'une identification moléculaire par notre Co-encadrant.

Tableau08 : Les caractéristiques des souches Code utilisé dans notre pratique

les souches	Code d'origine	Code utilisé dans notre pratique	La source
<i>Bacillus</i>	F.s7	B1	Sol Saida
<i>Bacillus</i>	C6	B2	Sol rhizosphérique <i>zyzifus</i>
<i>Bacillus</i>	Cg-F	B3	Sol Mascara
<i>Bacillus</i>	Su-PCR	B4	Rhizosphérique <i>Pestacia atlantica</i>
<i>Bacillus</i>	Cy-su	B5	Sol Saharien
<i>Bacillus</i>	C2A	B6	Sol Ain Sefra
<i>Actinomycètes</i>	ALB7	Aa	Sol Saharien
<i>Streptomyces lasiicapitis</i>	TR10	At	Sol Saharien

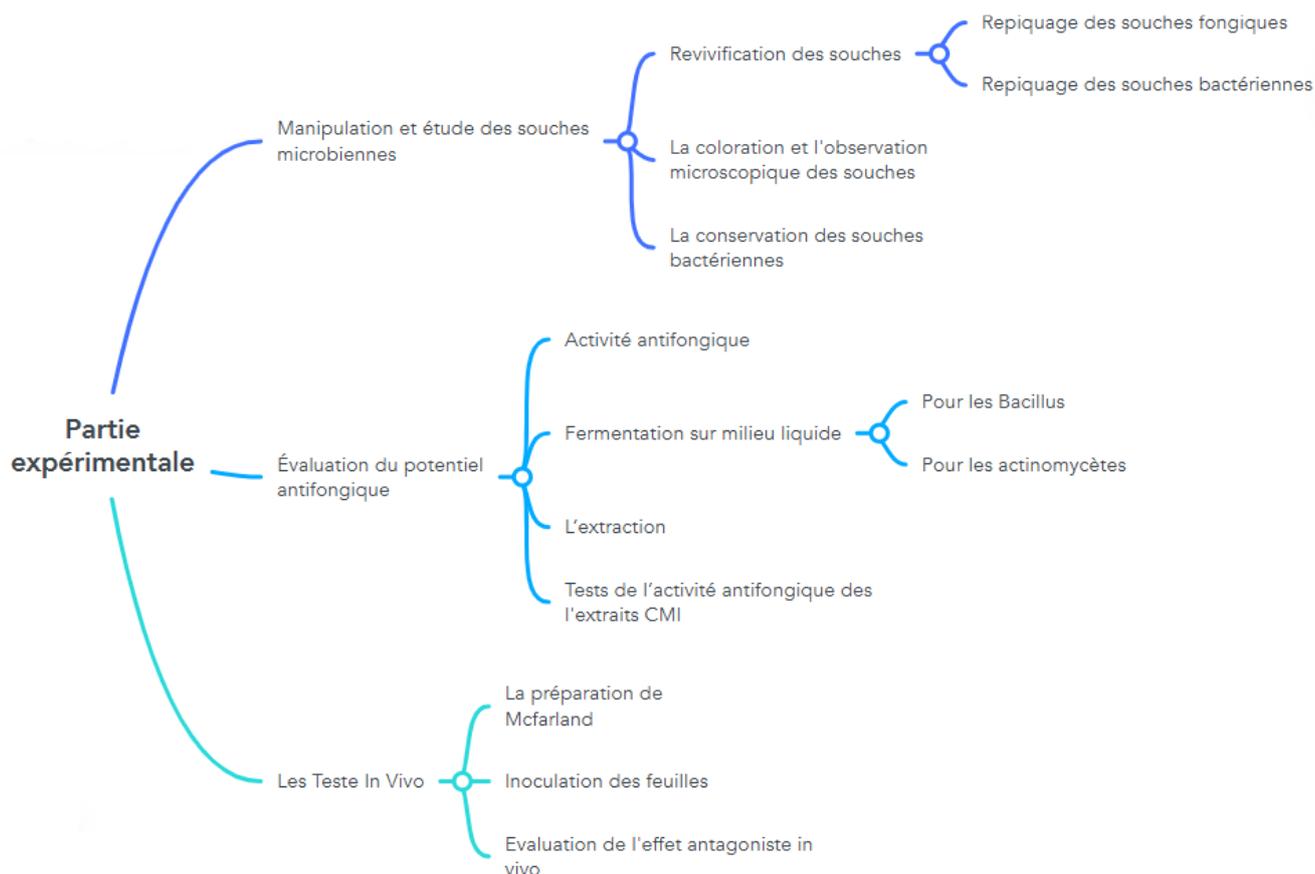


Figure 12 : schéma qui représente les différentes étapes de la partie expérimentale.

IV.3 L'étude des souches microbiennes

IV.3.1 Revivification des souches :

Les souches *d'Actinomycètes* ont été incubées sur le milieu GYM (voir annexe 04) (Fusconi et al., 2010) à 28°C pendant 7 jours ou jusqu'à ce qu'une sporulation soit détectée (Cuesta et al 2012). Les souches du *Bacillus* ont été incubées sur le milieu GN (voir annexe 01) à 37°C pendant 24h (Mekdour et al., 2017).

IV.3.2 Les germes cibles

Des champignons filamenteux ont été utilisés comme germes cibles pour tester l'activité antimicrobienne des isolats *d'Actinomycète* et *Bacillus*.

Les souches :

- *Fusariumoxysporum*
- *Aspergillus flavus*
- *Penicillium notatum*
- *Aspergillus niger*

IV.3.3 .Repiquage des souches fongiques :

Le repiquage a été effectué par prélèvement d'un fragment mycélien à la marge du thalle, tout en évitant son contact avec les autres colonies avoisinantes de la même boîte de Petri. Le fragment a été déposé au centre d'un milieu PDA (voir annexe) en boîte de Petri, puis les boîtes ont été étiquetées, fermées avec et déposées à l'étuve réglée à 25°C pendant 3 à 5 jours (Rezaiguia., 2022)

IV.3.4 .La Coloration et l'observation microscopique des souches :

Toutes les souches bactériennes ont été colorées avec la coloration de Gram (Paray et al, 2022), tandis que le bleu de méthylène a été utilisé sur les souches fongiques. Après la coloration, elles ont été étudiées au microscope (Lachal et al., 2020).

IV.3.5 La Conservation des souches bactériennes :

Les souches ont été conservées dans le milieu GN solide incliné dans des tubes à essais stériles. Après ensemencement et incubation en condition optimale de 37°C pendant 24h à 48h (Mekdour et al., 2017), les tubes ont été conservés au réfrigérateur à 4°C pendant 3 à 4 mois (Tadjer et al., 2023).

IV.4 Évaluation du potentiel antifongique**IV.4.1 Activité antifongique:**

L'activité a été testée en utilisant la méthode des cylindres d'agar à partir de jeunes cultures de *Bacillus* et d'*Actinomycètes*.

Des cylindres de 6 mm de diamètre ont été découpés stérilement à partir des cultures des isolats à l'aide d'un emporte-pièce, puis placés dans des boîtes de PDA préalablement ensemencées avec les germes cibles. Les boîtes ont été placées à 4°C pendant 4 heures avant l'incubation afin d'assurer une bonne diffusion des substances bioactives. Ensuite, elles ont été incubées à 28°C pendant 48 heures. Les zones d'inhibition ont été mesurées après 48 h d'incubation (Lemriss et al., 2003).

IV.4.2 Fermentation sur milieu liquide :

Après le test d'antagonisme, les souches ayant donné de bons résultats ont été sélectionnées (deux de *Bacillus* et une souche d'*Actinomycètes*).

Pour les *Bacillus* :

Les micro-organismes présentant une activité antifongique nette ont été cultivés en flacons dans le milieu liquide BN (voir annexe) pendant 48 h à 37°C (N'dir et al., 1994), (Pichinoty et al., 1978), (Mekdour et al., 2017). La croissance microbienne a été déterminée par mesure de la densité optique (DO) à 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (N'dir et al., 1994).

Pour les *Actinomycètes* :

Les micro-organismes présentant une activité antifongique nette ont été cultivés en flacons dans le milieu liquide GYM pendant 7 jours à 30°C (N'dir et al., 1994), (Fusconi et al., 2010), (Cuesta et al., 2012). La croissance microbienne a été déterminée par mesure de la densité optique (DO) à 600 nm à l'aide d'un spectrophotomètre (N'dir et al., 1994).

IV.4.3 L'extraction :

Les antifongiques en cause ont été isolés des cultures liquides des souches d'*actinomycète* et des cultures liquides des souches de *Bacillus* par la technique de précipitation-extraction. Les échantillons ont été centrifugés à 6000 g pendant 20 min.

Le surnageant obtenu a été extrait par la même quantité d'acétate d'éthyle, mise dans l'agitateur pendant une heure. Les extraits (préparation brute) ont été séchés à 40°C dans l'incubateur et repris dans du méthanol (N'dir et al., 1994), (Belgacem et al., 2018), puis mis dans de petites bouteilles opaques. Ils ont été conservés au réfrigérateur à une température de 4°C jusqu'à leur utilisation.

IV.4.4 Tests de l'activité antifongique des l'extraits CMI :

Les extraits des souches actives ont été testés pour leur activité antifongique par la technique de contact direct, selon (Belgacem et al., 2023).

NP : Le champignon *Fusarium oxysporum* a été sélectionné en raison de son rôle en tant que pathogène des cultures de tomates, tandis que *Aspergillus flavus* a été choisi en raison de l'activité antifongique élevée de notre souche à son égard.

Cette méthode a reposé sur l'étude de l'effet de l'incorporation des différentes concentrations de l'extrait méthanolique des souches étudiées B1, B2 et A1 dans le milieu de culture sur la croissance des souches fongiques (*Fusarium oxysporum*, *Aspergillus flavus*). Une série de dilutions (de 1 à 8 mg/ml) a été préparée en suspension avec le milieu de culture, à partir de la

solution mère par addition de volumes variables de l'extrait méthanolique des souches d'*Actinomycètes* et souches de *Bacillus*.

Dans des flacons contenant chacun 250 ml de milieu de culture PDA stérilisés à l'autoclave (20 minutes à 120 °C) et maintenus en surfusion à 45°C, on a ajouté aseptiquement 1 ml d'acide lactique dilué à 25 % dans le but d'inhiber les souches bactériennes.

Dans des tubes à essais, nous a versé 20 ml du milieu PDA préparé préalablement, on a ajouté l'extrait avec différents volumes de telle façon à obtenir les dilutions (1, 2, 4 et 8 mg/ml).

Puis on les a agités convenablement à l'aide du vortex avant de les répartir dans des boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre à raison de 20 ml de mélange par boîte.

Après solidification, les boîtes préparées ont étéensemencées au centre de la surface du milieu gélosé avec un disque de mycélium (6 mm de diamètre) prélevé de manière stérile à l'aide d'un emporte-pièce à partir de la périphérie des cultures âgées de 7 jours (deux souches fongiques ont été utilisées : *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*). Les boîtes ont ensuite été incubées à une température de 28 °C pendant 5 jours.

IV.5. Les Tests In Vivo

IV.5 .1. La préparation de Mcfarland

Pour préparer le standard 0,5 McFarland ($1,5 \times 10^8$), on a mélangé 0,05 ml de chlorure de baryum déshydraté à 1,175% ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) avec 9,95 ml d'acide sulfurique à 1% (H_2SO_4). Le mélange a été bien agité pour obtenir une suspension homogène (Eucast., 2023).

IV.5 .2 Inoculation des feuilles

Dans la deuxième partie de l'expérience, une contamination a été délibérément induite sur les feuilles de tomate de chaque lot. Pour cela, les feuilles ont été placées dans un bécher stérile contenant une suspension fongique préparée avec de l'eau physiologique à une concentration de 10^7 UFC/ml. Ensuite, les feuilles contaminées ont été déposées dans des boîtes de Pétri contenant 20 ml de la suspension bactérienne que nous étudions. Les symptômes provoqués par le champignon ont été évalués quotidiennement pendant une période de 15 jours (Raynal et al 2014), (Badji et al., 2017), (Becharef et al., 2023) comme indiqué dans le tableau 09 et la figure 13 :

Tableau09 : Inoculation des feuilles

Les boîtes de Pétri	Inoculation fongique	Le traitement bactérien
A1	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Actinomycètes</i>
A2	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Actinomycètes</i>
B1 ₁	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Bacillus 1</i>
B1 ₂	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Bacillus 1</i>
B2 ₁	<i>Fusarium oxysporum</i>	<i>Bacillus 2</i>
B2 ₂	<i>Aspergillus flavus</i>	<i>Bacillus 2</i>
T+1	<i>Fusarium oxysporum</i>	Aucun traitement
T+2	<i>Aspergillus flavus</i>	Aucun traitement
T-	Aucun traitement	Aucun traitement

T : Le témoin. / A : La suspension *Actinomycètes*./B : La suspension *Bacillus*

1 : Feuilles de tomates contaminées par le *Fusariumoxysporum*

2 : Feuilles de tomates contaminées par l'*Aspergillus flavus*.



Figure13 : Traitement et inoculation des feuilles de tomate avec une suspension fongique

IV.6 Evaluation de l'effet antagoniste in vivo

Des expériences ont été entreprises pour évaluer l'efficacité des souches d'*Actinomycètes* et de *Bacillus* dans l'inhibition du champignon pathogène *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*. Pour cette expérience, 66 plantes de tomate d'une hauteur d'environ 12 cm plus ou moins ont été utilisées. Ils ont ensuite été répartis en 11 groupes, chaque groupe contenant 6 plants. Nous les avons plantés dans des pots en plastique (Becharef et al., 2023). Après une période d'adaptation de 15 jours, chaque plante a été arrosée avec 10 ml de liquide de fermentation, comme indiqué dans le tableau 10 :

Tableau10 : La façon dont les groupes étaient répartis

Le groupe	Le traitement bactérien
A ₁	Aa
A ₂	Aa
B6 ₁	B6
B6 ₂	B6
B2 ₁	B2
B2 ₂	B2
G1	B2, B6 et Aa
G2	B2, B6 et Aa
T ₊₁	Aucun traitement
T ₊₂	Aucun traitement
T-	Aucun traitement

T- : Le témoin négatif.

T+ : Le témoin positif.

G : Mélange des liquides de fermentation.

A : Traité par l'Aa(Actinomycètes).

B : Traité par *Bacillus*.

1 : Les plants de tomate avaient été arrosés et pulvérisés avec la suspension fongique du *Fusarium oxysporum* après 15 jours d'adaptation.

2 : Les plants de tomate avaient été arrosés et pulvérisés avec la suspension fongique d'*Aspergillus flavus* après 15 jours d'adaptation.

Après une période d'adaptation de 15 jours, les plants de tomate ont été arrosés et pulvérisés avec la suspension fongique du *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*. La taille et l'état des plantes ont été surveillés tout au long du mois.

**Figure 14** : Plantes de tomate utilisées pour le test d'antagonisme.

IV.6.1. Analyse statistique

Une analyse statistique des données a été effectuée à l'aide du logiciel SPSS pour évaluer les résultats obtenus. Lors de cette analyse, le test de comparaison de moyennes pour échantillons appariés a été utilisé. Ce test statistique a permis de déterminer s'il existe des différences significatives entre les échantillons témoins et les échantillons ayant reçu le traitement. L'objectif était d'évaluer si les variations observées sont attribuables aux effets du traitement appliqué ou si elles relèvent simplement du hasard.

Résultats et Discussion

V.1. Revivification des souches bactériennes:

V.1.1 Aspect macroscopique :

a. Actinomycètes

L’observation macroscopique des souches bactériennes après 7 jours sur le milieu GYM, a permis de révéler les différents aspects morphologiques comme indiqué dans la **figure 15** et le **tableau 11**.

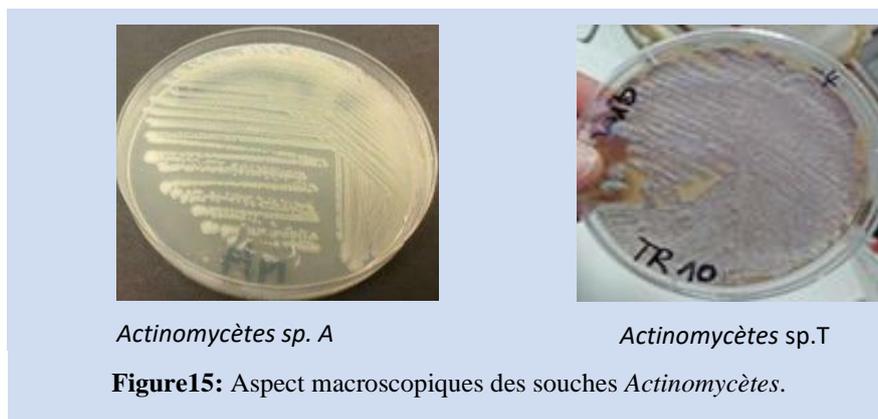


Tableau11: Résultats de l’examen macroscopique des souches *Actinomycètes*.

Bactérie	Forme	Contour	Relief	Taille	Texture	Couleur
<i>Actinomycètes sp.A</i>	irrégulières	Dentelé	bombée	1mm	Sèches et crayeuses rugueuse	beige
<i>Actinomycètes sp.T</i>	irrégulières	Dentelé	bombée	1mm	Sèches et crayeuses	Gris

a. Bacillus

L'observation macroscopique des souches bactériennes après 24h sur le milieu GN, a permis de révéler les différents aspects morphologiques comme indiqué dans la **figure16** et le **tableau12**:

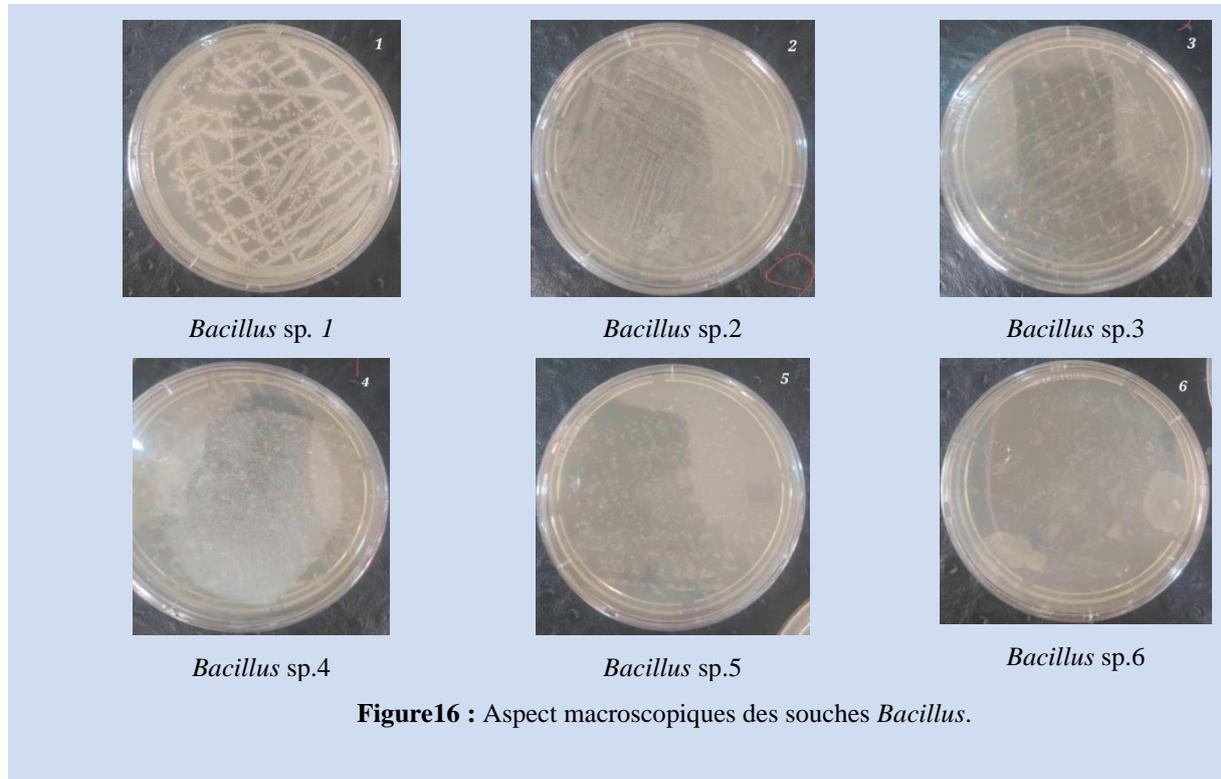


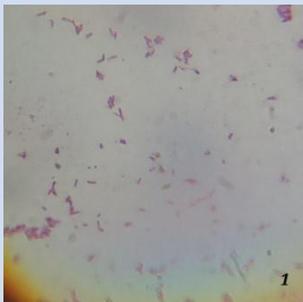
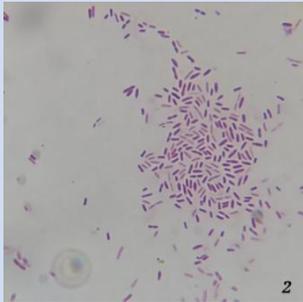
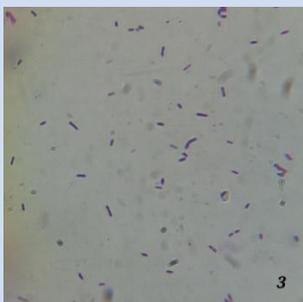
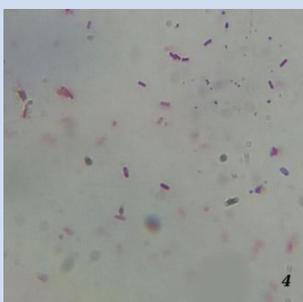
Tableau12: Résultats de l'examen macroscopique des souches *Bacillus*.

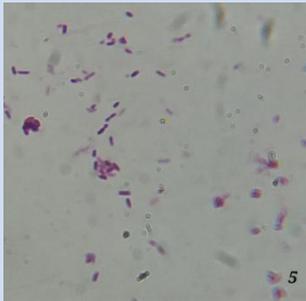
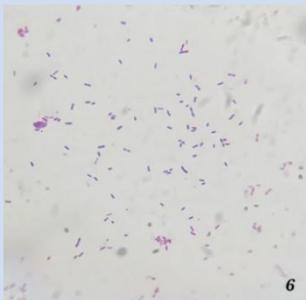
Bactérie	Forme	Contour	Relief	Taille	Texture	Couleur
<i>Bacillus sp.1</i>	circulaires	Régulier	Elevée	1mm	sèches et crayeuses	Blanche à crème
<i>Bacillus sp.2</i>	circulaires	Régulier	Elevée	1mm	sèches et crayeuses	Blanche à crème
<i>Bacillus sp.3</i>	circulaires	Régulier	Elevée	1mm	sèches et crayeuses	Blanche à crème
<i>Bacillus sp.4</i>	punctiformes	Régulier	Convexe	2mm	Lisse sèches	Blanche à crème
<i>Bacillus sp.5</i>	punctiformes	Régulier	Convexe	1mm	Lisse brillante	Blanche à crème
<i>Bacillus sp.6</i>	circulaires	Régulier	Convexe	1mm	Lisse brillante	Blanche à crème

V.1.1.2 Aspect microscopique

L'observation microscopique a montré que toutes les bactéries ont été à Gram positif, mais d'espèces différentes en termes de forme et d'agencement.

Tableau13 : Résultats de la coloration de Gram des souches *Bacillus*.

Souche	Coloration de Gram			Aspect microscopique
	Forme	Gram	Agencement	
B1	Bacilles	Positif	En chaînette En lettre V	
B2	Bacilles	Positif	Isolées	
B3	Bacilles	Positif	Isolées	
B4	Bacilles	Positif	Isolées Diplobacilles	

B5	Bacilles	Positif	Isolées Diplobacilles	
B6	Bacilles	Positif	Isolées Diplobacilles	

V. 2 Résultats des critères morphologiques des souches fongiques:

V. 2.1 Aspects macroscopiques

V. 2.1.1 *Aspergillus niger*

Les spores d'*Aspergillus niger* ont une couleur noirâtre et les conidies sont globuleuses et brunes.

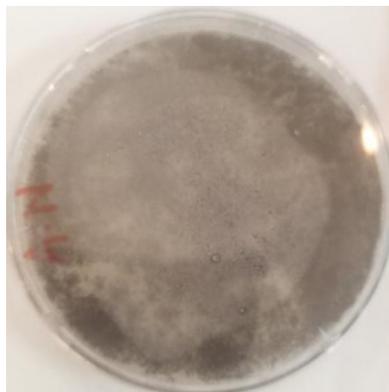


Figure 17 : Aspect macroscopique d'*Aspergillus niger*

V. 2.1.2. *Fusariumoxysporum*

Les spores du *Fusariumoxysporum* (macroconidies) sont fusiformes et rosées, les colonies sont cotonneuses ou duveteuses et de couleur blanche à rosée.

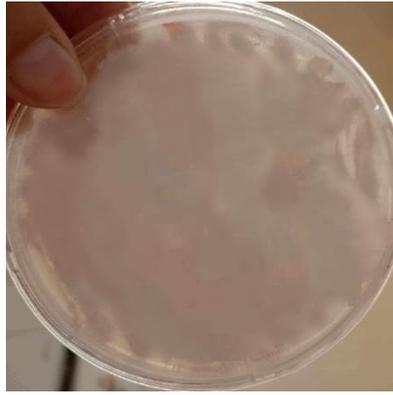


Figure 18: Aspect macroscopique de *Fusarium oxysporum*

V. 2.1.3 *Aspergillus flavus*

Les spores d'*Aspergillus flavus* sont de couleur vert-jaunâtre à vert olive, les conidies sont globuleuses et rugueuses, les colonies sont duveteuses ou granuleuses, avec des teintes jaune-verdâtre.



Figure 19 : Aspect macroscopique d'*Aspergillus flavus*

V. 2.1.4 *Penicillium notatum*

Les spores du *Penicillium notatum* sont vertes, les conidies sont rondes et sont produites en grappes, les colonies sont duveteuses, avec des teintes vertes.



Figure 20 : Aspect macroscopique de *Penicillium notatum*.

V. 3 Aspects microscopiques

V. 3.1 *Aspergillus niger*

Aspergillus niger est formé d'hyphes septés, haploïdes et ramifiés. Il est caractérisé par un conidiophore avec une extrémité renflée portant des phialides.

Ces phialides sont allongées et présentent plusieurs sites de bourgeonnement pour produire des conidies.

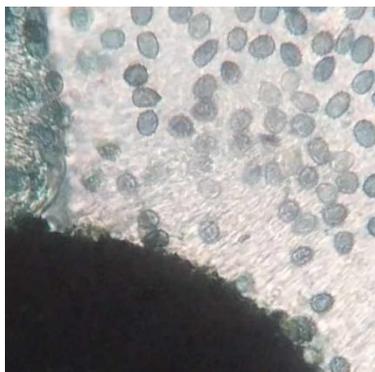


Figure 21 : Aspect microscopique d'*Aspergillus niger*.

V. 3.2 *Fusariumoxysporum*

Fusariumoxysporum est formé de hyphes septés, ramifiés et haploïdes. Il est caractérisé par la production de macroconidies en forme de faucille, souvent allongées et multicellulaires, portées par des conidiophores simples ou ramifiés. *Fusarium* produit également des microconidies, qui sont plus petites et ovales.



Figure 22 : Aspect microscopique de *Fusariumoxysporum*

V. 3.3 *Aspergillus flavus*

Aspergillus flavus est formé d'hyphes septés, haploïdes et ramifiés. Il est caractérisé par un conidiophore possédant une extrémité renflée qui porte des phialides. Ces dernières sont allongées et produisent des conidies globuleuses à partir de plusieurs sites de bourgeonnement.



Figure 23 : Aspect microscopique d'*Aspergillus flavus*.

V. 3.4. *Penicillium notatum*

Penicillium notatum est formé d'hyphes septés, haploïdes et ramifiés. Il est caractérisé par des conidiophores se terminant par des structures en forme de pinceau (métules et phialides) qui portent des chaînes de conidies, ces conidies, de forme ronde.

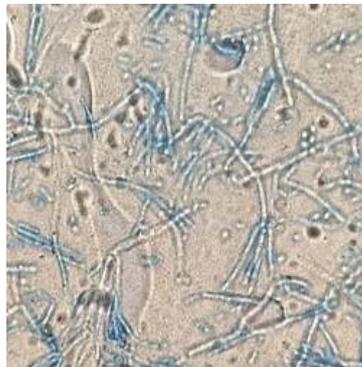


Figure 24 : Aspect microscopique de *Penicillium notatum*

V.3. Mise en évidence de l'activité antifongique des souches:

Dans le but de sélectionner des souches *d'actinomycètes* et de *Bacillus* capables de produire des molécules inhibant certaines souches fongiques, le test du cylindre d'agar a été utilisé. Les résultats obtenus sont présentés dans les figures 25, 26, 27, 28.

V.3.1. Actinomycètes :

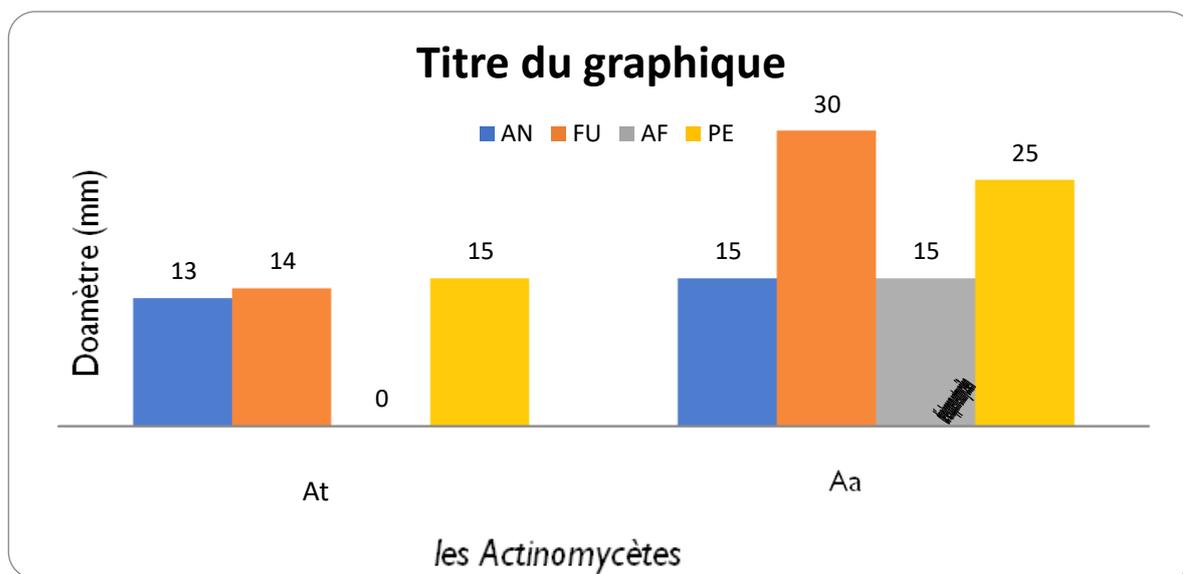


Figure.25 : Activité inhibitrice de nos *Actinomycètes* contre 4 souches fongiques

FU- *Fusarium oxysporum*; AF-*Aspergillus flavus* AN- *Aspergillus niger* ; PE- *Penicillium notatum*.

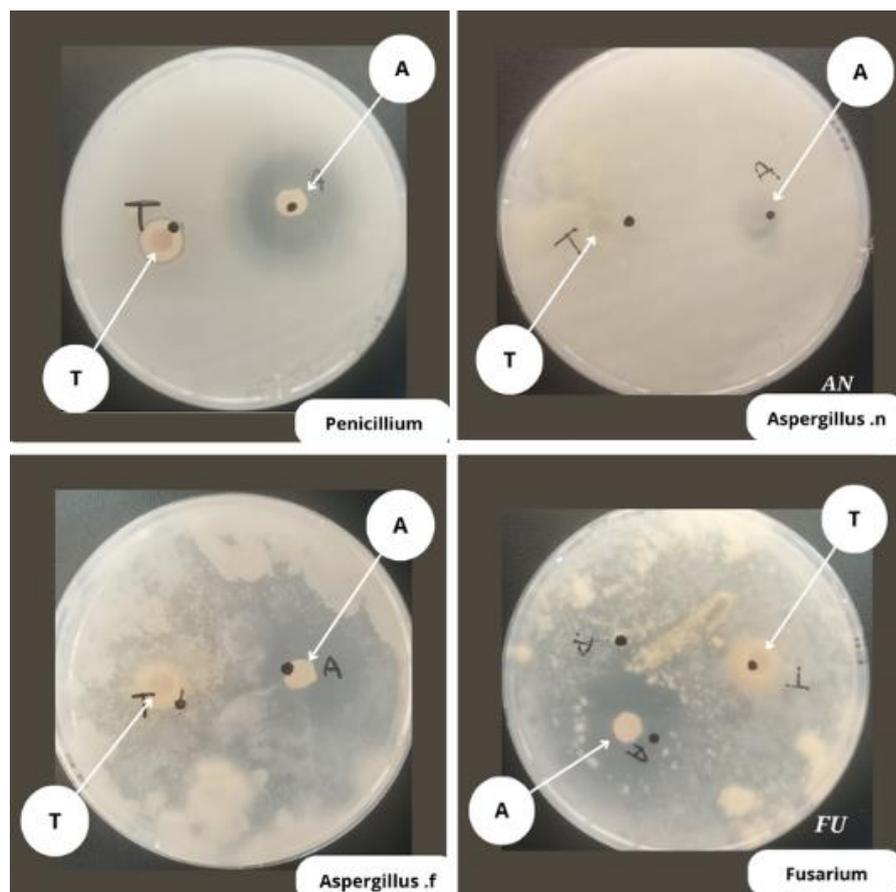


Figure 26 : Résultat de la technique de cylindre d'agar de l'Actinomycète

À partir des résultats du test de l'activité antifongique des souches d'actinomycètes, nous avons remarqué des différences significatives dans l'inhibition des champignons pathogènes testés, qui sont notées selon l'évaluation des diamètres des zones d'inhibition.

➤ *Aspergillus niger* :

La souche At a inhibé la croissance d'*Aspergillus niger* avec un diamètre de 13 mm, ce qui est considéré comme une inhibition modérée. Cependant, la souche Aa avait un diamètre d'inhibition de 15 mm, ce qui signifie qu'elle a une inhibition plus élevée.

Ce dernier a donc un pouvoir inhibiteur légèrement supérieur à celui du premier contre *Aspergillus niger*.

Cela peut être dû à l'efficacité des métabolites produits par la souche contre le champignon, ou au fait que le champignon a une faible résistance.

➤ ***Fusarium oxysporum***:

Une différence marquée a également été notée dans l'inhibition de *Fusarium*. La souche a montré une faible activité antifongique mesurant un diamètre de zone d'inhibition de 14 mm. Au contraire, la souche Aa a considérablement inhibé la croissance du champignon, car la zone d'inhibition a atteint 30 mm.

Par conséquent, il est possible que la souche Aa ait une propriété antifongique accrue pour le *Fusarium* qui peut être liée à une production plus abondante ou à des molécules antifongiques plus puissantes.

➤ ***Aspergillus flavus*** :

La souche At n'a montré aucune inhibition contre *Aspergillus flavus* de 0 mm de diamètre, ce qui indique qu'*Aspergillus flavus* a une résistance contre cette souche. En revanche, la souche Aa a inhibé sa croissance de 15 mm de diamètre, ce qui indique que ce champignon a une sensibilité contre cette souche.

➤ ***Penicillium notatum*** :

La souche At a montré une faible activité antifongique mesurant un diamètre d'inhibition du champignon de 12mm. D'autre part, la souche Aa a montré une inhibition significative, atteignant 25 mm de diamètre. Cela indique qu'elle produit des substances qui inhibent la croissance du champignon *Penicillium*, ce qui en fait une souche potentiellement utile pour lutter contre ce champignon phytopathogène.

Dans l'ensemble, les résultats suggèrent que la souche Aa est plus efficace que la souche At contre les champignons testés, en particulier contre *Fusarium* et *Penicillium*. L'absence d'inhibition d'At contre *Aspergillus flavus* suggère que cette souche a un spectre d'action antifongique plus limité. La souche Aa présente donc un intérêt particulier pour des applications dans la lutte biologique contre plusieurs champignons phytopathogènes..

En comparaison avec l'étude de Kathiresan et al., 2005, les résultats des deux études montrent une importance significative dans la mise en évidence de l'activité antifongique des souches d'*Actinomycètes*. L'étude mentionnée s'est concentrée sur l'évaluation de l'activité directe de plusieurs isolats contre quatre champignons phytopathogènes marins (*H. oryzae*, *C. falcatum*, *R. solani*, *P. oryzae*) en utilisant la méthode de cross streak, tandis que notre recherche s'est focalisée sur l'étude de l'effet des composés actifs extraits de seulement deux souches en utilisant la méthode de diffusion sur agar par cylindre.

Notre souche la plus efficace Aa a démontré une large gamme d'activité antifongique, comparable à celle à large spectre observée pour certaines souches efficaces dans l'étude.

Précédente, comme la souche RHI 1. Dans notre étude, la souche Aa a produit des zones d'inhibition atteignant 30 mm contre le *Fusarium oxysporum*, tandis que dans l'étude de Kathiresan et al., seules quelques souches ont généré des zones supérieures à 20 mm.

Ces différences mettent en lumière la variabilité de l'efficacité des souches testées dans chaque contexte expérimental. Cependant, le spectre limité et l'activité moindre de la souche At dans notre étude soulignent l'importance d'un choix minutieux des souches. Les divergences entre les études pourraient résulter des caractéristiques des champignons testés ou des méthodologies employées, ce qui renforce l'intérêt d'intégrer à la fois des méthodes d'interaction directe et des tests sur les composés actifs pour une évaluation plus complète.

V.3.2. *Bacillus*

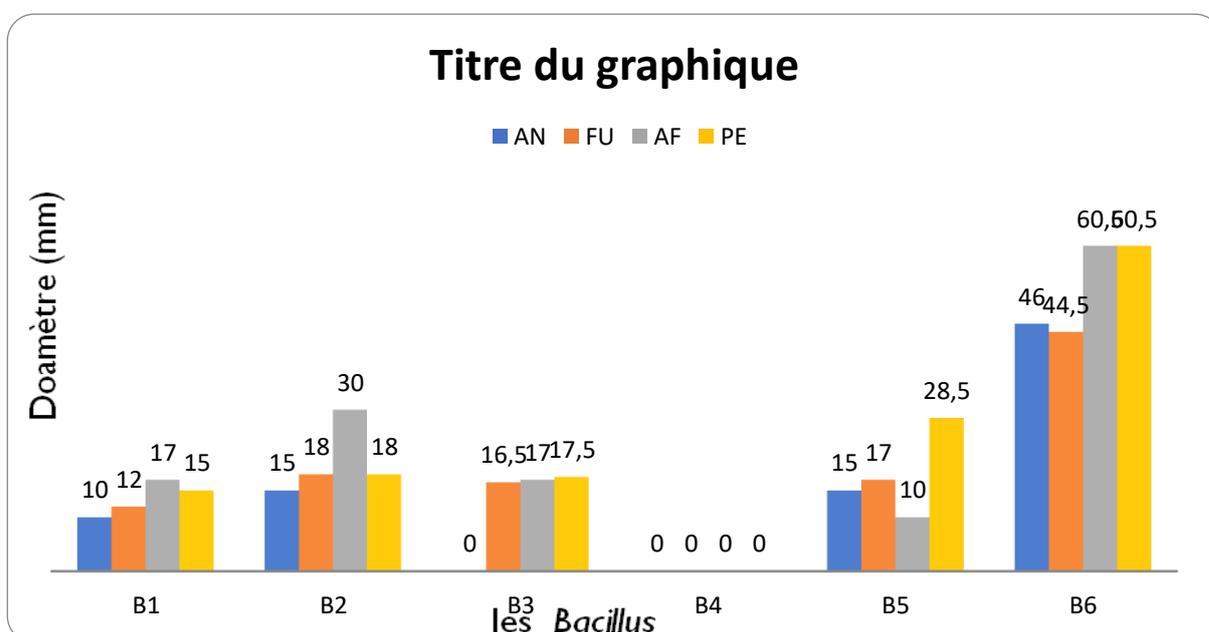


Figure 27 : Activité inhibitrice de nos *Bacillus* contre 4 souches fongiques

FU- *Fusarium oxysporum*; AF-*Aspergillus flavus* AN- *Aspergillus niger* ; PE- *Penicillium notatum*.

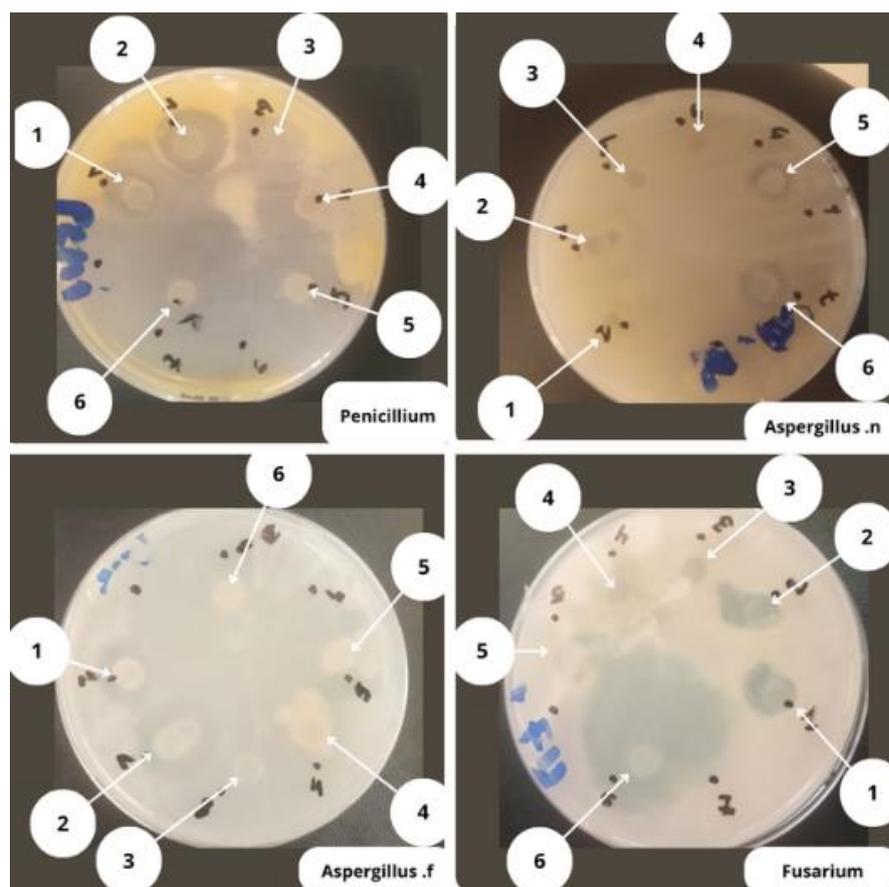


Figure 28 : résultats de la technique de cylindre d'agar de *Bacillus*

Les résultats du test de l'activité antifongique des souches de *Bacillus* indiquent des différences significatives dans l'inhibition des champignons pathogènes testés, basées sur le diamètre des zones d'inhibition.

Le premier champignon testé, *Aspergillus niger*, a été largement inhibé par la souche B6, avec un diamètre d'inhibition de 46 mm. Les souches B3 et B4 n'ont montré aucune inhibition contre ce champignon.

Fusarium oxysporum

Pour le deuxième champignon, *Fusarium oxysporum*, B6 a également montré une forte inhibition, avec un diamètre de 44,5 mm. B2 a montré une inhibition plus faible, avec un diamètre de 18mm. Les souches B3 et B4 montraient également une inhibition faible à nulle.

Et pour *Aspergillus flavus* B6 a montré une très forte inhibition de 60,5 mm, ce qui signifie clairement une très haute sensibilité d'*A. flavus* aux métabolites produits par la souche B2 a

montré une inhibition moyenne, avec un diamètre de 30 mm. B4 n'a montré aucune inhibition, ce qui peut être attribué soit à l'incapacité de produire quelconque composé antifongique efficace contre *A. flavus*, soit à la résistance d'*A. flavus* aux métabolites produits par la souche.

Penicillium notatum

D'autre part *Penicillium notatum*, encore une fois, B6 a montré une forte inhibition de 60,5 mm, confirmant la production abondante de substances antifongiques. Ce résultat indique une sensibilité élevée de *Penicillium notatum* aux molécules produites par la souche, B5 a également montré une activité intéressante avec une inhibition de 28,5 mm, mais moins prononcée que pour B6, car sa production de métabolites anti-*Penicillium* est limitée. B4 a montré une inhibition plus faible, avec un diamètre de 18 mm. B4 n'a montré aucune inhibition et c'est probablement lié à l'incapacité de cette souche de produire des composés efficaces contre l'espèce, ou à la tolérance de *Penicillium notatum* aux produits de B4.

La souche de B6 se distingue nettement par tous effets anti-fongiques remarquables, en particulier en *A. flavus* et en *Penicillium notatum*. Les résultats actuels suggèrent que B6 a montré des résultats prometteurs avec des zones d'inhibition supérieures à 60 mm, qui peuvent être utilisés pour des applications biotechnologiques telles que le contrôle des composés fongiques efficaces dans les secteurs agricoles. D'autre part, les souches B3 et B4 ne présentaient pas de résultats prometteurs.

En comparaison avec l'étude d'Oyedele et al., (2014), les résultats des deux études montrent des différences notables dans l'évaluation de l'activité antifongique des souches de *Bacillus* contre divers champignons pathogènes, malgré l'utilisation de méthodes expérimentales distinctes. Il est important de noter que bien que les deux études utilisent la souche nommée B6, il s'agit en réalité de deux souches différentes, seulement similaires en termes de nomenclature. Dans l'étude d'Oyedele et al., la méthode utilisée est celle de la diffusion sur puits d'agar pour tester l'inhibition de quatre champignons : *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Fusarium oxysporum*, et *Rhizopus stolonifer*. En revanche, notre étude a utilisé la méthode du cylindre d'agar pour évaluer l'inhibition de *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium notatum*, et *Fusarium oxysporum*.

Inhibition d'*Aspergillus flavus* : Dans l'étude d'Oyedele et al., la souche B6 a montré une inhibition de 21 mm contre *A. flavus*, tandis que dans notre étude, la souche B6 a montré une inhibition beaucoup plus importante de 60,5 mm. Cette différence peut être attribuée à la méthode expérimentale utilisée, car la diffusion dans le cylindre d'agar permet une diffusion

plus large des métabolites antifongiques, ou encore à des différences dans l'efficacité des composés produits par nos souches B6 respectives.

Inhibition d'*Aspergillus niger* : Dans l'étude d'Oyedele et al., la souche Og7 a inhibé *A. niger* avec un diamètre de 22,5 mm, tandis que dans notre étude, la souche B6 a montré une inhibition de 46 mm. Cette différence pourrait résulter de la souche utilisée ou de la méthode du cylindre d'agar, qui semble permettre une diffusion plus efficace des métabolites antifongiques, entraînant des zones d'inhibition plus larges.

Inhibition de *Fusarium oxysporum* : Nos résultats montrent des inhibitions significativement plus importantes pour ce champignon par rapport à ceux rapportés dans l'étude d'Oyedele et al. L'inhibition observée dans notre étude (44,5 mm) est bien plus élevée que celle de l'étude d'Oyedele et al. (19 mm), ce qui suggère une plus grande efficacité des métabolites antifongiques produits par les souches testées dans notre étude.

Les différences observées entre les deux études soulignent l'impact des méthodes expérimentales et des souches bactériennes sur l'évaluation de l'activité antifongique. La méthode du cylindre d'agar semble favoriser une diffusion plus large et plus efficace des métabolites antifongiques, ce qui pourrait expliquer l'efficacité supérieure observée dans notre étude par rapport à celle d'Oyedele et al. Ces résultats suggèrent que le choix de la méthode d'évaluation et des isolats de *Bacillus* peut avoir un impact significatif sur les résultats d'activités antifongiques.

V. 4 Calcul des concentrations de suspensions bactériennes

Les résultats d'absorption mesurés par le spectrophotomètre pour les trois solutions de ferment bactérien sont les suivants :

- Pour la culture liquide de la souche B1, l'absorbance maximale a été enregistrée à 600 nm avec une valeur d'absorption de 0.209.
- Pour la culture liquide de la souche B2, l'absorbance maximale a été observée à 600 nm, avec une valeur d'absorption de 0.383.
- Pour la culture liquide de la souche Aa, l'absorbance maximale a été enregistrée à 600 nm avec une valeur d'absorption de 0.024.

Ces données révèlent une différence notable dans l'absorption des solutions, ce qui peut être attribué à des variations dans la concentration bactérienne ou dans la composition chimique des cultures.

➤ **Souche B1 :**

Absorbance : 0,209

En gros, la valeur McFarland pour cette absorbance varie de 0,6 à 1.

Concentration potentielle de bactéries : environ $1,8 \times 10^8$ UFC/mL.

➤ **Souche B2 :**

Absorbance : 0,383

En gros, la valeur McFarland varie de 1,2 à 1,5.

Concentration probable de bactéries : environ 3×10^8 à $4,5 \times 10^8$ UFC/mL.

➤ **Souche Aa :**

Absorbance : 0,224

En gros, la valeur McFarland varie de 0,7 à 1.

Concentration potentielle de bactéries : environ 2×10^8 UFC/mL.

V. 5. Test antifongique de l'extrait brut des souches B6 et B2 et Aa :

Les résultats obtenus lors de l'étude de l'effet de différentes concentrations de l'extrait méthanolique des souches B6, B2 et Aa sur la croissance mycélienne de deux champignons (*Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*) après une incubation de 5 jours sont indiqués dans **et les figures 29**

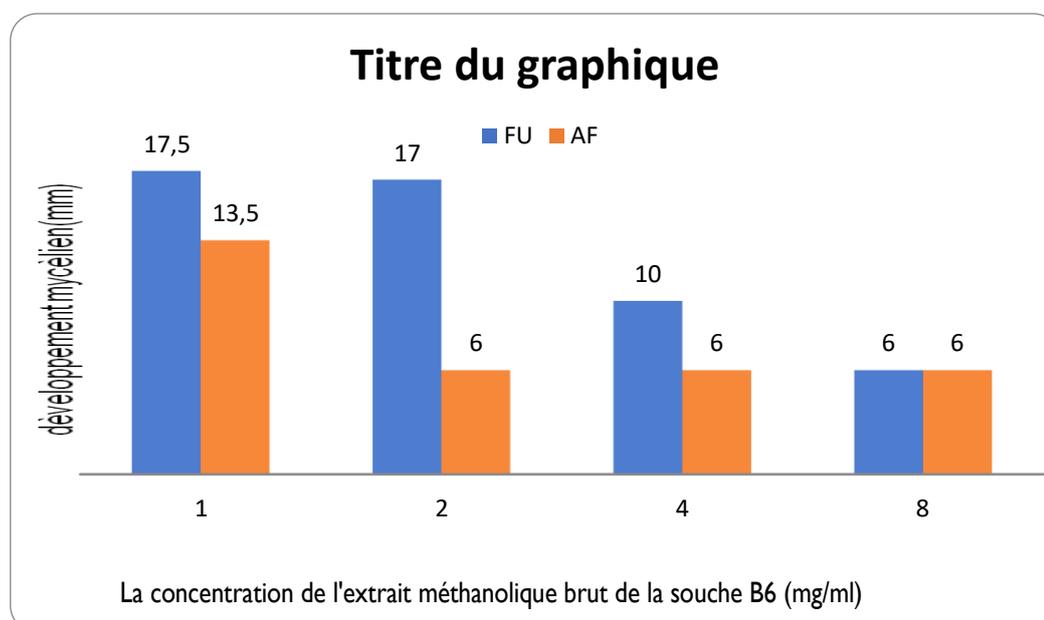


Fig.29 Diamètres de croissance mycélienne en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique brut de la souche B6. FU- *Fusarium oxysporum*; AF-*Aspergillus flavus*.

Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique brut de la souche B6 exerçait un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne des deux champignons testés, *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*. On a observé une relation dose-dépendante claire : plus la concentration de l'extrait augmentait, plus l'inhibition de la croissance mycélienne était importante. À la concentration de 8 mg/ml, les deux souches fongiques étaient inhibées. Aux concentrations de 1 mg/ml, les deux souches fongiques ont montré une croissance mycélienne qui augmentait lorsque les concentrations de l'extrait diminuaient.

Il est intéressant de noter que l'extrait semblait avoir un effet plus marqué sur la croissance d'*Aspergillus flavus* par rapport à *Fusarium oxysporum*. En effet, à toutes les concentrations testées, le diamètre de la colonie d'*Aspergillus flavus* était systématiquement inférieur à celui de *Fusarium oxysporum*. Cela suggère qu'*Aspergillus flavus* était plus sensible aux composés bioactifs présents dans l'extrait.

Ces résultats suggèrent que l'extrait méthanolique de la souche B6 contenait des composés bioactifs possédant une activité antifongique. Ces composés auraient pu agir en inhibant la croissance des hyphes, en altérant la membrane cellulaire des champignons ou en interférant avec des processus métaboliques essentiels.

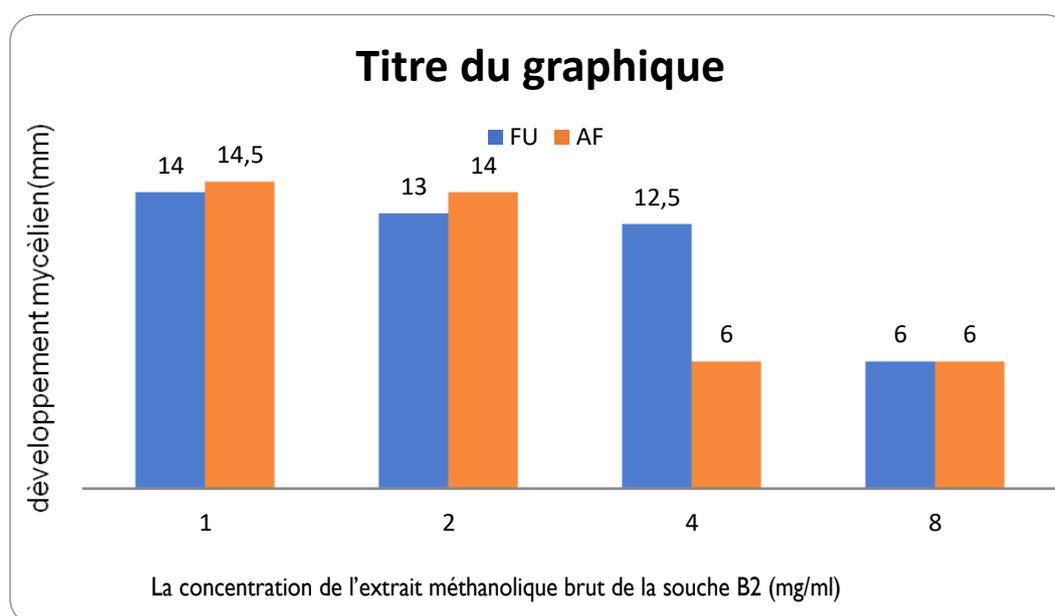


Fig30 : Diamètres de croissance mycélienne en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique brut de la souche B2. FU- *Fusarium oxysporum*; AF-*Aspergillus flavus*.

Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique brut de la souche B2 a exercé un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne des deux champignons testés, *Fusarium oxysporum* et

Aspergillus flavus. On a observé une relation dose-dépendante claire : plus la concentration de l'extrait a augmenté, plus l'inhibition de la croissance mycélienne a été importante. De plus, le champignon *Aspergillus flavus* a semblé être plus sensible à l'extrait que *Fusarium oxysporum*, puisque le diamètre de ses colonies a été systématiquement plus petit à toutes les concentrations testées. À la concentration de 8 mg/ml, les deux souches fongiques ont été inhibées, et à la concentration de 4 mg/ml, *Aspergillus flavus* a été totalement inhibé. Aux concentrations inférieures (1 et 2 mg/ml), les deux souches fongiques ont montré une croissance mycélienne, qui a augmenté à chaque fois que les concentrations de l'extrait ont diminué.

L'extrait méthanolique de la souche B2 a contenu des composés chimiques possédant une activité antifongique. Ces composés pourraient avoir agi en inhibant la croissance des hyphes, en altérant la membrane cellulaire des champignons ou en interférant avec des processus métaboliques essentiels.

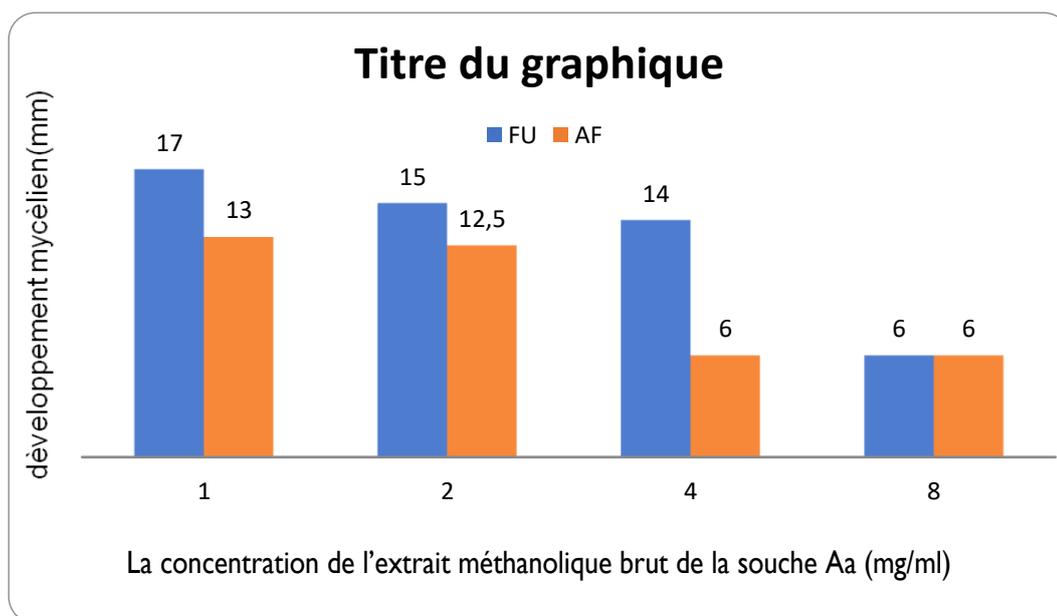


Fig.31 : Diamètres de croissance mycélienne en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique brut de la souche Aa. FU- *Fusarium oxysporum*; AF-*Aspergillus flavus*.

Les résultats ont montré que l'extrait méthanolique brut de la souche Aa a exercé un effet inhibiteur sur la croissance mycélienne des deux champignons testés, *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*. On a observé une relation dose-dépendante claire : plus la concentration de l'extrait augmentait, plus l'inhibition de la croissance mycélienne était importante. À la concentration de 8 mg/ml, les deux souches fongiques ont été inhibées. À la concentration de 4 mg/ml, *Aspergillus flavus* a été inhibé. Aux concentrations de 1 mg/ml, les deux souches

fongiques ont montré une croissance mycélienne qui augmentait lorsque les concentrations de l'extrait diminuaient.

De plus, *Aspergillus flavus* a semblé être plus sensible à l'extrait que *Fusarium oxysporum*, puisque le diamètre de ses colonies a été systématiquement plus petit à toutes les concentrations testées

En comparant Les résultats de notre étude sur l'activité antifongique des extraits méthanoliques des souches d'*Actinomycètes* et de *Bacillus* (Aa, B6, et B2) montrent des similarités et des différences significatives avec les résultats obtenus par Belgacem et al., 2023, qui ont étudié les souches d'*Actinomycètes* A10 et A7. Dans les deux études, une inhibition dose-dépendante de la croissance fongique a été observée.

Dans l'étude de Belgacem et al., la souche A10 a inhibé la croissance de *Fusarium graminearum* et *Aspergillus flavus* à une concentration de 8 mg/ml, tandis que la souche A7 a présenté une activité similaire au même seuil de concentration. Dans notre étude, les souches B6, Aa et B2 ont également montré une inhibition de la croissance de *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus* à 8 mg/ml, mais avec des variations importantes selon les espèces et les souches.

Notamment, nos résultats indiquent une sensibilité accrue d'*Aspergillus flavus* aux extraits méthanoliques par rapport à *Fusarium oxysporum*. Par exemple, la souche B6 a inhibé complètement *Aspergillus flavus* dès 2 mg/ml, un seuil beaucoup plus bas que celui rapporté dans l'étude de Belgacem et al. De plus, les souches Aa et B2 ont inhibé totalement *Aspergillus flavus* à 4 mg/ml, tandis que *Fusarium oxysporum* nécessitait 8 mg/ml pour une inhibition complète. Ces variations suggèrent que les composés bioactifs présents dans les extraits méthanoliques de nos souches ont une affinité différente pour les membranes cellulaires ou les processus métaboliques des champignons testés.

Ces différences pourraient être attribuées à la composition chimique distincte des extraits méthanoliques, influencée par la diversité des souches utilisées et leurs métabolites secondaires. Ainsi, nos résultats complètent les travaux de Belgacem et al., en offrant une perspective élargie sur l'activité antifongique des *Actinomycètes* et en soulignant le potentiel des souches de *Bacillus* comme source de composés antifongiques efficaces.

Tableau 14 : Développement mycélien de la souche fongique *Fusarium oxysporum* testé contre différentes concentrations des extraits.

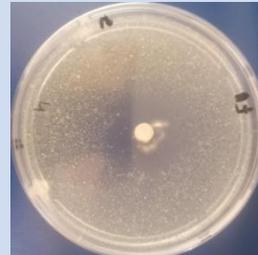
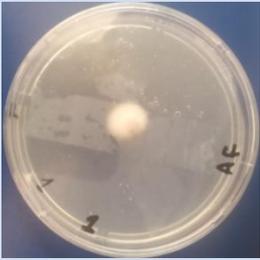
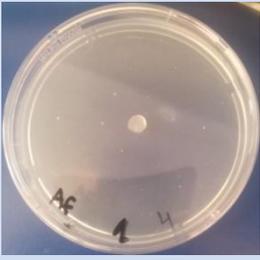
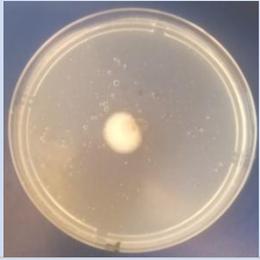
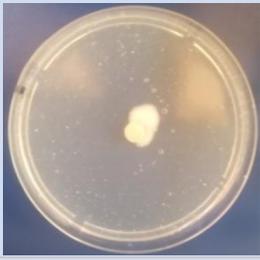
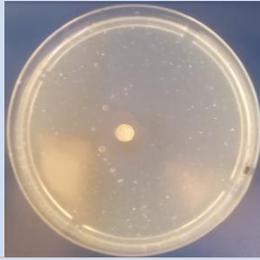
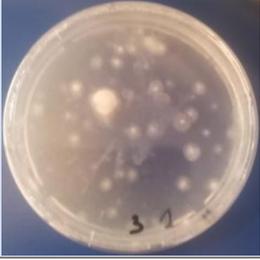
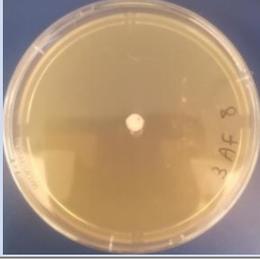
Les souches	Dilution de l'extrait méthanolique brut (mg/ml)			
	01	02	04	08
Souche B6				
Souche B2				
Souche Aa				

Tableau 15 : Développement mycélien de la souche fongique *Aspergillus flavus* testé contre différentes concentrations des extraits.

La souche	Dilution de l'extrait méthanolique brut (mg/ml)			
	01	02	04	08
Souche B6				
Souche B2				
Souche Aa				

V.6. Résultats de l'antagonisme in vivo :

V.6.1. Stimulation de la croissance des plantes :

Tableau 16. Résultats de l'estimation de la hauteur des plantes de tomate

Plante	La hauteur des plantes de tomates (cm) en fonction du temps en fonction (Moyenne de deux essais)					
	T= 0	T= une semaine	T= 2 semaines	T= 3 semaines	T= 4 semaines	T= 5 semaines
T-	10, 12	29.25	33.40	35.60	35.80	36.60
T+ 1	10, 12	30.24	31.40	34.24	34.25	34.25
T+ 2	10, 12	29.50	30.10	32.08	33.03	34.50
B6 ₁	10, 12	34.58	34.83	39.33	39.91	40.91
B6 ₂	10, 12	30.24	30.66	33.91	34.16	38.74
B2 ₁	10, 12	31.99	34.33	35.80	39.10	40.60
B2 ₂	10, 12	32.60	36.06	37	37.90	38.49
Aa ₁	10, 12	34	34.41	35.99	38.08	38.74
Aa ₂	10, 12	33.08	33.33	37.91	38.41	38.99
G1	10, 12	33.33	33.75	35.66	37.74	38.30
G2	10, 12	34.74	34.91	36.91	38.33	39.41

(La hauteur des plantes a été mesurée deux fois par semaine)

T : Le témoin.

G : Mélange des liquides de fermentation.

A : Le liquide de fermentation d'*Actinomycètes*.

B : Le liquide de fermentation de *Bacillus*.

1 : Les plants de tomate contaminée par le *Fusariumoxysporum*.

2 : Les plants de tomate contaminée par l'*Aspergillus flavus*.

Tableau 17: Les plantes de tomates après le traitement

Plantes	T= 0	T= 5 semaines	Plantes	T= 0	T= 5 semaines
T-			B2 ₁		
T+ 1			B2 ₂		
T+ 2			Aa ₁		



T : Le témoin.

G : Le traitement bactérien des 3 souches.

A : Le traitement d'*Actinomycètes*.

B : Le traitement de *Bacillus*.

1 : Les plants de tomate avaient été arrosés et pulvérisés avec la suspension fongique du *Fusarium*.

2 : Les plants de tomate avaient été arrosés et pulvérisés avec la suspension fongique d'*Aspergillus flavus*.

Une variabilité significative a été observée dans la réponse des plantes aux différents traitements. Certaines souches, comme B6, B2, Aa, G1 et G2, ont stimulé de manière notable la croissance des plantes, tandis que d'autres ont eu un effet moins marqué. Les plantes traitées avec ces souches ont montré une croissance supérieure par rapport aux témoins T+1 et T+2, ce qui indique que ces souches possèdent une capacité à améliorer la santé des plantes et leur résistance aux agents pathogènes.

Un ralentissement de la croissance a été observé dans les groupes témoins infectés par les champignons *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*. Dans les groupes témoins T+1 et T+2, la croissance s'est arrêtée après 3 semaines d'infection, accompagnée de symptômes de flétrissement et de jaunissement des feuilles. Deux plantes sur six sont mortes dans le groupe T+1, tandis qu'une plante sur six est morte dans le groupe T+2. Ces symptômes correspondent à ceux rapportés par Bawa et al, 2016 dans leur étude sur la fusariose de la tomate causée par *Fusarium oxysporum*. En revanche, ces symptômes n'ont pas été observés dans les groupes traités par les souches B6, B2, Aa, G1 et G2, suggérant que ces souches ont contribué à éliminer les agents pathogènes, en accord avec les résultats de Becharef et al., 2023.

Il convient également de noter que les plantes traitées par les souches B6, B2, Aa, G1 et G2 ont montré une meilleure croissance en termes de hauteur et de taille par rapport au témoin T-. Une floraison a été observée dans certains groupes, indiquant que ces souches ont favorisé la croissance des plantes, ce qui est conforme aux observations de Elshafie et al., 2022 et Silva et al., 2022.

Comparé à l'étude de Becharef et al., 2023, qui a examiné l'effet des *Actinomycètes* et des *Myxobactéries* sur des plants de tomate infectés par *Phytophthora infestans*, des résultats similaires ont été observés. Cette étude a montré que l'utilisation de suspensions bactériennes et de jus de fermentation a permis une croissance accrue des plantes en seulement trois semaines, atteignant des hauteurs moyennes de 40 à 46 cm, avec un léger avantage pour les souches d'*Actinomycètes* par rapport aux *Myxobactéries*. En revanche, le témoin non traité a montré une croissance réduite (34 cm), tandis que les plantes infectées uniquement par *Phytophthora infestans* ont enregistré une croissance encore plus faible (31 cm), mettant en évidence les effets négatifs de ce pathogène.

Dans cette étude, les souches B6, B2, Aa, G1 et G2 ont permis une augmentation notable de la hauteur des plantes, atteignant des valeurs comprises entre 38,49 cm et 40,91 cm après cinq semaines. En revanche, les groupes témoins infectés par *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus* ont montré un arrêt de la croissance, des symptômes de jaunissement, de flétrissement, et une mortalité partielle des plantes.

Ces résultats peuvent être expliqués par plusieurs mécanismes, comme l'ont décrit El-Saadony et al., 2022 et Elshafie et al., 2022 :

- Rôle des bactéries dans la stimulation de la croissance :
Les souches comme les *Actinomycètes* et les *Bacillus* produisent des métabolites bioactifs (enzymes, composés antimicrobiens) qui favorisent la croissance des plantes tout en inhibant les champignons pathogènes.
- Effet des maladies fongiques :
Les champignons pathogènes tels que *Fusarium oxysporum* perturbent l'absorption de l'eau et des nutriments par les plantes. Les bactéries bénéfiques contrent ces effets grâce à des composés antifongiques et en stimulant les défenses immunitaires des plantes.
- Différences entre les souches bactériennes :
Chaque souche possède des capacités spécifiques (par exemple, production de chitinases, glucanases), ce qui influence son efficacité à protéger et à stimuler les plantes.
- Temporalité des effets :
Certaines souches nécessitent plus de temps pour révéler pleinement leur potentiel bénéfique, ce qui peut expliquer des variations dans les résultats à différents stades de l'expérience.

V. 7. Les résultats de l'inoculation des feuilles :

Nous remarquons une infection fongique plus marquée sur les feuilles du groupe de contrôle positif, où les symptômes ont commencé à apparaître dès le cinquième jour et ont continué à s'aggraver jusqu'à la formation de moisissures. Vers le quinzième jour, il était évident que les feuilles pourrissaient et étaient partiellement décomposées. Ces symptômes comprenaient :

- Jaunissement des feuilles,
- Apparition de taches brunes,
- Flétrissement,
- Présence de trous dans les feuilles.

En revanche, les feuilles traitées avec des suspensions ont montré des symptômes beaucoup plus légers.

En comparaison avec l'étude de Becharef *et al*, 2023, leurs résultats indiquent que les symptômes apparaissent à partir du septième jour, avec une aggravation notable dès le quinzième jour. Bien que les types de symptômes rapportés soient similaires (jaunissement, taches brunes, flétrissement), les différences dans le calendrier d'apparition et de progression des symptômes suggèrent des variations potentielles dues à l'utilisation de souches pathogènes différentes.

Les deux études montrent que les suspensions bactériennes ont considérablement réduit la gravité des symptômes dans les groupes traités, renforçant l'hypothèse selon laquelle ces traitements offrent une protection efficace contre les infections fongiques.

Tableau 18 : Les feuilles de tomates inoculées.

Feuilles	FU	AF
T-		
T+		
B6		



T : Le témoin.

A : Suspension d'*Actinomycètes*.

B : Suspension de *Bacillus*.

V. 7.1. Test de comparaison de moyennes:

Tableau 19 : Test échantillons appariés

		Différences appariées					t	Ddl	Sig. (bilatérale)
		Moyenne	Ecart-type	Erreur standard moyenne	Intervalle de confiance 95% de la différence				
					Inférieure	Supérieure			
Paire 1	T - T ₁	1.22091	1.83931	.55457	-.01476	2.45658	2.202	10	.052
Paire 2	T - T ₂	2.14909	1.75076	.52787	.97292	3.32527	4.071	10	.002
Paire 3	T - B ₆₁	-3.92000	1.42172	.42866	-4.87512	-2.96488	-9.145	10	.000
Paire 4	T - B ₆₂	.22000	1.71478	.51702	-.93200	1.37200	.426	10	.679
Paire 5	T - B ₂₁	-3.03273	1.58391	.47757	-4.09681	-1.96864	-6.350	10	.000
Paire 6	T - B ₂₂	-2.33091	1.29671	.39097	-3.20205	-1.45977	-5.962	10	.000
Paire 7	T - Aa ₁	-2.53273	1.80825	.54521	-3.74753	-1.31793	-4.645	10	.001
Paire 8	T - Aa ₂	-2.86182	1.43852	.43373	-3.82823	-1.89541	-6.598	10	.000
Paire 9	T - G ₁	-2.05909	1.40030	.42221	-2.99983	-1.11835	-4.877	10	.001
Paire 10	T - G ₂	-2.69273	1.39443	.42044	-3.62951	-1.75594	-6.405	10	.000
Paire 11	G ₁ - G ₂	-.63364	.33536	.10111	-.85893	-.40834	-6.267	10	.000

Paire 12	T ₁ - T ₂	.92818	.55355	.16690	.55630	1.30006	5.561	10	.000
Paire 13	B6 ₁ - B6 ₂	4.14000	1.90821	.57535	2.85804	5.42196	7.196	10	.000
Paire 14	B2 ₁ - B2 ₂	.70182	1.07849	.32518	-.02272	1.42636	2.158	10	.056
Paire 15	Aa ₁ - Aa ₂	-.32909	.91268	.27518	-.94224	.28406	-1.196	10	.259

	Jaune : différence non significatif
	Vert: différence hautement significatif
	Bleu : différence très hautement significatif

T : Le témoin.

G : Le traitement bactérien des 3 souches.

A : Le traitement d'*Actinomycètes*.

B : Le traitement de *Bacillus*.

1 : Les plants de tomate avaient été arrosés et pulvérisés avec la suspension fongique du *Fusarium*.

2 : Les plants de tomate avaient été arrosés et pulvérisés avec la suspension fongique d'*Aspergillus flavus*.

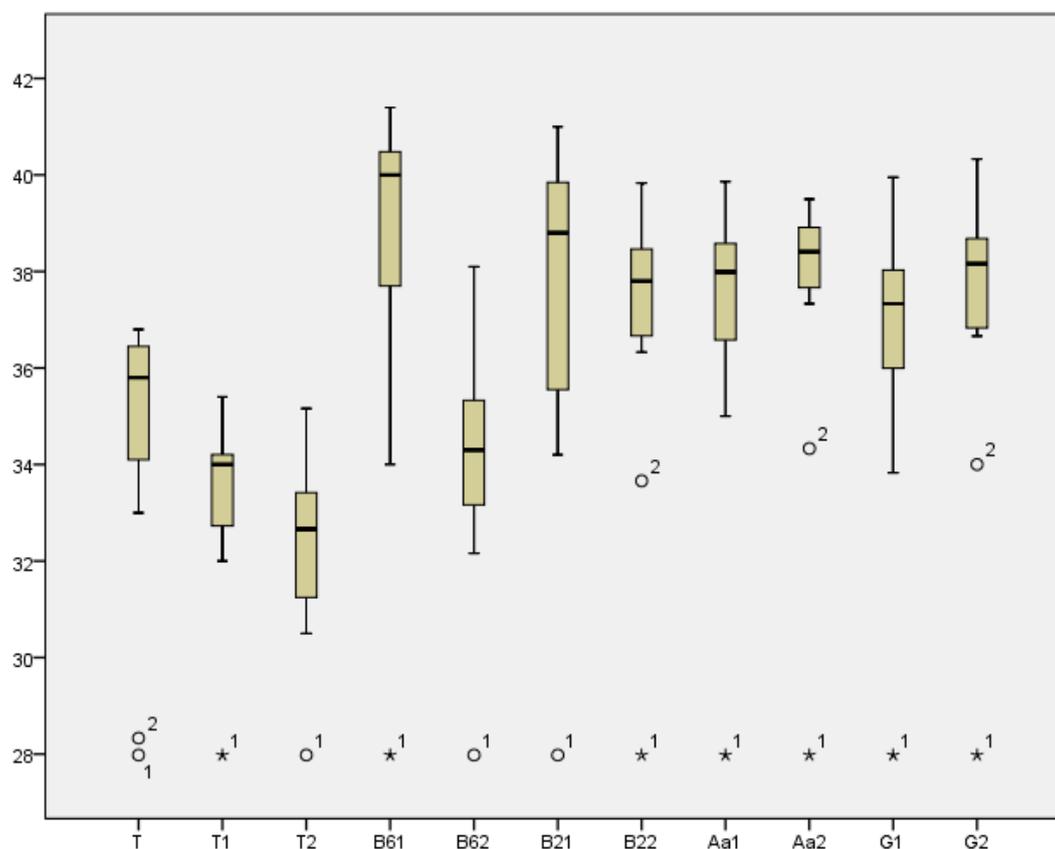


Figure 32 : Diagramme représentant la croissance des plantes traitées et les témoins après 5 semaines de pulvérisation.

Lors de la comparaison entre T (témoin) et les souches B6₁, B2₁, B2₂, Aa₂ et G₂, on observe une différence très hautement significative. Cela indique que ces souches ont fortement contribué à l'augmentation du taux de croissance des plantes.

En comparant T avec les souches Aa₁ et G₁, on remarque une différence hautement significative. Cela signifie que ces souches ont également stimulé la croissance des plantes, bien que leur efficacité soit légèrement inférieure par rapport aux autres souches.

En ce qui concerne la comparaison entre T et les groupes T₁ et B6₂, la différence est non significative, ce qui suggère que le champignon *Fusarium oxysporum* n'a pas eu d'impact majeur sur la hauteur des plantes, tandis que la souche B6₂ n'a pas montré d'effet significatif sur leur croissance.

Lorsque l'on compare T avec T₂, la différence est hautement significative, indiquant un impact négatif notable du champignon *Aspergillus flavus* sur la croissance des plantes.

La comparaison entre G₁ et G₂ révèle une différence très hautement significative. Cela démontre que le mélange des liquides de fermentation est plus efficace contre le champignon *Aspergillus flavus*.

Entre les groupes T₁ et T₂, on observe une différence très hautement significative. Cela confirme que le champignon *Aspergillus flavus* a eu un impact négatif plus prononcé sur la croissance des plantes par rapport à *Fusarium oxysporum*.

Lors de la comparaison entre B₆₁ et B₆₂, la différence est très hautement significative, ce qui indique que la souche B₆₁ est plus efficace contre le champignon *Fusarium oxysporum* que contre *Aspergillus flavus*.

En comparant B₂₁ avec B₂₂, on remarque une différence non significative. Cela suggère que les souches B₂₁ et B₂₂ présentent une efficacité comparable contre les champignons *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*.

Enfin, la comparaison entre Aa₁ et Aa₂ montre également une différence non significative, ce qui signifie que les souches Aa ont une efficacité similaire contre *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*.

VIII CONCLUSION

Parmi les nombreuses propriétés des genres *Bacillus* et *Actinomyces*, leur capacité à produire une variété de métabolites secondaires à activité antimicrobienne suscite un intérêt considérable, notamment dans le domaine agricole. Dans le cadre de la recherche de souches présentant une activité antifongique contre les phytopathogènes, ce travail vise à évaluer l'activité antifongique des souches étudiées et à extraire leurs métabolites secondaires bioactifs, au moyen de tests en laboratoire dans des conditions contrôlées et en conditions réelles sur des plants de tomate et aussi par la méthode de l'inoculation des feuilles.

L'étude *in vitro* de l'activité antifongique des souches bactériennes vis-à-vis des quatre champignons phytopathogènes a révélé que toutes les bactéries possèdent une activité antifongique au moins sur un seul champignon, à l'exception de la souche B4 qui n'a montré aucune activité. En effet, les essais de confrontation entre ces mycètes et les souches bactériennes, que ce soit d'une façon directe par l'utilisation de la méthode de cylindre d'agar ou bien à Indirect par les tests de l'activité antifongique basée sur la détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice), ont révélés une inhibition de la croissance mycélienne des champignons testés.

Les activités antagonistes enregistrées dans les tests de confrontation directe entre les bactéries et les souches fongiques peuvent être attribuées au processus de synthèse des substances diffusibles inhibitrices de la croissance mycélienne (sidérophores, antibiotiques ou enzymes hydrolytiques).

Il convient de souligner que la souche B6 se distingue par ses effets antifongiques remarquables, notamment contre *A. flavus* et *P. notatum*. Les résultats obtenus suggèrent que B6 génère des zones d'inhibition dépassant les 60 mm, ce qui présente un potentiel considérable pour des applications biotechnologiques, notamment dans la gestion des composés fongiques efficaces dans le secteur agricole.

Les extraits ont également montré une activité importante et surtout extrait de la souche B6 contre les souches fongiques testées, avec des concentrations minimales fongicide comprises entre 2 et 8 mg/ml.

Les tests *in vivo* montrent que l'application de la souche B2, B6 et Aa sur les plantes de tomate retarde l'apparition et l'évolution des symptômes et réduit intensément la cinétique d'évolution des maladies causée par *Fusarium oxysporum* et *Aspergillus flavus*, comme elle présente aussi biostimulation remarquable en phytomasse aérienne.

Les résultats de l'inoculation des feuilles montrées que les suspensions bactériennes réduisent considérablement les symptômes par rapport aux témoins.

Au terme de ce travail, divers aspects semblent importants à réaliser :

Déterminer les mécanismes d'action directe ou indirecte des souches bactériennes, impliqués dans leur potentiel antagoniste à l'égard des quatre champignons testés ainsi que d'autres bioagresseurs des cultures.

Identifier les métabolites actifs pouvant servir à l'élaboration des bio pesticides, Cela entraînera la purification et l'application de plusieurs techniques d'analyse chimique telles que la spectrométrie de masse MALDI-TOF, la chromatographie liquide haute performance couplée à la spectrométrie de masse (HPLC-MS), la RMN, et la spectroscopie IR à transformée de Fourier (FTIR).

Tester les souches en plein champ pour déterminer les modalités de leur utilisation à grande échelle sous l'effet des pratiques culturales.

X.REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

Arie, T. (2010). Phylogeny and phytopathogenicity mechanisms of soilborne *Fusarium oxysporum*. *Journal of general plant pathology*, 76(6), 403-405.

Alba J. M., Marta Montserrat M. et Muñoz R. F., 2008: Resistance to the two-spotted spider mite (*Tetranychus urticae*) by acylsucroses of wild tomato (*Solanum pimpinellifolium*) trichomes studied in a recombinant inbred line population. Estación Experimental La Mayora – CSIC, Algarrobo-Costa, 29760 Málaga, Spain. Springer Science+Business Media B.V. 2008. Pp13.

Arnó, J., Gabarra, R., Estopà, M., Gorman, K., Peterschmitt, M., Bonato, O., Vosman, B., Hommes, M. et Albajes, R., 2008 : Evaluation of tools to manage whiteflies in European tomato crops – The Tomato Case Study. IRTA, Centre de Cabrils, E-08348 Cabrils, Spain. ENDURE International Conference 2008 Diversifying crop protection, 12-15 October 2008 La Grande-Motte, France - Oral presentations. Pp03.

Allal C., 2009. « Fiche technique tomate sous serre » maladies des plantes, agriculture et écologie. MADRPM/DPV/DH. 13P.

Agrios G.N. (2005). *Plant pathology. Elsevier Academic Press, Oxford, UK, p, 922.*

Allakhverdiev. S.I., A.Sakamoto, Y.Nishiyama, M.Inaba, and N. Murata, 2000: “Ionic and osmotic effects of NaCl-induced inactivation of photosystems I and II in *Synechococcus* sp.,” *Plant Physiology*, vol.123,no.3,Pp1047–1056,

Akram, A. D. A. M. (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. Thèse de doctorat, Université de Liège, 161p.

B

Benton J. (2008). *Tomato plant culture: In the field, Greenhouse, and home garden,* deuxième édition. Edition: Taylor et Francis Group. New York. 399p.

Becharef, R., & Mebtouche, C. (2023). Production de substances phytosanitaires produit par des actinomycètes et des myxobactéries (Master dissertation, Université MOULAY Tahar).

Belgacem, H., Benzerga, A. (2018). Recherche et caractérisation des substances antifongiques et antioxydants chez les actinomycètes isolés à partir du sol arides de la région d’El-Bayadh (*Master dissertation, Université MOULAY Tahar*).

- Belgacem, H., Benreguieg, M., Adli, D. E. H., & Benzerga, A. (2023).** Antifungal and antioxidant activities of actinobacteria isolated from algerian desert soils. *Journal of Applied Biological Sciences*, 17(1), 20-38.
- Badji, T., & Ait Abdelmalek, C. (2017).** *Activité antifongique des bactéries des genres Bacillus et Pseudomonas et effet de leur inoculation en pots chez la tomate* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Benmehaia, A. M., Samoggia, A., Benziouche, S. E., Benharrat, O., & Ayfantopoulou, G. (2024).** The performance analysis of the industrial tomato sector in Algeria: On the consequences of unfair prices. *International Journal on Food System Dynamics*, 15(5), 495-507.
- Benaissa, A., Djellout, N. C., Baika, K., Bamebarek, H., & Bestami, M. (2021).** Diversity of microorganisms causing soft rot disease of fruits and vegetables marketed in tamanghasset (Algeria).
- Bawa, I. (2016).** Management strategies of *Fusarium* wilt disease of tomato incited by *Fusarium oxysporum* f. sp. lycopersici (Sacc.) A Review. *Int. J. Adv. Acad. Res*, 2(5).
- Boucher S., 2008 :** Les insectes de nos jardins, Ordre Thysanoptera - Thrips. www.insectesjardins.com. Date de consultation 16.03.2010.
- Bouhroud R., 2011.** Tomate: principales maladies fongiques. INRA-Agadir. 1p.
- Boosse-Platiere A., 2008.**L'agenda du jardinier bio. Ed terre vivante. 500p
- Blancard D., Latterot H., Marchaud G. et Candresse T. 2009.** Les maladies de la tomate. Ed. Quae, Paris. 679p.
- Blancard D. (2009).**Les maladies de la tomate, identifier, connaitre, maitriser. Edition : Quæ. Paris. 691p.
- Blancard. D., 1997 :** Les maladies de la tomate. Observer. Identifier et lutter. INRA. Montfavet. Paris. Pp 212.
- Berggren, I., Van Vuurde, J. W. L., & Mårtensson, A. M. (2001).**Factors influencing the effect of deleterious *Pseudomonas putida* rhizobacteria on initial infection of pea roots by *Rhizobium leguminosarum* by.viciae, *Appl. Soil Ecol*, 17: 97-105.

C

- Cadet P, Thioulouse J., 1998:** Identification of soil factors that relate to plant parasitic nematode communities on tomato and yam in the French West Indies. *Applied Soil Ecology*.Pp8, 77-86

Costa, J. M., & Heuvelink, E. P. (2018).The global tomato industry.In Tomatoes (pp. 1-26). Wallingford UK: CABI.

Csizinszky A.A., Schutester D.J., Jones J.B et Van Lenteren J.C., 2005: Tomatoes: Edited by Ep Heuvelink. Crop production science in horticulture (13). ISBN 0 85199 3966: CABI Publishing is a division of CAB International. Pp235.

Chaux c.l. et Foury c.l., 1994 : Cultures légumières et marichaire. Tome 3 :légumineusespotagères, légumes fruit. Tec et Doc Lavoisier.

Champion R., Ray NalG., (2009). La carie commune du blé : une revenante. phytona. la défense des végétaux .N450.p.12-20.

Cherif, H. (2018). Amélioration de la croissance du blé dur en milieu salin par inoculation avec *bacillus sp. etpantoea agglomerans* isolées de sols. Thèse de doctorat, Université Ferhat Abbas Sétif 1.

Caburet A. et Hekimian Letheve C., 2003. Les légumineuses à grains. In Memento de l'Agronome, Paris-France, CIRAD-GRET. 878p.

Cuesta, G., García-de-la-Fuente, R., Abad, M., & Fornes, F. (2012).Isolation and identification of actinomycetes from a compost-amended soil with potential as biocontrol agents. *Journal of Environmental Management*, 95, S280-S284.

D

Doorenbos., J.et al. 1980 : Réponse des cultures à l'eau. Bulletin FAO d'irrigation et de drainage. Pp192-194.

Doorenbos J. et Kassam A. H., 1987. Réponse des rendements à l'eau. Bulletin FAO d'irrigation et de drainage n°33; Rome, 1987, 235 P.

Deravel, J., Krier, F., & Jacques, P. (2013). Les biopesticides, compléments et alternatives aux produits phytosanitaires chimiques (synthèse bibliographique).Biotechnol. Agron. Soc. Environ, 18(2), 220-232.

De Lannoy D., 2001. Légumes. Tomate. In Agriculture en Afrique Tropicale, Bruxelles, DGCI. P 503-512.

De Lucca, A. J. (2007).Harmful fungi in both agriculture and medicine.Revistaiberoamericana de micología, 24(1), 3.

Debbi, A., Boureghda, H., Monte, E., & Hermosa, R. (2018). Distribution and genetic variability of *Fusarium oxysporum* associated with tomato diseases in Algeria and a biocontrol strategy with indigenous *Trichoderma* spp. *Frontiers in microbiology*, 9, 282.

De Vos, M., Van Oosten, V. R., Van Poecke, R. M., Van Pelt, J. A., Pozo, M. J., Mueller, M. J., ... & Pieterse, C. M. (2005). Signal signature and transcriptome changes of Arabidopsis during pathogen and insect attack. *Molecular plant-microbe interactions*, 18(9), 923-937.

E

Edouard Akpinfa .(2018)Fiche technique: Culture de la tomate

<https://fr.scribd.com/doc/219409890/Fiche-8-Technique-de-La-Culture-de-Tomate>

Elshafie, H. S., & Camele, I. (2022). Rhizospheric actinomycetes revealed antifungal and plant-growth-promoting activities under controlled environment. *Plants*, 11(14), 1872.

El-Saadony, M. T., Saad, A. M., Soliman, S. M., Salem, H. M., Ahmed, A. I., Mahmood, M., ...& AbuQamar, S. F. (2022). Plant growth-promoting microorganisms as biocontrol agents of plant diseases: Mechanisms, challenges and future perspectives. *Frontiers in plant science*, 13, 923880.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.(2023). Determination of antimicrobial susceptibility testing.EUCAST.

F

Ferrero M., 2009. Etude de la variabilité des comportements alimentaires du prédateur et conséquences pour la lutte biologique. Thèse doctorat. Montpellier SupAgro., 228p

Fao Stat. (2011). Food and Agriculture Organisation of the United Nations.Consultable à <http://faostat.fao.org>(vérifié le 25-05-2013).

Fravel, D. R. (2005). Commercialization and implementation of biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 43, 337-359.

Fusconi, R., Assunção, R. M. N., de Moura Guimarães, R., Rodrigues Filho, G., & da Hora Machado, A. E. (2010). Exopolysaccharide produced by *Gordonia polyisoprenivorans* CCT 7137 in GYM commercial medium and sugarcane molasses alternative medium: FT-IR study and emulsifying activity. *Carbohydrate polymers*, 79(2), 403-408.

G

GALLAIS A. et BANNEROT H., 1992. Amélioration des espèces végétales cultivées objectif et critères de sélection. INRA, Paris. 765p.

Guenaoui Y., 2010 : *Tetranychus evansi* (Baker & Pritchard) (Acari:Tetranychidae) acarien invasif signalé sur culture de tomate à Mostaganem dans le nord-ouest de l'Algérie. Université de Mostaganem, Mostaganem, Algérie. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin 40, Pp. 193–195.

Gartemann K.H., Kirchner O., Engemann J., Grafen I., Eichenlaub R. et Burger 2003. *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*: first steps in the understanding of virulence of a Gram-positive phytopathogenic bacterium. *Journal of Biotechnology*. 106: 179–191.

Gallitelli D. (2000). The ecology of cucumber mosaic virus and sustainable agriculture. *Elsevier*. 71: 9-21.

Gupta A., Gopal M., Tilak K. V., (2000). Mechanism of plant growth promotion by rhizobacteria. *Indian Journal of Experimental Biology*. p 856–862.

Glazebrook, J., Chen, W., Estes, B., Chang, H. S., Nawrath, C., Métraux, J. P., ...& Katagiri, F. (2003). Topology of the network integrating salicylate and jasmonate signal transduction derived from global expression phenotyping. *The Plant Journal*, 34(2), 217-228.

H

Haas, D., & Défago, G. (2005). Biological control of soil-borne pathogens by *fluorescent pseudomonas*. *Natra. Rev. Microb.* 1129.

J

Ji, P., Campbell, H. L., Kloepper, J. W., Jones, J. B., Suslow, T. V., & Wilson, M. (2006). Integrated biological control of bacterial speck and spot of tomato under field conditions using foliar biological control agents and plant growth promoting rhizobacteria. *Biological control*, 36(3), 358-367.

Jijakly M. H., (2003). La lutte biologique en phytopathologie, In : *Phytopathologie*. Lepoivre P. (Eds). De Boeck, Bruxelles.

Jofré, E., Lagares, A., & Mori, G. (2004). Disruption of dTDP-rhamnose biosynthesis modifies lipopolysaccharide core, exopolysaccharide production, and root colonization in *Azospirillum brasilense*. *FEMS microbiology letters*, 231(2), 267-275.

K

Kathiresan, K., Balagurunathan, R., & Selvam, M. M. (2005). Fungicidal activity of marine actinomycetes against phytopathogenic fungi.

Kenneth, O. C., Nwadike, E. C., Kalu, A. U., & Unah, U. V. (2019). Plant growth promoting rhizobacteria (PGPR): a novel agent for sustainable food production. *Am J Agric Biol Sci*, 14, 35-54.

L

Lachal, A., & Bouchkima, K. (2020). Bactériologie médicale, Parasitologie et Mycologie. *Institut Nationale des Professions Infirmières et Techniques de Santé*, 32.

Lemriss, S., Laurent, F., Couble, A., Casoli, E., Lancelin, J. M., Saintpierre-Bonaccio, D., ... & Boiron, P. (2003). Screening of nonpolyenic antifungal metabolites produced by clinical isolates of actinomycetes. *Canadian journal of microbiology*, 49(11), 669-674.

Louissaint, A. M. (2012). Évaluation de la répartition spatiale de l'infestation d'une parcelle de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) par la noctuelle *Helicoverpa zea* (Lepidoptera: Noctuidae) en présence d'une bordure de maïs (*Zea mays*) (Doctoral dissertation, Montpellier SupAgro).

Liu Q., Suzuki K., Nakaji S. et Sugawara K., 2000. Antioxidant activities of natural 9-cis and synthetic all-trans carotene assessed by human neutrophil chemiluminescence. *Ed. Triton Research*. 300p.

Lambert, A.M. and R.A. Casagrande., 2006: No Evidence of Fungal Endophytes in Native and Exotic *Phragmites australis*. *Northeastern Naturalist* 13: Pp561-568.

Lepoivre P., (2003). Phytopathologie. De Boeck les presses agronomiques de Gembloux, p 432.

Lefort F., (2010). Lutte biologique et lutte microbiologique : des concepts anciens pour des méthodes de lutte modernes. Haute Ecole de Paysage d'ingénierie et d'architecture. Genève.

Laumonier R., 1979. Cultures légumières et maraichère. Tome III. Ed. Baillière, Paris. 279p.

M

Migeon S, Garziglia S, Sage F, Sardou O., 2005: Submarine landslides in the Ligurian basin: Impact of sediment supply, earthquakes and salt tectonic. In: Association of the French Sedimentologists Meeting, Presqu'île de Giens, Book of Abstracts.

Messiaen C.M., Blancard D., Rouxel F. et Lfon R. 1993. Les maladies des plantes maraichères. 3ème Ed. INRA, Paris.

Marchaux G., Gogmalons P., Gebre K. et Coord. (2008). Virus des solanacées : du génome viral à la protection des cultures. Edition : Quae. Paris. 896p.

Messiaen. C.M ., Blancard .D., Rouxel . F ., lafon . R ., 1991 : Les maladies des plantes maraichères .INRA . Paris : Pp546.

Maatallah .S., et barchiche . C ., 1983 : La culture de tomate de plein champ pour la conserve. ITCMI. Annaba : Pp57.

Mekdour Z., Haraoui S. (2017). Isolement et identification de certaines bactéries productrices de protéase provenant de plumes de poulet. *Mémoire de fin d'études*.

N

N'Dir, B., Hbid, C., Cornélius, C., Roblain, D., Jacques, P., Vanhentenryck, F., ... Thonart, P. (1994). Propriétés antifongiques de la microflore sporulée du " nétéu". *Cahiers Agricultures*, 3(1), 23-30.

Nyabyenda P., 2006. Les plantes cultivées en régions tropicales d'altitude d'Afrique. Edit. Gembloux, France, 241p.

Naika S., De Jeud J.V.L., De Joffeau M., Hilmi M. et Vandam B., 2005. La culture de tomate, production, transformation et commercialisation. Ed. Wageningen, Pays-Bas. 105p.

O

Oyedele, A. O., & Ogunbanwo, T. S. (2014). Antifungal activities of *Bacillus subtilis* isolated from some condiments and soil. *Afr J Microbiol Res*, 8(18), 1841-1849.

P

Piano, S., Neyrotti, V., Migheli, Q., & Gullino, M. L. (1997). Biocontrol capability of *Metschnikowia pulcherrima* against *Botrytis* postharvest rot of apple. *Postharvest Biology and Technology*, 11(3), 131-140.

Paray, A. A., Singh, M., Mir, M., & Kaur, A. (2023). Gram staining: a brief review. *Int J Res Rev*, 10, 336-341

R

Ruocco M., Massimo G., Oscar A., Bernard B. et Jurgen K., 2010. Food quality safety. Lutte biologique .Tome 2. CNR, Italie, UE. 104p.

Radio Algérie (31/10/2018). <http://radioalgerie.dz/news/fr/article/20181031/153919.html>

Rezaiguia Djanette, F. K. (2022). Recherche des moisissures dans les aliments des ruminants.

Raynal, C., Julhia, L., & Nicot, P. (2014). Fertilisation et sensibilité des cultures de laitue et de tomate aux bioagresseurs. *Innov. Agron*, 34, 1-17.

S

- Snoussi S.A., 2010.** Etude de base sur la tomate en Algérie. Rapport de mission. Programme régional de gestion intégrée des ravageurs pour le Proche-Orient. Rome, 52p.
- Schiffers B., et Moreira C., (2011).** Fondements de la protection des cultures. Manuel 7. PIPc/COLEACP. p293.
- Si Amar H., (2017).** Application des bacilles thermophiles dans la lutte biologique. Mémoire de Master en Microbiologie Appliquée. L'université de Tlemcen. p43.
- Spaepen, S., Vanderleyden, J., & Remans, R. (2007).** Indole-3-acetic acid in microbial and microorganism-plant signaling. *FEMS microbiology reviews*, 31(4), 425-448.
- Soudani, N., Belhamra, M., Ugya, A. Y., Patel, N., Carretta, L., Cardinali, A., & Toumi, K. (2020).** Environmental risk assessment of pesticide use in Algerian agriculture. *J Appl Biol Biotechnol*, 8(5), 36-47.
- Silva, G. D. C., Kitano, I. T., Ribeiro, I. A. D. F., & Lacava, P. T. (2022).** The potential use of actinomycetes as microbial inoculants and biopesticides in agriculture. *Frontiers in Soil Science*, 2, 833181.T
- Trottin-Caudal Y., Chabriere C. et Terrentroy A., 2010.** Tuta absoluta Biologie duravageur et stratégies de protection : Situation actuelle et perspectives. Carquefou. 29p.
- Thakore, Y. (2006).** The biopesticide market for global agricultural use. *Industrial Biotechnology*, 2(3), 194-208.
- Tadjer, N., & seba, K. (2023).** *Etude de l'activité protéolytique des bactéries lactiques conservées dans le laboratoire de Microbiologie de l'université Ibn Khaldoun-TIARET* (Doctoral dissertation, Université Ibn Khaldoun).
- Williamson B., Tudzynski B., Tudzynski P. et Van Kan JAL., 2007.** Botrytis cinerea: the cause of grey mould disease. *Molecular Plant Pathology*.580p.
- Wacquand.C., 1995 :** Maîtrise de la conduite climatique. Tomate sous serre et abris en sol et hors sol. Les éditions du CTIFL, Paris, 127 p.

Autres références

Anonyme 1., 2013. <http://archive2013.ministère de l'agriculture/économie/algérie/html>.

Anonyme2, 2009. Cultures maraîchères. Ministère de l'Agriculture, de l'Alimentation et des Affaires rurales. ontario. 10p.

Anonyme 2, 2013. <http://inra.fr /Tomate-physiologie-des-fruits>.

Anonyme., 2015. <http://ephytia.inra.fr/ tomate/mineuse de la tomate>.

Anonyme 1, 2013. <http://archive2013.ministère de l'agriculture/économie/algérie/html>.

.

XI. ANNEXE

1. Composition des solutions et des milieux de culture utilisés.**Gélose nutritive (composition en g/l)**

Extrait de viande	1g.
Extrait de levure.....	2g.
Peptone.....	5g.
Chlorure de sodium.....	5g.
Agar.....	15g.
Eau distillé.....	1000ml.

PH= 7,4

2. Potato Dextrose Agar (PDA)

Infusion de pomme de terre (300g de Pomme de terre + 500ml eau distillée)

Agar	15g.
Glucose.....	20g.
Eau distillée	1000ml

PH= 7.4

3. Eau physiologique stérile (composition g/l)

Chlorure de sodium (NaCl).....	9g.
--------------------------------	-----

Eau distillée 1000ml

4.GYM : Glucose- yeast- extrait de malt

Extrait delevure.....	4g
Extrait demalt.....	10g
CaCo3.....	2g
Glucose.....	4g
Agar.....	12g
Eaudistillée.....	1000ml

PH = 7.2

5.Le bouillon nutritif (composition en g/l)

Extrait de viande	1g.
Extrait de levure.....	2g.
Peptone.....	5g.
Chlorure de sodium.....	5g.
Eau distillé.....	1000ml.